

Особливості лімбіко-неокортикальних і моноамінергічних взаємодій у формуванні синдрому відміни інгаляцій парів органічного розчинника «646» у щурів

Н.О. Левічева, А.М. Тіткова

ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», Харків,
e-mail: nati-ki@mail.ru

Метою роботи було вивчення лімбіко-неокортикальних і моноамінергічних взаємодій у формуванні синдрому відміни інгаляцій легких органічних сполук (ЛОС) у щурів. Дослідження виконані на безпородних щурах-самцях 3-місячного віку із залежністю від інгаляцій парів розчинника «646», що містить до 50 % суміші толуолу і ацетону. Показано, що стан відміни інгалянта характеризується підвищеною збудливістю та такими поведінковими проявами еквівалентів судомних реакцій, як оральні гіперкінези та струшування голови, а також змінами частотно-амплітудного спектра біопотенціалів структур лімбіко-неокортикальної системи мозку з ініціацією в медіальній нюховій ділянці і гіпокампі. На рівні гіпоталамуса відміна інгаляцій ЛОС чинила виснажуючий вплив на катехоламінергічні структури, який, певно, більшою мірою стосувався закінчень нейронів, що містять адреналін як нейромедіатор. У щурів, що початково надавали перевагу інгаляціям парів розчинника «646», відміна впливу інгалянта виявила вірогідне зниження вмісту дофаміну на 61 %, норадреналіну на 77 % та адреналіну на 92 % в гіпоталамусі та підвищення концентрації серотоніну в сироватці крові на 16 %. У щурів, що початково не надавали перевагу парам ЛОС, в гіпоталамусі знижувався тільки вміст адреналіну на 77 %.

Ключові слова: синдром відміни інгаляцій легких органічних сполук; електрична активність мозку; катехоламіни; серотонін.

ВСТУП

Вживання хімічних речовин, спрямованих на стимуляцію та підтримку високого рівня позитивних емоцій, призводить до формування адиктивної поведінки, для якої характерні прагнення до пошуку психоактивної речовини, ейфорія, толерантність і синдром відміни [1-3]. Останній за своїми психологічними, нейрофізіологічними і нейрохімічними критеріями являє собою складний психофізіологічний феномен, який визначається специфічними фармакологічними властивостями споживаної психоактивної речовини [4-7]. Такі фактори, як вік, стать, спадкова схильність мають першочергове значення у механізмах

розвитку синдрому відміни [8-9]. При цьому зміни в центральних нейромедіаторних системах і насамперед - моноамінергічних, ГАМК-ергічних з залученням і периферичної ланки симпатoadреналової системи призводять до порушень сну, пам'яті, емоцій, потягів [10, 11]. Водночас емоціогенна лімбіко-неокортикальна система мозку та її нейрохімічне забезпечення при формуванні синдрому відміни інгаляцій парів легких органічних сполук (ЛОС) мало вивчені, незважаючи на те, що ці питання є надзвичайно актуальними у зв'язку з високим поширенням вживання серед підлітків.

Метою цього дослідження було вивчення нейрофізіологічних і моноамінергічних взає-

модій у формуванні синдрому відміни інгаляцій органічного розчинника «646» у щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 23 безпородних щурах-самцях зі сформованою залежністю від ЛОС (дослідна група) і 7 інтактних тваринах (контрольна група). На початку інгаляцій вік щурів становив 3 міс, а маса – від 180 до 200 г.

Формування інгаляційної залежності у щурів проводили щодобово (протягом 40 діб) примусовим диханням парами розчинника «646», що містить до 50% суміші толуолу і ацетону. Примусову інгаляцію щурів, які перебували в умовах вільної поведінки, здійснювали в герметичному ексікаторі об'ємом 5 л протягом 10 хв.

Поведінковий компонент ступеня залежності від ЛОС оцінювали в лабіринтовій установці, яка дала змогу виявити перевагу інгаляцій парів органічного розчинника «646» або ласої їжі щурами в стані харчової депривації. Щура поміщали в центральний сектор лабіринту. Це забезпечувало тварині вільний вибір парів інгалянта або їжі (хліб, який був змочений соняшниковою олією), що знаходилися в бічних відсіках лабіринту. Протягом 10 хв оцінювали латентний період першого входу у відсіки з інгалянтом або їжею, кількість перебіжок і час перебування у відсіку, враховували кількість рухових і орієнтовно-дослідних реакцій. Стан відміни моделювали позбавленням тварин інгаляцій парів ЛОС упродовж 7 діб.

Щурам зі сформованою інгалянтною залежністю від розчинника «646», вік яких в процесі експерименту був уже 4,5 міс, імплантували під кетаміновим наркозом (100 мг/кг) ніхромові електроди у скляній ізоляції (діаметр неізольованого кінчика 100 мк) у структури лімбіко-неокортикальної системи мозку: неокортекс, гіпокамп, гіпоталамус, мигдалеподібний комплекс, медіальну нюхову ділянку мозку, – з використанням атласу Фіфкової та Маршала [12].

Реєстрацію електричної активності мозку (ЕЕГ) здійснювали за допомогою діагностичного комплексу «Нейрон-спектр +» у стані позбавлення тварин парів інгалянта і після прийому ЛОС. Аналізували ЕЕГ з використанням програмного забезпечення «Нейрон-Спектр.NET», що дало змогу провести спектральний аналіз з графічною побудовою спектрограм. Оцінювали абсолютну спектральну щільність потужності сигналу ритмів наступних частотних діапазонів: δ (0,5-4,0 Гц), θ (4,0-8,0 Гц), α (8,0-14,0 Гц), β 1 (14,0-20,0 Гц), β 2 (20-35 Гц).

Самостимуляцію позитивних емоціогенних зон вентролатерального гіпоталамуса (струм 50-100 мкА, частота 50 Гц, тривалість імпульсу 0,5 мс) здійснювали протягом 60 хв у камері Скінера з використанням загальноприйнятої методики [13]. Пороги ноцицептивних реакцій оцінювали при подразненні кінцівок тварин у камері з електрифікованою підлогою (змінний електричний струм 50 Гц, напруга від 10 до 35 В).

Вміст адреналіну, норадреналіну, дофаміну у гіпоталамусі і серотоніну у сироватці крові визначали на 7-му добу відміни інгалянта твердофазним конкурентним імуноферментним методом на мікропланшетах за допомогою тест-систем 3 Cat ELISA та Serotonin ELISA (IBL International, Німеччина). Оптичну щільність в зразках вимірювали на ІФА-аналізаторі (Stat Fax 2100, США) при довжині хвилі 405 нм. Цільний гіпоталамус масою від 29 до 42 мг гомогенізували в 1,6 мл бідистильованої води і центрифугували при 8000 об/хв протягом 15 хв. Супернатант (500 мкл) відбирали для екстракції катехоламінів та подальшого імуноферментного аналізу відповідно до інструкції до набору. Кінцеву концентрацію катехоламінів розраховували, виходячи з маси тканини, взятої на дослідження, в наномолях на 1 г тканини.

Статистичну обробку результатів здійснювали із застосуванням пакету статистичних програм Statistica 6.0., використовуючи непараметричний критерій Вілкоксона і критерій Манна-Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Формування поведінки, яка залежить від інгаляцій легкого органічного розчинника «646», у щурів, судячи зі змін поведінкових реакцій, електрографічних характеристик активності структур лімбіко-неокортикальної системи мозку і особливостей перебігу реакцій самостимуляції, відбувалося протягом 40 діб щоденного впливу інгалянта [14]. У всіх тварин відзначалося вірогідне збільшення кількості перебіжок в камеру з інгалянтом і часу перебування в ній ($3,7 \pm 0,6$ та $58,8 \pm 10,3$ с відповідно) порівняно з показниками у контролі ($1,0 \pm 0,5$ та $8,8 \pm 5,3$ с; $P < 0,05$). Пороги ноцицептивних реакцій при електрошкірному подразненні кінцівок тварин на фоні інгаляцій ЛОС були підвищеними ($22,2 \pm 2,6$ В) порівняно з контрольними значеннями ($16,0 \pm 0,9$ В; $P < 0,05$). Стан відміни інгаляцій ЛОС у цих тварин характеризувався хаотичністю рухів і внутрішньогруповою агресією, проявами еквівалентів судомних реакцій: струшування голови, оральні автоматизми; пароксизмальним диханням, а також зниженням порогів ноцицептивних реакцій при електрошкірному подразненні кінцівок тварини ($19,0 \pm 0,9$ В).

На ЕЕГ структур лімбіко-неокортикальної системи мозку в стані відміни інгаляцій ЛОС рееструвалися прояви судомної активності з домінуванням у медіальній нюховій ділянці і гіпокампі (рис. 1, а). Аналіз середньої спектральної потужності біопотенціалів ЕЕГ показав достовірне підвищення абсолютної спектральної потужності біопотенціалів δ -діапазону в неокортексі, гіпокампі, та медіальній нюховій ділянці, а також θ -ритму у гіпокампі та гіпоталамусі порівняно з контрольною групою (рис. 2, а, в, д). Спектральна потужність α -ритму зростала лише в гіпокампі (див. рис. 2, б).

Частота реакції самостимуляції позитивних емоціогенних зон вентролатерального гіпоталамуса в стані відміни інгаляцій органічного розчинника «646» була $238,5 \pm 1,2$ натискань на педаль за 5 хв. Прийом чергової дози інгалянта призводив до її вірогідного зниження до $207,5 \pm 2,5$ натискань.

Відновлення інгаляцій парів органічного розчинника «646» призводило також до гальмування рухової гіперактивності у щурів, до купірування судомних проявів у поведінці тварин та на ЕЕГ структур лімбіко-неокортикальної системи мозку; знижувалась

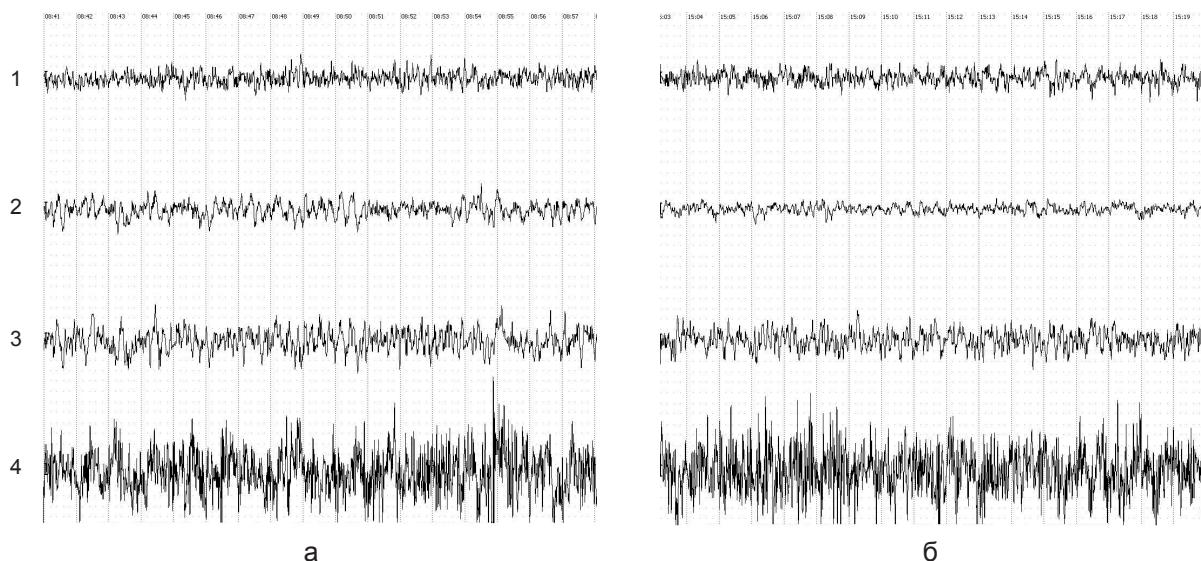


Рис.1 Динаміка електричної активності мозку щура №16 під впливом парів органічного розчинника «646»: а – у стані відміни прийому інгаляцій, б – після прийому інгаляцій; 1 – неокортекс, 2 – гіпоталамус, 3 – гіпокамп, 4 – медіальна нюхова ділянка

абсолютна спектральна потужність біопотенціалів θ -діапазону в медіальній нюховій ділянці та гіпокампі, а також δ -діапазону – у неокортексі і гіпокампі (див. рис. 1, б; 2). Абсолютна спектральна потужність коливань α -ритму збільшувалася в гіпоталамусі ($P < 0,05$; див. рис. 2, в).

Таким чином, синдром відміни інгаляцій парів органічного розчинника «646» у щурів характеризується підвищеною збудливістю і судомними проявами в поведінці і на ЕЕГ структур лімбіко-неокортикальної системи мозку. Провідними структурами у формуванні судомної активності є медіальна нюхова ділянка і гіпокамп, що свідчить про їх ключове значення у формуванні синдрому відміни інгалянта. При цьому рівень активації системи позитивного емоційного підкріплення може бути чинником оцінки ступеня потягу до інгаляцій ЛОС.

Біохімічні дослідження, що були проведені на 7-му добу відміни інгаляцій парів органічного розчинника «646», не виявили виражених змін концентрації серотоніну в крові загальної групи тварин при відміні інгалянта, але відмічено підвищення у щурів,

що початково віддавали перевагу інгаляціям ЛОС (таблиця).

Дослідження концентрацій катехоламінів у гіпоталамусі щурів продемонструвало зниження вмісту адреналіну на 84 % порівняно з контрольною групою тварин. Розподіл тварин на групи залежно від рівня потягу до інгаляцій ЛОС при першій інгаляції виявив вірогідні відмінності у вмісті КА у щурів, що початково віддають або не віддають перевагу інгаляціям парів розчинника «646». У тварин з низьким рівнем потягу до інгаляцій ЛОС у стані відміни виявлено зниження концентрації адреналіну на 77 % порівняно з контролем при збереженні вмісту дофаміну і норадреналіну. У щурів з початковим високим рівнем потягу до ЛОС - зниження вмісту всіх катехоламінів: дофаміну – на 61 %, норадреналіну – на 74 %, адреналіну – на 92 %.

У дослідженні Rodriguez і співавт. [15] показано, що щоденні інгаляції парами толуолу протягом 30 діб підвищують вміст дофаміну і норадреналіну в середньому мозку і стріатумі щурів. Ці дані свідчать про те, що інгаляції ЛОС призводять до активації обміну

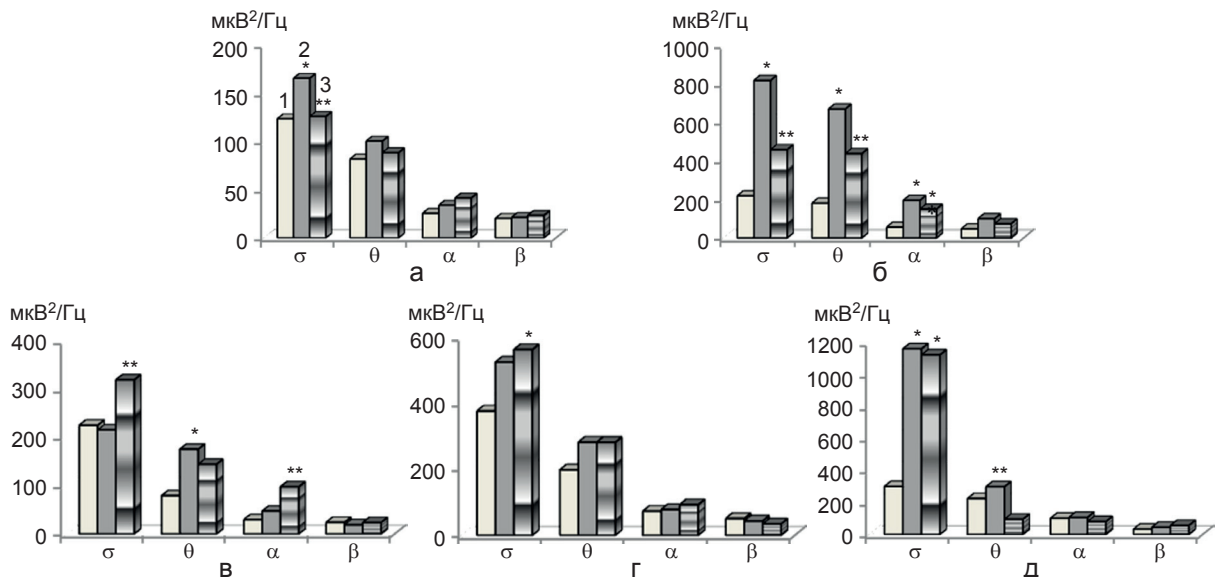


Рис. 2. Динаміка абсолютної спектральної потужності біопотенціалів електричної активності мозку щурів в стані відміни інгаляцій летких органічних сполук та після їх прийому:

1 – контроль, 2 – у стані відміни прийому інгаляцій, 3 – після прийому інгаляцій; а – неокортекс, б – гіпокамп, в – гіпоталамус, г – мигдалеподібний комплекс, д – медіальна нюхова ділянка; за всією абсцис – біопотенціали мозку щурів у діапазоні частот δ , θ , α , β ; * $P < 0,05$ порівняно з контролем, ** $P < 0,05$ порівняно зі станом відміни інгаляцій

Вміст катехоламінів у гіпоталамусі та серотоніну в сироватці крові інтактних щурів і тварин, що початково віддавали або не віддавали перевагу інгаляціям летких органічних сполук (ЛОС), у стані відміни інгаляцій парів розчинника «646» (M±m)

Показник	Контроль (n=4-10)	Загальна група (n=8)	Початкова перевага ЛОС (n=4)	Без початкової переваги ЛОС (n=4)
Дофамін, нмоль / г тканини	53,60±8,60	39,30±7,70	20,79±1,91 *, **	53,13±7,63
Норадреналін, нмоль / г тканини	5,90±3,90	4,20±1,10	1,56±0,09 *, **	6,12±1,26
Адреналін, нмоль / г тканини	3,10±1,60	0,50±0,10*	0,24±0,14 *	0,71±0,12 *
Серотонін, мкмоль/л	9,50±0,30	9,80±0,40	10,96±0,23 *, **	8,93±0,62

*P < 0,05 порівняно з контролем, ** порівняно з групою тварин без початкової переваги ЛОС.

і підвищення вмісту катехоламінів у головному мозку. У наших попередніх дослідженнях виявлено значне уповільнення їх обміну і більш ніж дворазове підвищення концентрації серотоніну в крові щурів у першу добу відміни інгаляцій ацетоном [16].

У стані відміни інгалянта відсутність стимуляції катехоламініргічної системи парами розчинника «646», що містить у своєму складі і толуол, і ацетон, призводить до уповільнення обміну катехоламінів у гіпоталамусі. Щури, котрі спочатку віддавали перевагу ЛОС, виявилися більшою мірою схильними до цього впливу, що виражалось різною мірою виснаження вмісту катехоламінів у гіпоталамусі.

Особливо слід відмітити значне зниження вмісту адреналіну в гіпоталамусі у всіх тварин, що піддавалися відміні інгаляцій ЛОС. Враховуючи той факт, що адренергічні нейрони, основним нейромедіатором яких є адреналін, мають власне представництво в стовбурі головного мозку і досить щільно іннервують структури гіпоталамуса [17], можна припустити, що у разі тривалого впливу парів органічного розчинника «646» піддаються ураженню функції саме цих нейронів. І відбувається це не залежно від початкового рівня переваги інгаляцій ЛОС, який здебільшого визначається інтенсивністю обміну дофаміну і норадреналіну.

ВИСНОВКИ

1. Провідними структурами лімбіко-неокортикальної системи мозку у формуванні син-

дрому відміни інгаляцій парів органічного розчинника «646» виступають медіальна нюхова ділянка і гіпокамп.

2. На рівні гіпоталамуса відміна інгаляцій ЛОС чинить виснажувальний вплив на катехоламініргічні структури, який, певно, більшою мірою стосується закінчень нейронів, що містять адреналін як нейромедіатор. У щурів, що початково віддають перевагу інгаляціям розчинника «646», відміна впливу парів інгалянта виявила недостатність дофамін- і норадренергічної ланок регуляції гіпоталамічних функцій і більш високі компенсаторні можливості периферичної серотонінергічної системи.

Н.А. Левичева, А.М. Титкова

ОСОБЕННОСТИ ЛИМБИКО-НЕОКОРТИКАЛЬНЫХ И МОНОАМИНЕРГИЧЕСКИХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ В ФОРМИРОВАНИИ СИНДРОМА ОТМЕНЫ ИНГАЛЯЦИЙ ПАРОВ ОРГАНИЧЕСКОГО РАСТВОРИТЕЛЯ «646» У КРЫС

Целью работы явилось изучение лимбико-неокортикальных и моноаминергических взаимосвязей в формировании синдрома отмены ингаляций летучих органических соединений (ЛОС) у крыс. Исследования выполнены на беспородных крысах-самцах 3-месячного возраста с зависимостью от ингаляций паров растворителя «646», содержащего до 50 % смеси толуола и ацетона. Показано, что состояние отмены ингалянта характеризуется повышенной возбудимостью и такими поведенческими проявлениями эквивалентов судорожных реакций, как оральные гиперкинезы, встряхивание головы, а также изменениями частотно-амплитудного спектра биопотенциалов структур лимбико-неокортикальной системы мозга с инициацией в медиальной обонятельной области и гиппокампе. На уровне гипоталамуса отмена ингаляций ЛОС оказывает

истожающее влияние на катехоламинергические структуры, вероятно, в большей степени затрагивая окончания нейронов, содержащих адреналин в качестве нейромедиатора. У крыс, исходно предпочитающих ингаляции растворителя «646», отмена воздействия паров ингалянта выявила достоверное снижение содержания дофамина на 61 %, норадреналина на 77 % и адреналина на 92 % в гипоталамусе и повышение концентрации серотонина в сыворотке крови на 16 %. У крыс, исходно не предпочитающих ингаляции паров ЛОС, в гипоталамусе отмечалось снижение только содержания адреналина на 77 %.

Ключевые слова: синдром отмены ингаляций летучих органических соединений; электрическая активность мозга; катехоламины; серотонин.

N.A. Levicheva, A.M. Titkova

FEATURES OF LIMBIC-NEOCORTICAL AND MONOAMINERGIC CORRELATIONS IN THE DEVELOPMENT OF WITHDRAWAL SYNDROME OF INHALATIONS OF VAPORS OF ORGANIC SOLVENT «646» IN RATS

The aim of the work was to study the limbic-neocortical and monoaminergic features of the development of withdrawal syndrome of volatile organic compounds (VOC) inhalations in rats. The study was carried out in 30 three months old male rats with dependence on inhalations of organic solvent “646” which contains up to 50 % mix of toluene and acetone. It has been shown that the withdrawal syndrome of inhalant is characterized by increased excitability and behavioral manifestations of equivalents of convulsive reactions such as oral hyperkinesis, head shaking and changes in the frequency-amplitude spectrum of the biopotentials in structures of the brain limbic-neocortical system with the initiation in the medial olfactory region and hippocampus. At the hypothalamus level, withdrawal of VOC inhalations produces the depleting impact on the catecholaminergic structures with a stronger effect in neuronal endings with adrenaline as neurotransmitter. Withdrawal syndrome evokes a significant decrease in dopamine content by 61 %, noradrenaline by 77 % and adrenaline by 92 % in the hypothalamus and increase in serotonin concentration in blood serum by 16 % in rats with initial preference to inhalations of organic solvent “646”. In rats with the absence of initial preference to inhalations of organic solvent “646” a decrease in adrenaline level in the hypothalamus by 77 % was detected.

Key words: withdrawal syndrome of volatile organic compounds inhalations; electrical activity of the brain; catecholamines; serotonin.

SI “Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of NAMS of Ukraine”, Kharkiv

REFERENCES

1. Vorobjova TM. Chaotic neurodynamics of the brain positive reinforcement and its importance in the mechanisms of secondary acquired motivations. *Narcology*. 2010; 7: 48-54. [Russian].
2. Koob GF, Volkow ND. Neurocircuitry of Addiction. *Neuropsychopharmacology*. 2010; 35 (1): 217-38.
3. Artemchuk AF, Sosin IK, Chernobrovkina TV. Ecological bases comorbidity addictive diseases. *Kharkiv: Collegium*. 2013: 1152. [Ukrainian].
4. Berchenko OG. EEG correlates of formation of dependence on glue “Moment” vapour inhalations in rats. *Narcology*. 2004; 10: 24-26. [Russian].
5. Beckley JT, Woodward JJ. Volatile solvents as drugs of abuse: focus on the cortico-mesolimbic circuitry. *Neuropsychopharmacology*. 2013; 38: 2555–67.
6. Melnikov MYe, Shubina OS. Contemporary electroencephalographic research on addictive disorders. *Adv of Physiol Sci*. 2013; 44 (3): 16-32.
7. Vandrey RG, Budney AJ, Hughes JR, Liguori A. A within-subject comparison of withdrawal symptoms during abstinence from cannabis, tobacco, and both substances. *Drug and Alcohol Dependence*. 2008; 92: 48-54.
8. Batis JC, Hannigan JH, Bowen SE. Differential effects of inhaled toluene on locomotor activity in adolescent and adult rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2010; 96: 438-48.
9. Kaurin AV, Bulycheva OS. Criteria for prediction of neonatal abstinence syndrome in mothers of drug addicts. *Int J Appl Fund Res*. 2012; 1: 55-6.
10. Sulzer D. How addictive drugs disrupt presynaptic dopamine neurotransmission. *Neuron*. 2011 Feb; 69 (4): 628-49.
11. Win-Shwe TT, Fujimaki H. Neurotoxicity of toluene. *Toxicol. Lett*. 2010; 198 (2): 93–99.
12. Bures J, Petranov M, Zahar I. Electrophysiological methods. Translation from Polish. Moscow: Publishing House of Foreign Literature. 1962: 456.
13. Olds J, Milner P. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol*. 1954; 47: 419-27.
14. Levicheva NA; Berchenko OG. Brain electrical activity and peculiarities of the self-stimulation reaction in pubertate rats with addiction to inhalation of organic solvent vapors. *Neurophysiology*. 2014; 6(46): 587-90. [Ukrainian].
15. Rodriguez AA, Nava AB, Piña RG, e. a. Chronic exposure to toluene changes the sleep-wake pattern and brain monoamine content in rats. *Acta Neurobiol Exp*. 2011; 71: 183-92.
16. Titkova AM, Kharitonova SM. Acetylcholinesterase activity in brain structures and content of biogenic monoamines in blood in rats under long-term acetone vapor intoxication. *Narcology*. 2003; 9: 2-6. [Russian].
17. Mefford IN. Epinephrine in mammalian brain. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol Psychiat*. 1988; 12: 365-88.

Матеріал надійшов до редакції 07.08.2015