

ВЛИЯНИЕ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММУ ОВАРИОЭКТОМИРОВАННЫХ САМОК КРОЛИКОВ

УДК 615.275.4

<https://doi.org/10.7816/RCF18123-28>© **Н.Н. Кузнецова**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: Кузнецова Н.Н. Влияние холинергических препаратов на электроэнцефалограмму овариоэктомированных самок кроликов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2020. – Т. 18. – № 1. – С. 23–28. <https://doi.org/10.7816/RCF18123-28>

Поступила: 15.01.2020

Одобрена: 18.02.2020

Принята: 19.03.2020

При сравнении характера изменения общей мощности спектра электроэнцефалограммы (ЭЭГ) под воздействием холинергических препаратов у интактных и овариоэктомированных кроликов-самок в хроническом эксперименте установлено, что стерелизация животных вызывала нарушение взаимодействия между М- и Н-холинергическими механизмами. Блокада М-холинорецепторов метамизолом в обеих группах приводила к увеличению общей мощности спектра (ОМС) ЭЭГ, тогда как параллельная стимуляция Н-холинорецепторов галантамином у интактных самок значительно увеличивала ОМС ЭЭГ, а у стерелизованных кроликов, наоборот, происхо-

дило ее уменьшение. Сочетанное применение блокатора Н-холинорецепторов ганглера с ингибитором ацетилхолинэстеразы галантамином снижало ОМС ЭЭГ у интактных животных и увеличивало у овариоэктомированных кроликов по сравнению с введением одного ганглера. Таким образом, действие М,Н-холиноблокаторов в сочетании с ингибитором ацетилхолинэстеразы у овариоэктомированных кроликов меняется на противоположное в сравнении с интактными самками.

◆ **Ключевые слова:** кролики; холинергическая регуляция; овариоэктомия, электроэнцефалограмма.

THE INFLUENCE OF CHOLINERGIC DRUGS ON ELECTROENCEPHALOGRAM OF THE GONADECTOMIZED FEMALE RABBITS

© **N.N. Kuznetsova**

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Kuznetsova NN. The influence of cholinergic drugs on electroencephalogram of the gonadectomized female rabbits. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2020;18(1):23-28. <https://doi.org/10.7816/RCF18123-28>

Received: 15.01.2020

Revised: 18.02.2020

Accepted: 19.03.2020

The results of investigation has shown, that after the gonadectomy of the rabbits-females the general power of EEG spectrum (GPS of EEG) changed under influence of cholinergic drugs. The sterilization of the animals leads to disorders of interaction between M- and N-cholinergic mechanisms in the brain. In particular, blockade of M-cholinergic receptors by metamizol in intact and ovariectomized rabbits increased the GPS of EEG. The simultaneous administration of metamizol with galantamine to intact females led to even greater increase of GPS of EEG, whereas the sterilized rabbits demonstrated its reduction. On the

contrary, the application of the N-cholinergic receptors inhibitor ganglerson with inhibitor of acetylcholinesterase (AChE) galantamine reduced the GPS of EEG in intact animals and increased it in gonadectomized rabbits in comparison with ganglerson alone. Thus, the effect of M,N-cholinoblockators in combination with AChE inhibitor in sterilized rabbits changed the EEG spectrum to opposite in comparison with intact females.

◆ **Keywords:** rabbits; cholinergic regulation; ovariectomy, EEG.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время ни у кого не вызывает сомнения важная роль холинергической системы в регуляции функций организма. Разделение

С.В. Аничковым холинореактивных биосистем на М- и Н-холинореактивные и дальнейшие исследования в отделе нейрофармакологии Института экспериментальной медицины в этой области показали, что М-холиноблокаторы, блокируя

действие мускарина, потенцировали эффект никотина, а Н-холиноблокаторы, блокируя действие никотина, потенцировали эффект мускарина. Это позволило Н.А. Лосеву сформулировать концепцию реципрокного взаимодействия между М- и Н-холинергическими механизмами [4]. Исходя из феномена реципрокности взаимодействия между М- и Н-холинергическими механизмами, им было предложено лечение больных сочетанным применением блокаторов М с одновременной стимуляцией Н-холинорецепторов и, наоборот, блокадой Н с одновременной активацией М-холинорецепторов. Апробация такого подхода к лечению больных в клинике показала его высокую эффективность при таких устойчивых патологических состояниях, как паркинсонизм, детские спастические центральные параличи, апатоабулический синдром при шизофрении, эпилепсия, поражение периферических нервов, язвенная болезнь, артериальная гипертензия, бронхообструктивный синдром при бронхиальной астме и др. по сравнению с использованием лишь одних М- или Н-холиноблокаторов при лечении этого контингента больных [5].

Из огромного количества публикаций, посвященных изучению роли холинергических биосистем в организме, следует, что основные компоненты — ацетилхолин (АХ) и ацетилхолинэстераза (АХЭ), необходимые для их функционирования, обнаружены на всех уровнях центральной нервной системы, а также в периферических ее отделах. Чувствительность к АХ чрезвычайно широко представлена в различных органах и тканях, как на периферии, так и в центральной нервной системе. Изменение уровня содержания ряда медиаторов и связанных с ними веществ в различных органах и тканях организма, обусловлено первичным изменением уровня содержания АХ [2].

Известно, что при возрастном ухудшении механизмов памяти и при болезни Альцгеймера также страдает холинергическая система, а ее активация (с помощью обратимого блокатора ацетилхолинэстеразы галантамина) частично восстанавливает процессы обучения и памяти [6]. Холинергические механизмы головного мозга участвуют в процессах рецепции половых гормонов в структурах головного мозга [7]. 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]. Нарушения, происходящие в холинергической системе при недостатке эстрогенов, могут способствовать развитию болезни Альцгеймера [8].

Исследование в этой области может способствовать выяснению роли холинергической медиаторной системы в интегративной деятельности головного мозга и функционировании его в условиях дефицита стероидных гормонов в организме.

Целью работы явилось изучение влияния холинергических препаратов на параметры спонтанной биоэлектрической активности некоторых структур головного мозга в норме и при дефиците половых гормонов у самок в хроническом эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования были выполнены на 56 кроликах-самках породы шиншилла весом 3–3,5 кг в соответствии с правилами, рекомендованными Физиологической секцией Российского национального комитета по биологической этике. Посредством стереотаксической установки под тиопенталовым наркозом (25 мг/кг массы тела) в глубокие структуры головного мозга кроликов (хвостатое ядро, гиппокамп, ретикулярная формация) были имплантированы биполярные электроды и поверхностные монополярные хлорсеребряные электроды диаметром 1 мм — в зрительную и лобную области коры. Индифферентный электрод размещали в носовой кости впереди брегмы по средней линии. Все электроды фиксировали на черепе зубным цементом карбодентом, припаивали их к мультисканальному разъему и закрепляли на черепе кролика. Контроль имплантации электродов в структуры мозга осуществляли путем послойной фронтальной нарезки замороженного головного мозга кроликов после окончания опытов. Регистрацию данных электроэнцефалограммы (ЭЭГ) проводили в экранированной камере с помощью электроэнцефалографа-анализатора ЭЭГА-21/26 «Энцефалан-131-03» российской фирмы «Медиком МТД». 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 активности структуры была использована величина общей мощности спектра (ОМС) ЭЭГ. Регистрацию спонтанной биоэлектрической активности осуществляли спустя 3 нед. после имплантации электродов. При исследовании влияния холинергических веществ на спонтанную биоэлектрическую активность регистрацию ЭЭГ проводили до введения препаратов (фон) и через 1, 2 и 3 ч после инъекции: М-холиноблокатора метамизила в дозе 1 мг/кг в/бр, Н-холиноблокатора ганглера 5 мг/кг в/бр, ингибитора АХЭ галантамина 0,5 мг/кг п/к; при комбинированном введении препаратов галантамин вводили через 20 мин после одного из холиноблокаторов. После двусторонней овариэктомии спонтанную биоэлектрическую активность мозга регистрировали через 30 сут после операции.

Статистическую обработку данных осуществляли стандартными методами в программе Origin 7.5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты показали, что введение М-холиноблокатора метамизила интактным животным приводит к усилению ОМС ЭЭГ на 150 % ($p \geq 0,05$) в первый час после введения во всех исследуемых корковых и подкорковых структурах мозга, как правило, за счет усиления мощности спектра дельта-ритма в 1,5–2 раза. Нами обнаружено выраженное, сохраняющееся в течение 3 ч увеличение общей мощности спектра ЭЭГ в зрительной коре (рис. 1, а) и ретикулярной формации (рис. 2, а). Незначительное снижение через 2 ч с последующим восстановлением высокого уровня ОМС ЭЭГ отмечали в лобной коре (рис. 3, а) и гиппокампе (рис. 4, а). Более короткий положительный эффект метамизила с полным его нивелированием наблюдали в хвостатом ядре (рис. 5, а). Комбинированное применение метамизила с галантамином также приводило к длительному и еще большему усилению ОМС ЭЭГ по сравнению с одним метамизилом в большинстве исследуемых структур,

кроме хвостатого ядра, где этот эффект запаздывал (рис. 5, а), и в корковых структурах: к третьему часу наблюдений выявили снижение ОМС ЭЭГ до уровня введения одного метамизила (рис. 1, а, 3, а). Это усиление ОМС ЭЭГ во всех структурах происходит также за счет еще большего усиления дельта-ритма. Полученные данные свидетельствуют, что блокада М-холинорецепторов приводит к растормаживанию и усилению активности исследованных структур, а усиление эффекта метамизила на фоне ингибитора АХЭ — о наличии реципрокного взаимодействия между М- и Н-холинергическими механизмами.

Введение кроликам ингибитора АХЭ галантамина во всех структурах, кроме гиппокампа (там наблюдалось его незначительное прямолинейное повышение, рис. 4), приводило к сходному подъему ОМС ЭЭГ мозга в первый и третий часы исследования до 130 %. В середине исследования он соответствовал уровню такового интактных животных (рис. 1, а–3, а, 5, а). Возможно, что такое колебание

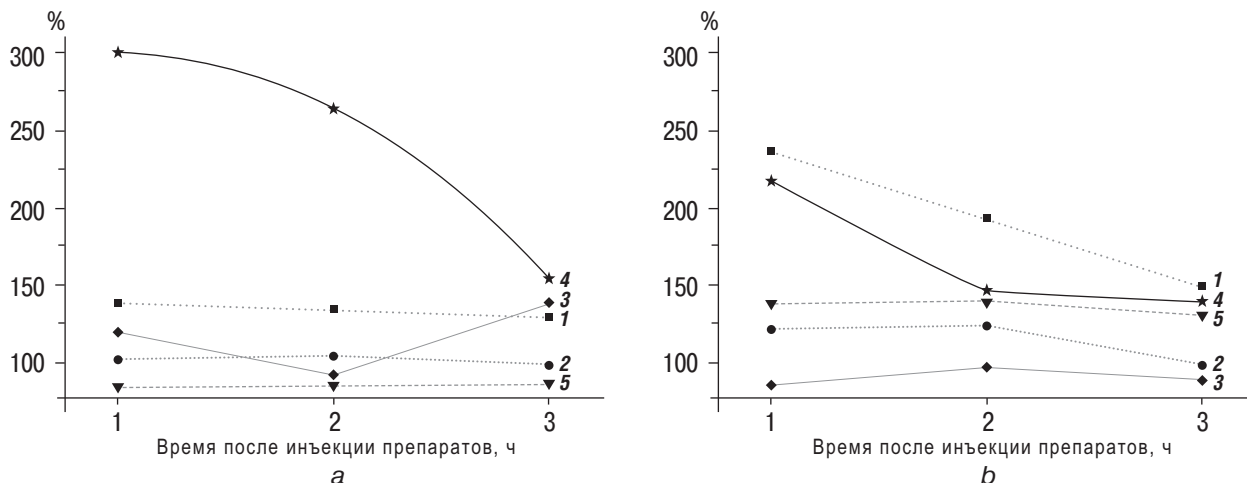


Рис. 1. Изменение общей мощности спектра электроэнцефалограммы, регистрируемой у интактных (а) и овариоэктомированных (b) кроликов, в зрительной коре по сравнению с фоновым уровнем, принятым за 100 %. 1 — метамизил, 2 — ганглерон, 3 — галантамин, 4 — метамизил + галантамин, 5 — ганглерон + галантамин

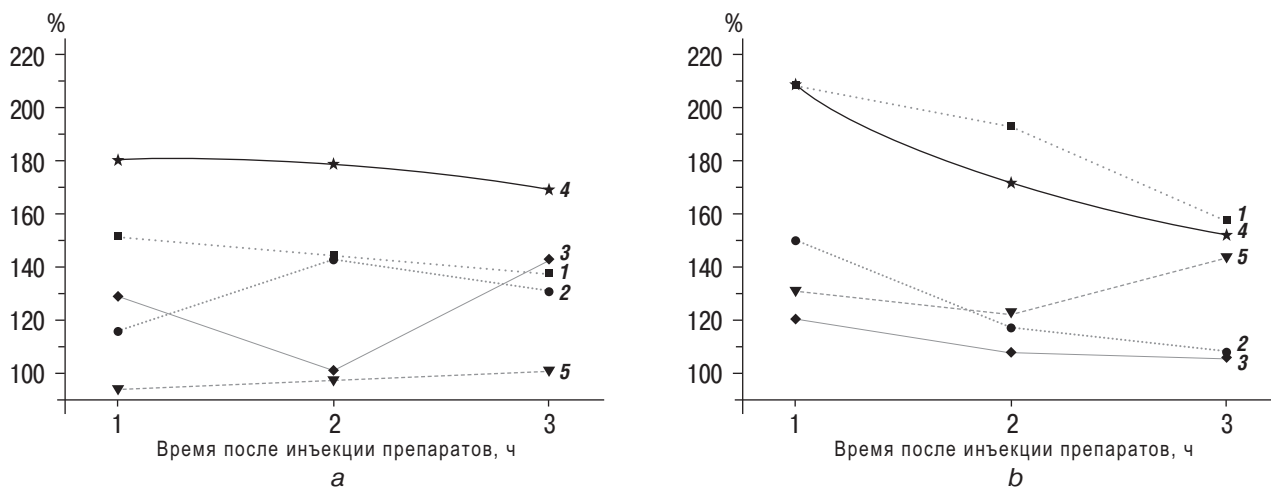


Рис. 2. Изменение общей мощности спектра электроэнцефалограммы, регистрируемой у интактных (а) и овариоэктомированных (b) кроликов, в ретикулярной формации по сравнению с фоновым уровнем, принятым за 100 %. 1 — метамизил, 2 — ганглерон, 3 — галантамин, 4 — метамизил + галантамин, 5 — ганглерон + галантамин

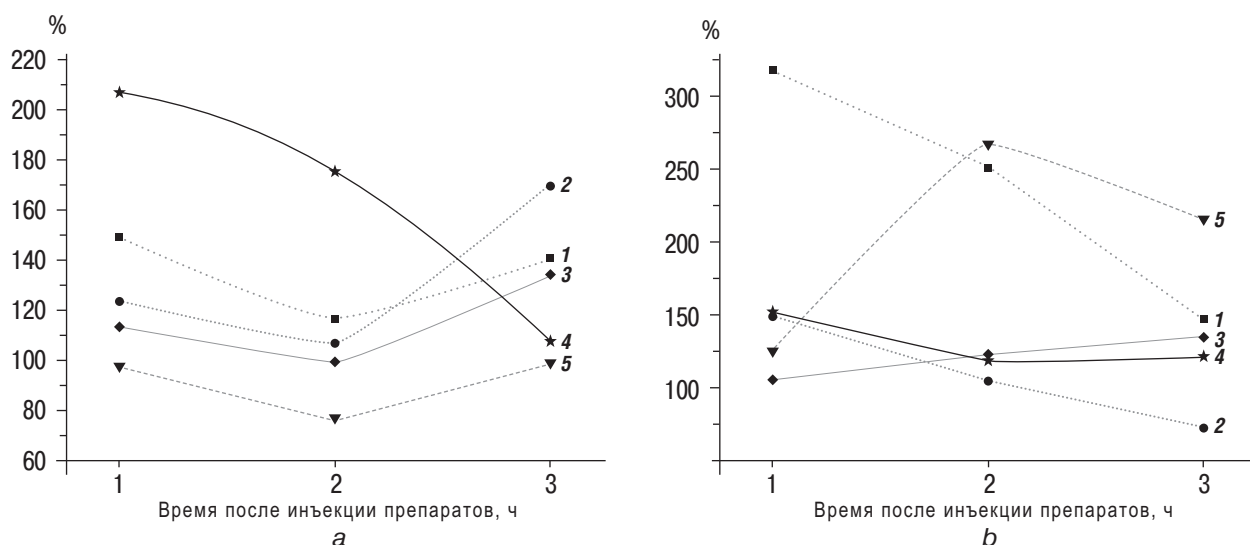


Рис. 3. Изменение общей мощности спектра электроэнцефалограммы, регистрируемой у intactных (a) и овариоэктомированных (b) кроликов, в лобной коре по сравнению с фоновым уровнем, принятым за 100 %. 1 — метамизил, 2 — ганглерон, 3 — галантамин, 4 — метамизил + галантамин, 5 — ганглерон + галантамин

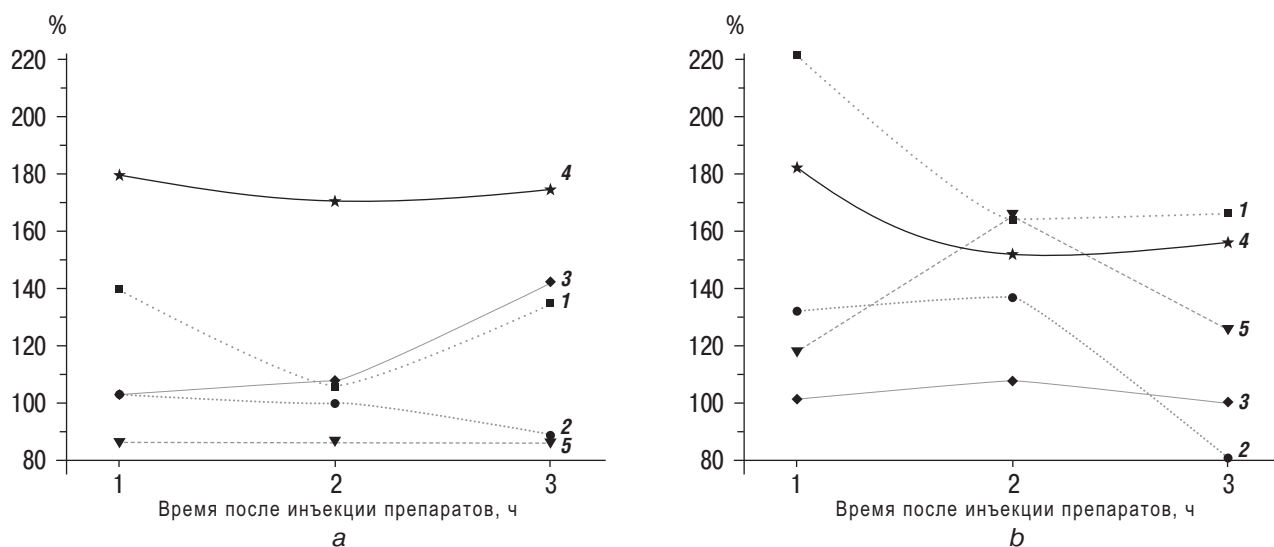


Рис. 4. Изменение общей мощности спектра электроэнцефалограммы, регистрируемой у intactных (a) и овариоэктомированных (b) кроликов, в гиппокампе по сравнению с фоновым уровнем, принятым за 100 %. 1 — метамизил, 2 — ганглерон, 3 — галантамин, 4 — метамизил + галантамин, 5 — ганглерон + галантамин

ОМС ЭЭГ связано с вовлечением разных холинорецептивных структур мозга.

Применение Н-холиноблокатора ганглерона в первый час исследования во всех изучаемых структурах не вызывало достоверных изменений ОМС ЭЭГ у кроликов-самок. Дальнейшие наблюдения показали всплеск ОМС ЭЭГ только в двух исследуемых структурах мозга: в ретикулярной формации — через 2 ч с последующим снижением (рис. 2, a) и лобной коре — через 3 ч после введения (рис. 3, a). Комбинированное применение ганглерона с галантамином приводило к продолжительному снижению ОМС по сравнению с кроликами, получавшими эти препараты по отдельности. Это снижение даже на 20 % ниже ОМС ЭЭГ intactных животных (принятым за 100 %) во всех изучаемых структурах. Можно полагать, что подобный эффект также

связан с реципрокным взаимодействием между М- и Н-холинореактивными механизмами.

Овариоэктомия приводила к снижению ОМС ЭЭГ у самок в среднем на 40 %. Наибольшие изменения ОМС ЭЭГ наблюдали в лобной коре (37 % intactных), наименьшие — в ретикулярной формации (83 %). В гиппокампе, хвостом ядре и зрительной коре ОМС ЭЭГ составляла 63–66 % уровня контрольных животных.

У овариоэктомированных кроликов введение метамизила вызывало значительно большее увеличение ОМС ЭЭГ, чем у intactных животных ($p \geq 0,01$). Так в лобной коре оно увеличивалось в 3 раза (рис. 3, б), хвостом ядре — в 2,7 раз (рис. 5, б), в остальных структурах в 2–2,4 раза, тогда как у intactных самок это повышение было лишь в 1,5 раза.

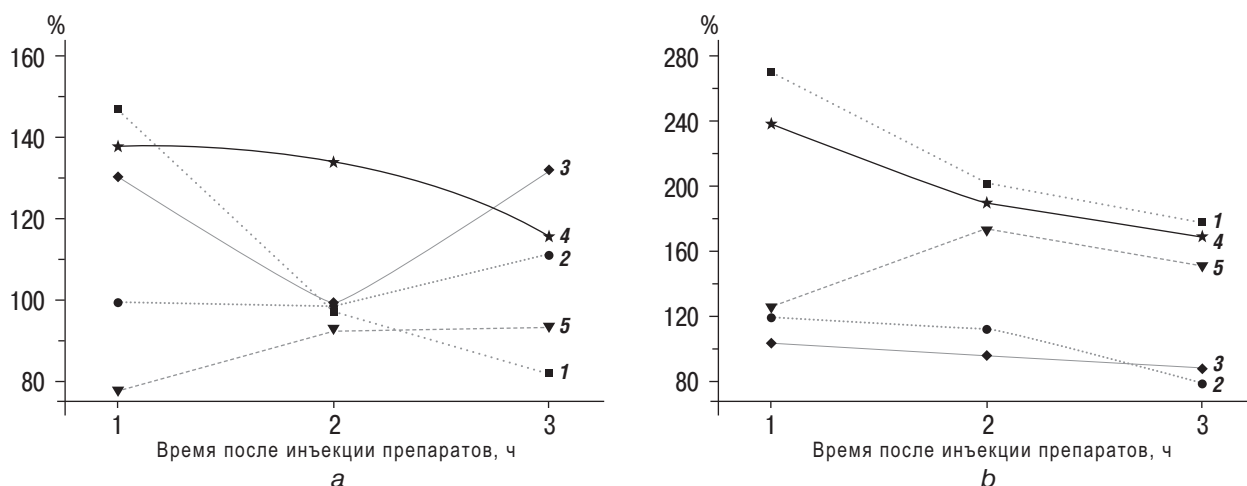


Рис. 5. Изменение общей мощности спектра электроэнцефалограммы, регистрируемой у интактных (а) и овариоэктомированных (b) кроликов, в хвостатом ядре по сравнению с фоновым уровнем, принятым за 100 %. 1 — метамизил, 2 — ганглерон, 3 — галантамин, 4 — метамизил + галантамин, 5 — ганглерон + галантамин

Комбинированное применение метамизила с ингибитором АХЭ галантамином стерелизованным самкам приводило не к еще большему усилению ОМС ЭЭГ, а наоборот, к его ослаблению во всех исследуемых структурах, хотя он и оставался достоверно высоким ($p \geq 0,05$).

Н-холиноблокатор ганглерон в первый час после введения во всех структурах увеличивал ОМС ЭЭГ с последующим его снижением до контрольного уровня в зрительной коре (рис. 1, б) и ретикулярной формации (рис. 2, б) и ниже в остальных структурах (рис. 3, б — 5, б).

Введение ганглерона в комбинации с галантамином овариоэктомированным животным в отличие от интактных самок вызывало увеличение ЭЭГ ОМС, а не уменьшение эффекта, тогда как введение одного галантамина существенно не влияло на ОМС ЭЭГ.

При сравнении действия холинергических препаратов на интактных и овариоэктомированных самках имеется четкий противоположный эффект комбинированного применения препаратов.

Таким образом, двусторонняя овариоэктомия животных приводит к нарушению взаимодействия между М- и Н-холинергическими механизмами. При этом сохраняется разнонаправленное действие комбинации метамизила с галантамином и ганглерона с галантамином, то есть имеет место их реципрокное действие.

Полученные данные о зависимости функционального состояния исследуемых нейронных структур от уровня эстрогенов дают возможность предположить, что холинергические рецепторы играют важную роль в реализации эффектов половых стероидов в стероидчувствительных ядрах головного мозга. В свою очередь, действие холинергических агентов модулируется эстрогенами, и степень активации холинергической системы находится в зависимости от уровня их в организме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установленное ранее снижение ОМС ЭЭГ после гонадоэктомии кроликов [3], подтверждается и в данном исследовании во всех регистрируемых структурах мозга. Сравнительный анализ влияния холинотропных препаратов на величину ОМС ЭЭГ, отражающую биоэлектрическую активность структур головного мозга, у интактных и овариоэктомированных кроликов-самок показал, что М-холиноблокатор метамизил в обеих группах животных вызывал стойкое увеличение ОМС ЭЭГ во всех исследуемых структурах головного мозга, наиболее проявляющееся у стерелизованных животных. Комбинированное применение метамизила с ингибитором АХЭ галантамином у интактных и стерелизованных животных вызывал противоположный эффект: еще большее усиление М-холинергического действия метамизила у контрольных животных и ослабление его эффекта у гонадоэктомированных кроликов-самок, хотя уровень ОМС ЭЭГ все равно оставался достаточно высоким. Эффект ганглерона также отличался по действию на обе группы, наиболее ощутимый эффект обнаружен также у стерелизованных животных. Сочетанное применение блокатора Н-холинорецепторов ганглерона с ингибитором АХЭ галантамином снижало ОМС ЭЭГ, по сравнению с одним ганглероном у интактных животных, и увеличивало у овариоэктомированных самок.

Таким образом, при комбинированном применении препаратов действие холинергических препаратов на интактных и овариоэктомированных животных имеет четкий противоположный эффект, при этом сохраняется разнонаправленное действие комбинации метамизила с галантамином и ганглерона с галантамином, то есть сохраняется их реципрокное действие.

Стерелизация животных приводит к нарушению взаимодействия между М- и Н-холинергическими

механизмами. Нарушение рецепции эстрогенов в ядрах головного мозга после овариоэктомии, по-видимому, вызывает модуляцию действия препаратов холинергической медиаторной системы на биоэлектрическую активность нейронных популяций центральных нервных структур, и тем самым, может обуславливать дальнейшее изменение поведенческих состояний организма в условиях дефицита эстрогенов.

ВЫВОДЫ

1. Блокада М-холинорецепторов метамизилом с одновременной стимуляцией Н-холинорецепторов галантамином значительно увеличивает ОМС ЭЭГ по сравнению с одним метамизилом у интактных самок, тогда как у стерилизованных кроликов происходит его снижение.

2. Сочетанное применение блокатора Н-холинорецепторов ганглерона с ингибитором АХЭ галантамином, наоборот, снижает ОМС ЭЭГ по сравнению с одним ганглерином у интактных животных и увеличивает у овариоэктомированных самок.

3. Применение М- и Н-холиноблокаторов в сочетании с галантамином у овариоэктомированных и интактных кроликов меняется в противоположном направлении, то есть сохраняется их реципрокное действие.

Данное исследование автор посвящает недавно ушедшему из жизни учителю — профессору Николаю Андреевичу Лосеву.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байрамов А.А., Кузнецова Н.Н. Андроген-зависимое влияние М-холинолитика метамизила на биоэлектрическую активность головного мозга // Психофармакология и биологическая наркологию. – 2006. – Т. 6. – № 1–2. – С. 1197–1203. [Bajramov AA, Kuznetsova NN. Androgen-dependent influence of m-cholinergic metamyzil on on bioelectric activity of the brain. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2006;6(1-2):1197-1203. (In Russ.)]
2. Денисенко П.П. Роль холинореактивных систем в регуляторных процессах. – М.: Медицина, 1980. – 295 с. [Denisenko PP. Rol' kholinoreaktivnykh sistem v regulatorynykh protsessakh. Moscow: Meditsina; 1980. 295 p. (In Russ.)]
3. Кузнецова Н.Н., Лосев Н.А. Влияние холинергических препаратов на изменение спектра мощности ЭЭГ у интактных и гонадо- и овариоэктомированных кроликов / Материалы IX Научно-практической конференции «Проблемы изучения резистентности организма к действию экстремальных факторов внешней среды»; Санкт-Петербург, 27 мая 2016 г. – СПб., 2016. – С. 74–79. [Kuznetsova NN, Losev NA. Kuznetsova NN, Losev NA. Vliyaniye kholinergicheskikh preparatov na izmeneniye spektra moshchnosti EEG u intaktnykh i gonado- i ovarioektomirovannykh krolikov In: Proceedings of the 9th Scientific and practical Conference “Problemy izucheniya rezistentnosti organizma k deystviyu ekstremal’nykh faktorov vneshney sredy”. Saint Petersburg, 27 May 2016. Saint Petersburg; 2016. P. 74-79. (In Russ.)]
4. Лосев Н.А. Реципрокность взаимодействия между М- и Н-холинергическими механизмами в единой системе. В кн.: Вопросы структурно-медиаторной организации и регенерации нервной системы. – Ленинград, 1985. – С. 72–80. [Losev NA. Retsiproknost' vzaimodeystviya mezhdru M- i N-kholinergicheskimi mekhanizmami v edinoy sisteme. In: Voprosy strukturno-mediatornoy organizatsii i regeneratsii nervnoy sistemy. Leningrad; 1985. P. 72-80. (In Russ.)]
5. Лосев Н.А., Сапронов Н.С., Хныченко Л.К., Шабанов П.Д. Фармакология новых холинергических средств (фармакология — клинике). – СПб, 2015. [Losev NA, Saponov NS, Khnychenko LK, Shabanov PD. Farmakologiya novykh kholinergicheskikh sredstv (farmakologiya – klinike). Saint Petersburg; 2015. (In Russ.)]
6. Gron 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. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2004.12.005>.
7. Martínez-Morales JR, López-Coviella I, Hernández-Jiménez 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. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(01\)00023-9](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(01)00023-9).
8. Simpkins JW, Green PS, Gridley KE, et al. Role of Estrogen Replacement Therapy in Memory Enhancement and the Prevention of Neuronal Loss Associated With Alzheimer's Disease. *Am J Med*. 1997;103(3):19S-25S. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(97\)00260-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(97)00260-x).

♦ Информация об авторах

Наталья Николаевна Кузнецова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «ИЭМ», 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, Saint Petersburg, Russia. ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург. E-mail: Nat.kuz@mail.ru.