

БИОХИМИЯ

УДК 612. 83: 612. 014. 42; 612. 434. 14

Т. К. Киприян, В. О. Топузян, И. Р. Карапетян, Т. С. Хачатрян

Влияние йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира
N-(п-метоксибензоил)-DL- фенилаланина на фоновую и вызванную
активность одиночных мотонейронов спинного мозга до и после его
гемисекции

(Представлено академиком К.Г.Карагезяном 9/II 2009)

Ключевые слова: йодметилат 2-(диметиламино) этиловый эфир N-(п-метокси-бензоил)-DL-фенилаланина, спинной мозг, гемисекция, мотонейроны, вызванная активность, фоновая активность

Введение. Состояние восстановительных процессов при повреждениях спинного мозга (СМ) у млекопитающих при воздействии различными препаратами является одной из актуальнейших проблем современной биологии и медицины [1]. Стойкость соматических и вегетативных нейрогенных нарушений является причиной инвалидизации большинства больных с поражением СМ и нарушением проводимости нервных импульсов [2 - 5]. В корригировании последних невторостепенна роль эфиров холина, в частности ацетилхолина (АХ), заслуживающего существенное внимание с точки зрения особенностей его синтеза и биологической активности [6]. Согласно результатам исследований последних лет [7 - 9] с холиновыми эфирами связан ряд важнейших функций в организме человека и животных. Вместе с тем отсутствуют сведения относительно применения эфиров холина при спинномозговых повреждениях различной степени выраженности и результатов их действия на мотонейроны (МН) СМ.

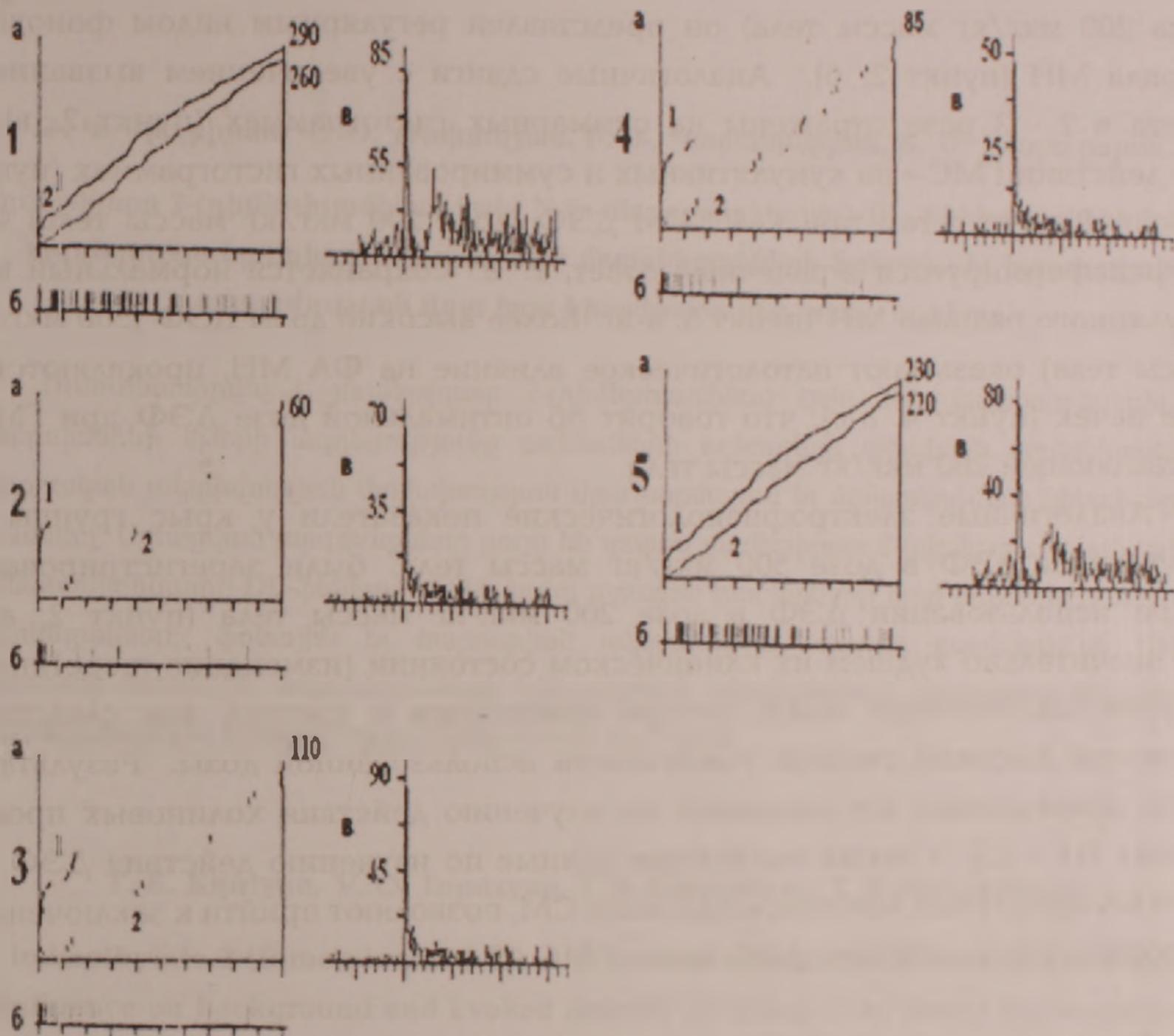
В целях поиска оптимальных средств, стимулирующих и благоприятствующих росту волокон повреждённых путей СМ, с учётом вышеотмеченных особенностей холиновых эфиров нами исследовано действие одного из

холиновых эфиров – йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира N-(n-метоксибензоил)-DL-фенилаланина (ДЭФ), синтезированного в Институте тонкой органической химии им. А. Л. Миндзояна НАН РА под руководством В. О. Топузяна, на одиночные МН СМ крыс в норме и при его экспериментальных повреждениях типа гемисекций (ГМС).

Материалы и методика. Эксперименты проведены на 60 белых крысах-самцах массой 220-230 г в 5 подопытных группах (по 10 экземпляров в 1 – 4-й и 20 – в пятой): 1) интактные животные; 2) животные, из которых 5 получали в течение 1 месяца внутримышечные инъекции ДЭФ в дозе 200 мкг/кг массы тела индивидуально, а 5 – 500 мкг/кг массы тела индивидуально; 3) животные с левосторонней латеральной ГМС СМ на уровне Т8 - Т9; 4) животные с левосторонней латеральной ГМС СМ на уровне Т8 - Т9, получавшие в место повреждения СМ в течение 1 месяца ДЭФ в дозе 500 мкг/кг массы тела индивидуально; 5) животные с левосторонней латеральной ГМС СМ на уровне Т8 - Т9, получавшие в место повреждения СМ в течение 2 месяцев ДЭФ в дозе 200 мкг/кг массы тела индивидуально. Оптимальная дозировка ДЭФ выбрана исходя из токсичности данного препарата с учётом интенсивности спинномозгового повреждения. Электрофизиологические эксперименты были начаты после проведения клинических наблюдений и дачи препарата подопытным животным. Производили экстраклеточную регистрацию спонтанной фоновой активности (ФА) одиночного МН вентрального рога СМ. В ответ на раздражение седалищного нерва производили экстраклеточную регистрацию вызванной электрической активности (ВА) данного МН. Отведение активности исследуемых МН проводили стеклянными микроэлектродами с диаметром кончика 1 - 2 микрон, заполненными 2М раствором NaCl, в дорзо-вентральном направлении в сером веществе передних рогов поясничного отдела СМ в области МН (IX пластинка по Рекседу). Регистрацию ФА и ВА МН проводили с помощью специально разработанной программы, обеспечивающей в режиме on-line селекцию спайков посредством амплитудной дискриминации спайков и последующим построением кумулятивной импульсной гистограммы для выбора необходимого режима записи ФА и ВА одиночного МН. Анализ полученных данных осуществляли по подробно описанному алгоритму [10].

Результаты исследований и их обсуждение. На рисунке приведены примеры кумулятивных (пункты 1 - 5, а, б) и суммированных (пункты 1 - 5, в) престаимпульсных и постстимульных гистограмм ФА и ВА одиночного МН СМ (глубина 1300 микрон) у интактных животных (пункт 1, а-в); у животных, получавших в течение 1 месяца внутримышечные инъекции ДЭФ (глубина 1300 микрон, пункт 2, а-в); у животных с ГМС СМ (глубина 1300 микрон,

пункт 3, а-в); у животных с ГМС СМ, получавших ДЭФ в течение 1 месяца в место повреждения СМ в дозе 500 мкг/кг индивидуально (глубина 1300 микрон, пункт 4, а-в); у животных с ГМС СМ, получавших ДЭФ в течение 2 месяцев в место повреждения СМ в дозе 200 мкг/кг индивидуально (глубина 1300 микрон, пункт 5, а-в).



Примеры кумулятивных (а) и суммированных (в) пре- и постстимульных гистограмм внеклеточной фоновой и вызванной активности: одиночных мотонейронов вентрального рога спинного мозга крыс в норме (1, а-в); у крыс, получавших ДЭФ в течение 1 месяца в дозе 200 мкг/кг (2, а-в); у крыс с левосторонней латеральной гемисекцией спинного мозга (3, а-в); у крыс с левосторонней латеральной гемисекцией спинного мозга, получавших в течение 1 месяца ДЭФ в дозе 500 мкг/кг (4, а-в); у крыс с левосторонней латеральной гемисекцией спинного мозга, получавших в течение 2 месяцев ДЭФ в дозе 200 мкг/кг (5, а-в). Глубина отведения всех 5-мотонейронов 1300 микрон.

На "а": ордината — число импульсов до и после стимуляции нерва, абсцисса — время регистрации импульсного потока; на "б": картина импульсного потока после стимуляции нерва в избранном интервале времени; на "в": ордината — процент импульсов (в бинах) от числа проб, абсцисса — последовательность бинов.

Согласно данным пункта 1, а, кумулятивные кривые (1, 2) до и после раздражения на фоне действия ДЭФ ФА МН (пункт 2, а, 2) трансформируются в пачечную (патологическую) активность с сохранением и увеличением вызванного синаптического ответа, что говорит об усилении действия ДЭФ. Что касается импульсного потока (пункт 1, б), то здесь после введения ДЭФ (доза 200 мкг/кг массы тела) он представлен регулярным видом фонового разряда МН (пункт 2, б). Аналогичные сдвиги с увеличением вызванного ответа в 2 - 3 раза отражены на суммарных гистограммах (пункт 2, в), а при действии ГМС – на кумулятивных и суммированных гистограммах (пункт 3, а-в). Вместе с тем при ГМС СМ ДЭФ (доза 200 мкг/кг массы тела) ФА не трансформируется в пачечный ответ, т. е. сохраняется нормальный вид регулярного разряда МН (пункт 5, а-в). Более высокие дозы ДЭФ (500 мкг/кг массы тела) оказывают патологическое влияние на ФА МН, проявляются в виде пачек (пункт 4, а-в), что говорит об оптимальной дозе ДЭФ при ГМС, составляющей 200 мкг/кг массы тела.

Аналогичные электрофизиологические показатели у крыс группы 2, получавших ДЭФ в дозе 500 мкг/кг массы тела, были зарегистрированы и при использовании ДЭФ в дозе 200 мкг/кг массы тела (пункт 2, а-в) при значительно худшем их клиническом состоянии (изменение шерстяного покрова, пигментация кожи, потеря ориентации и зрения), как следствие вероятной высокой степени токсичности использованной дозы. Результаты ранее проведенных исследований по изучению действия холиновых производных [11 - 15], а также настоящие данные по изучению действия ДЭФ на ФА и БА одиночных МН поврежденного СМ, позволяют прийти к заключению о протекторном действии ДЭФ после ГМС СМ.

Институт тонкой органической химии им. А. Л. Миндзояна НАН РА

Т. К. Киприян, В. О. Топузян, И. Р. Карапетян, Т. С. Хачатрян

Влияние йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира

N-(п-метоксибензоил)-DL-фенилаланина на фоновую и вызванную активность одиночных мотонейронов спинного мозга до и после его гемисекции

Сбсуждается вопрос применения йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира N-(п-метоксибензоил)-DL-фенилаланина в норме и при левосторонней латеральной гемисекции спинного мозга у крысы. Полученные результаты свидетельствуют о протекторном эффекте йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира

N-(n-метоксибензоил)-DL-фенилаланина на фоновую и вызванную электрическую активность одиночных мотонейронов спинного мозга крысы с левосторонней латеральной гемисекцией. Регистрация и анализ вызванной активности одиночных мотонейронов спинного мозга проводились посредством специальных компьютерных программ в режиме on-line.

Թ. Կ. Կիպրիյան, Վ. Օ. Թոփուզյան, Ի. Ռ. Կարապետյան, Տ. Ս. Խաչատրյան

Յոդմեթիլատ 2-(դիմեթիլամինա) էթիլ N-(n-մեթոքսիբենզոիլ)-DL-ֆենիլալանինի եթերի ազդեցությունը ողնուղեղի առանձին մոտոնեյրոնների ֆոնային եւ հարուցված ակտիվության վրա նրա կիսահատումից առաջ եւ հետո

Ուսումնասիրվել է յոդմեթիլատ 2-(դիմեթիլամինա) էթիլ N-(n-մեթոքսիբենզոիլ)-DL-ֆենիլալանինի եթերի ազդեցությունը առնետների ողնուղեղի առանձին մոտոնեյրոնների էլեկտրական ակտիվության փոփոխության վրա նորմայում եւ ձախակողմյան կիսահատման ժամանակ: Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս յոդմեթիլատ 2-(դիմեթիլամինա) էթիլ N-(n-մեթոքսիբենզոիլ)-DL-ֆենիլալանինի եթեր ստացող առնետների մոտ ողնուղեղի առանձին մոտոնեյրոնների ֆոնային եւ հարուցված ակտիվության ստույգ բարելավման էֆեկտ: Ողնուղեղի առանձին մոտոնեյրոնների էլեկտրական ակտիվության գրանցումը կատարված է համակարգչային հատուկ ծրագրերով on-line ռեժիմում:

T. K. Kipriyan, V. O. Topuzyan, I. R. Karapetyan, T. S. Khachatryan

**Iodmethylate 2-(Dimethylamino) Ethyl N-(n-Metoxybenzoil)-DL-Fenilalanyn Ester
Influence on Background and Evoked Activity of Spinal Cord Single Motoneurons
before and after its Hemisection**

In these series of investigations the question of the use of one of choline esters: iodmethylate 2-(dimeylamino) etyl N-(n-metoxybenzoil)-DL-fenilalanyn ester on rats in norm and with the left-side lateral hemisection of spinal cord is discussed. The obtained results show the protective effect of iodmethylate 2-(dimeylamino) ethyl N-(n-metoxybenzoil)-DL-fenilalanyn ester on background and evoked activity of single spinal motoneurons of rats with left-side lateral hemisection. The registration and analysis of the evoked activity of single motoneurons of spinal cord of rats is done by means of the special computer programs in on-line mode.

Литература

1. Матинян Л. А., Андреасян А. С., Киприян Т. К., Хачатрян Т. С. - *Вопр. теоретической и клинической медицины*. 2003. Т. 6. N 4 (30). С. 5 - 7.
2. Babu R. S., Namasivayam A. - *Synapse*. 2008. V. 62. N 6: P. 432 - 447.
3. De Almeida H. L., Fiss R. C. - *Dermatol. Online. J.* 2008. V. 14. N 11. P. 18.
4. Fawcett J. V. - *Rehabil. Med.* 2008. V. 9. N 40. P. 780 - 782.
5. Матинян Л. А., Нагапетян Х. О., Андреасян А. С., Киприян Т. К., Хачатрян Т. С. - *Вестник МАНЭБ*. 2007. Т. 12. N 4. Вып. 2. С. 157 - 159.
6. Мнджоян О. Л., Топузьян В. О. - *Успехи химии*. 1981. Т. 50. Вып. 12. С. 2198 - 2211.
7. Grigoryan H. A., Hambardzumyan A. A., Mkrtchyan M. V., Topuzyan V. O., Halebyan G. P., Astryan R. S. - *Chem. Biol. Interact.* 2008. V. 171. N 1. P. 108 - 116.
8. Brown M., Davies I. M., Moffat C. F., Redshaw J., Craft J. A. - *Mar. Environ. Res.* 2004. V. 57. N 3. P. 155 - 169.
9. Holmes - McNary M. Q., Cheng W. L., Mar M. H., Fussel S., Zeisel S. H. - *Am. J. Clin. Nutr.* 1996. V. 64. N 4. P. 572 - 576.
10. Хачатрян Т. С. - *Биолог. журн. Армении*. 2007. Т. 59. N 3 - 4. С. 198 - 202.
11. Masson P., Froment M. T., Gillon E., Nachon F., Lockridge O., Schopfer L. M. - *Biochim. Biophys. Acta.* 2007. V. 1774. N 1. P. 16 - 34.
12. Eibl K. H., Lewis G. P., Betts K., Linberg K. A., Gandorfer A., Kampik A., Fisher S. K. - *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2007. V. 48. N 3. P. 1305 - 1311.
13. Di Venosa G., Hermida L., Battle A., Fukuda H., Defain M. V., Mamone L., Rodriguez L., MacRobert A., Casas A. - *Photochem. Photobiol.* 2008. V. 92. N 1. P. 1 - 9.
14. Zeisel S. H. - *Am. J. Clin. Nutr.* 2000. V. 905. N 19. P. 528 - 531.
15. Rouleau P., Unq R. V., Lapointe N. P., Guertin P. A. - *Neurotrauma*. 2007. V. 24. N 2. P. 367-378.