

навіпаки, пе-
стримуватися
а при цьому
них впливів
і все ж таки
юкарда шурів
та зміну рит-
одну і таким
ній регуляції
ляції функції
тєї ефектів її
ояві гомоген-

13. Priola D.V., Spurgeon H.A., Geis W.P. The intrinsic innervation of the canine heart — a functional study // *Ibid.* — 1977. — 40, N1. — P. 50-56.
14. Sarnoff S.J., Brockman S.R., Gilmore J.P., Linden R.J. Regulation of ventricular contraction: influence of cardiac sympathetic and vagal nerve stimulation on atrial and ventricular dynamics // *Ibid.* — 1960. — 8, N5. — P. 1108-1122.
15. Schmid P.D., Dyskstra R.H., Mayer H.E. et al. Evidence of nonuniform sympathetic neural activity to heart regions in guinea pigs // *Amer. J. Physiol.* — 1979. — 137, P. H606-H611.
16. Sorota S., Adam L.P., Pappano A.J. Comparison of muscarinic receptor properties in hatched chick heart atrium and ventricle // *J. Pharmacol. and Exp. Ther.* — 1986. — 236, N3. — P. 602-609.
17. Williams J.F., Sonnenblick E.H., Braunwald E. Determinants of atrial contractile force in the intact heart // *Amer. J. Physiol.* — 1965. — 209, N5. — P. 1061-1068.

Ін-т фізіології ім. О.О. Богомольця
АН України, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 10. 04. 92

УДК 616.831.31-009.24:616

О.А.Шандра, Л.С.Годлевський, А.М.Мазараті, А.А.Олешко, Р.С.Вастьянов, І.І.Михальова

Протисудорожна дія внутрішньонігрального введення дельта-соніндукуючого пептиду

Билатеральное введение дельта-сониндуцирующего пептида (ДСИП, 10 нмоль) в ретикулярную часть черной субстанции (РЧС) подавляет генерализованную судорожную активность, провоцируемую у крыс введением пиротоксина, а также коразола, и не влияет на стрихнининдуцированные судороги. Аналогичное применение ДСИП оказывает противосудорожное действие в условиях введения тестирующей дозы конвульсанта у крыс, подвергнутых киндлингу повторными введениями пиротоксина. Противосудорожный эффект введения ДСИП в РЧС блокировался налоксоном, усиливался галоперидолом и иохимбином. Сделан вывод о том, что противосудорожное действие ДСИП, опосредуемое структурами РЧС, может быть обусловлено активацией опиоидных и торможением дофаминергических механизмов мозга.

Вступ

Показано, що системне застосування дельта-соніндукуючого пептиду (ДСІП) виявляє протисепітичну дію на вогнищеві, а також генералізовані гострі та хронічні форми епілептичної активності (ЕА), котрі викликаються різними конвульсантами [1, 5, 6]. Однією із структур мозку, яка приймає участь в реалізації протисудорожних ефектів, є ретикулярна частина чорної субстанції (РЧС) [12].

Метою нашої роботи було вивчення дії ДСІП, який вводили в РЧС, на ЕА, котру провокували у щурів введенням блокатора ГАМК-ергічного гальмування піротоксину. Вивчали також особливості впливу внутрішньонігрального ведення ДСІП на ЕА при фармакологічних впливах, модулюючих активність нейромедіаторних систем: холінергічної (атропін), дофамінергічної (галоперидол), норадренергічної (іохімбін — блокатор альфа₂-адренорецепторів) та опіоїдної (налоксон).

© О. А. ШАНДРА, Л. С. ГОДЛЕВСЬКИЙ, А. М. МАЗАРАТІ, А. А. ОЛЕШКО, Р. С. ВАСТЬЯНОВ,
І. І. МИХАЛЬОВА, 1992

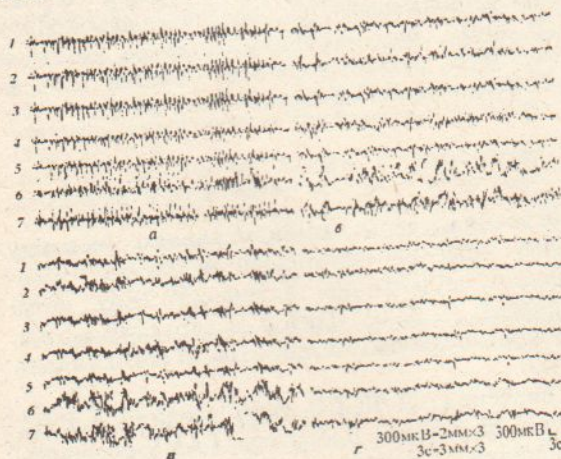
ISSN 0201-8489. Физиол. журн. 1992. Т. 38, № 4

Методика

Досліди проведені на щурах-самцях лінії Вistar масою 270-300 г. Введення ДСІП у РЧС здійснювали білатерально (10 нмоль препарату розчиняли в 1,0 мкл 0,9%-вого розчину NaCl) під сфінрим наркозом за координатами AP = -5,3; L = 2,5; H = 8,0 атласу [15] за допомогою мікрошприца SGE (Австралія) зі швидкістю 0,5 мкл/хв. Тваринам контрольної групи за аналогічних умов вводили 1,0 мкл 0,9%-вого розчину NaCl. Частині тварин імплантували константанові електроди (зовнішній діаметр — 0,15 мм) в кору та підкоркові структури — хвостаті ядра (AP = 0,7; L = 2,5; H = 4,5), гіпокамп (AP = -4,8; L = 4,5; H = 8,0) та РЧС; індивідуальні електроди закріплювали у носових кістках. Електричну активність реєстрували на 16-канальному електросенсифалографі (Угорщина), Внутрішньочеревинне введення галоперидолу (3,0 мг/кг; фірма «Gedcon Richter», Угорщина), іохімбіну (1,0 мг/кг; фірма «Фармахім», Болгарія), налоксону (1,0 мг/кг; фірма «Дурон», США) здійснювали за 20 хв до ін'єкції ДСІП. Атропін (50 мкг) вводили внутрішньошлуночково за 10 хв до ін'єкції ДСІП. ЕА проводили через 20 хв після введення ДСІП одним із слідуєчих способів: внутрішньоочеревинною ін'єкцією пікротоксину (2,0 мг/кг; фірма «Sigma», США), коразолу (40 мг/кг) та азотнокислого стрихніну (1,5 мг/кг). В одній серії експериментів з метою вивчення впливу ДСІП на ЕА пептид (10 нмоль) використовували через 20 хв після внутрішньоочеревинного введення пікротоксину (2,0 мг/кг). В другій серії вивчали ефекти ДСІП на кіндлінг, котрий формували щоденним (протягом 21 доби) введенням підпорогової дози пікротоксину (1,0 мг/кг) [2]. ЕА у цих тварин провокували тестуючим введенням пікротоксину (1,0 мг/кг). Судороги оцінювали за прийнятою шкалою [2]. Локалізацію кінчиків електродів у структурах мозку уточнювали на гістологічних зрізах. Результати досліджень обробляли статистично з використанням критерію t Стюдента [4].

Результати.

В першій серії експериментів вивчали вплив білатерального внутрішньонігрального введення ДСІП на електрографічні спільсептиформні виявлення (мал. 1: а — через 21 хв після введення 2,0 мг/кг пікротоксину;

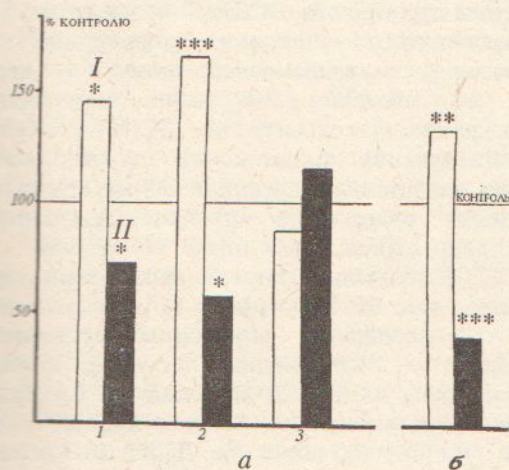


Мал. 1. Електрографічна картина динаміки генералізованої епілептичної активності, викликаній внутрішньоочеревинним введенням пікротоксину, у лобних відділах головного мозку (1 — лівий та 2 — правий гіпокамп), хвостатих ядрах (3, 4 — лівому та правому відповідно), гіпокампі (5, 6 — лівому та правому відповідно), ретикулярній частині лівої (7) чорної субстанції інтактних щурів під впливом дельта-соніндукууючого пептиду (ДСІП).

б — через 26 хв після введення пікротоксину та 2,5 хв після білатерального введення 10 нмоль ДСІП у ретикулярну частину чорної субстанції; в — те ж саме, що і на б, але через 15 хв після введення

ДСІП). Системне застосування пікротоксину (2,0 мг/кг) викликало у інтактних щурів через 15-20 хв після введення препарату в корі та підкоркових структурах (хвостатих ядрах, гіпокампі і РЧС) стійку ЕА у вигляді розрядів частотою 0,5-2,0 розряд/с і амплітудою від 20 мкВ до 1,0 мВ (мал. 1, а). Після введення ДСІП в РЧС у чотирьох з восьми спостережень вже через 3-7 хв у хвостатих ядрах, гіпокампі та РЧС відмічалось пригнічення спайкових розрядів, котрі замінювалися спайкохвильовими комплексами тривалістю 2-4 с. Частота слідування потенціалів в цих комплексах складала від 6 до 12 розрядів/с, а їх амплітуда — 200-500 мкВ (мал. 1, б). В цей період в корі головного мозку відмічалися спайкові розряди частотою 10-50 розрядів за хвилину, амплітудою від 200 до 800 мкВ (мал. 1, в, 2). Ще через 6-8 хв у всіх структурах реєстрували спайкохвильові комплекси тривалістю від 2 до 7 с і амплітудою окремих розрядів до 0,5-1,0 мВ (мал. 1, в). Подібна активність спостерігалася ще протягом 3-5 хв, після чого протягом 10-25 хв відмічалися зниження вираженості і частоти епілептичних розрядів та їх повне зникнення (мал. 1, г). В шести із семи контрольних спостережень в цей період часу все ще реєструвалася генералізована ЕА. Таким чином, введення в РЧС ДСІП викликає вірогідне ($P < 0,025$) пригнічення тривалості існування ЕА, індукованої в структурах мозку системним введенням пікротоксину.

Метою другої серії експериментів було вивчення впливу попереднього введення в РЧС ДСІП на ЕА, яка була викликана внутрішньоочеревинним введенням різних конвульсантів (кожна така група включала по сім тварин). Пікротоксин (2,0 мг/кг) після білатеральної ін'єкції в РЧС ДСІП (10 нмоль) викликав судорожні проявлення, латентний період яких був на 45% тривалішим, ніж латентний період у тварин контрольної групи, який складав $12,8 \text{ хв} \pm 1,3 \text{ хв}$ ($P < 0,05$). У тварин, котрим був введений ДСІП, відмічалися лише судорожні здригання та поодинокі клонічні скорочення м'язів тулуба. Ці проявлення були на 28% менш інтенсивними, ніж у контрольних спостереженнях, в яких умовна вираженість судорог складала $3,6 \text{ бала} \pm 0,3 \text{ бала}$ ($P < 0,05$; мал. 2, а, б). Вірогідне підвищення латентного

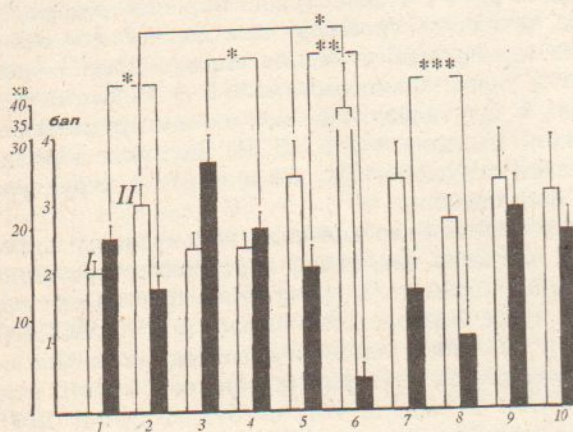


Мал. 2. Відносна (% контролю) епілептична активність (I — тривалість латентного періоду судорог, II — їхня вираженість) у інтактних щурів (а), викликана внутрішньоочеревинним введенням 2,0 мг/кг пікротоксину (б), 40 мг/кг коразолу (2), 1,5 мг/кг стрихніну (3), а також у кіндлінгових щурів (в), викликана тестуючим введенням 1,0 мг/кг пікротоксину. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

періоду виникнення судорог (на 66%; $P < 0,05$) та зниження їх інтенсивності (на 43%; $P < 0,05$) відмічалися у тварин, судороги у яких провокували введенням коразолу (40 мг/кг), порівняно з контрольними тваринами, у яких значення цих показників складали $78,0 \text{ с} \pm 12,0 \text{ с}$ та $3,8 \text{ бала} \pm 0,3 \text{ бала}$ відповідно (мал. 2, а, 2). Латентний період стрихнініндукованих судорог (1,5 мг/кг) та їх інтенсивність у тварин дослідної та контрольної груп складала $4,1 \text{ хв} \pm 1,3 \text{ хв}$ і $3,9 \text{ бала} \pm 0,25 \text{ бала}$ відповідно і не відрізнялися від вивчаємих показників у тварин контрольної групи ($P < 0,05$; мал. 2, а, 3). Тестуюче використання пікротоксину (1,0 мг/кг) у кіндлінгових тварин,

котрим в РЧС вводили ДСІП (10 нмоль), викликало судорожні здригання та окремі клонічні судороги, латентний період яких на 23% перевищував такий у тварин контрольної групи — 14,3 хв $\pm$ 1,5 хв ($P < 0,01$), а умовна вираженість судорог була на 60% менше контрольної — 3,5 бала $\pm$ 0,3 бала ($P < 0,001$; мал. 2,б).

Внутрішньоочеревинне застосування пікротоксину (2,0 мг/кг) тваринам, яким було введено ДСІП (10 нмоль) в РЧС та атропін внутрішньошлуночково, супроводжувалося розвитком клонічних судорог тулуба і передніх кінцівок. Інтенсивність судорог була вірогідно вище, ніж у тварин, котрим вводили тільки ДСІП ($P < 0,05$), але менш, ніж у тварин контрольної групи, яким вводили атропін ($P < 0,05$; мал. 3; 1 — введення 2,0



Мал. 3. Вплив внутрішньонігального введення дельта-соніндукуючого пептиду (ДСІП) на тривалість (хв) латентного періоду судорог (I) та умовну (бали) вираженість судорог (II), викликаних пікротоксином, в умовах застосування різних фармакологічних агентів, які змінюють активність нейромедіаторних систем мозку.

мг/кг пікротоксину та 0,9%-вого фізіологічного розчину у РЧС; 2 — введення 10 нмоль ДСІП у РЧС; 3 — введення 50 мкг атропіну внутрішньошлуночково; 4 — введення атропіну та ДСІП; 5 — введення 3,0 мг/кг галоперідолу внутрішньоочеревинно; 6 — введення галоперідолу та ДСІП; 7 — введення 1,0 мг/кг іохімбіну внутрішньоочеревинно; 8 — введення іохімбіну та ДСІП; 9 — введення 1,0 мг/кг налоксону внутрішньоочеревинно; 10 — введення налоксону та ДСІП. $*P < 0,05$; $**P < 0,01$; $***P < 0,001$. Аналогічне застосування пікротоксину щурам, яким вводили ДСІП в РЧС і галоперідол внутрішньоочеревинно 30 мг/кг), супроводжувалося виникненням перших судорожних проявів, латентний період яких був вірогідно більш тривалим, ніж у групах з внутрішньонігальним введенням ДСІП або тільки внутрішньоочеревинним введенням галоперідолу ($P < 0,05$; див. мал. 3). У чотирьох із семи тварин, котрим вводили ДСІП в РЧС і галоперідол внутрішньоочеревинно, реєструвалися судорожні здригання — інтенсивність судорог була вірогідно менша, ніж у щурів вказаних груп ($P < 0,01$; див. мал. 3). Судороги, які були спровоковані пікротоксином, у тварин з внутрішньоочеревинним введенням іохімбіну (1,0 мг/кг) та ДСІП (10 нмоль) в РЧС, характеризувалися скороченням окремих груп м'язів, а також судорожними здриганнями. Інтенсивність судорог була вірогідно менша порівняно з такою у тварин відповідної контрольної групи ($P < 0,001$; введення одного іохімбіну, див. мал. 3). При внутрішньоочеревинному введенні налоксону (1,0 мг/кг) у сполученні із внутрішньонігальною ін'єкцією ДСІП під впливом пікротоксину у всіх тварин виникали інтенсивні клонічні судороги м'язів тулуба і кінцівок, котрі у двох з шести тварин закінчилися розвитком клоніко-тонічних судорожних приступів. Інтенсивність судорог не відрізнялася від такої у тварин контрольної групи, котрим вводили один налоксон ($P > 0,05$; див. мал. 3).

можні здригання
3% перевищував
($<0,01$), а умовна
3,5 бала $\pm 0,3$

0 мг/кг) твари-
С та атропін
нічних судорог
гідно вище, ніж
ц, ніж у тварин
— введення 2,0

3. Вплив
ігального введен-
ніндукующего пеп-
на тривалість (хв)
періоду судорог (I)
(бали) вираженість
ІІ, викликаних
ж, в умовах засто-
різних фармако-
єнтів, які змінюють
нейромедіаторних

РЧС; 2 — вве-
мкг атропіну
— введення 3,0
галоперидолу та
инно; 8 — вве-
/кг налоксону
ДСІП. * $P<0,05$;
шурам, яким
30 мг/кг), суп-
вів, латентний
у групах з
ньоочеревинним
із семи тварин,
ньоочеревинно,
судорог була
ал. 3). Судоро-
тварин з
ДСІП (10 нмоль)
, а також судоро-
огідно менша
($P<0,001$; вве-
ревинному вве-
ньоінгальною
рин виникали
у двох з шес-
ських приступів.
онтрольної гру-

Обговорення

Таким чином, приведені результати показують, що під впливом введення в РЧС ДСІП відбувається пригнічення ЕА, індукованої системним застосуванням пікротоксину. Пригнічення поведінкових та електрографічних проявів ЕА свідчить про гальмування активності детермінантних утворень, індукуючих ЕА [1]. Цим можна пояснити неефективність даного діяння по відношенню до стрихнініндукованих судорог, для яких характерні спінальні механізми розвитку із порушенням гліцинобумовленого гальмування [18]. Введення ДСІП в РЧС також призводило до пригнічення судорог, індукованих коразолом, і було ефективним при ЕА у тварин з пікротоксинвикликаним кіндінгом. В останньому випадку вираженість протисудорожної дії була більша, ніж у тварин за умов гострих пікротоксинвикликаних судорог, що може бути зв'язаним з різними механізмами формування ЕА при гострих судорогах та кіндлінзі [2], а також із затасуванням різних доз конвульсанта.

Протисудорожні ефекти введення ДСІП в РЧС підсилювалися галоперидолом та іохімбіном, блокувалися налоксоном. Показано, що галоперидол підсилює епілептогенну дію пікротоксину [17]. Суперечливий характер ефектів галоперидолу може бути обумовлений різним впливом препарату на Д1- та Д2-дофамінові рецептори, які грають різну роль в епілептогенезі. Агоністи Д1-рецепторів підвищують визволення ацетилхоліну в стріатумі [9] і є проконвульсантами [7], в той час, коли агоністи Д2-рецепторів знижують визволення ацетилхоліну [9]. Це зниження сполучено зі зниженням ГАМК-ергічних впливів стріатума та розвитком анти-епілептичного ефекту [14], який може реалізуватися внаслідок розгальмування нейронів у РЧС, котрі, у свою чергу, виявляють ГАМК-ергічне гальмування рухових ядер таламуса [13], інактивують таламо-кортикальні синхронізуючі впливи, які забезпечують генералізацію ЕА [8]. Можна гада-ти, що опіатергічний компонент протисудорожного ефекту введення ДСІП в РЧС, який підсилюється галоперидолом, реалізується через активацію пресинаптичних опіатних рецепторів, розташованих на дофамінергічних терміналях, активуючих Д1-рецептори. Збудження опіатних рецепторів призводить до зниження звільнення дофаміну [16] і усунення про-епілептичних ефектів активації Д1-рецепторів. Мабуть, протисудорожна дія ДСІП та пригнічення дофамінергічних нігростріатних впливів не зв'язані з відомим рецепторним збудженням холінергічних механізмів стріатума, тому що атропін не блокував протисудорожну дію ДСІП.

Відзначене підсилення протисудорожної дії ДСІП під впливом альфа₂-адреноблокатора іохімбіну може пояснюватися розгальмуванням, викликаним іохімбіном, норадренергічних терміналей та сполученим пригніченням дофамінергічних нігростріатних впливів [11]. Слід також відзначити, що іохімбін, згідно з даними, які існують [10], блокував протисудорожну дію введенного в РЧС мусцимолу, що може свідчити про різні механізми реалізації протисудорожного ефекту внутрішньонігального застосування ДСІП та мусцимолу. Таке припущення погоджується з відомими даними, які свідчать про те, що введення в РЧС мусцимолу призводить до гіперкінезії, в той час як ДСІП за аналогічних умов викликає зниження рухової активності [3]. Таким чином, приведені результати констатують імовірну залежність протисудорожної дії дельта-соніндукуючого пептиду від його впливу на структури РЧС, який призводить до активації опіатергічних та гальмування дофамінергічних механізмів.

THE ANTIEPILEPTIC ACTION
OF INTRANIGRAL INTRODUCTION
OF DELTA-SLEEP INDUCING PEPTIDE

It is shown that injection of delta-sleep inducing peptide (DSIP) into the substantia nigra reticular part (SNrp) suppresses generalized convulsive activity induced in rats by picrotoxin and corazol injection but exerts no influence on the strichnine-induced seizures. The analogous DSIP injection causes the antiepileptic action in rats kindled through picrotoxin injections. The DSIP intranigral anticonvulsant action is blocked by naloxon and enhanced by haloperidol and yohimbin. It can be concluded that DSIP anticonvulsant action may be realized due to activation of SNrp-dependent opioid mechanisms and suppression of dopaminergic ones.

N.I.Pirogov Medical Institute,
Ministry of Public Health of Ukraine, Odessa

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Крыжановский Г.Н., Шандра А.А., Годлевский Л.С. и др. Влияние пептида дельта-сна на эпилептическую активность в коре большого мозга крыс и кошек // Бюл. эксперим. биологии. — 1987. — N11. — С. 582-585.
2. Крыжановский Г.Н., Шандра А.А., Годлевский Л.С. и др. Формирование двигательных и эмоциональных расстройств у крыс при ежедневном введении пикротоксина в подпороговую дозу // Там же. — 1989. — N7. — С. 18-21.
3. Крыжановский Г.Н., Шандра А.А., Годлевский Л.С., Михалева И.И. Явления паркинсонического синдрома при введении дельта-сон индуцирующего пептида в черную субстанцию крыс // Там же. — 1990. — N2. — С. 119-121.
4. Сепетлиев Д.А. Статистические методы в научных медицинских исследованиях. — М.: Медицина, 1968. — 419 с.
5. Шандра А.А., Годлевский Л.С., Крыжановский Г.Н. и др. Влияние пептида дельта-сна на судорожную активность при коразоловом киндлинге // Бюл. эксперим. биологии. — 1988. — N9. — С. 269-271.
6. Шандра А.А., Годлевский Л.С., Мазарати А.М., Макулькин Р.Ф. Влияние дельта-сон индуцирующего пептида на генерализованную судорожную активность, вызванную различными эпилептогенами // Там же. — 1989. — N2. — С. 211-214.
7. Al-Tagir G., Starr M.C., Starr B.S. Proconvulsant effect of SKF 38393 mediated by nigral D1 receptors // Eur. J. Pharmacol. — 1990. — 180, N2-3. — P. 245-251.
8. Avoli M., Gloor P. The effect of transient functional depression of the thalamus on spindles and on bilateral synchronous epileptic discharges of felin-generalized penicillin epilepsy // Epilepsia. — 1981. — 22. — P. 443-452.
9. Bertorelli R., Consolo S. D1 and D2 dopaminergic regulation of acetylcholine release from striatum of freely moving rats // J. Neurochem. — 1990. — 54. — P. 2145-2148.
10. Bonhaus D.W., McNamara J.O. Anticonvulsant action of intranigral -vinil-GABA: role of noradrenergic neurotransmission // Brain Res. — 1988. — 438. — P. 391-394.
11. Cools A.R., Van Dongen P., Jonssen H.J., Megens A. Functional antagonism between dopamine and noradrenaline within the caudate nucleus of cats: a phenomenon of rhythmically changed susceptibility // Psychopharmacol. — 1978. — 59. — P. 231-242.
12. Gale K. Role of the substantia nigra in GABA-mediated anticonvulsant actions // Advances in Neurobiology. — V.44/Ed. by A.V.Delgado-Escueta, A.A.Ward, D.M.Woodbury and R.J.Porter. — New York: Raven press, 1986. — P. 343-364.
13. Kilpatrick J.C., Starr M.S., Fletcher A. et al. Evidence for a GABA-ergic nigrothalamic pathway in the rat. I. Behavioral and biochemical studies // Exp. Brain Res. — 1980. — 40. — P. 481-492.
14. Ono K., Mori K., Baba H., Wada A. A role of the striatum in premotor cortex seizure development // Brain Res. — 1987. — 435. — P. 84-90.
15. Paxinos G., Watson C. The rat brain in the stereotaxic coordinates. — New York: Acad. press, 1982. — 289 p.
16. Pollard H., Llorens-Cortes C., Schwartz J.C. Enkephalin receptors on dopaminergic neurons in rat striatum // Nature. — 1977. — 268. — P. 745-747.
17. Sandoval M.R.L., Palermo-Neto J. Behavioral aspects of GABA-ergic-dopaminergic interactions in the central nervous system // Eur. J. Pharmacol. — 1989. — 167. — P. 117-125.
18. Woodbury D.A. Convulsant drugs: mechanisms of action // Antiepileptic drugs: mechanisms of action. — New York: Raven press, 1980. — P. 249-303.

Одес. мед. ін-т ім. М.І. Пирогова
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 16.10.91