

ВЛИЯНИЕ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАФИЮ ГОЛОВНОГО МОЗГА КАСТРИРОВАННЫХ КРОЛИКОВ-САМЦОВ

УДК 615.214.2
doi: 10.17816/RCF16319-24

© **Н.Н. Кузнецова, Н.А. Лосев**

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: Кузнецова Н.Н., Лосев Н.А. Влияние холинергических препаратов на электроэнцефалографию головного мозга кастрированных кроликов-самцов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2018. – Т. 16. – № 3. – С. 19–24. doi: 10.17816/RCF16319-24

Поступила в редакцию 09.08.2018

Принята к печати 10.09.2018

Цель. Исследовали влияние различных холинотропных препаратов на спонтанную активность головного мозга у интактных кроликов и в условиях дефицита гонадных гормонов, а также изучали характер реципрокного влияния холинергических препаратов на изменения спектра электроэнцефалографии (ЭЭГ) у интактных и кастрированных животных. **Материалы и методы.** Исследования выполнены на 32 кроликах-самцах породы шиншилла. Кроликам стереотаксически имплантировали биполярные нихромовые электроды в хвостатое ядро, гиппокамп и ретикулярную формацию среднего мозга, а также корковые монополярные хлорсеребряные электроды диаметром 1 мм в зрительную и лобную область коры. ЭЭГ регистрировали в экранированной камере с использованием электроэнцефалографа-анализатора ЭЭГА-21/26 «Энцефалан-131-03». Анализировали усредненные спектры мощности ЭЭГ с эпохой анализа 60 с. Спустя 3 недели после имплантации электродов исследовали влияние на спонтанную ЭЭГ ряда холинергических препаратов: М-холиноблокатора метамизила (1 мг/кг в/б), Н-холиноблокатора ганглерона (5 мг/кг в/б), ингибитора ацетилхолинэстеразы (АХЭ) галантамина (0,5 мг/кг п/к). Регистрацию проводили через 1, 2 и 3 часа после инъекции. При комбинированном введении галантамин вводили через 20 минут после инъекции холинолитиков. Следующим этапом работы было удаление яичков у кроликов-самцов под эфирным наркозом. После двусторонней гонадэктомии спонтанную электрическую активность мозга кроликов и влияние на нее холинотропных средств изучали через 30 суток

после операции. **Результаты.** На интактных и кастрированных кроликах-самцах в хроническом эксперименте установлено, что гонадэктомия вызывает снижение мощности спектра ЭЭГ в 2 раза по сравнению с интактными животными. Анализ влияния холинотропных веществ на ЭЭГ показал, что наиболее чувствительными к изменению баланса между М- и Н-холинорецепторами оказались кора мозга и хвостатое ядро. У всех животных выраженность активирующего эффекта, сопровождающего блокаду М-холинорецепторов, выше в корковых структурах, чем в подкорковых ядрах. Хвостатое ядро более всех остальных подкорковых ядер реагирует на блокаду М-холинорецепторов и «отвечает» увеличением мощности спектра ЭЭГ. Блокада Н-холинорецепторов в этой структуре после незначительной потенциации сопровождается падением мощности спектра ЭЭГ. Активность гиппокампа была наименее зависима от уровня андрогенов в организме. **Заключение.** Анализ влияния холинотропных веществ на спонтанную активность мозга кроликов продемонстрировал, что наиболее чувствительными к изменению баланса между М- и Н-холинорецепторными влияниями оказались кора мозга и хвостатое ядро. Как у интактных, так и у кастрированных животных выраженность активирующего эффекта, сопровождающего блокаду М-холинорецепторов, выше в корковых структурах, чем в подкорковых ядрах.

◆ **Ключевые слова:** кролики; холинергическая регуляция; гонадэктомия; ЭЭГ.

THE INFLUENCE OF CHOLINERGIC DRUGS ON EEG OF THE BRAIN OF THE CASTRATED RABBIT MALES

© **N.N. Kuznetsova, N.A. Losev**

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Kuznetsova NN, Losev NA. The influence of cholinergic drugs on EEG of the brain of the castrated rabbit males. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2018;16(3):19-24. doi: 10.17816/RCF16319-24

Received: 09.08.2018

Accepted: 10.09.2018

Aim. We investigated the influence of various cholinergic drugs on spontaneous activity of a brain at the intact rabbit and in the conditions of deficit of gonadal hormones, and also studied of reciprocal influence of cholinergic drugs

on changes of character of a range of EEG at the intact and castrated rabbits. **Methods.** Our researches were carried out on 32 rabbit males of breed the Chinchilla. Bipolar nichrome electrodes implanted to rabbits by stereotactic operation into a caudate nucleus, a hippocampus and a reticular formation of a mesencephalon and also cortical monopolar chlorsilver electrodes with a diameter of 1 mm - to the optic and frontal area of cortex. Registration of EEG carried out in a shielded chamber with use of the electroencephalograph-analyzer EEGA-21/26 "Encephalan-131-03". The averaged EEG range power was analyzed with a 60 s recording epoch. In 3 weeks after implantation of electrodes we studied the influence a number of cholinergic drugs on spontaneous EEG: M-cholinolytic metamizyl (1 mg/kg i.p.), N-cholinolytic gangleronum (5 mg/kg i.p.), inhibitor of acetylcholinesterase (AChE) galantamine (0.5 mg/kg i.p.). Registration was carried out in 1, 2 and 3 hours after an injection. Under the combined investigation of preparation galantamine was entered in 20 minutes after an injection of cholinolytics. Then, we carried out removal of a testis at rabbits — males under etherization. The spontaneous electric activity of a brain of that rabbits and influence of cholinergic drugs was registered in 30 days after operation of bilateral gonadectomy. Result. The gonadectomy of Chinchilla rabbits causes the deceleration of EEG range

Ранее нами сформулирована концепция, состоящая в том, что холинергическая система является базисной (относительно других медиаторных систем), регулирующей вегетативную, соматическую, гормональную, иммунную, мнестическую и другие системы организма [2]. Нормальное функционирование этой базисной системы обусловлено оптимальным уровнем реципрокного взаимодействия ее М- и Н-холинергических механизмов в пределах единой холинергической системы на всех уровнях организма. Мы решили изменить подходы к фармакологической коррекции устойчивых патологических состояний путем блокады М-холинергических механизмов, где это необходимо, с одновременной стимуляцией Н-холинергических механизмов и, наоборот, блокадой Н- и стимуляцией М-холинергических механизмов [4]. Апробация такого способа лечения в эксперименте на животных при различных моделях патологии, а также на больных в клинике показала значительное повышение его эффективности при таких патологиях, как паркинсонизм, детские спастические центральные параличи, апатобулический синдром при шизофрении, поражение периферических нервов, гипертоническая болезнь, дизурия и др., по сравнению с использованием лишь одних М- или Н-холиноблокаторов [3]. Известно, что при возрастных ухудшениях механизмов памяти и при болезни Альцгеймера страдает холинергическая система, а ее активация с помощью обратимого блокатора ацетилхолинэстеразы галантамина восстанавливает процессы обучения и памяти [6].

power twice in comparison with intact animals in a chronic experiment. The analysis of influence of cholinceptive substances on EEG showed that the most sensitive to the change of balance between M- and N-cholinoreceptors are cerebral cortex and caudate nucleus. The intensity of the activating effect accompanying blockade of M-cholinoreceptors is higher in cortical structures, than in subcortical nuclei in all animals. The reaction of caudate nucleus to the blockade of M-cholinoreceptors is the most sensitive among subcortical nuclei. It "answers" with increase in EEG range power. The blockade of N-cholinoreceptors in this structure after insignificant potentiating is followed by decrease of EEG range power. The activity of hippocampus is least dependent on the level of androgens in organism. **Conclusions.** The analysis of influence of cholinceptive substances on spontaneous activity of a brain showed that the most sensitive to change of balance between M-cholinoreceptors and H-cholinoreceptors were a cerebral cortex and a caudate nucleus. As at the intact as the castrated animals the expressiveness of the activating effect accompanying blockade of M-cholinoreceptors is higher in cortical structures than in subcortical nuclei.

◆ **Keywords:** rabbits; cholinergic regulation; gonadectomy; EEG.

Холинергические механизмы головного мозга участвуют в процессах рецепции гонадных гормонов в структурах головного мозга [8]. Зависимость функционального состояния головного мозга от экзогенных гормонов основана на изменении возбудимости и подвижности нервных процессов в коре. В этих процессах непосредственное участие принимает М-холинергическая система [1]. Ацетилхолин также является медиатором, опосредующим передачу неспецифической информации к неокортексу из подкорковых структур [7].

Целью настоящего исследования стало исследование влияния различных холинотропных препаратов на спонтанную активность головного мозга у интактных кроликов и в условиях дефицита гонадных гормонов, а также изучение реципрокного влияния холинергических препаратов на изменение характера спектра электроэнцефалографии (ЭЭГ) у интактных и кастрированных животных.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнены на 32 кроликах-самцах породы шиншилла весом 3–3,5 кг в соответствии с правилами, рекомендованными Физиологической секцией Российского национального комитета по биологической этике. Животных наркотизировали тиопенталом (25 мг/кг), после чего проводили стандартную подготовку к вживлению электродов. Кроликам стереотаксически имплантировали биполярные нихромовые электроды в хвостатое ядро, гиппокамп

и ретикулярную формацию среднего мозга, а также корковые монополярные хлорсеребряные электроды диаметром 1 мм — в зрительную и лобную область коры. Контроль имплантации электродов в структуры мозга осуществляли путем послойной нарезки замороженного головного мозга кроликов после окончания опытов. ЭЭГ регистрировали в экранированной камере с использованием электроэнцефалографа-анализатора ээга-21/26 «Энцефалан-131-03» («Медиком МТД», Россия). Анализировали усредненные спектры мощности ЭЭГ с эпохой анализа 60 с. Так как в глубоких структурах мозга кроликов наблюдается большой индивидуальный разброс фонового частотного состава ЭЭГ, то для адекватного сравнительного анализа изменений, происходящих после фармакологического воздействия, нами в качестве основного показателя, характеризующего уровень активности структуры, была выбрана величина общей мощности спектра ЭЭГ (ОМС ЭЭГ). Спустя 3 недели после имплантации электродов в течение 5 дней осуществляли регистрацию фоновой ЭЭГ. Следующим этапом работы был анализ влияния на спонтанную ЭЭГ ряда холинергических препаратов: М-холиноблокатора метамизила (1 мг/кг в/б), Н-холиноблокатора ганглерона (5 мг/кг в/б), ингибитора ацетилхолинэстеразы (АХЭ) галантамина (0,5 мг/кг п/к). Регистрацию проводили через 1, 2 и 3 часа после инъекции. Для исследования реципрокного влияния на М- и Н-холинорецепторные структуры использовали комбинированное введение галантамина, который вводили через 20 минут после инъекции холинолитиков.

Яички у кроликов-самцов удаляли под эфирным наркозом. Делали надрез кожи мошонки над серединой яичка и после рассечения всех оболочек яичко вылуцовывали. Сосуды перевязывали вместе с семявыносящим канатиком и железу отсекали. После двусторонней гонадэктомии спонтанную электрическую активность мозга регистрировали через 30 суток после операции.

Статистическую обработку данных осуществляли стандартными методами в программе «Origin 7.5». Все изменения рассматривали по отношению к фоновым показателям до введения препарата.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования показали, что введение М-холиноблокатора метамизила интактным животным (рис. 1, а и 2, а) приводит к усилению ОМС ЭЭГ. Это происходит, как правило, за счет усиления в 4,5 раза мощности спектра диапазона дельта-ритма. В корковых структурах помимо усиления дельта-ритма наблюдается усиление бета-ритма в 5,2 раза.

Нами обнаружено выраженное, сохраняющееся в течение трех часов увеличение мощности спектра в лобной коре (рис. 1, I), ретикулярной формации (рис. 2, I) и хвостом ядре (рис. 2, III). Более короткий потенцирующий эффект наблюдается в зрительной коре (рис. 1, II) и гиппокампе (рис. 2, II). Комбинация метамизила с галантамином в целом также вызывает повышение ОМС ЭЭГ, но это усиление

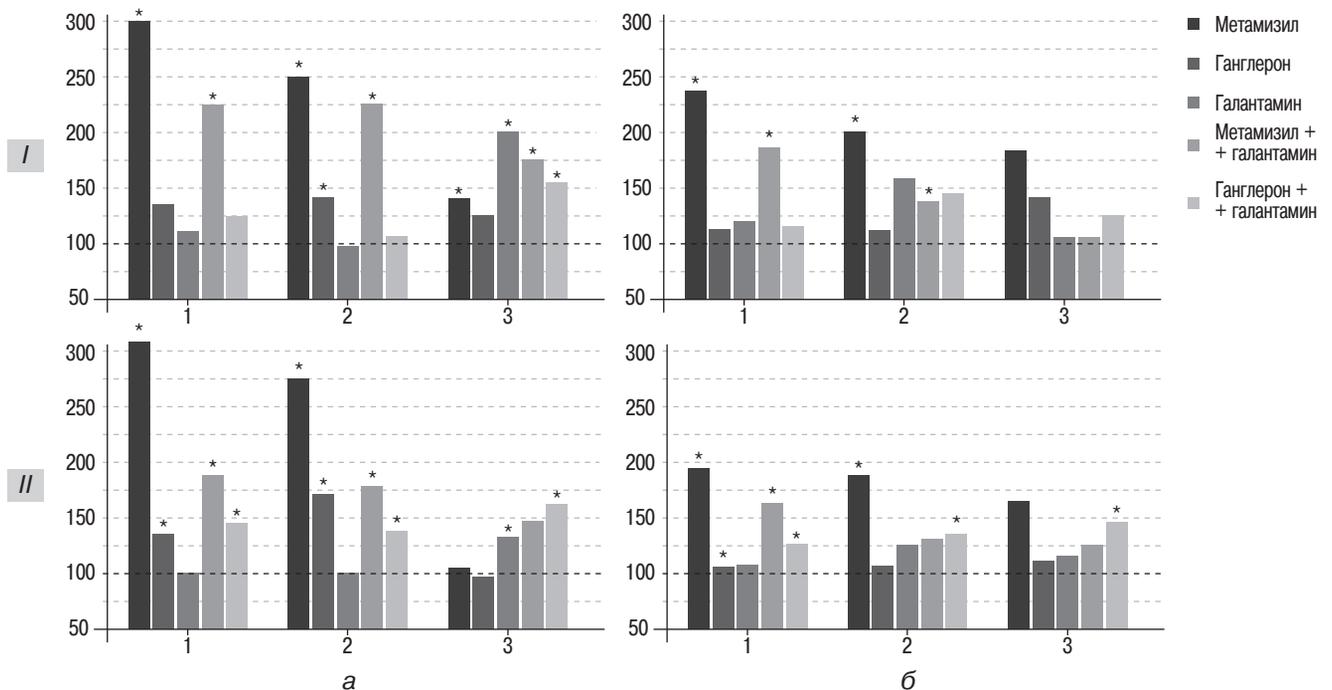


Рис. 1. Изменение общей мощности спектра ЭЭГ, регистрируемой у интактных (а) и кастрированных (б) кроликов в лобной (I) и зрительной (II) коре по сравнению с фоновым. По оси абсцисс — %, по оси ординат — время после инъекции препаратов, ч. * $p \leq 0,05$ по сравнению с фоном (достоверность различий рассчитывали по абсолютным значениям мощности спектра)

меньше, чем без ингибирования АХЭ. Во всех структурах происходит усиление мощности дельта-ритма в 3,6 раза. В корковых структурах к 3-му часу наблюдения ОМС ЭЭГ сохраняется на более высоком уровне, чем в случае введения одного холиноблокатора. Отдельного внимания заслуживают реакции, наблюдаемые в гиппокампе. Там ко 2-му часу потенцирующий эффект комбинированного введения выше, чем одного метамизила, но к 3-му часу, наоборот, ОМС ЭЭГ оказывается ниже фонового уровня. Полученные данные свидетельствуют о том, что блокада М-холинорецепторов приводит к раствориванию и усилению активности исследованных структур, наиболее сильно этот эффект проявляется в коре мозга, наименее — в гиппокампе.

Применение Н-холиноблокатора ганглерона незначительно повышает ОМС ЭЭГ у интактных кроликов-самцов во всех структурах (рис. 1, 2). На протяжении трех часов наблюдения не проис-

ходит кардинальных изменений уровня активации. Исключением являются зрительная кора (рис. 1, II) и хвостатое ядро (рис. 2, III), где к 3-му часу ОМС ЭЭГ оказывается ниже фонового уровня. Комбинированное введение ганглерона с галантамином, как и в случае совместного введения метамизила с галантамином, оказывает менее выраженный потенцирующий эффект, чем инъекции одного холинолитика. Максимальное повышение ОМС ЭЭГ отмечено к 3-му часу наблюдения в корковых структурах и хвостатом ядре. При этом уровень активации оказывается выше, чем в условиях без ингибирования АХЭ (рис. 1 и 2, III). Можно предполагать, что при блокаде Н-холинорецепторов не происходит снижения уровня активации мозговых структур, следовательно, М-холинорецепторы оказывают не тормозное, а тоническое влияние на ядра и кору мозга.

У кастрированных кроликов (рис. 1, б и 2, б) последствия блокады М-холинорецепторов метамизи-

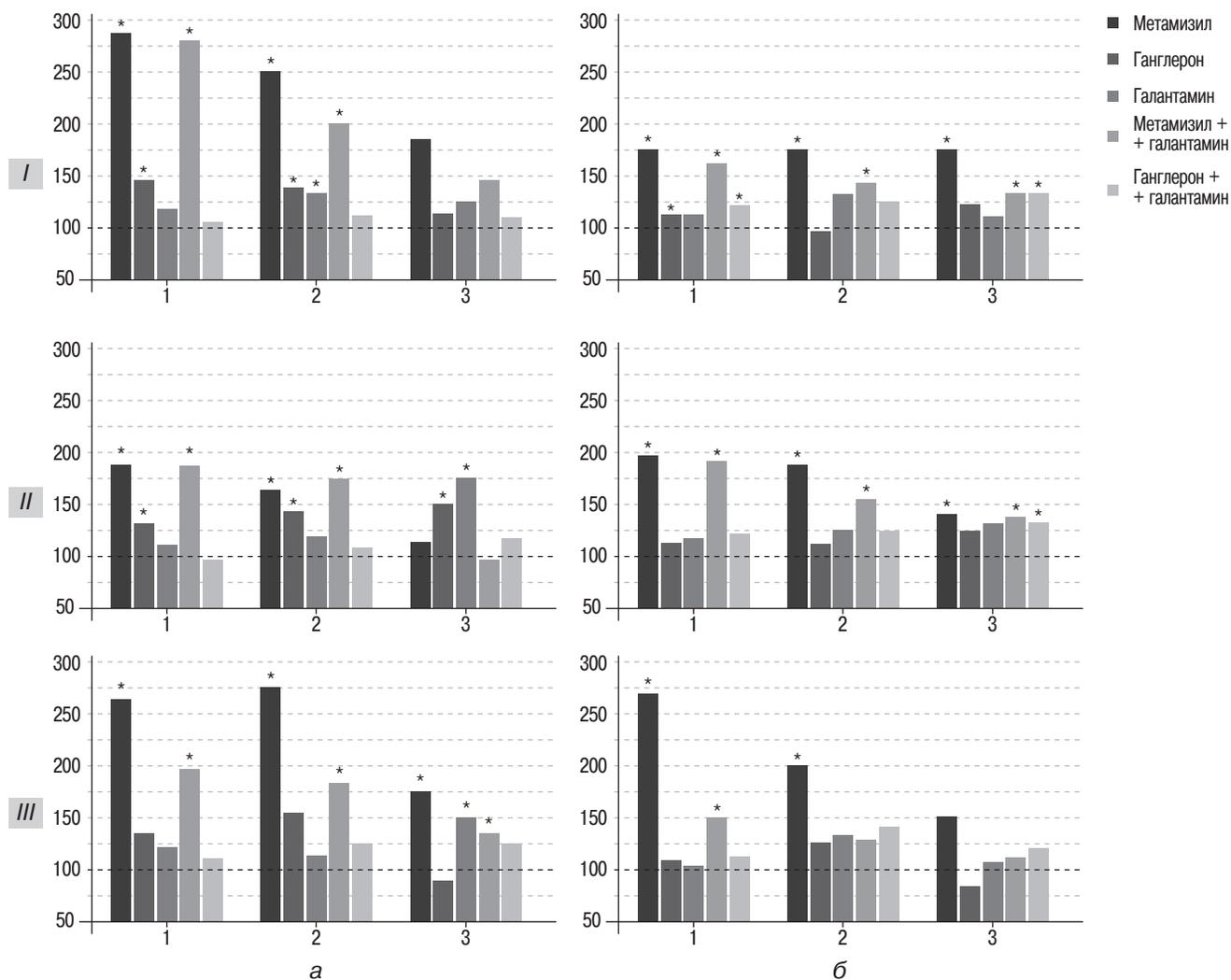


Рис. 2. Изменение общей мощности спектра ЭЭГ, регистрируемой у интактных (а) и кастрированных (б) кроликов в ретикулярной формации (I), гиппокампе (II) и хвостатом ядре (III) по сравнению с фоновым уровнем, принятым за 100 %. По оси абсцисс — %, по оси ординат — время после инъекции препаратов, ч. * $p \leq 0,05$ по сравнению с фоном (достоверность различий рассчитывали по абсолютным значениям мощности спектра)

лом значимо не отличаются от таковых у интактных животных. Однако усиление ОМС ЭЭГ носит менее выраженный и более пролонгированный (особенно в коре мозга) характер. Как и у интактных кроликов, возрастает в 2,9 раза мощность спектра дельта-ритма. В лобной коре наблюдается усиление в 3 раза мощности альфа-ритма. Дополнительное ингибирование АХЭ вызывает более быстрое затухание активации в лобной и затылочной зонах коры (рис. 1, б), чем при одиночном введении метамизила и по сравнению с интактными кроликами (рис. 1, а). В хвостатом ядре длительность активирующего эффекта оказалась самой короткой, и к 3-му часу величина ОМС ЭЭГ стала самой низкой из всех, наблюдаемых нами в экспериментах (рис. 2, б, III).

Реакция на блокаду Н-холинорецепторов ганглероном носит значительно менее выраженный характер, чем это наблюдается у интактных кроликов. Изменение ОМС ЭЭГ не превышает 24 % от фонового уровня. Комбинированное введение ганглерона с галантамином вызывает сопоставимую с интактными кроликами реакцию в корковых структурах и более выраженное и длительное повышение ОМС ЭЭГ в гиппокампе (рис. 2, II) и хвостатом ядре (рис. 2, III). Активирующее действие ацетилхолина в гиппокампе кастрированных кроликов более выражено, чем у интактных.

Введение кроликам ингибитора АХЭ галантамином в первые 2 часа после инъекции существенно не влияет на величину ОМС ЭЭГ у интактных кроликов. У кастрированных животных в коре мозга процессы активации усиливаются, тогда как в подкорковых ядрах остаются сопоставимыми с наблюдаемыми у интактных кроликов. Однако к 3-му часу наблюдения у интактных животных происходит значимое увеличение ОМС ЭЭГ во всех структурах, кроме ретикулярной формации, что не наблюдается в условиях гонадэктомии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Снижение ОМС ЭЭГ во всех регистрируемых структурах мозга практически в 2 раза после кастрации кроликов [5] наблюдается и в данном исследовании. Анализ влияния холинотропных веществ на спонтанную активность мозга показал, что наиболее чувствительными к изменению баланса между М- и Н-холинорецепторами оказались кора мозга и хвостатое ядро. Как у интактных, так и у кастрированных животных выраженность активирующего эффекта, сопровождающего блокаду М-холинорецепторов, выше в корковых структурах, чем в подкорковых ядрах. Хвостатое ядро у интактных и кастрированных кроликов чувствительнее всех остальных подкорковых ядер реагирует на блокаду М-холинорецепторов и «отвечает» увеличением ОМС ЭЭГ. В то же время блокада Н-холинорецепторов в этой структуре после незначительной потенциа-

ции сопровождается угнетением уровня активности и падением ОМС ЭЭГ. Можно предположить, что в хвостатом ядре баланс регуляторных влияний между М- и Н-холинорецепторами сдвинут в сторону преобладания М-холинорецепторов. Активность гиппокампа оказалась наименее зависима от уровня андрогенов в организме.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (тема № 007-01354-17-00).

ЛИТЕРАТУРА

1. Байрамов А.А., Кузнецова Н.Н. Андроген-зависимое влияние М-холинолитика метамизила на биоэлектрическую активность головного мозга // Психофармакология и биологическая наркология. – 2006. – Т. 6. — № 1–2. – С. 1197–1203. [Bajramov AA, Kuznecova NN. Androgen-zavisimoe vliyanie M-holinolitika metamizila na bioelektricheskiyu aktivnost golovnogo mozga. *Psihofarmakol biol narkol*: 2006;6(1-2):1197-1203 (In Russ.)]
2. Лосев Н.А. О взаимодействии М- и Н-холинореактивных систем организма. Дальнейшее развитие идей С.В. Аничкова // Вестни нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. — 2001. — № 1. — С. 65–69. [Losev NA. O vzaimodejstvii M- i N- holineoreaktivnyh sistem organizma dalnejshee razvitie idej S.V. Anichkova. *Vesci nacyyanalnaj akadehmii navuk Belarusi*. 2001;(1):65-69. (In Russ.)]
3. Лосев Н.А., Сапронов Н.С., Хныченко Л.К., Шабанов П.Д. Фармакология новых холинергических средств (фармакология — клинике). – СПб., 2015. [Losev NA, Sapronov NS, Hnychenko LK, Shabanov PD. *Farmakologiya novyh holineergicheskikh sredstv*. *Farmakologiya klinike*. Saint Petersburg; 2015. (In Russ.)]
4. Лосев Н.А., Шабанов П.Д. Новые данные о применении холинергических средств // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. — 2017. – Спецвыпуск 2. – Т. 15. – С. 47–48. [Losev NA, Shabanov PD. Novye dannye o primenenii holineergicheskikh sredstv. *Reviews on clinical pharmacology and drug*. 2017;15(Suppl. 2):47-48. (In Russ.)]
5. Кузнецова Н.Н., Лосев Н.А. Влияние холинергических препаратов на изменение спектра мощности ЭЭГ у интактных и гонадо- и овариоэктомированных кроликов // Проблемы изучения резистентности организма к действию экстремальных факторов внешней среды: Сб. статей. – СПб., 2016. – С. 74–79. [Kuznecova NN, Losev NA. Vliyanie holineergicheskikh preparatov na izmenenie spektra moshchnosti ehehg u intaktnyh i gonado- i ovarioektomirovannyh krolikov. In: *Problemy izucheniya rezistentnosti organizma k dejstviyu ehkstreimalnyh faktorov vneshnej sredy*. Saint Petersburg; 2016. P. 74-79. (In Russ.)]
6. Grön G, Brandenburg I, Wunderlich AP, Riepe MW. Inhibition of hippocampal function in mild cognitive impairment: targeting the cholinergic hypothesis. *Neurobiol Aging*. 2006;27(1):78-87. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2004.12.005.

7. Goekoop R, Rombouts SA, Jonker C, et al. Challenging the cholinergic system in mild cognitive impairment: a pharmacological fMRI study. *Neuroimage*. 2004;23(4):1450-1459. doi: 10.1016/j.neuroimage.2004.08.006.
8. Martinez-Morales JR, Lopez-Coviella I, Hernandez-Jimenez JG, et al. Sex steroids modulate luteinizing hormone-releasing hormone secretion in a cholinergic cell line from the basal forebrain. *Neuroscience*. 2001;103(4):1025-1031. doi: 10.1016/S0306-4522(01)00023-9.

♦ Информация об авторах

Наталья Николаевна Кузнецова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, отдел нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: nat.kuz@mail.ru.

Николай Андреевич Лосев — д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, отдел нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: nat.kuz@mail.ru.

♦ Information about the authors

Natalia N. Kuznetsova — PhD (Pharmacology), Senior Researcher, Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: nat.kuz@mail.ru.

Nikolay A. Losev — Doctor of Medical Sciences, Professor, Leading Researcher, Department of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: nat.kuz@mail.ru.