

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАФИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АНКСИОЛИТИКОВ АФОБАЗОЛА И ДИАЗЕПАМА НА ИНБРЕДНЫХ КРЫСАХ ЛИНИЙ MR И MNRA С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ТРЕВОЖНОСТИ

С. Н. Кожечкин<sup>1</sup>

### ВВЕДЕНИЕ

Для крыс линии MR характерен пассивный фенотип эмоционально-стрессовых реакций (ЭСР): низкая ориентировочно-исследовательская активность, freezing-реакция, повышенная эмоциональность, тревожность [7]. В противоположность этому, крысам MNRA свойственен активный тип ЭСР: повышенная двигательная и ориентировочно-исследовательская активность, отсутствие freezing-реакции, меньший уровень эмоциональности. В поведенческих экспериментах показано, что анксиолитики диазепам и афобазол оказывают разное действие на MR и MNRA. Диазепам в тестах “открытое поле”, “конфликтный тест”, “крестообразный лабиринт” оказывал анксиолитическое действие на MR и активировал их поведение в стрессовой ситуации. Агент в тех же дозах редуцировал поведенческую активность у MNRA. Афобазол оказывал анксиолитическое действие на MR и не влиял на поведение MNRA [4, 13]. На основании этого афобазол был причислен к селективным анксиолитикам, оказывающим эффект только на животных с определенным, генетически детерминированным фенотипом ЭСР.

Целью настоящего исследования явилось исследование зависимости эффектов анксиолитиков от эмоционального статуса и поиск ЭЭГ-маркеров, общих для анксиолитиков разных химических классов.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на крысах-самцах линий MR и MNRA, выведенных из племядра питомника Winston-Salem (США) в НИИ фармакологии РАМН. Под пентобарбиталовым наркозом (50 мг/кг) в кости черепа вживляли 24 стальных электрода над всеми областями дорзального неокортекса. Активные электроды вместе с индифферентным (в затылочной кости) фиксировали пластмассой. Во время экспериментов крысы находились в свето- и звукоизолированной экранированной камере в свободном поведении. ЭЭГ после усиления, Фурье- и аналого-цифрового преобразования обрабатывали на компьютере по специально разработанной программе “СИНХРО-ЭЭГ”. Частота дискретизации сигналов 128 Гц, длительность эпохи анализа 4 с, количество эпох 10. Оценивали 840 показателей пространственной организации электрической активности мозга (спектры мощности, когерентность,

синхронность, степень неупорядоченности потенциалов, различные виды асимметрий и т.п.) в каждой из 22 частотных полос ЭЭГ от 0,05 до 30 Гц (таблица). Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента.

Афобазол (20 мг/кг, в 0,9 % NaCl) и диазепам (10 мг/кг, в твин-80) вводили внутривенно в объеме 1 мл. ЭЭГ отводили до введения веществ и через 5, 20, 35, 50, 80 и 95 мин после введения. В контрольных экспериментах отводили ЭЭГ по такой же схеме у интактных крыс, не получавших веществ, и крыс после инъекции 0,9 % NaCl внутривенно. В каждой серии экспериментов использовали по 9 крыс каждой линии.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У крыс линии MR после введения 0,9 % раствора NaCl возникали достоверные изменения значительного количества показателей электрической активности мозга (рис. 1). Этого не наблюдали у интактных крыс MR, не подвергнутых инъекции. Данный эффект обусловлен, по-видимому, стрессом, вызванным манипуляциями экспериментатора и раздражением инъекционной иглой брюшины - одной из наиболее богатых болевыми рецепторами зон организма. Афобазол и диазепам уменьшали стрессогенный эффект процедуры инъекции, всегда предшествующей началу действия веществ, приближая количество изменяющихся параметров ЭЭГ к таковому у интактных крыс. Афобазол действовал сильнее диазепамом.

У крыс MNRA эффекты 0,9 % NaCl и обоих препаратов были существенно меньшими, чем у MR. Таким образом, афобазол и диазепам оказывают выраженное антистрессовое действие на крыс MR с высоким уровнем эмоциональности.

После введения афобазола мощность спектра ЭЭГ у крыс MR достоверно увеличивалась в частотных полосах N4 и 5 (4,75 – 7,25 Гц)  $\theta$ -ритма и уменьшалась в полосах N6 и 7 (7,50 – 9,75 Гц)  $\theta$ - $\alpha$ -ритма и в полосе N15 (18,75 – 20,00 Гц)  $\beta$ -ритма (рис. 2). У крыс MNRA афобазол вызывал меньшие изменения в спектре мощности ЭЭГ, однако похожие на таковые у MR: увеличение мощности спектра в полосе N4 (4,75 – 5,75 Гц) и уменьшение в полосе N6 (7,50 – 8,50 Гц).

Диазепам в отличие от афобазола не изменял мощность спектра в области  $\theta$ -ритма у крыс MR, а у MNRA уменьшал ее в полосе частот N5 (6,00 – 7,25) пика доминирующей активности. Так же, как афоба-

<sup>1</sup> ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

зол, диазепам уменьшал мощность спектра в частотной полосе N6 (7,5 – 8,5 Гц) у крыс обеих линий. Характерной особенностью диазепама является увеличение мощности спектра во многих полосах  $\alpha$ - и  $\beta_1$ -диапазонов ЭЭГ (N8, 9, 10, 11, 12 у MR и N7, 9, 10, 11, 12, 13 у MNRA).

На рис. 2 видно, что спектры мощности у крыс MR и MNRA интактных и получавших 0,9 % NaCl достоверно не изменялись. Стрессогенный эффект 0,9 % NaCl и антистрессовое действие анксиолитиков, описанное выше, было обнаружено не по изменению количества параметров спектральной мощности, а по изменению количества других показателей ЭЭГ — различным видам асимметрии и др.

То, что афобазол увеличивает мощность спектра у крыс MR в диапазоне  $\theta$ -ритма, указывает на облегчение септо-гиппокампадно-корковой синаптической активности, а, следовательно, усиление связанных с ней высших функций мозга. С этой системой связаны такие функции, как ориентировочно-исследовательская активность, внимание, обучение, память [12]. Диазепам, в отличие от афобазола, не увеличивал  $\theta$ -активность у крыс MR и уменьшал ее у MNRA в частотной полосе N4. По-видимому, это является отражением его побочных фармакологических эффектов — ухудшения внимания, памяти, что обуславливает противопоказания к применению бензодиазепинов при некоторых видах профессиональной деятельности.

Уменьшение афобазолом у крыс MR мощности спектра в двух поддиапазонах  $\alpha$ -ритма N6, 7 можно отождествить с классическим феноменом депрессии  $\alpha$ -ритма ЭЭГ человека, возникающей при открывании глаз. Этот феномен связывают с активацией ЦНС за счет усиления зрительной афферентации. Афобазол, по-видимому, оказывает центрально-стимулирующее действие на высокоэмоциональных и поведенчески малоактивных крыс MR. Этот эффект противоположен седативному эффекту бензодиазепинов. Можно предположить, что афобазол является анксиолитиком “дневного” типа. При клинической ЭЭГ обнаружено, что у людей афобазол уменьшает  $\delta$ -активность, что также свидетельствует о активирующем действии препарата на ЦНС [3].

Диазепам, наоборот, увеличивал мощность спектра во многих частотных полосах  $\alpha$ -ритма. Этот эффект, противоположный депрессии  $\alpha$ -ритма, может быть связан с седативным и/или снотворным свойствами агента.

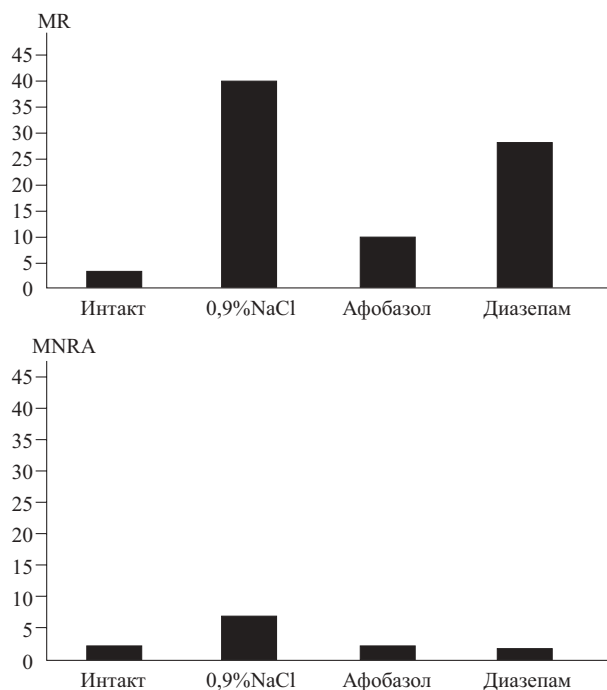
Увеличение бензодиазепинами высокочастотных компонентов ЭЭГ ( $\alpha$ - и  $\beta$ -активности) описан во многих работах. Некоторые авторы рассматривают его в качестве основного ЭЭГ-коррелята анксиолитической активности [10, 14]. Мы не можем поддержать эту точку зрения, так как указанный эффект отсутствует у афобазола.

Другие авторы считают основным ЭЭГ-коррелятом анксиолитической активности бензодиазепинов замедление  $\theta$ -ритма, переход доминирующего пика  $\theta$ -активности в область более низких частот, вплоть до  $\delta$ -диапазона [1, 8]. Мы не наблюдали такого эффекта у бензодиазепинов, а афобазол лишь несколько увеличивал мощность спектра в полосе N4 у крыс обеих линий, не уменьшая пика доминирующей активности в полосе N5  $\theta$ -ритма.

Таким образом, основным общим свойством афобазола и диазепама является уменьшение мощности спектра в поддиапазоне N6 (7,50 – 8,50 Гц) у крыс обеих линий. Можно предположить, что именно этот феномен является ЭЭГ-маркером анксиолитического действия. Указанный поддиапазон лежит на границе  $\theta$ - и  $\alpha$ -ритмов. J. A. Gray и соавт. [9], исследуя  $\theta$ -ритм гиппокампа, возникающий при стимуляции septum, обнаружил увеличение порога стимуляции в узкой области частот 7,7 Гц под влиянием натрия амобарбитала (барбамила), хлордиазэпоксида и этанола. Эта частота лежит как раз внутри поддиапазона N6, мощность которого уменьшалась в наших опытах под влиянием афобазола и диазепама у крыс обеих линий. Однако было показано, что тиротропин-рилизинг гормон (TRH), обладающий центрально-стимулирующим действием, уменьшающий барбитуратный и этаноловый сон [6], полностью блокирует эффект натрия амобарбитала [11]. Таким образом, можно было бы предположить, что уменьшение порога стимуляции для генерации 7,7 Гц и уменьшение спектра мощности в полосе

Номера частотных полос (абсциссы на графиках) и их значения (в Гц)

N	Гц	
1	0,05 – 1,7	
2	1,95 – 3,00	$\delta$
3	3,25 – 4,50	
4	4,75 – 5,75	
5	6,00 – 7,25	$\theta$
6	7,50 – 8,50	
7	8,75 – 9,75	
8	10,00 – 11,00	
9	11,25 – 12,50	$\alpha$
10	12,75 – 13,50	
11	13,75 – 14,75	
12	15,00 – 16,00	
13	16,25 – 17,25	
14	17,50 – 18,50	
15	18,75 – 20,00	$\beta_1$
16	20,25 – 21,25	
17	21,50 – 22,50	
18	22,75 – 23,75	
19	24,00 – 25,00	
20	25,25 – 26,50	
21	26,75 – 28,00	
22	28,25 – 30,00	$\beta_2$

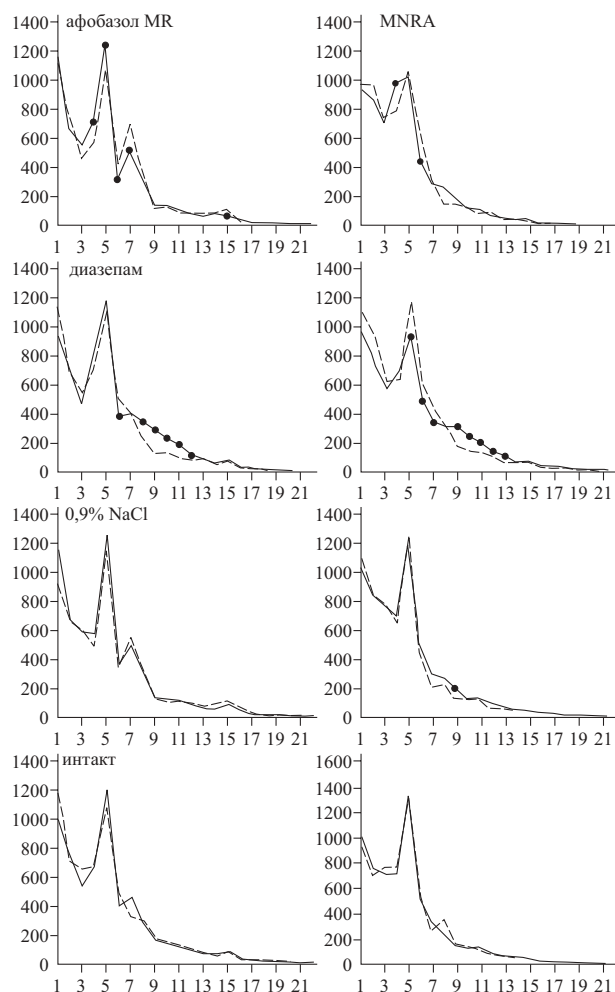


**Рис. 1.** Влияние анксиолитиков афобазола и диазепам на количество параметров ЭЭГ, достоверно изменившихся в течение 95 мин для всей коры головного мозга (24 точки) после эмоционально-болевого стресса, вызванного процедурой внутрибрюшинной инъекции 0,9 % NaCl в сравнении с контролем до инъекции.

MR — Maudsley Reactive крысы; MNRA — Maudsley NonReactive крысы; Интакт — крысы, не подвергнутые инъекциям. Афобазол — 20 мг/кг; диазепам — 10 мг/кг внутрибрюшинно. По осям ординат - количество достоверно изменившихся параметров ЭЭГ ( $p < 0,05$ ).

N6 ЭЭГ под влиянием афобазола и диазепам связаны с седативным и/или снотворным эффектами анксиолитиков. Однако этому противоречит отсутствие у афобазола седативных и снотворных свойств и наличие поведенческой активации [5]. Таким образом, весьма вероятно, что уменьшение мощности спектра в полосе N6 связано именно с анксиолитической активностью. Можно предположить, что при поиске и испытании потенциальных анксиолитиков ЭЭГ-маркером анксиолитического действия является уменьшение мощности спектра в полосе частот 7,5 – 8,5 Гц.

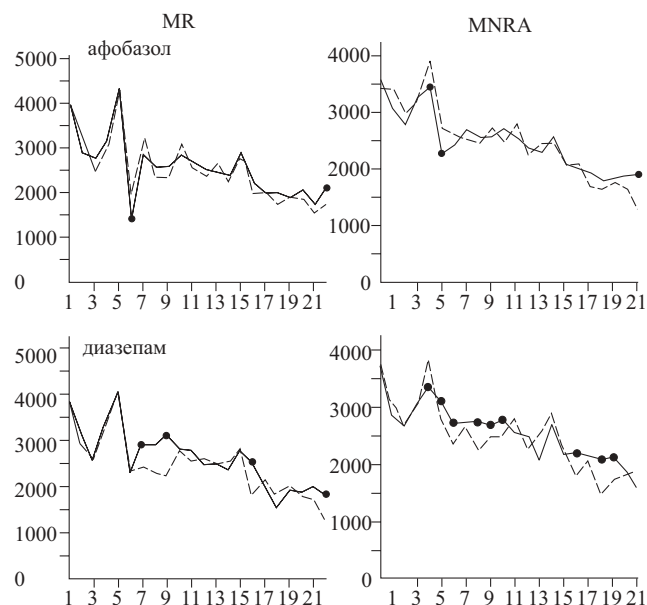
В отличие от спектра мощности, характеризующего удельный вес (представленность) различных частот биопотенциалов в ЭЭГ, когерентность отражает количество функционирующих синфазно или с постоянным сдвигом фаз нервных элементов мозга [2]. На рис. 3 видно, что у крыс обеих линий афобазол уменьшает когерентность в поддиапазоне N6, хотя диазепам не обладает таким свойством. У крыс MR афобазол и диазепам не изменяли когерентность в области доминирующего пика  $\theta$ -активности (N5) и уменьшали ее у MNRA. В области более высоких частот ( $\alpha$ -,  $\beta$ -) оба агента увеличивали когерентность в различных полосах. Этот эффект более выражен у диазепам и похож на изменения в спектрах мощности.



**Рис. 2.** Влияние афобазола (20 мг/кг) и диазепам (10 мг/кг) на спектры мощности ЭЭГ крыс линий MR и MNRA.

По осям ординат — спектральная мощность в условных нормализованных единицах в среднем в течение 95 мин после инъекции, для всей коры (24 точки). По осям абсцисс — номера частотных полос (см. таблицу). Контрольные эксперименты: 0,9 % NaCl (плацебо), интакт — интактные животные, которым не делали инъекции. Пунктирная линия — перед инъекциями веществ или первая запись для интактных крыс; сплошная — после инъекций или средняя величина в течение 95 мин после первой записи для интактных крыс. • — эффекты, достоверные по Стьюденту ( $p < 0,05$ ).

Уменьшение когерентности в области пика доминирующей активности у крыс MNRA говорит о неблагоприятном влиянии обоих анксиолитиков на животных, фенотипически близких к людям с обычным (нормальным) уровнем эмоциональности и тревожности. Таким образом, оба анксиолитика целесообразно назначать пациентам с повышенным уровнем тревожности (аналогам MR), в особенности афобазол, не угнетающий и даже увеличивающий функционирование септо-гиппокампадно-корковой системы и не имеющий побочных эффектов, свойственных бензодиазепинам (седативного, снотворного, амнестического и др.). По фармакологическим свойствам афобазол, ввиду отсутствия у него седативных свойств и наличия центрально-



**Рис. 3.** Влияние афобазола (20 мг/кг) и диазепама (10 мг/кг) на когерентность потенциалов неокортекса крыс линий MR и MNRA. Средняя величина в течение 95 мин после инъекции, для всей коры (24 точки).

По осям ординат — когерентность в условных нормализованных единицах. По осям абсцисс — номера частотных полос (см. таблицу). Пунктирная линия — до инъекций; сплошная — после инъекций анксиолитиков. ● — эффекты, достоверные по Стьюденту ( $p < 0,05$ ).

но-активирующих, близок к группе так называемых анксиолитиков “дневного” типа.

## ВЫВОДЫ

1. Анксиолитики афобазол и диазепам оказывают противострессовое действие на крыс линии MR с высоким уровнем эмоциональности и не оказывают такового на крыс линии MNRA.

2. Афобазол увеличивает мощность спектра в диапазоне  $\theta$ -ритма у крыс MR и MNRA. Диазепам не об-

ладает таким свойством и уменьшает мощность спектра в полосе доминирующего пика  $\theta$ -активности у MNRA. Диазепам увеличивает мощность спектра в широком диапазоне частот  $\alpha$ - и  $\beta$ -ритмов у крыс MR и MNRA. Этот эффект отсутствует у афобазола.

3. Афобазол вызывает депрессию  $\alpha$ -ритма у крыс MR, что указывает на его центрально-стимулирующий эффект.

4. Общим для обоих анксиолитиков является уменьшение мощности спектра в узкой полосе частот 7,5 – 8,5 Гц у крыс обеих линий. По-видимому, этот феномен является ЭЭГ-маркером анксиолитического действия и может быть использован при поиске новых препаратов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Н. Богданов, Т. А. Воронина, *Ж. высш. нервн. деят.*, **42**(3), 566 – 572 (1992).
2. М. Н. Ливанов, *Пространственная организация процессов головного мозга*, Наука, Москва (1972).
3. Г. Г. Незнамов, С. А. Сюняков, Д. В. Чумаков и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **64**(2), 15 – 19 (2001).
4. С. Б. Середенин, И. В. Виглинская, Л. Г. Колик, *Экспер. и клин. фармакол.*, **60**(8), 3 – 5 (1997).
5. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Г. Г. Незнамов и др., *Вестн. РАМН*, № 11, 3 – 9 (1998).
6. G. R. Breese, J. M. Cott, B. R. Cooper, et al., *J. Pharmacol. and Exp. Therap.*, **193**, 11 – 22 (1975).
7. P. L. Broadhurst, *Behav. Genet.*, **5**, 299 – 319 (1975).
8. H. A. Deporter, *Pharmacopsychiatry*, **18**, 17 – 25 (1985).
9. J. A. Gray, *Behav. Brain Sci.*, **5**, 469 – 534 (1982).
10. F. Krijzer and R. Van der Molen, *Neuropsychobiology*, **18**, 51 – 64 (1987).
11. N. McNaughton and D. N. D. James, *Neuroscience*, **2**, 1019 – 1027 (1977).
12. B. Milner, *Biology of memory*, New York (1970), 29 – 50.
13. S. B. Seredenin, I. V. Viglinskaya, and O. P. Kashevskaya, *Biological basis of individual sensitivity to psychotropic drugs*, Edinburg (1994), 47 – 56.
14. J. Yamamoto, *Jpn. J. Pharmacol.*, **47**, 123 – 134 (1988).

Поступила 16.01.03

## COMPARATIVE EEG STUDY OF THE ANXIOLYTICS AFOBAZOLE AND DIAZEPAM IN MR AND MNRA RATS

S. N. Kozhechkin

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315 Russia

The effects of two anxiolytic drugs, diazepam (10 mg/kg, i.p.) and afobazole (20 mg/kg, i.p.) on the EEG features was studied in MR and MNRA rats with different emotionality and anxiety levels in order to reveal an EEG marker of the anxiolytic action. For this purpose, 840 EEG parameters from 24 neocortex sites were determined and analyzed. In MR (but not in MNRA) rats, both diazepam and afobazole decreased the number of EEG parameters reliably changed upon the emotional-pain stress related to the intraperitoneal injections of 0,9% NaCl. Afobazole increased the theta-rhythm power in the spectral band of 4.75 – 7.25 Hz in MR rats, and in the band of 4.75 – 5.75 Hz in MNRA rats. Diazepam did not change the theta activity in MR rats, while decreasing it in the band of 6.00 – 7.25 Hz for MNRA rats. In addition, diazepam increased the spectral power in a broad frequency range of alpha and beta rhythms (8.75 – 17.25 Hz) in the rats of both lines, while afobazole did not produce such action. Common effects include a decrease in the spectral power within a narrow frequency band (7.5 – 8.5 Hz) at the boundary between theta and alpha regions. It is suggested that the latter effect can be used as the EEG marker of the anxiolytic action. The biopotential coherency in this frequency band was reduced in MR and MNRA rats only under the action of afobazole. The possibility of EEG changes related to the side action of anxiolytics and expediency of using the EEG markers in rats with different emotionality levels are discussed.