

УДК: 612.014.46:615.214:547.859:547.918

ВЛИЯНИЕ ВИАГРЫ И ЕЕ КОМПЛЕКСОВ С ТРИТЕРПЕНОВЫМИ ГЛИКОЗИДАМИ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ МОЛЛЮСКА *HELIX ALBESCENS*

*Колотилова О.И.¹, Яковишин Л.А.², Коренюк И.И.¹, Гришковец В.И.¹,
Хусаинов Д.Р.¹, Гамма Т.В.¹*

¹ *Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина*

² *Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Украина*

E-mail: oxy1978@mail.ru

С помощью внутриклеточного отведения исследовано влияние виагры в чистом виде и в комплексе с двумя тритерпеновыми гликозидами на электрическую активность неидентифицированных нейронов висцерального ганглия виноградной улитки. Продемонстрированы противоположно направленные нейротропные эффекты виагры и ее комплексов с тритерпеновыми гликозидами: аппликация виагры приводила к активации нейронов, в то время как приложение комплексов моно- и бисдесмозидного тритерпеновых гликозидов на сому нейронов вызывало угнетение активности нервных клеток.

Ключевые слова: моно- и бисдесмозидные тритерпеновые гликозиды, виагра, молекулярный комплекс, нейроны, нейротропные эффекты.

ВВЕДЕНИЕ

В клинической практике для коррекции эректильной дисфункции широко используется препарат силденафила цитрат (виагра). Логично предположить, что данный препарат при этом может оказывать влияние и на нервную систему (НС). На это указывает и тот факт, что его применение вызывает много побочных эффектов, связанных с нарушением функционирования НС (головная боль, головокружение, приливы, снижение артериального давления, бессонница и т.д.). Однако, ни нейро-, ни психотропные эффекты виагры до настоящего времени не исследованы.

В проведенных ранее нами исследованиях впервые было показано, что бисдесмозидные тритерпеновые гликозиды (ТТГ) в концентрациях 10^{-5} – 10^{-2} М не влияют на фоновую активность нейронов, а монодесмозидные ТТГ – оказывают угнетающее действие на электрическую активность как идентифицированных, так и неидентифицированных нейронов [1, 2].

Учитывая то, что в настоящее время проблема психофармакологической коррекции функционального состояния организма становится все более актуальной, постоянно ведется поиск новых эффективных препаратов с минимальными побочными эффектами. Так, в последнее время были созданы комплексы, включающие виагру с моно- и бисдесмозидным ТТГ. Следует отметить, что гликозиды, входящие в состав этого комплекса, являются действующими

веществами противокашлевых препаратов «Геделикс» и «Проспан», созданных на основе экстракта листьев *Hedera helix* [3, 4]. В литературе отсутствуют сведения о их нейротропном влиянии. Поэтому целью настоящего исследования было выявление наличия направленности нейротропных эффектов препарата виагра в чистом виде и в составе двух новых синтезированных ее комплексов с моно- и бисдесмозидными ТТГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эффекты аппликации виагры (рис. 1, А) исследованы на 21-ом, комплекса виагра и монодесмозидного ТТГ (рис. 1, Б) – на 20-и, и комплекса виагра с бисдесмозидным ТТГ (рис.1, В) – на 20-и неидентифицированных нейронах висцерального ганглия моллюска *Helix albescens* Rossm.

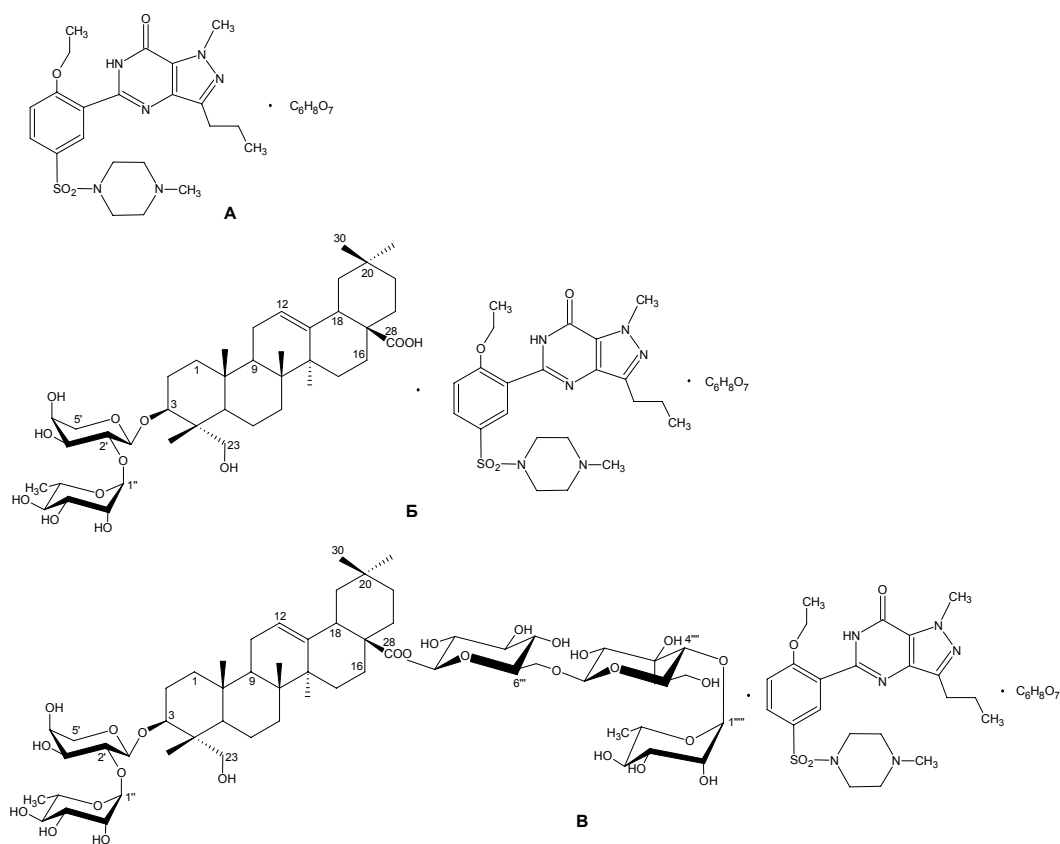


Рис. 1. Структурные формулы: А – силденафила цитрат (виагра); Б – комплекс 3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозида хедерагенина с цитратом силденафила (комплекс 1); В – комплекс 3-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→2)-О-α-*L*-арабинопиранозил-28-О-α-*L*-рамнопиранозил-(1→4)-О-β-*D*-глюкопиранозил-(1→6)-О-β-*D*-глюкопиранозида хедерагенина с цитратом силденафила (комплекс 2).

Эксперименты выполнялись по общепринятой методике внутриклеточного отведения биопотенциалов [5]. Процедура исследования активности каждого нейрона проводилась по схеме: фон – 1-1,5 мин, экспозиция вещества в концентрации 10^{-4} М – 5-6 мин и 20 мин отмывания. Параметры потенциалов усреднялись за каждый период записи. Полученные данные обрабатывали с использованием непараметрического критерия Вилкоксона. Данные представлены как средние значения \pm ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние виагры на параметры электрических потенциалов нейронов

На Рис. 2, А представлен типичный эффект аппликации виагры на один из нейронов висцерального ганглия виноградной улитки. Через 10 сек после прямого приложения виагры на мембрану нейрона снижается амплитуда потенциалов действия (ПД), и на 200-350 секундах экспозиции происходит увеличение частоты генерации импульсов (ЧГИ), которое превышает фоновый уровень примерно на 200 %. Однако, усредненные за весь период экспозиции данные ЧГИ для виагры составили $122,0 \pm 23,0$ %. Кроме активации ЧГИ, приложение виагры на сому нейрона приводит к изменениям и других исследованных показателей (рис. 2, Б). Это у большинства нейронов проявляется в развитии стойкой деполяризации мембраны (в среднем на 11,8 %) и естественном повышении возбудимости нервных клеток. На этом фоне происходило существенное уменьшение межимпульсных интервалов ($39,62 \pm 19,4$ %), а время развития ПД практически оставалось неизменным.

Анализ суммарных входящих и выходящих токов под воздействием виагры показал тенденцию противоположной их направленности, с большей и положительной выраженностью первых (рис. 2 Б, 3, 4).

Влияние монодесмозидного тритерпенового гликозида с виагрой на параметры электрических потенциалов нейронов (комплекс 1)

На Рис. 3, А приведен пример эффекта аппликации комплекса 1 на один из нейронов висцерального ганглия с исходной мономодальной ритмической активностью. Под влиянием комплекса виагры с исследуемым монодесмозидным ТТГ в концентрации 10^{-4} М на первых 50 секундах экспозиции полностью блокируется генерация импульсов, после чего она восстанавливается. Статистический анализ исследуемых электрофизиологических показателей выявил достоверные изменения не только ЧГИ (она для всех исследованных нейронов составила $73,3 \pm 20,7$ % от фонового уровня), а, соответственно, происходило увеличение межимпульсных интервалов ($128,19 \pm 33,78$ %) и снижение амплитуды ПД ($95,13 \pm 18,52$ %).

Влияние бисдесмозидного тритерпенового гликозида с виагрой на параметры электрических потенциалов нейронов (комплекс 2)

Действие комплекса 2 в концентрации 10^{-4} М выражалось только в статистически достоверном снижении ЧГИ ($78,16 \pm 17,75$ %) и увеличении межимпульсных интервалов ($122,34 \pm 21,9$ %) (рис. 4, А, Б, 1, 2), а остальные показатели функционального состояния нейронов хотя и флуктуировали, однако достоверных их изменений выявлено не было (рис. 4, А, Б, 3-7).

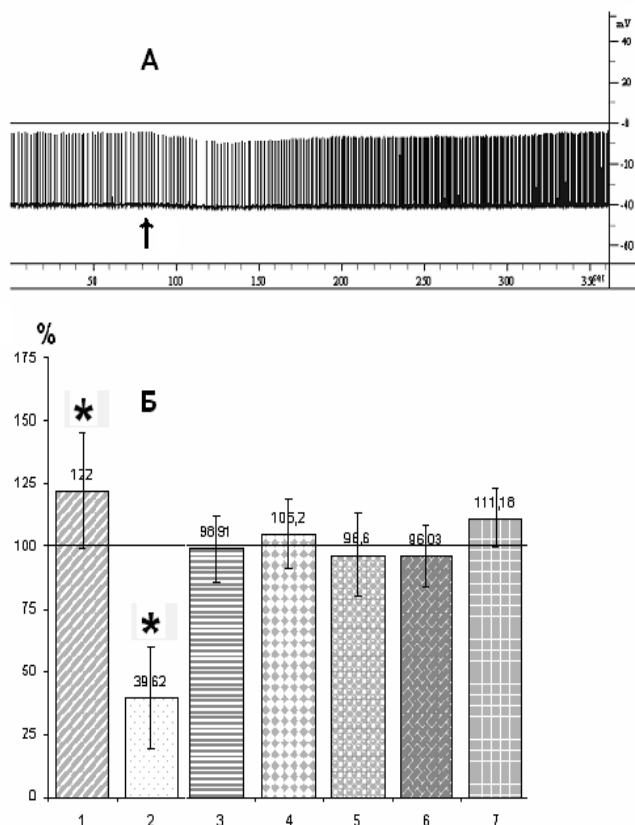


Рис. 2. - Эффекты аппликации виагры на электрические компоненты отражающие функциональное состояние нейронов.

На А – нейрограмма типичного ответа одного из нейронов, где стрелкой показан момент аппликации;

На Б - усредненные данные (в %, n = 21); 1 - частота генерации импульсов; 2 – межимпульсные интервалы; 3 – длительность потенциала действия; 4 – суммарные входящие токи; 5 – суммарные выходящие токи; 6 – амплитуда потенциалов действия; 7 – мембранный потенциал. За 100 % принят фоновый уровень соответствующих показателей активности нейронов. Звездочками обозначены случаи достоверных отличий от фоновых показателей.

В результате тестирования индивидуального раствора виагры и в комплексе с моно- и бисдесмозидным тритерпеновыми гликозидами продемонстрировано достаточно выраженное нейротропное действие, которое отражалось в изменении всех электрофизиологических показателей нейронов. Следует также отметить, что в процессе отмывания исходное функциональное состояние нейронов восстанавливалось, т.е. влияние тестируемых веществ на нейроны носит обратимый характер.

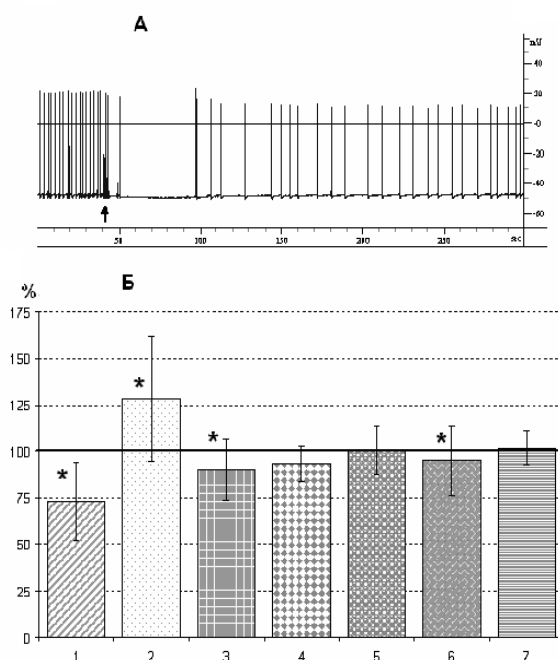


Рис. 3. Эффекты аппликации комплекса **1** на электрические компоненты отражающие функциональное состояние нейронов.

На А – нейрограмма типичного ответа одного из нейронов, где стрелкой показан момент аппликации; на Б – усредненные данные (в %, $n = 20$); остальные обозначения такие же, как и на рис. 2.

Показано что, эффекты виагры противоположны таковым ее комплексам с ТТГ (рис. 5). Так, при индивидуальном действии виагры на фоне незначительной деполяризации мембраны происходит существенное увеличение ЧГИ и соответственно снижение межимпульсных интервалов. Поэтому на основании описанных выше результатов можно считать, что активирующее влияние обусловлено в основном за счет увеличения проницаемости мембраны для ионов Na^+ . Кроме того, из литературных данных [6] известно, что тестируемый препарат виагра является ингибитором фосфодиэстеразы 5-го типа, необычайно высокий уровень которой обнаружен в постсинаптических мембранах нервной ткани. Поэтому считается, что в основе механизма действия виагры лежит ее способность подавлять активность фермента фосфодиэстеразы, а это влечет за собой увеличение содержания цАМФ. То есть логично полагать, что действие виагры на нейроны опосредовано через ингибирование фермента фосфодиэстеразы и увеличение концентрации цАМФ, что естественно приводит к увеличению метаболизма. Следствием этого может быть повышение проницаемости мембраны нейронов для ионов Na^+ , что в свою очередь приводит к ускорению фазы деполяризации и снижению критического уровня деполяризации [7].

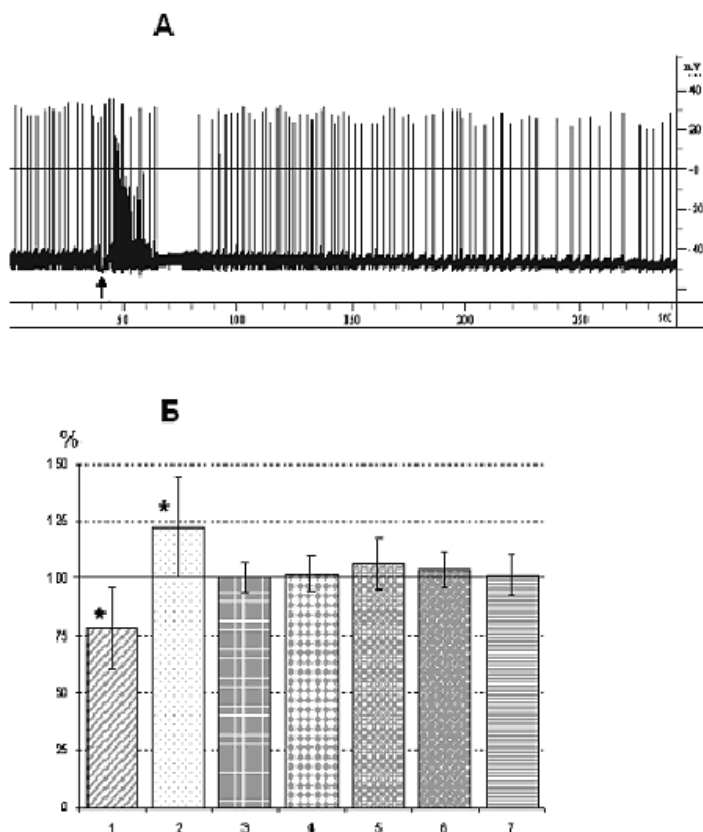


Рис. 4. Эффекты аппликации комплекса 2 на электрические компоненты отражающие функциональное состояние нейронов.

На А – нейрограмма типичного ответа одного из нейронов, где стрелкой показан момент аппликации; На Б – усредненные данные (в %, $n = 20$); остальные обозначения такие же, как и на Рис. 2.

Необходимо отметить, что в проведенных ранее исследованиях [1, 2] выявлено, что бисдесмозидные ТТГ не оказывают влияния на электрические потенциалы нейронов. В настоящем исследовании обнаружено, что присоединение к бисдесмозидным ТТГ виагры приводит к развитию нейротропных эффектов, выражающихся в изменении электрофизиологических показателей нейронов, не характерных для индивидуального применения ни виагры, ни тем более бисдесмозидных ТТГ. Известно, что монодесмозидные ТТГ угнетают активность как идентифицированных, так и неидентифицированных нейронов, т.е. оказывают неспецифическое действие. Мы полагаем, что монодесмозидные ТТГ способны приводить к образованию неселективных пор в мембране и утечке K^+ из клетки, что, и обуславливает ингибирующий нейротропный эффект [8].

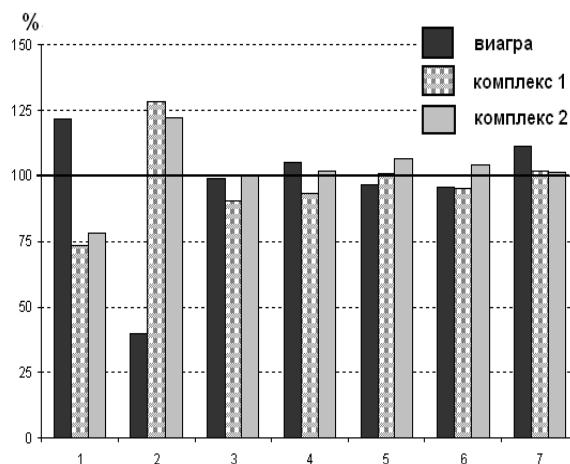


Рис. 5. Изменение относительных показателей функционального состояния нейронов на аппликацию тестируемых веществ (1 – частота генерации импульсов; 2 – межимпульсные интервалы; 3 – длительность потенциала действия; 4 – суммарные входящие токи; 5 – суммарные выходящие токи; 6 – амплитуда потенциалов действия; 7 – мембранный потенциал. За 100 % принят фоновый уровень соответствующих показателей активности нейронов).

Особого внимания заслуживает тот факт, что при тестировании комплексных соединений **1** и **2** получены противоположные эффекты, выявленные при воздействии виагры в чистом виде. Как указывалось выше и представлено на рис. 5, действие виагры деполяризующее, т.е. приводит к активации нейронов, что выражается в увеличении их ЧГИ и снижении межимпульсных интервалов. Однако, виагра в комплексах с моно- и бисдесмозидным ТТГ приводит к угнетению активности нейронов, не вызывая гиперполяризации мембраны. Такие разнонаправленные эффекты, вероятно, обусловлены особенностями строения молекулярного комплекса и способностью вещества связываться с компонентами липидного слоя клеточной мембраны. Под воздействием тестируемых соединений вполне вероятно что происходит изменение белковой структуры ионных каналов мембраны, что приводит к возбуждению электрогенного транспорта ионов и параллельной активации входящих ионных токов при действии комплекса **1** (виагра с монодесмозидным ТТГ), а при действии виагры с бисдесмозидным ТТГ (комплекс **2**) – к ингибированию суммарных входящих ионных токов.

ВЫВОД

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что нами выявлено активирующее нейротропное действие виагры и тормозное действие новых синтезированных молекулярных комплексов виагры с двумя представителями моно- и бисдесмозидным ТТГ в концентрации 10^{-4} М. В основе эффектов тестируемых веществ лежит селективное возбуждение/угнетение трансмембранных ионных токов. Выявление данных свойств у исследуемых

комплексов указывает на перспективность дальнейшего исследования подобных соединений в целях создания новых нейротропных лекарственных средств.

Список литературы

1. Влияние тритерпеновых гликозидов на изменение электрической активности идентифицированных нейронов моллюска / О.В. Костюченко, В.И. Гришконец, Е.А. Соболев [и др.] // Химия природ. соедин. – 2001. – № 1. – С. 39–42.
2. Костюченко О.В. Особливості дії рослинних глікозидів на нейрони слимака / О.В. Костюченко, В.І. Гришконець, І.І. Коренюк. // Фізіологічний журнал. – 2001. – Т. 47, №4. – С. 42–48.
3. Яковишин Л.А. Комплекс тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата Hedelix® / Л.А. Яковишин, В.И. Гришконец // Химия природ. соедин. – 2003. – № 5. – С. 417–418.
4. Исследование тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата проспан / Л.А. Яковишин, М.А. Вожжова, А.Л. Кузнецова [и др.] // Журнал орг. и фарм. химии. – 2005. – Т. 3, вып. 1 (9). – С. 57–59.
5. Вплив бензimidазолу та його похідних на електричні показники ідентифікованих нейронів моллюска *Helix albescens* / І.І. Коренюк, Т.В. Гамма, М.Ю. Баевський [та ін.] // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 2. – С. 25.
6. Препараты «импаза» и силденафил: сравнительное исследование клинической эффективности у пациентов с эректильной дисфункцией / В.И. Петров, А.С. Векельян, А.В. Мартюшев [и др.] // Бюл. exper. биол. и мед. – 2003. – Прил. № 1. – С. 65–67.
7. Sildenafil prescribing information. New York, NY: Pfizer, 2004.
8. Костюченко О.В. Исследование ритмоводящей активности нейронов моллюска и влияния на нее тритерпеновых гликозидов / Диссертация на соискание ученой степени к.б.н. по специальности 03.00.13 – ф.ч.ж. / О.В. Костюченко – Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского – Симферополь, 2002 – 110 с.

Колотілова О.І. Вплив віагри та її комплексів з тритерпеновими глікозидами на електричну активність нейронів моллюска *Helix albescens* / О.І. Колотілова, Л.О. Яковішин, І.І. Коренюк [та ін.] // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2010. – Т. 23 (62). – № 2. – С. 96-103

За допомогою внутрішньоклітинного відведення досліджували вплив віагри в чистому вигляді і в комплексі з двома тритерпеновими глікозидами, на електричну активність неідентифікованих нейронів вісцерального ганглія виноградного равлика. Продемонстровані протилежно спрямовані нейротропні ефекти віагри і її комплексів з тритерпеновими глікозидами: так, аплікація віагри призводила до активації нейронів, тоді як застосування комплексів моно- і бідесмосидного тритерпенових глікозидів на сому нейронів викликало пригнічення активності нервових клітин.

Ключові слова: моно- та бідесмосидні тритерпенові глікозиди, віагра, молекулярний комплекс, нейрони, нейротропні ефекти.

Kolotilova O.I. Influence of viagra and complex triterpene glycosides with viagra on parameters of the electrical activity of neurons *Helix albescens* / O.I. Kolotilova, L.A. Yakovishin, I.I. Koreniuk [et al.] // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2010. – V.23 (62). – № 2. – P. 96-103.

Using of the intracellular registration investigation of influence viagra and triterpene glycosides together with viagra on the electrical activity non identification neurons visceral ganglion *Helix albescens*. Demonstrated that the neurotropic effects of Viagra and its complexes with triterpene glycosides cause the opposite effect, manifested in changes of electrophysiological parameters.

Keywords: mono- and bidesmosidic triterpene glycosides, viagra, molecular complex, neurons, neurotropic effect.

Поступила в редакцию 13.05.2010 г.