

10. *Diamond I. T., Jones E. G., Powell T. P. S.* The projection of the auditory cortex upon the diencephalon and brain stem in the cat // *Ibid.*— 1969.— 15, N 3.— P. 305—340.
11. *Jasper H. H., Ajmone-Marsan C.* A stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat.— Ottawa: The Nat. Res. Council of Canada, 1954.— 79 p.
12. *Imig T. J., Morel A.* Tonotopic organization in ventral nucleus of medial geniculate body in the cat // *J. Neurophysiol.*— 1985.— 53, N 1.— P. 309—340.
13. *Love J. A., Scott J. W.* Some response characteristics of cells of the magnocellular division of the medial geniculate body of the cat // *Can. J. Physiol. and Pharmacol.*— 1969.— 47, N 10.— P. 881—888.
14. *Moore R. Y., Goldberg J. M.* Ascending projections of the inferior colliculus in the cat // *J. Comp. Neurol.*— 1963.— 121, N 1.— P. 109—136.
15. *Wepic J. G.* Multimodal sensory activation of cells in the magnocellular medial geniculate nucleus // *Expt. Neurol.*— 1966.— 15, N 3.— P. 299—318.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 21.03.88

УДК 612.822.3+612.78

Влияние некоторых нейропептидов на электрическую активность структур мозга кролика

О. С. Папсуевич, В. Д. Бахарев

Суммарная электрическая активность структур головного мозга является безусловным отображением электрической активности нейронных популяций, которая в свою очередь тонко отображает нейронные механизмы различных видов памяти и обучения, в том числе при выработке условных рефлексов [12]. Расширяющееся применение нейропептидов в клинической практике для лечения нарушений памяти, алкоголизма, шизофрении [11] актуализирует исследования влияния их на показатели электрической активности ЦНС.

Целью данной работы явилось продолжение наших исследований [9] по изучению действия биологически активных веществ пептидной природы на фоновую (спонтанную) активность образований лимбической системы для поиска структур мозга, ответственных за мнестические и поведенческие эффекты нейропептидов, точек приложения, являющихся пусковыми для эффектов биорегуляторов пептидной природы, объективизация общих механизмов и различий в действии пептидов на ЦНС. Для этого нами использованы дез-9-глицин-[8-аргинин]вазопрессин (ДГ-АВП), люлиберин, инсулин, гексапептид 52—57 фактора роста нервной ткани (ФРН) и тетрапептид 122—125 человеческого лейкоцитарного интерферона (ИНФ- α_2).

Методика

Работа выполнена на 20 кроликах обоего пола породы шиншилла массой $(2,0 \pm 0,3)$ кг. На каждом животном производили не более трех экспериментов с промежутком не менее 7 сут. Для регистрации электрической активности различных структур мозга за 10—12 сут до основного эксперимента на стереотаксическом приборе производили вживление электродов. Стереотаксические координаты погружения электродов в мозг кролика рассчитывали по атласу Сентаготаи, используя методику, подробно описанную Мещерским [7]. Они приведены в табл. 1.

Энцефалограмму регистрировали монополярно с помощью чернилопишущего восьмиканального энцефалографа «Медикор-01-4751» и анализировали на широкополосном анализаторе-интеграторе «Медикор-4657» (Венгрия). Постоянная времени фильтров нижних частот составляла 0,3 с, что соответствовало предельной частоте 0,53 Гц. Предельная частота фильтров верхних частот составляла 70 Гц. Полосы частот фильтрационных контуров анализатора составляли для дельта-ритма 1,5—3 Гц, тета — 4—7, альфа — 8—13, бета — 14—30 и гамма — 31—70 Гц. Оценку результатов, помимо гра-

Таблица 1. Координаты введения электродов

Расстояние кончика электрода от основной плоскости, мм	Область вживления электродов			
	Гиппокамп (НП)	Задний отдел гипоталамуса (ННП)	Передний отдел гипоталамуса (АНП)	Кора больших полушарий, зрительная область (поле 17)
Сагиттальное расстояние, отсчет от нулевой плоскости вперед и назад (AP)	-1	+3	-2,5	+12
Расстояние во фронтальной плоскости, отсчет от сагиттального шва вправо и влево (DS)	3	1	1,5	1,5
Глубина погружения кончика электрода, отсчет от нулевой плоскости вверх и вниз (H)	-4,5	-2,5	-3	0,3 мм глубже твердой мозговой оболочки

фических методов разделения суммарной биоэлектрической активности по полосам, осуществляли также регистрацией показателей интегрирования с помощью трехзначного цифрового индикатора (мкВ/с). Эпоха анализа составляла 120 с.

Пептиды растворяли непосредственно перед употреблением в стерильном 0,9 % -ном растворе хлорида натрия, в случае инсулина использовали 20 %-ный раствор глюкозы. Растворы пептидов (0,2 мл) вводили в краевую вену уха кролика. В контрольных опытах до введения пептида в эквивалентном объеме инъецировали физиологический раствор. Применяли следующие дозы: для ДГ-АВП — 50 мкг/кг, люлиберина — 150 мкг/кг, инсулина — 2,5 МЕ/кг, пептидов ФРН и ИФН — 250 мкг/кг.

Результаты

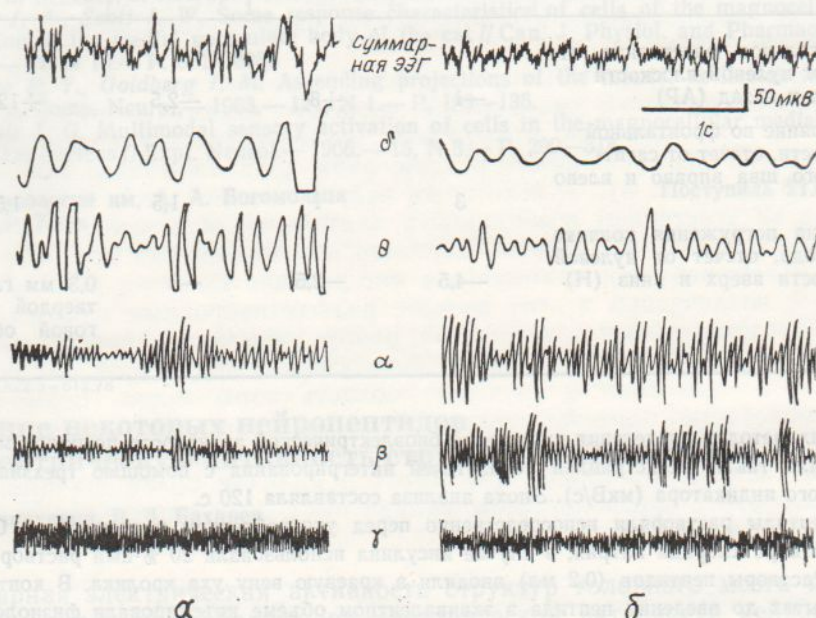
Все исследованные пептиды оказывали существенное активизирующее влияние на электрическую активность ЦНС. Максимальные сдвиги спектра электрической активности мозга (по результатам анализа электроэнцефалограммы) в сторону уменьшения дельта-ритма ($-\delta$) наблюдались в области дельта-диапазона, а в сторону увеличения бета-ритма ($+\beta$) — в области бета-диапазона (рисунок). Тета-ритм в большей части экспериментов имел тенденцию к уменьшению аналогично дельта-ритму. В меньшей части экспериментов тета-ритм после инъекций пептидов нарастал и происходило это лишь в гиппокампе, а после инъекций ДГ-АВП тета-ритм в гиппокампе увеличивался практически во всех опытах.

В большинстве опытов прослеживалась тенденция к увеличению выраженности альфа-ритма. Его изменения были аналогичны изменениям бета-ритма, но менее выражены и статистически незначимы. Гамма-ритм не претерпевал изменений и оставался на уровне фоновых значений во всех структурах вне зависимости от введения пептидов.

Сдвиг в спектре электрической активности мозга после инъекций нейропептидов в различных подкорковых структурах мозга был неодинаковым. ДГ-АВП вызывал максимальное повышение активности в гиппокампе, люлиберин — в заднем отделе гипоталамуса, фрагменты ФРН и ИФН — в переднем отделе гипоталамуса. Сдвиг спектра дельта- и бета-диапазонов после введения пептидов в различных структурах представлен в табл. 2. Результаты приведены в абсолютных значениях (мкВ/с), выбрано время максимальной активности, т. е. через 30 мин после инъекций пептидов. Абсолютные значения свидетельствуют, что максимальная фоновая электрическая активность зарегистрирована в коре больших полушарий. Менее выражена она в гиппокампе и перед-

нем отделе гипоталамуса, а самая низкая — в заднем отделе гипоталамуса.

Обращает на себя внимание большое абсолютное значение сдвига дельта-диапазона. Это можно объяснить тем, что автоматический анализ, проведенный с помощью интегратора, основан на суммировании



Образец графической регистрации биоэлектрической активности коры больших полушарий кролика на самописце интегратора-дифференциатора:

а — фон, после введения физиологического раствора; б — через 30 мин после введения ДГ-АВП (50 мкг/кг).

площади, описываемой волнами соответствующего диапазона. Дельта-волны имеют значительно большую амплитуду, чем бета-волны, более длительный период и, следовательно, интеграция (мкВ/с) для дельта-диапазона больше. Так, введение ДГ-АВП уменьшало интегрирование для дельта-волн в коре больших полушарий от 162 до 115 мкВ/с, а бета-диапазон увеличивался соответственно от 47 до 68 мкВ/с. Разница этих значений составляет —47 и +21 соответственно.

Результаты изучения действия пептидов на электрическую активность ЦНС в относительных единицах представлены в табл. 3. Такое

Таблица 2. Сдвиг среднего значения дельта- и бета-диапазонов в различных структурах мозга кролика через 30 мин после введения нейропептидов

Структура	Среднее значение сдвига спектра, мкВ/с									
	ДГ-АВП		Люлиберин		Инсулин		ФРН-(52—57)		ИФН-(122—125)	
	—δ	+β	—δ	+β	—δ	+β	—δ	+β	—δ	+β
Гиппокамп	23***	14**	9	7	8	7*	2	1	6*	5
Задний отдел гипоталамуса	6	2	16***	9**	6*	5	1	0	2	3
Передний отдел гипоталамуса	8*	3	11*	8*	11*	4*	7*	4	10*	8*
Зрительная область коры	47***	21***	23***	12*	21**	17**	18*	10*	24**	15*

Примечание. Приведены усредненные значения разницы между опытом (введение нейропептида) и контролем (введение физиологического раствора). Вероятность различия этого значения со средней ошибкой эксперимента по критерию Стьюдента: *** — больше 0,999, ** — больше 0,99, * — больше 0,95.

Таблица 3. Влияние пептидов на спонтанную электрическую активность различных структур головного мозга кролика

Структура	Уровень активации, усл. ед.				
	ДГ-АВП	Люлиберин	Инсулин	ФРН-(52—57)	ИФН- α_2 -(122—125)
Гиппокамп	+++	+	+	±	+
Задний отдел гипоталамуса	+	+++	+	±	±
Передний отдел гипоталамуса	++	++	+	++	++
Зрительная область коры больших полушарий (поле 17)	+++	++	++	++	++

Примечание: +++ — значительный сдвиг, ++ — достоверный сдвиг, + — тенденция к сдвигу, ± — нет сдвига.

относительное сравнение позволило определить, что самым сильным активизирующим эффектом из всех исследованных пептидов обладает ДГ-АВП. Чаще всех подкорковых образований отвечает активацией на введение пептидов передний отдел гипоталамуса, реже всех — задний. Кора больших полушарий является местом суммации активизирующего эффекта и его усиления. Если для ДГ-АВП, люлиберина, фрагментов ФРН и ИФН имеются места локально высокой чувствительности, то для инсулина участки возможной активизации равномерно распределены по всем исследуемым структурам.

Обсуждение

Исследованные в настоящей работе пептиды и их фрагменты принадлежат к различным группам природных биорегуляторов, различаются как по химическому строению и биогенезу, так и по основным биологическим функциям, вследствие чего полученные результаты представляют собой ценные данные для выявления структурно-функциональных закономерностей действия модуляторов обучения и памяти.

ДГ-АВП — синтетический аналог нейрогипофизарного гормона вазопрессина с весьма низкой гормональной активностью, в то же время он проявляет выраженное воздействие на ЦНС, поведение, обучение и память, в частности на выработку и сохранение условных рефлексов [4, 11]. Интересно, что под его влиянием происходит перераспределение функциональных связей нейронов коры мозга, которое по своему характеру очень напоминает картину взаимоотношений нейронов, наблюдаемую при обучении [3]. Как показали результаты нашей работы, он, подобно природному нейропептиду [8-аргинин]-вазопрессину [6, 15, 16, 20, 21], активизирует электрические процессы нейронов отдельных структур коры больших полушарий и подкорковых структур (гиппокамп, гипоталамуса).

Заслуживают внимания данные [14, 16] о влиянии вазопрессина и некоторых других его аналогов на возбудимость нейронов вентрального гиппокампа крысы *in vitro*. В противоположность аргининвазопрессину (более 10^{-9} моль/л), который на срезах гиппокампа вызывал дозозависимое усиление возбуждения нейронов, дез-9-глицинамид-[8-аргинин]вазопрессин (ДГА-АВП) не обладал подобной активностью. В то же время ДГА-АВП, являясь эндогенным метаболитом природного гормона, оказывает выраженное стимулирующее действие на процессы обучения и памяти.

Люлиберин — гипоталамический декапептид, обладающий помимо гормональной активности (стимуляции выделения лютропина и фоллиotropина) выраженным влиянием на функции ЦНС: проявляет противоболевые, антиконвульсивные и психостимулирующие эффекты, уско-

ряет выработку и сохранение условных рефлексов [1, 13]. Под влиянием люлиберина, как свидетельствуют результаты нашей работы, происходят значительные отклонения в энцефалограмме электрической активности заднего отдела гипоталамуса, а также (хотя и меньше) в зрительной области коры больших полушарий и гиппокампе. Согласно работам других исследователей [17], он вызывает возбуждение большинства кортикоспинальных нейронов и неидентифицированных клеток (83 и 88 % соответственно) в коре головного мозга крысы. В других структурах мозга он может вызвать возбуждение и проявить ингибирующее действие.

Полученные результаты и опубликованные ранее данные [2] свидетельствуют о том, что инсулин и некоторые его полимерные аналоги оказывают положительное влияние на процессы обучения и памяти у кролика, повышают электрическую активность головного мозга, увеличивая в спектре ЭЭГ представительство быстрых компонентов и уменьшая медленноволновую часть. Можно полагать, что активация ЦНС после введения инсулина может быть вызвана повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера для аминокислот, особенно для таких, как тирозин, глутаминовая кислота и аргинин, а также высвобождением других нейропептидов, в частности вазопрессина и кортикотропина. В сравнительных исследованиях на нейронах моллюсков вазопрессин оказывает действие в низких концентрациях, тогда как инсулин вызывает изменение электрических свойств мембраны только в высоких концентрациях. Высокая чувствительность нейронов моллюсков к вазопрессину объясняется наличием у них специальных рецепторов, тогда как инсулин оказывает общее мембранотропное действие [5].

Как уже было показано ранее [8, 10], тетрапептид 122—125 ИФН- α_2 ускоряет выработку условного рефлекса активного избегания и улучшает долговременную память, подобно нативному интерферону стимулирует фагоцитарную функцию макрофагов, повышает активность К-клеток. Согласно результатам нашей работы, внутривенные инъекции фрагмента ИФН вызывают возбуждение нейронов в коре больших полушарий, гипоталамусе и гиппокампе кролика. Интересно отметить, что нативный лейкоцитарный ИФН проявляет в целом аналогичное действие. Так, при ионофоретической аппликации (10^{-5} — $3 \cdot 10^{-5}$ МЕ) он вызывает длительный дозозависимый эффект возбуждения нейронов гиппокампа и сенсомоторной коры мозга, а также двухфазовые ответы в клетках гипоталамуса крысы [18, 19].

Полученные в настоящей работе результаты полностью соответствуют данным наших предыдущих работ, а также работ других авторов [1, 2, 4, 10, 13], в которых с помощью методик тестирования поведения показано активизирующее воздействие изученных пептидов на процессы высшей нервной деятельности, в частности обучение и память. Очевидно, участие нейропептидов в этих процессах теснейшим образом связано с их способностью оказывать активизирующее воздействие на электрическую деятельность отдельных структур мозга. Мы полагаем, что неодинаковое активизирующее влияние нейропептидов на структуры головного мозга можно объяснить неравномерным распределением специфических пептидных рецепторов. По-видимому, для ДГ-АВП максимально высокая плотность их в гиппокампе, для люлиберина — в заднем отделе гипоталамуса, для фрагментов интерферона и фактора роста нервной ткани — в переднем отделе гипоталамуса. В противоположность им для инсулина распределение рецепторов более равномерно. Кора больших полушарий, суммируя возбуждение, поступающее с подкорковых структур, усиливает активизирующий эффект нейропептидов.

Активизация различных структур мозга введением пептидов может объяснить неоднозначность их эффектов в тестах с различными модификациями подкрепления при обучении, т. е. неоднозначность эффекта при отрицательном или положительном подкреплении, тестиро-

вании оперантного поведения или выработке рефлекса на аверсивный стимул и т. д. В целом полученные результаты подтверждают положение о многоадресности (плейотропии) нейропептидов.

EFFECT OF SOME NEUROPEPTIDES ON THE ELECTRICAL ACTIVITY OF THE RABBIT BRAIN STRUCTURES

O. S. Papsuevich, V. D. Bakharev

Experiments on the rabbits with electrodes ingrown in the brain have revealed that des-9-glycine-[8-arginine] vasopressin (DG-AVP), luliberin, insulin, nerve growth factor-(52-57) and interferon- α_2 -(122-125) fragments exert an essential activating influence on the electrical activity of the brain. Maximum alterations in the electroencephalogram (EEG) were observed for frequency delta band (decrease in the delta rhythm) and for frequency beta band (increase in the beta rhythm). DG-AVP caused maximal activation of the electrical processes in the hippocampus, luliberin — in the posterior hypothalamus, nerve growth factor and interferon fragments — in the anterior hypothalamus. The absolute values of the EEG indicated that maximum background electrical activity is detected in the cerebral cortex. DG-AVP has the highest activating effect among all the tested peptides. The data obtained are discussed with respect to studies in the mechanism of the neuropeptide action on learning and memory.

Institute of Organic Synthesis,
Academy of Sciences of the Latvian SSR, Riga

1. Бахареv В. Д., Есипов А. С., Буров С. В. и др. «Неклассические» эффекты люлиберина, подтверждающие многоадресность нейропептидов // Журн. высш. нерв. деятельности.— 1985.— 35, вып. 1.— С. 164—169.
2. Бахареv В. Д., Соколов А. В., Изварина Н. Л., Власов Г. П. Влияние инсулина и его полимерных аналогов на процессы обучения и памяти у кроликов // Там же.— Вып. 2.— С. 314—321.
3. Богданов А. В. Влияние дезглицин-8-аргинин-вазопрессина на активность нейронов коры мозга бодрствующих кошек // Там же.— 1984.— 34, вып. 4.— С. 797—799.
4. Кругликов Р. И., Орлова Н. В., Бикбулатова Л. С. и др. Влияние различных аналогов вазопрессина на процессы обучения и памяти и метаболизм РНК в мозге крыс // Изв. АН ЛатвССР.— 1986.— № 2.— С. 81—86.
5. Мартыненко О. А., Торт Ш. Возрастные особенности реакций нейронов прудовика обыкновенного на инсулин и вазопрессин // Физиол. журн.— 1983.— 29, № 2.— С. 229—232.
6. Медведев В. И., Бахареv В. Д., Авдюшенко С. А. и др. Изменения фоновой и вызванной электрической активности коры больших полушарий кролика под влиянием нейропептидов — модуляторов памяти // Нейрофизиология.— 1982.— 14, № 6.— С. 578—584.
7. Мещерский Р. М. Стереотаксический метод.— М.: Медгиз, 1961.— 203 с.
8. Пасуевич О. С. Прогнозирование, синтез и исследование нейротропной активности фрагментов регуляторных пептидов и белков // V Всесоюз. биохим. съезд: Тез. симпоз. докл. Том 1.— М.: Наука, 1985.— С. 38—39.
9. Пасуевич О. С., Бахареv В. Д., Чипенс Г. И. Действие дез-9-глицин-[8-аргинин] вазопрессина на вызванный первичный ответ различных структур головного мозга кролика // Физиол. журн.— 1987.— 33, № 1.— С. 26—31.
10. Пасуевич О. С., Чипенс Г. И., Бахареv В. Д., Петрова Т. А. Синтез и психотропные свойства тетрапептида интерферона- α_2 -(122—125) человека // Хим.-фарм. журн.— 1985.— 19, № 1.— С. 35—39.
11. Пасуевич О. С., Чипенс Г. И., Михайлова С. В. Нейрогипофизарные гормоны.— Рига: Зинатне, 1986.— 283 с.
12. Сторожук В. М. Нейронные механизмы обучения.— Киев: Наук. думка, 1986.— 264 с.
13. Mora S., Diaz-Veliz G. Influence of luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) on the behavioral effects of amphetamine in rats // Pharmacol. Biochem. and Behav.— 1983.— 19, N 2.— P. 157—161.
14. Mühlethaler M., Dreifuss J. J. An excitatory effect of vasopressin on neuronal firing in the hippocampus: structure — activity studies // Regulatory peptides: from molecular biology to function.— New York: Raven press, 1982.— P. 527—531.
15. Mühlethaler M., Dreifuss J. J. Excitation of hippocampal neurons by posterior pituitary peptides: vasopressin and oxytocin compared // Prog. Brain Res.— 1983.— 60.— P. 147—151.
16. Mühlethaler M., Dreifuss J. J., Gaehwiler B. H. Vasopressin excites hippocampal neurons // Nature.— 1982.— 296, N 5859.— P. 749—751.