

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

**Влияние йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира N-(п-метоксибензоил)-DL-фенилаланина на фоновую и вызванную активность одиночных пирамидных нейронов IV слоя коры больших полушарий головного мозга крыс при латеральной гемисекции спинного мозга**

**Т.К. Киприян, В.О. Топузян, И.Р. Карапетян,  
Э.Ю. Арутюнян, Т.С. Хачатрян**

*Институт тонкой органической химии  
им. А. Л. Мнджояна НАН РА*

*Ереванский базовый медицинский колледж № 1  
0014, Ереван, пр. Азатутян, 26*

**Ключевые слова:** йодметилат 2-(диметиламино) этилового эфира N-(п-метоксибензоил)- DL- фенилаланина, головной мозг, гемисекция, пирамидные нейроны, фоновая активность, вызванная активность, кора больших полушарий, спинной мозг

Одной из важнейших проблем современной биологии и медицины является проблема восстановления функций при повреждениях спинного мозга (СМ) у млекопитающих [3-5]. В условиях указанной патологии наблюдается стойкость соматических и нейрогенных нарушений, которая является причиной инвалидизации большинства больных с поражением СМ и нарушением проводимости нервных импульсов [6-8]. В корригировании последних немаловажную роль играют эфиры холина, в частности ацетилхолина, заслуживающего существенного внимания с точки зрения особенностей его синтеза и биологической активности [1]. Вместе с тем отсутствуют сведения относительно применения холиновых производных при повреждениях СМ различной степени выраженности и их действия на пирамидные нейроны (ПН) IV слоя коры больших полушарий (КБП) головного мозга.

Исходя из поиска оптимальных средств, стимулирующих и благоприятствующих росту волокон повреждённых путей СМ, и с учётом вышеотмеченных особенностей холиновых эфиров, нами предпринята попытка исследовать действие одного из холиновых



эфиров: йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира N-(п-метоксибензоил)-DL-фенилаланина (ДЭФ), синтезированного в Институте тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна НАН РА под руководством д. х. н. Топузяна В. О., на одиночные ПН IV слоя КБП крыс в норме и при экспериментальных повреждениях СМ типа гемисекций (ГМС).

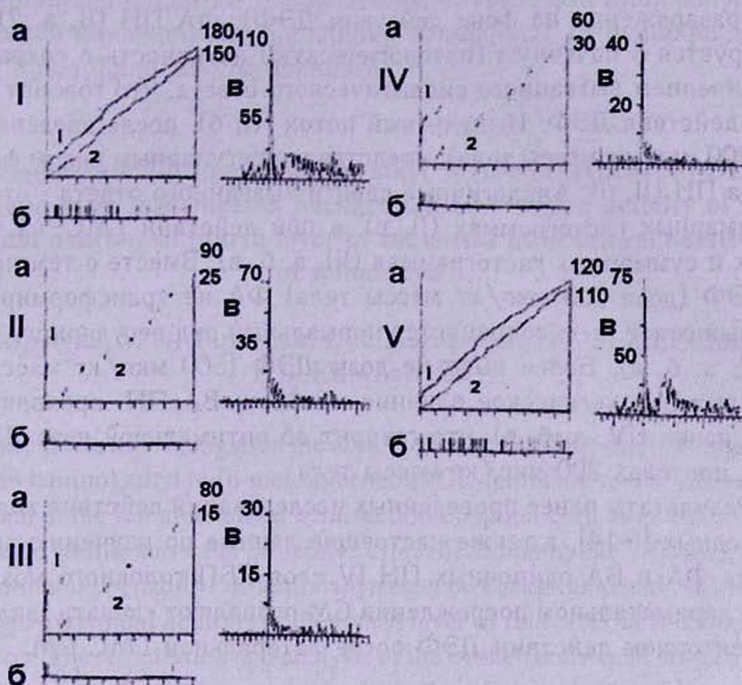
## Материал и методы

Эксперименты проведены на 50 белых крысах-самцах массой 200 – 210 г в 5 подопытных группах по 10 животных в каждой группе: I – интактные животные; II – животные, из которых 5 получали в течение 1 месяца внутримышечные инъекции ДЭФ в дозе 200 мкг/кг массы тела индивидуально, а для остальных 5 – дозировка составляла 500 мкг/кг массы тела индивидуально; III – животные с левосторонней латеральной ГМС СМ на уровне Т8-Т9; IV – 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; V – 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 предпринята, исходя из токсичности данного препарата с учётом интенсивности спинномозгового повреждения. Электрофизиологические эксперименты проводили после клинических наблюдений и дачи препарата подопытным животным. Производили экстраклеточную регистрацию спонтанной фоновой активности (ФА) и вызванной электрической активности (ВА) одиночного ПН IV слоя КБП крыс в ответ на раздражение седалищного нерва. Отведение активности исследуемых ПН проводили стеклянными микроэлектродами с диаметром кончика 1-2 мк, заполненными 2М раствором NaCl, стереотаксически ориентированными в IV слой КБП крыс. Регистрацию ФА и ВА ПН проводили с помощью математической 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 ПН IV слоя КБП. Анализ полученных данных осуществляли по специально разработанному алгоритму [2].

## Результаты и обсуждение

На рисунке приведены примеры кумулятивных (I-V, а, б) и суммированных (I-V, в) престаимпульных и постстимульных гистограмм ФА и ВА одиночного ПН IV слоя КБП (глубина 900 мк) у интактных





**Рисунок.** Примеры кумулятивных (а) и суммарных (в) престимульных и постстимульных гистограмм внеклеточной фоновой и вызванной активности одиночных пирамидных нейронов IV слоя коры больших полушарий головного мозга крыс в норме (I, а, б, в); у крыс, получавших ДЭФ в течение 1 месяца в дозе 200 мкг/кг (II, а, б, в); у крыс с левосторонней латеральной гемисекцией спинного мозга (III, а, б, в); у крыс с левосторонней латеральной гемисекцией спинного мозга, получавших в течение 1 месяца ДЭФ в дозе 500 мкг/кг (IV, а, б, в); у крыс с левосторонней латеральной гемисекцией спинного мозга, получавших в течение 2 месяцев ДЭФ в дозе 200 мкг/кг (V, а, б, в).

Глубина отведения всех 5 пирамидных нейронов – 900 мк.

На «а»: ордината – число импульсов до (1) и после (2) 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

животных (I, а, б, в); у животных, получавших в течение 1 месяца внутримышечные инъекции ДЭФ (глубина 900 мк, II, а, б, в); у животных с ГМС СМ (глубина 900 мк, III, а, б, в); у животных с ГМС СМ, получавших ДЭФ в течение 1 месяца в место повреждения СМ в дозе 500 мкг/кг (глубина 900 мк, IV, а, б, в); у животных с ГМС СМ, получавших ДЭФ в течение 2 месяцев в место повреждения СМ в дозе 200 мкг/кг (глубина 900 мк, V, а, б, в).



Согласно данным рисунка (I, а, 1, 2—кумулятивные кривые до и после раздражения на фоне действия ДЭФ), ФА ПН (II, а, 2) трансформируется в пачечную (патологическую) активность с сохранением и увеличением вызванного синаптического ответа, что говорит об усилении действия ДЭФ. Импульсный поток (I, б), после введения ДЭФ (доза 200 мкг/кг массы тела), представлен регулярным видом фонового разряда ПН (II, б). Аналогичные сдвиги вызванного ответа отражены на суммарных гистограммах (II, в), а при действии ГМС—на кумулятивных и суммарных гистограммах (III, а, б, 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 ПН (V, а, б, в). Более высокие дозы ДЭФ (500 мкг/кг массы тела) оказывают патологическое влияние на ФА и ВА ПН, проявляющееся в виде пачек (IV, а, б, в), что говорит об оптимальной дозе ДЭФ при ГМС в пределах 200 мкг/кг массы тела.

Результаты ранее проведенных исследований действия холиновых производных [9-14], а также настоящие данные по изучению действия ДЭФ на ФА и ВА одиночных ПН IV слоя КБП головного мозга крыс при экспериментальном повреждении СМ позволяют сделать заключение о протекторном действии ДЭФ после латеральной ГМС СМ.

*Поступила 25.02.09*

**Յողմերիլատ 2-(դիմերիլամինո) էթիլ N-(n-մեթոքսիբենզոիլ)-DL-ֆենիլալանինի էսթերի ազդեցությունը գլխուղեղի կեղևի IV շերտի առանձին բուրգաձև նյարդաբջիջների ֆոնային և հարուցված ակտիվության փոփոխության վրա լատերալ կիսահատման ժամանակ**

**Թ. Կ. Կիսրիյան, Վ. Օ. Թոփուլյան, Ի. Ռ. Կարապետյան,  
Է. Յու. Հարությունյան, Տ. Ս. Խաչատրյան**

Ուսումնասիրվել է յողմերիլատ 2-(դիմերիլամինո) էթիլ N-(n-մեթոքսիբենզոիլ)-DL-ֆենիլալանինի էսթերի ազդեցությունը առնետների գլխուղեղի կեղևի IV շերտի առանձին բուրգաձև նյարդաբջիջների ֆոնային և հարուցված ակտիվության փոփոխության վրա՝ նորմալում և ձախ կողմային կիսահատման ժամանակ:

Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս յողմերիլատ 2-(դիմերիլամինո) էթիլ N-(n-մեթոքսիբենզոիլ)-DL-ֆենիլալանինի էսթեր ստացող առնետների մոտ գլխուղեղի կեղևի IV շերտի առանձին բուրգաձև նյարդաբջիջների ֆոնային և հարուցված ակտիվության ստույգ բարելավման էֆեկտ:



Գլխուղեղի կեղևի IV շերտի առանձին բուրգաձև նյարդաբջջիկների էլեկտրական ակտիվության գրանցումը կատարված էր համակարգչային հատուկ ծրագրերով *on-line* ռեժիմում:

**Iodmethylate 2-(dimethylamino) ethyl N-(n-metoxibenzoil)-DL-fenilalanyn ester influence on background and evoked activity of single pyramidal neurons of fourth layer of rat cortex after lateral hemisection of spinal cord**

**T. K. Kipriyan, V. O. Topuzyan, I. R. Karapetyan, E. Yu. Harutiunyan, T. S. Khachatryan**

In the series of investigation the effects of one of choline esters iodmethylate 2-(dimethylamino) ethyl N-(n-metoxibenzoil)-DL-fenilalanyn ester on rat cortex in norm and at the left side lateral hemisection of spinal cord have been studied. The obtained results show the protective effect of iodmethylate 2-(dimeylamino) ethyl N-(n-metoxibenzoil)-DL-fenilalanyn ester on background and evoked activity of single pyramidal neurons of the fourth layer of rat cortex at left side lateral hemisection. The registration and analysis of the evoked activity of single pyramidal neurons of the fourth layer of rat cortex have been conducted by means of special computer programs in on-line mode.

## Լիտերատուրա

1. *Մոճոյան Օ. Լ., Տոփուզյան Վ. Օ.* Методы синтеза и свойства в-диметиламиноэтиловых и холиновых эфиров аминокислот и пептидов. Успехи химии, 1981, т. L, 12, с. 2198 – 2211.
2. *Խաչատրյան Թ. Ս.* Действие лидазы и тироксина на фоновую электрическую активность одиночных пирамидных нейронов коры больших полушарий крыс. Биол. журн. Армении, 2007, т. 59, 3–4, с. 198 – 202.
3. *Anderson C. J., Vogel L. C., Chlan K. M., Betz R. R.* Coping with spinal cord injury: strategies used by adults who sustained their injuries as children or adolescents. J. Spinal Cord Med., 2008, 31, v. 3, p. 290 – 296.
4. *Brown M., Davies I. M., Moffat C. F., Redshaw J., Craft J. A.* Characterisation of choline esterases and their tissue and subcellular distribution in mussel (*Mytilus edulis*). J. Mar. Environ. Res., 2004, 57, v. 3, p. 155 – 169.
5. *De Almeida H. L., Fiss R. C.* Scar sarcoidosis with a 50-year interval between an accident and onset of lesions. J. Dermatol. Online. J., 2008, 14, v. 11, p. 18.
6. *Eibl K. H., Lewis G. P., Betts K., Linberg K. A., Gandorfer A., Kampik A., Fisher S. K.* The effect of alkylphosphocholines on intraretinal proliferation initiated by experimental retinal detachment. J. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2007, 48, v. 3, p. 1305 – 1311.
7. *Fawcett J. V.* Bridging spinal cord injuries. J. Rehabil. Med., 2008, 40, v. 9, p. 780 – 782.
8. *Goldren J. B., Onge M. F.* Effect of L-thyroxin and enzyme treatments following spinal cord transection in rats. J. Anatomical Record, 1977, 4, v. 187, p. 586.
9. *Grigoryan H. A., Hambardzumyan A. A., Mkrtchyan M. V., Topuzyan V. O., Halebyan G. P., Astryan R. S.* Alpha,beta-Dehydrophenylalanine choline esters, a new class of reversible inhibi-

- tors of human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *J. Chem. Biol. Interact.*, 2008, 171, v. 1, p. 108 – 116.
10. Holmes – McNary M. Q., Cheng W. L., Mar M. H., Fussel S., Zeisel S. H. Choline and choline esters in human and rat milk and in infant formulas. *J. Am. J. Clin. Nutr.*, 1996, 64, v. 4, p. 572 – 576.
  11. Imai M. Watanabe M., Suyama K., Osada T., Sakai D., Kawada H., Matsumae H., Moshida J. Delayed accumulation of activated macrophages and inhibition of remyelination after spinal cord injury in adult rodent model. *J. Neurosurg. Spine.*, 2008, 8, v. 1, p. 58 – 66.
  12. Masson P., Froment M. T., Gillon E., Nachon F., Lockridge O., Schopfer L. M. Hydrolysis of oxo- and thio-esters by human butyrylcholinesterase. *J. Biochim. Biophys. Acta*, 2007, 1774, v. 1, p. 16 – 34.
  13. Rouleau P., Ung R. V., Lapointe N. P., Guertin P. A. Hormonal and immunological changes in mice after spinal cord injury. *J. Neurotrauma*, 2007, 24 (2), p. 367-378.
  14. Zeisel S. H. Choline: Needed for Normal Development of Memory. *J. Am. J. Clin. Nutr.*, 2000, 905, v. 19, p. 528 – 531.