

НОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-6-35-38

ДЕЙСТВИЕ НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ЭМОПАГ НА НЕЙРОНЫ КОРЫ БОЛЬШОГО МОЗГА И КОРЫ МОЗЖЕЧКА У КРОЛИКОВ

Вик. В. Яснецов¹, Т. А. Воронина², С. Я. Скачилова³, В. В. Яснецов¹

В экспериментах на бодрствующих необездвиженных кроликах новый отечественный лекарственный препарат эмопаг (при пневмомикроинъекции) оказывал прямое влияние на большинство (71 %) нейронов сенсомоторной коры большого мозга: он вызывал как тормозные (у 40 % клеток), так и активационные (у 31 % клеток) реакции, в отличие от мексидола, который, главным образом, угнетал спонтанную активность нейронов (у 56 % клеток). На фоне действия специфического блокатора глутаматных AMPA-рецепторов NBQX возбуждающее влияние эмопага на спонтанную активность у 93 % клеток полностью предотвращалось или существенно ослаблялось. У тех же кроликов, находящихся в условиях общей анестезии барбитуратами, эмопаг оказывал прямое влияние на большинство (87 %) клеток Пуркинье, вызывая как возбуждение (у 49 % нейронов), так и их угнетение (у 38 %). На фоне действия NBQX возбуждающее влияние эмопага на спонтанную активность у 100 % нейронов полностью предотвращалось или существенно ослаблялось. Следовательно, и сенсомоторная кора большого мозга, и кора мозжечка играют важную роль в реализации центрального действия эмопага у животных. При этом его возбуждающий эффект обусловлен активацией AMPA-рецепторов.

Ключевые слова: эмопаг; сенсомоторная кора большого мозга; клетки Пуркинье; AMPA-рецепторы; кролики.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время известны 3 оригинальных отечественных лекарственных средства, принадлежащих к классу производных 3-гидроксипиридина, — метилэтилпиридиол (лекарственный препарат эмоксипин), этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол, нейрокс, мексикор и др.) и этилметилгидроксипиридина малат (этоксидол), которые широко применяют в различных областях медицины [2, 3].

В результате многолетних исследований был создан новый отечественный лекарственный препарат эмопаг (этилметилгидроксипиридина ацетилглутаминат; ЗАО «ФармФирма «Сотекс»), обладающий выраженными антиамнестическими свойствами у животных [10] и успешно прошедший фазу III клинического исследования у пациентов с когнитивными нарушениями сосудистого происхождения.

Для исследования локализации и механизма действия эмопага на нейронном уровне были выбраны у животных 2 структуры головного мозга, а именно сенсомоторная кора большого мозга и мозжечок. Выбор этих структур был обусловлен следующими соображениями.

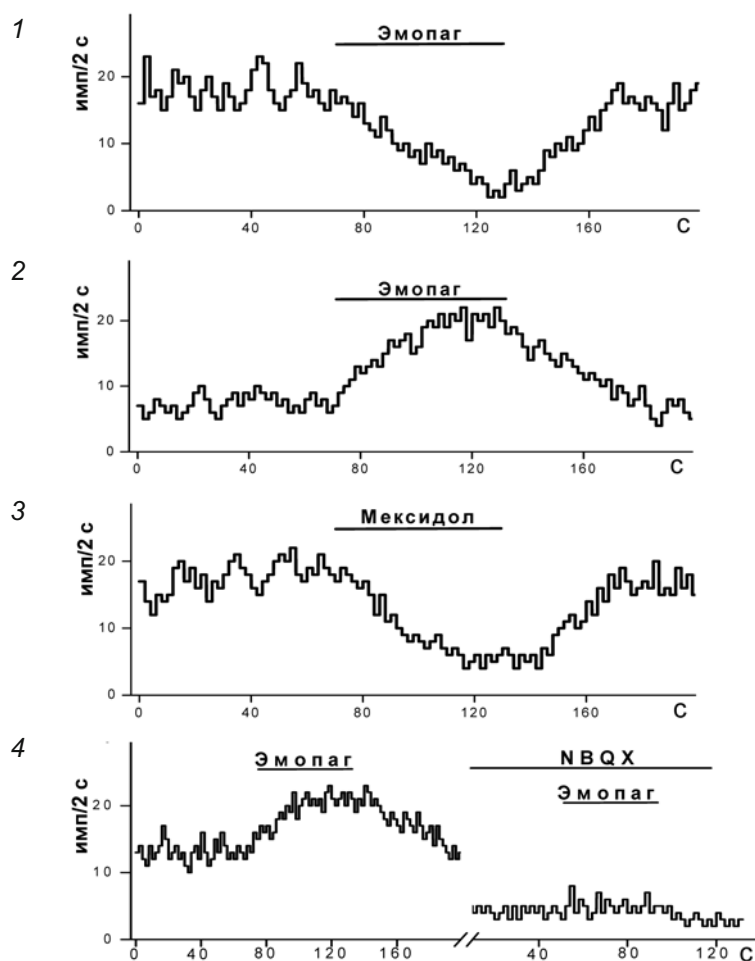
Как известно, у животных сенсомоторная кора не только осуществляет мультисенсорную конвергенцию соматической и висцеральной импульсации и ее пластичность, но и формирует кортикофугальные влияния, играя узловую роль в сенсомоторной интеграции, и доминантную рабочую систему целенаправленного поведенческого акта. Также она принимает участие в организации разнообразных форм адаптивного поведения, условнорефлекторной деятельности, осуществлении когнитивной функции и др. [1, 11, 12, 15].

Согласно современным представлениям, мозжечок участвует не только в моторном контроле и осуществлении вестибулярной функции, но и играет важнейшую роль во всех высших функциях мозга — внимании, мышлении, памяти, планировании и принятии решений, и даже нужен для творчества и др. [5, 13, 14]. При этом ключевой элемент мозжечка — клетки Пуркинье — представляют собой высококодифференцированные нейроны с обширным ветвлением дендритов и различными типами многочисленных синаптических

¹ ФГБУН «Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук», Россия, 123007, Москва, Хорошевское шоссе, 76А.

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В. В. Закусова», Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8.

³ АО «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ», Россия, 142450, Московская область, Ногинский район, г. Старая Купавна, ул. Кирова, 23.



Влияние эмопага и мексидола (при пневмомикроинъекции), а также NBQX (микроионофоретическая аппликация) на спонтанную активность нейронов сенсомоторной коры большого мозга кроликов.

Горизонтальная черта над гистограммой обозначает время пневмомикроинъекции/микроионофореза вещества; по оси абсцисс — время, с; по оси ординат — частота потенциалов действия нейронов, имп/с. 1–4 — разные нейроны: 1 — эмопаг (давление 3 psi \approx 20,7 кПа); 2 — эмопаг (давление 5 psi \approx 34,5 кПа); 3 — мексидол (давление 4 psi \approx 27,6 кПа); 4 — эмопаг (давление 4 psi \approx 27,6 кПа), NBQX (ток — 10 нА).

контактов и обеспечивают единственный выход из мозжечка, являясь ГАМК-ергическими.

Поэтому задачей настоящей работы явилось исследование действия эмопага на нейроны коры большого мозга и коры мозжечка у кроликов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на 14 взрослых нелинейных кроликах-самцах массой 3,1–3,9 кг (филиал “Электрогорский” ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, Московская область). Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики и приказу Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016 N 199н “Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики”. Исследования выполнены с соблюдением национальных и международных требований по содержанию и гуманному обращению с животными. Предварительные хирургические манипуляции (скальпирование, трепанация черепа и др.) осуществляли под общей анестезией гексеналом (внутривенно в дозе

40 мг/кг; лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения, “МедПро Инк. Лтд”, Латвия). Затем кролика мягко фиксировали за лапы на экспериментальном столике. Сначала изучали нейроны, находящиеся в фокусе максимальной активности седлищного нерва сенсомоторной коры и отвечающие на ноцицептивное электрокожное раздражение (ЭКР) возбуждением. Внеклеточную регистрацию биоэлектрической активности отдельных корковых нейронов (через 2,5–3 ч после введения гексенала) и микроионофорез/пневмомикроинъекцию веществ осуществляли с помощью многоканальных микроэлектродов и электрофоретического/пневматического иньектора (Harvard/Medical Systems Neuro Phore System /BH-2/; Warner Instruments, США). Регистрирующий и компенсирующий каналы заполняли 3 М раствором натрия хлорида. В ходе опыта для сенсомоторной коры оценивали спонтанную и вызванную ЭКР активность нейронов. Боковые каналы микроэлектрода заполняли свежеприготовленными растворами эмопага (этилме-

тилгидроксипиридина ацетилглутаминат в виде действующего вещества, 0,5 М; ООО “Бион”), мексидола (этилметилгидроксипиридина сукцинат в виде действующего вещества, 0,5 М; ООО “Бион”), L-глутамата (0,5 М; “Serva”, ФРГ) и NBQX (0,004 М; “Tocris”, Великобритания). Эмопаг и мексидол выводили током положительной полярности силой 10 – 60 нА и/или с помощью пневмомикроинъекции давлением 1 – 20 psi (1 psi ≈ 6 894,76 Па). L-глутамат и NBQX выводили током отрицательной полярности силой 5 – 50 нА. Затем у тех же кроликов вызывали общую анестезию барбитуратами (внутрибрюшинно этаминал-натрий в дозе 40 мг/кг; порошок, Россия), позволяющую в течение длительного времени регистрировать у наркотизированных животных спонтанную активность клеток Пуркинье и осуществлять микроионофорез/пневмомикроинъекцию эмопага и NBQX. Более подробно методика описана нами ранее [6, 9].

Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью программы BioStat 2009 Professional, используя в том числе и непараметрические (точный метод Фишера) методы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У бодрствующих необездвиженных кроликов было исследовано 58 нейронов сенсомоторной области коры большого мозга, обладающих спонтанной активностью и отчетливой реакцией (возбуждение) на ноцицептивное ЭКР. Большинство нервных клеток также имело более обширные афферентные рецептивные поля — наблюдались изменения импульсной активности на такие дополнительные раздражения, как вспышки света и звук.

Эмопаг при пневмомикроинъекции вызывал как тормозные (у 40 % клеток; 23 из 58), так и активационные (у 31 % клеток; 18 из 58) реакции у отдельных нейронов. В отличие от эмопага мексидол (при пневмомикроинъекции), главным образом, угнетал спонтанную активность нейронов (у 56 % клеток; 31 из 55), а возбуждающий эффект встречался только у 6 клеток (11 %). Следовательно, эмопаг и мексидол оказывают прямое влияние на большинство нейронов сенсомоторной коры – к ним чувствительны 67 – 71 % клеток; при этом тормозная реакция на подводимый мексидол встречается в 5,2 раза чаще ($p < 0,001$), чем возбуждающая.

На фоне действия специфического блокатора глутаматных AMPA-рецепторов NBQX (микроионофорез до пневмомикроинъекции эмопага) возбуждающее влияние эмопага на спонтанную активность 14 нейронов коры в 13 случаях (у 93 % клеток) полностью предотвращалось или существенно ослаблялось (рисунок). Это свидетельствует о том, что у указанных нейронов активационное действие эмопага на клетки реализуется через AMPA-рецепторы.

При исследовании действия мексидола на фоне микроионофоретически подводимого NBQX были по-

лучены другие результаты – блокировалось возбуждение лишь у 2 из 6 нейронов, т.е. у 33 % клеток, что статистически достоверно ($p < 0,05$) в 2,8 раза ниже по сравнению с аналогичным влиянием на эффект эмопага.

На фоне действия NBQX (микроионофорез до пневмомикроинъекции эмопага) угнетающее влияние эмопага на спонтанную активность 18 нейронов только в 3 случаях (у 17 % клеток) полностью предотвращалось или существенно ослаблялось. Сходные данные были получены в отношении мексидола: угнетающее влияние препарата на фоне микроионофоретически подводимого NBQX предупреждалось блокатором лишь у 1 (10 %) из 10 нейронов. Это свидетельствует о том, что только у незначительной части (10 – 17 %) нейронов угнетающее влияние эмопага и мексидола на клетки реализуется через AMPA-рецепторы.

У тех же кроликов, но находящихся в условиях общей анестезии барбитуратами, также регистрировали спонтанную активность клеток Пуркинье и осуществляли микроионофорез/пневмомикроинъекцию эмопага и NBQX.

Было зарегистрировано 47 нейронов (не менее 3 у каждого животного).

Эмопаг (при пневмомикроинъекции) вызывал возбуждение у 49 % клеток (23 из 47 нейронов). Угнетение наблюдалось у 38 % (18 из 47) клеток, а 6 нейронов (13 %) были ареактивны.

На фоне действия NBQX (микроионофорез до пневмомикроинъекции эмопага) возбуждающее влияние эмопага на спонтанную активность 15 клеток Пуркинье полностью (у 100 % нейронов) предотвращалось или существенно ослаблялось. Это свидетельствует о том, что у клеток Пуркинье возбуждающее действие эмопага также реализуется через AMPA-рецепторы.

При сравнении с влиянием на нейроны сенсомоторной коры оказалось, что эмопаг в большей степени (значимо в 1,6 раза, $p < 0,05$) активировал клетки Пуркинье.

Наши результаты хорошо согласуются с данными литературы. Так, ранее было установлено, что мексидол и новые производные 3-гидроксипиридина способны оказывать прямое влияние на 61 – 81 % корковых нейронов у кошек. Следует подчеркнуть, что эмопаг — единственное соединение среди 10 испытанных новых веществ из указанного класса с выраженным возбуждающим действием на нейроны. Например, он во много раз (2,4 – 16,3) превосходил по активационному влиянию на корковые нейроны (встречалось у 31 – 49 % клеток) ИБХФ-27, СК-119 и 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина L-аспарагинат (отмечалось у 3, 7, 13 % клеток соответственно) [4, 7 – 9]. При этом возбуждающее действие эмопага реализуется через активацию AMPA-рецепторов.

Итак, можно заключить, что сенсомоторная кора большого мозга и кора мозжечка играют важную роль в реализации центрального действия эмопага у животных.

ВЫВОДЫ

1. У бодрствующих необездвиженных кроликов эмопаг оказывает прямое влияние на большинство (71 %) нейронов сенсомоторной коры большого мозга: он вызывает как тормозные (у 40 % клеток), так и активационные (у 31 % клеток) реакции, в отличие от мексидола, который, главным образом, угнетает спонтанную активность нейронов (у 56 % клеток). На фоне действия специфического блокатора глутаматных AMPA-рецепторов NBQX возбуждающее влияние эмопага на спонтанную активность у 93 % клеток полностью предотвращается или существенно ослабляется.

2. У тех же кроликов, находящихся в условиях общей анестезии барбитуратами, эмопаг оказывает прямое влияние на большинство (87 %) клеток Пуркинье, вызывая как возбуждение (у 49 % нейронов), так и угнетение (у 38 %). На фоне действия NBQX возбуждающее влияние эмопага на спонтанную активность у 100 % нейронов полностью предотвращается или существенно ослабляется.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. С. Батуев, *Нейрофизиология коры головного мозга: модульный принцип организации*, Изд-во Ленингр. ун-та, Ленинград (1984).

2. И. А. Волчегорский, И. Ю. Мирошниченко, Л. М. Рассохина и др., *Ж. неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова*, **117**(5), 52 – 57 (2017).
3. Т. А. Воронина, *Рус. мед. ж.*, **24**(7), 434 – 438 (2016).
4. В. Г. Мотин, Вик. В. Яснецов, А. А. Забозлаев и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **75**(1), 3 – 7 (2012).
5. В. В. Фанарджян, Р. А. Григорьян, *Интегративные механизмы мозжечка: Руководство по физиологии. Частная физиология нервной системы*, Ленинград (1983), сс. 112 – 170.
6. В. В. Яснецов, В. А. Правдивцев, И. Н. Крылова и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **64**(6), 3 – 6 (2001).
7. В. В. Яснецов, В. А. Правдивцев, А. В. Шашков и др., *Авиакосм. и эколог. мед.*, **39**(4), 45 – 50 (2005).
8. В. В. Яснецов, Е. Г. Цублова, Вик. В. Яснецов, С. К. Карсанова, *Авиакосм. и эколог. мед.*, **50**(2), 64 – 68 (2016).
9. В. В. Яснецов, С. К. Карсанова, Вик. В. Яснецов и др., *Авиакосм. и эколог. мед.*, **50**(6), 59 – 63 (2016).
10. Вик. В. Яснецов, С. Я. Скачилова, Л. Н. Сернов и др., *Хим.-фарм. ж.*, **46**(4), 3 – 6 (2012); *Pharm. Chem. J.*, **46**(4), (2012).
11. В. М. Hooks, *Neuroscientist*, **23**(3), 251 – 263 (2017).
12. J. Ni, J. L. Chen, *Eur. J. Neurosci.*, **46**(8), 2315 – 2324 (2017).
13. L. S. Popa, T. J. Ebner, *Front. Cell Neurosci.*, **12**, 524 (2019).
14. M. Sobczak-Edmans, Y. C. Lo, Y. C. Hsu, et al., *Front. Hum. Neurosci.*, **12**, 530 (2019).
15. D. Yao, B. J. Sessle, *Exp. Brain Res.*, **236**(5), 1357 – 1368 (2018).

Поступила 06.05.19

EFFECT OF THE NEW DOMESTIC DRUG EMOPAG ON NEURONS OF CEREBRAL CORTEX AND CEREBELLAR CORTEX IN RABBITS

Vic. V. Yasnetsov¹, T. A. Voronina², S. Ya. Skachilova³, and V. V. Yasnetsov¹

¹ Institute of Biomedical Problems, State Scientific Center of the Russian Federation, Russian Academy of Sciences, Khoroshevskoe shosse 76a, Moscow, 123007 Russia

² V. V. Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiyskaya 8, Moscow, 125315 Russia

³ All-Russia Center for Safety Testing of Biologically Active Substances, ul. Kirova 23, Staraya Kupavna, Moscow oblast, 142450 Russia

The new domestic drug emopag (pneumatic microinjection) had a direct effect on the majority (71%) of neurons of sensorimotor cortex in awake non-immobilized rabbits: it caused inhibitory (in 40% of cells), and excitatory (in 31% cells) responses in contrast to mexidol, which mainly depressed spontaneous the activity of neurons (in 56 % of cells). Competitive AMPA receptor antagonist NBQX completely prevented or significantly attenuated the stimulating effect of emopag on spontaneous activity in 93% of cells. Emopag produced a direct effect on the majority (87%) of Purkinje cells, causing both excitation (in 49% of neurons) and inhibition (in 38%) in the same rabbits under general anesthesia with barbiturates. NBQX completely prevented or significantly attenuated the stimulating effect of emopag on spontaneous activity in 100 %of neurons. Therefore, both sensorimotor cortex and the cerebellar cortex play an important role in implementation of the central action of emopag in animals, and its exciting effect is due to the activation of AMPA receptors.

Keywords: emopag; sensorimotor cortex; Purkinje cells; AMPA receptors; rabbits.