

УДК 57.044 : 615.099

ВЛИЯНИЕ ТИОПЕНТАЛА НАТРИЯ НА СОХРАНЕНИЕ УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА ПАССИВНОГО ИЗБЕГАНИЯ У КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ ВОЗБУДИМОСТЬЮ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

А.В. Швецов¹, А.И. Вайдо²,
Н.А. Дюжикова², А.В. Бельская¹,
М.В. Михайлова¹, Е.Б. Скоморохова^{1,2},
Е.Г. Батоцыренова¹

¹ФГБУН «Институт токсикологии» Федерального медико-биологического агентства России, 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» Российской академии наук, 199034, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Проведено исследование динамики сохранения условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) у крыс двух линий с различным уровнем возбудимости нервной системы: с высоким порогом возбудимости (ВП) и с низким порогом возбудимости (НП) в норме и после действия полудозы тиопентала натрия. Показано, что длительное сохранение памятного следа в нормальных условиях и более высокая чувствительность к действию тиопентала натрия проявляется у высоковозбудимых крыс линии НП по сравнению с низковозбудимыми крысами линии ВП.

Ключевые слова: тиопентал натрия, условный рефлекс пассивного избегания, возбудимость.

Введение. Тиопентал натрия (ТП), относящийся к препаратам группы барбитуратов, широко применяется при анестезии, интенсивной терапии и коррекции внутричерепной гипертензии и фокальной ишемии. В больших дозах этот препарат оказывает токсическое воздействие и вызывает состояние комы [1, 2]. Известно, что поражение ЦНС нейротоксикантами сопровождается нарушениями систем жизнеобеспечения, связанными с доставкой и утилизацией кислорода, что приводит к развитию необратимых повреждений мозга [2, 3]. Механизм действия барбитуратов основан на усилении ГАМК-опосредованного синаптического торможения и продления времени открытия хлорных каналов, что приводит к снижению скорости протекания метаболических процессов головного мозга и угнетению активности сенсорной зоны коры и дыхательного центра [2, 4]. Развивающаяся при коме гипоксия усили-

вает токсическое специфическое действие депримирующих веществ на ЦНС, т.к. в этих условиях начинает преобладать анаэробный путь метаболизма с накоплением в ликворе молочной кислоты и развитием ацидоза и оксидативного стресса, которые могут приводить к нарушению структуры и функции головного мозга [2, 5].

Несмотря на широкое использование в медицинской практике, вопросы влияния тиопентала натрия на когнитивные способности, процессы обучения и памяти остаются неизученными. Практически не исследована и зависимость чувствительности к этому препарату от генетически-детерминированного функционального состояния нервной системы и его основного параметра – возбудимости.

В связи с этим *целью работы* явилось изучение влияния острой интоксикации тиопенталом натрия на сохранение УРПИ, позволяющего оце-

Швецов Артур Вячеславович (Shvetsov Artur Vyacheslavovich), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, shvetsov83@mail.ru
Батоцыренова Екатерина Геннадьевна (Batotsyrenova Ekaterina Gennadiyevna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, bkaterina2009@yandex.ru

Дюжикова Наталья Алевовна (Dyuzhikova Natalia Alekovna), доктор биологических наук, заведующая лабораторией генетики ВНД ФГБУН «Институт физиологии им.И.П.Павлова» Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, dyuzhikova@mail.ru

Вайдо Александр Иванович (Vaido Alexander Ivanovich), доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории генетики ВНД ФГБУН «Институт физиологии им.И.П.Павлова» Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, vaido@list.ru

Скоморохова Екатерина Борисовна (Skomorochova Ekaterina Borisovna), младший научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, ruhesommertag@gmail.com.

Бельская Алиса Владимировна (Belskaya Alisa Vladimirovna), младший научный сотрудник лаборатории психофармакологии ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, belskayaalisa@gmail.com

Михайлова Маргарита Викторовна (Mikhailova Margarita Viktorovna), младший научный сотрудник лаборатории психофармакологии ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, margarita10108@mail.ru

нить особенности процессов обучения и памяти, у крыс двух линий, различающихся по уровню возбудимости нервной системы.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служили 3-х месячные крысы-самцы двух линий, ВП и НП, 72 и 62 поколения селекции, прошедшие длительную селекцию по величине порога возбудимости большеберцового нерва (*n. tibialis*) к действию электрического тока и различающиеся по возбудимости периферического и центрального отделов нервной системы. Линия ВП характеризуется высоким порогом возбудимости (2,5-3,0 В), НП – низким (0,5-0,8 В). В каждой экспериментальной группе было не менее 6 животных. При работе с животными соблюдались международные принципы Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным.

Выработку УРПИ с однократным отрицательным болевым подкреплением производили с использованием прибора PACS-30 Expansion (Columbus Instruments, США). Установка состоит из двух камер: ярко освещенной – светлой, и темной, в которой освещение отсутствовало, сообщающихся между собой проходом. Как известно, в норме крысы проводят большую часть времени в темном отсеке, что связано с инстинктивным стремлением животных находиться в темном и тесном пространстве – норке (норковый рефлекс). Метод основан на выработке у крыс условной реакции пассивного избегания темной камеры в ответ на безусловный электрокожный болевой раздражитель.

Крысу высаживали в центр светлой камеры, хвостом к отверстию в темную камеру. Животному давали 2 мин. для обследования отсеков. В течение этого времени оно находило отверстие в темную камеру и заходило в нее. В темной камере животное получало электрокожное болевое раздражение силой 1мА длительностью 1 мин. На этом выработка рефлекса завершалась. Если животное в течение 2 мин. не заходило в темную камеру, оно исключалось из дальнейшего эксперимента.

Введение тиопентала производили через 24 ч после выработки УРПИ внутривентриально в дозе LD_{50} , которая составляла для животных линии ВП – 110 мг/мл, для НП – 95 мг/мл. Контролем служили группы крыс, которым вводили физиологический раствор.

Сохранение УРПИ оценивали через 48 ч после введения ТП, когда животные полностью выходили из наркоза, и через одну неделю после воздействия. Животных также помещали в светлую камеру установки и на протяжении 2 мин наблюдали за их поведением.

При проведении обучения и оценки сохранения УРПИ измеряли следующие параметры поведения экспериментальных животных: латентный период (ЛП) первого захода в темную камеру, а также время, проведенное в светлой и в темной камерах.

Для статистической обработки результатов использовали программное обеспечение R studio. Для представления данных использовали среднее значение и ошибку среднего ($m \pm sem$). Проверка отклонения распределения выборок от нормального осуществляли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для оценки достоверности различий между исследуемыми характеристиками экспериментальных групп использовали U-критерий Манна-Уитни с уровнем значимости равным 0,05.

Результаты и обсуждение. Оценка параметров поведения крыс двух линий до применения электрокожного болевого раздражения показала, что ЛП захода в темную камеру у исследуемых групп животных статистически не отличался (см. табл.). Воздействие током вызвало многократное, статистически достоверное увеличение латентного периода захода в темный отсек.

Тестирование контрольных групп крыс двух линий позволило выявить межлинейные особенности длительности сохранения в памяти условного рефлекса. Так, через 48 ч после инъекции физиологического раствора, различия всех трех исследуемых показателей (ЛП захождения в темный отсек, время, проведенное в светлом и темном отсеке) между животными линий ВП и НП отсутствовали. Спустя одну неделю происходило статистически достоверное ухудшение сохранения УРПИ (снижение ЛП и времени нахождения в светлой камере, увеличение времени, проведенного в темном отсеке) у низковозбудимых животных линии ВП (табл.). Все три исследуемых показателя достоверно отличались как от значений предшествующего тестирования крыс этой линии, так и от таковых линии НП, демонстрирующей стабильное сохранение памятного следа.

Интоксикация ТП приводила к изменениям только у крыс линии НП. Спустя 48 ч после инъекции ТП крысы этой линии совсем не заходили в темную камеру, о чем свидетельствовали максимальные значения латентного периода и времени нахождения в светлой камере (табл.). Через 1 неделю наблюдали восстановление исследуемых показателей до контрольных значений. Динамика сохранения и извлечения долговременной памяти у крыс линии ВП под воздействием ТП не отличалась от таковой в контрольной группе (табл.).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют в пользу того, что динамика сохра-

Таблица

Основные параметры поведения при формировании и сохранении условного рефлекса пассивного избегания у крыс линий ВП и НП в разные сроки после острого отравления тиопенталом натрия

Группы	ЛП до обучения с	48 ч после воздействия			1 нед. после воздействия		
		ЛП, с	СК, с	ТК, с	ЛП, с	СК, с	ТК, с
ВП контроль	12,8±3,8	72,9± 15,4	91,8± 12,6	28,2± 12,6	39,8± 13,9*	72,1± 14,5*	47,9± 14,5*
ВП тиопентал	8,0±3,7	91,2± 28,8	91,2± 28,8	28,8± 28,8	49,7± 24,8	58,7± 24,2	61,2± 24,2
НП контроль	15,0±4,1	79,0± 17,0	106,8± 6,5	13,2± 6,5	93,9± 14,0	109,7± 8,6	10,3±8,6
НП тиопентал	8,1±3,0	120,0**± 0	120,0**± 0	0,0**± 0	83,1± 18,0	110,1± 5,8	9,9± 5,8

Обозначения: ЛП – латентный период захождения в темный отсек, СК – время нахождения животного в светлой камере, ТК – время нахождения животного в темной камере, * – межлинейные отличия, $p < 0.05$, критерий Манна-Уитни; ** – внутрилинейные отличия на фоне введения тиопентала натрия, $p < 0.05$, критерий Манна-Уитни

нения УРПИ в нормальных условиях различается у низковозбудимых и высоковозбудимых крыс. У животных линии НП наблюдали стабильное сохранение всех исследуемых показателей до 1 недели, у линии ВП – снижение сохранения УРПИ через 1 неделю. Ранее также было показано, что высоковозбудимые крысы превосходят низковозбудимых по показателям сохранения УРПИ [7]. Таким образом, на длительность сохранения условного рефлекса пассивного избегания влияет генетически-детерминированный уровень возбудимости нервной системы крыс, и низкая возбудимость нервной системы может быть фактором риска развития нарушений долговременной памяти в норме и при стрессорных воздействиях. Известно, например, что 24 ч депривация парадоксальной фазы сна приводит к значительному нарушению процессов консолидации памяти при выработке УРПИ именно у низковозбудимых животных линии ВП [7, 8].

После воздействия тиопентала у высоковозбудимых крыс линии НП наблюдалось отсутствие захождения животных в темный отсек через 48 ч, что может быть проявлением как полного сохранения УРПИ, так и подавления норкового рефлекса, отражающего проявление токсических свойств препарата. Через 1 нед. после воздействия обнаружено восстановление исследуемых показателей до контрольного уровня.

У низковозбудимых животных линии ВП не обнаружилось влияния тиопентала натрия на уровень и длительность сохранения УРПИ.

Важно подчеркнуть, что более высокая чувствительность к действию ТП была обнаружена у крыс линии НП и при определении полудетальной дозы (для крыс линии ВП она составила 110

мг/мл, для линии НП – 95 мг/мл).

Следует отметить, что у крыс линии НП ранее была выявлена большая чувствительность к анальгетическому эффекту морфина и антианальгетическому действию налоксона по сравнению с линией ВП [9], что связывали с меньшим содержанием у них в некоторых отделах мозга эндогенных опиоидных пептидов, при этом характер проявления дозозависимых эффектов свидетельствовал о большей аффинности опиатных рецепторов и меньшем их числе [10].

Несмотря на отсутствие доступных литературных данных о влиянии ТП на когнитивные функции крыс, нельзя не отметить, что схожими поведенческими и биохимическими эффектами воздействия, обусловленными усилением ГАМК-эргического торможения, обладает этанол [11]. Было показано, что у мышей линии CD1 наблюдается дозозависимое нарушение формирования условного рефлекса пассивного избегания под воздействием разных доз этанола [12], однако данные о влиянии генотипа на эти процессы в литературе отсутствуют.

Заключение. Таким образом, полудетальная доза тиопентала натрия вызывала полное сохранение УРПИ и/или подавление норкового рефлекса только у животных линии НП через 48 ч после воздействия. В целом, с высокой возбудимостью нервной системы связана как более высокая чувствительность к действию ТП, так и длительность сохранения памятного следа УРПИ в нормальных условиях.

Исследование механизмов действия нейротоксикантов на моделях экспериментальных животных с различным генетически-детерминированным функциональным состоянием нервной системы является необходимым звеном доказа-

тельной медицины, которое позволит приблизиться к пониманию причин индивидуальной изменчивости проявления патогенетических

процессов в центральной нервной системе при интоксикации ксенобиотиками и определить пути их коррекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Башарин В.А., Гребенюк А.Н., Бонитенко Е.Ю., Иванов М.Б., Макарова Н.В. Экспериментальная модель барбитуратной комы // Токсикологический вестник. – 20-№ 4. – С. 21-25.
2. Кашуро В.А., Долго-Сабуров В.Б., Дагаев С.Г., Батоцыренова Е.Г., Кубарская Л.Г., Аксенов В.В. Изучение роли антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в патогенезе тиопенталовой комы // Химическая и биологическая безопасность. – 20С. 3-7.
3. Кашуро В.А., Батоцыренова Е.Г., Елаева Н.Л., Савенко Ю.Н., Лапина Н.В., Аксенов В.В. Динамика содержания нейротрофических факторов головного мозга при экспериментальной коме у крыс // Казанский медицинский журнал. – 20№ 94(5). С. 659-699.
4. Calvey T, Williams N. Principles and Practice of Pharmacology for Anaesthetists. 5th edition. Blackwell Publishing, 2009.
5. Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Минаева Л.В., Швецов А.В., Степанов С.В., Лапина Н.В., Бонитенко Е.Ю. Сигнальная функция активных форм кислорода при интоксикации тиопенталом натрия // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Социальные, гуманитарные, медико-биологические науки. – 20№ 16(5-4). С. 1376-1379.
6. Вайдо А.И. Физиолого-генетический анализ возбудимости и поведения лабораторной крысы: автореф. дис. ... докт. биол. наук. 03.00.13 / А.И. Вайдо; Институт физиологии им. И.П. Павлова. – СПб., 2000. – 42 с.
7. Таранова Н.П., Кленнекова В.А., Вайдо А.И., Ширяева Н.В., Лопатина Н.Г., Кулагин Д.А. Влияние нарушений сна на активность АТФ-аз нейронов и глиоцитов гиппокампа у крыс, селективных по порогу возбудимости нервной системы // Нейрохимия. – 1990. – № 9(1). – С. 24-31.
8. Ширяева Н.В., Вайдо А.И., Лопатина Н.Г. Влияние невротизации спустя длительные сроки после ее окончания на поведение крыс, различающихся по возбудимости нервной системы // Журн. высшей нервной деятельности. – 1996. – № 46(1). – С. 157-162.
9. Ширяева Н.В., Семенова С.Г., Вайдо А.И., Лопатина Н.Г. Особенности эффектов морфина и налоксона у линий крыс, различающихся по порогу возбудимости нервной системы // Журн. высшей нервной деятельности. – 1995. – № 45(5). – С. 976-980.
10. Глуценко Т.С., Вайдо А.И., Ширяева Н.В., Таранова П.П., Лопатина Н.Г. Влияние длительной невротизации на содержание опиоидных пептидов в различных отделах головного мозга крыс, селективных по порогу возбудимости нервной системы // Биол. Мембраны. – 19№ 9(10-11). – С. 1096-1098.
11. Осечкина Н.С., Назаров Г.В., Бонитенко Е.Ю., Иванов М.Б., Кашуро В.А., Лапина Н.В., А.В. Бабкин, И.С. Бердинских, А.С. Мелехова, К.О. Войцехович, Д.С. Лисицкий, Н.В. Макарова, Т.В. Кашина. Влияние экспрессии и полиморфизма генов, кодирующих ГАМК-рецепторы на тяжесть депримирующего действия этанола у крыс // Токсикологический вестник. – 20№ 6. – С. 22-27.
12. Castellano C., Pavone F. Effects of ethanol on passive avoidance behavior in the mouse: involvement of GABAergic mechanisms // Pharmacology, biochemistry and behavior. – 19№ 29. – С. 321-324

REFERENCES:

1. Basharin V.A., Grebenjuk A.N., Bonitenko E.Yu., Ivanov M.B., Makarova N.V. Experimental model of barbiturate coma. // Toksikologicheskii vestnik. – 20-№ 4. – P. 21-(in Russian).
2. Kashuro V.A., Dolgo-Saburov V.B., Dagaev S.G., Batotsyrenova E.G., Kubarskaja L.G., Aksenov V.V. Role of antioxidant system and lipid peroxide oxidizing in thiopental-induced coma pathogenesis. Chemical and biological security. – 20S: 3-(in Russian).
3. Kashuro V.A., Batotsyrenova E.G., Elaeva N.L., Savenko Ju.N., Lapina N.V., Aksenov V.V. Neurotrophic factors concentration in rat brain at the experimental coma // Kazan medical journal. – 20№ 94(5). P. 659-6(in Russian).
4. Calvey T, Williams N. Principles and Practice of Pharmacology for Anaesthetists. 5th edition. Blackwell Publishing, 2009.
5. Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Minaeva L.V., Shvetsov A., Stepanov S.V. Lapina N.V., E.U. Bonitenko. Signal function of oxygen active forms in sodium thiopental intoxication. Social, humanitarian, mediko-biological sciences. – 20№ 16(5-4). P. 1376-13(in Russian).
6. Vaido A.I. Physiological and genetic analysis of laboratory rat behaviour. Dr. biol. sci. diss. 03.00.13 / Vaido A.I.; The Institute of physiology I.P. Pavlova. – Saint-Petersburg., 2000. – 42 p. (in Russian).
7. Taranova N.P., Klennekova V.A., Vaido A.I., Shirjaeva N.V., Lopatina N.G., Kulagin D.A. The influence of sleep impairments on neuron and glyocytes ATP activity in hippocampus of the rats differing by the threshold of nervous system excitability // Neurochemistry. – 1990.- № 9(1). – P. 24-(in Russian).
8. Shirjaeva H.B., Vaido A.I., Lopatina N.G. The effect of neurotization after a long period following its termination on the behavior of rats differing by nervous system excitability // Journ. of higher nervous activity. –1996. – № 46(1). – P. 157-1(in Russian).
9. Shirjaeva N.V., Semenova S.G., Vajdo A.I., Lopatina N.G. The characteristics of the effects of morphine and naloxone in rat strains differing by the excitability thresholds of their nervous systems // Journ. of higher nervous activity. – 1995. – № 45(5). – P. 976-9(in Russian).
10. Glushchenko T.S., Vajdo A.I., Shirjaeva N.V., Taranova P.P., Lopatina N.G. The influence of neurotization after a long period following its termination on the opioid peptides distribution in different regions of the brain in rat strains differing by the excitability thresholds of their nervous systems // Biol. Membrany. – 19№ 9(10-11). – P. 1096-10(in Russian).
11. Osechkina N.G., Nazarov G.V., Bonitenko E.Yu., Ivanov M.B., Kashuro V.A., Lapina N.V. et al. The expression and polymorphism influence of genes encoding the GABA-receptors on severity of the ethanol depressing actions in rats // Toksikologicheskii vestnik. – 20№ 6. – P. 22-(in Russian).
12. Castellano C., Pavone F. Effects of ethanol on passive avoidance behavior in the mouse: involvement of GABAergic mechanisms // Pharmacology, biochemistry and behavior. – 19№ 29. – P. 321-3

A.V. Shvetsov¹, A.I. Vaido², N.A. Dyuzhikova², A.V. Belskaya¹, M.V. Mikhailova¹, E.B. Skomorokhova^{1,2}, E.G. Batotsyrenova¹.

INFLUENCE OF SODIUM THIOPENTAL ON CONSERVATION OF CONDITIONAL REFLEX OF PASSIVE AVOIDANCE IN RATS WITH DIFFERENT NERVOUS SYSTEM EXCITABILITY

¹Institute of Toxicology, Federal Medical and Biological Agency, 192019, Saint-Petersburg, Russian Federation

²I.P.Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 190034, Saint-Petersburg, Russian Federation

A study of the dynamics of preservation of the conditioned reflex of passive avoidance (passive avoidance response) in rats of two lines with different level of excitability of the nervous system was performed: with a high and low thresholds of excitability as normal and after exposure to sodium thiopental semi-lethal dose. It was shown that a long preservation of the memorable trace under standard conditions and a higher sensitivity to the sodium thiopental action manifest in rats with a high excitability threshold in comparison with low-excitability line of rats.

Keywords: sodium thiopental, conditioned reflex of passive avoidance, excitability.

Переработанный материал поступил в редакцию 12.01.2018 г.