

ВЛИЯНИЕ ДИСУЛЬФИРАМА НА ИЗМЕНЕНИЯ В ЭНЕРГЕТИЧЕСКОМ МЕТАБОЛИЗМЕ (ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПОТЕНЦИАЛЕ) КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ, СОПРОВОЖДАЮЩИЕ ЭПИЗОДЫ ПАРАДОКСАЛЬНОГО СНА

Т. Б. Швец-Тэнэта-Гурий, А. Г. Дубинин, Г. И. Трошин¹

Дисульфирам (ДС) широко применяется для лечения алкогольной зависимости. В процессе лечения у человека в циклах бодрствования-сна повышается содержание парадоксального сна (ПС). В данной работе на крысах исследовано влияние ДС на количество ПС в циклах бодрствования-сна у свободно передвигающихся животных, и на сдвиги в энергетическом метаболизме коры мозга, сопровождающие эпизоды ПС. Проведена полиграфическая регистрация: окислительно-восстановительного потенциала (Е) коры мозга крысы, записанного платиновыми электродами, вживлёнными в разные области коры; электрокортикограммы; электромиограммы шейных мышц и общей двигательной активности. После приёма ДС с пищей (100 мг/кг, две ночи подряд) в двух последующих опытах число эпизодов ПС увеличивалось почти вдвое. Этот факт свидетельствует о повышении “давления” ПС в связи со снижением содержания норадреналина в коре, вызванного ДС. В то же время происходило уменьшение числа положительных сдвигов Е и увеличение числа отрицательных сдвигов, сопровождающих ПС. Эти факты свидетельствуют о том, что после приёма ДС основным источником энергии во время ПС становится гликолиз. Полученные данные согласуются с представлениями о том, что в патологических ситуациях повышается роль гликолиза как основного источника энергии для работы мозга.

Ключевые слова: крыса, парадоксальный сон, кора мозга, энергетический метаболизм, окислительно-восстановительный потенциал, дисульфирам

ВВЕДЕНИЕ

Дисульфирам (ДС) — лекарственный препарат, широко применяемый для лечения хронического алкоголизма [9]. Лечение ДС сопровождается повышением числа эпизодов парадоксального сна (ПС) [10]. Наряду с другими влияниями на биохимические процессы в организме, ДС ингибирует фермент дофамин-β-гидроксилазу, катализирующий превращение дофамина в норадреналин (НА) и снижает содержание НА в ткани головного мозга [1, 9]. В литературе имеются данные о том, что НА регулирует переход от медленноволнового сна (МС) к ПС, так и протекание самого ПС [14]. Есть сведения и о том, что работа мозга во время эпизодов ПС сопровождается большими затратами энергии, что обнаруживается по значительному повышению оксидативного метаболизма во многих структурах мозга животных и человека во время ПС [4, 12].

Нами открыто новое направление в исследовании локальных изменений в энергетическом метаболизме мозга у свободно подвижных теплокровных животных в хронических экспериментах. Основано это направление на результатах исследования изменений в окислительно-восстановительном потенциале (Е) коры мозга, сопряженных с поведением, которые получены

при непрерывном потенциометрическом мониторинге локальных изменений Е мозга с помощью вживлённых электродов, изготовленных из инертных металлов (золото, платина) [5, 6].

Е живой ткани определяется соотношением содержания лактата и пирувата в ткани, окружающей электрод, и рассматривается как надёжный показатель баланса гликолиза и тканевого дыхания в энергетическом метаболизме данного участка ткани [3, 13]. Повышение Е соответствует локальному повышению окислительного метаболизма ткани мозга по отношению к гликолизу, а снижение Е — противоположному процессу. В наших исследованиях на свободно подвижных крысах обнаружено, что эпизоды ПС сопровождаются локальным повышением Е, то есть повышением окислительного метаболизма в ряде точек коры [6]. На основании этих фактов мы пришли к выводу, что экспериментальное исследование влияния ДС на представленность эпизодов ПС в циклах бодрствования-сна крысы и энергетический метаболизм мозга является плодотворной моделью для понимания процессов, происходящих в мозговой ткани человека при лечении ДС.

Целью данной работы является исследование влияния ДС на содержание эпизодов ПС в циклах бодрствования-сна и на параметры локальных сдвигов Е, сопровождающие ПС.

¹ Лаборатория функциональной нейробиологии (зав. — М. М. Свинов) Учреждение Российской академии наук Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, 117865, Москва, ул. Бутлерова, 5А.

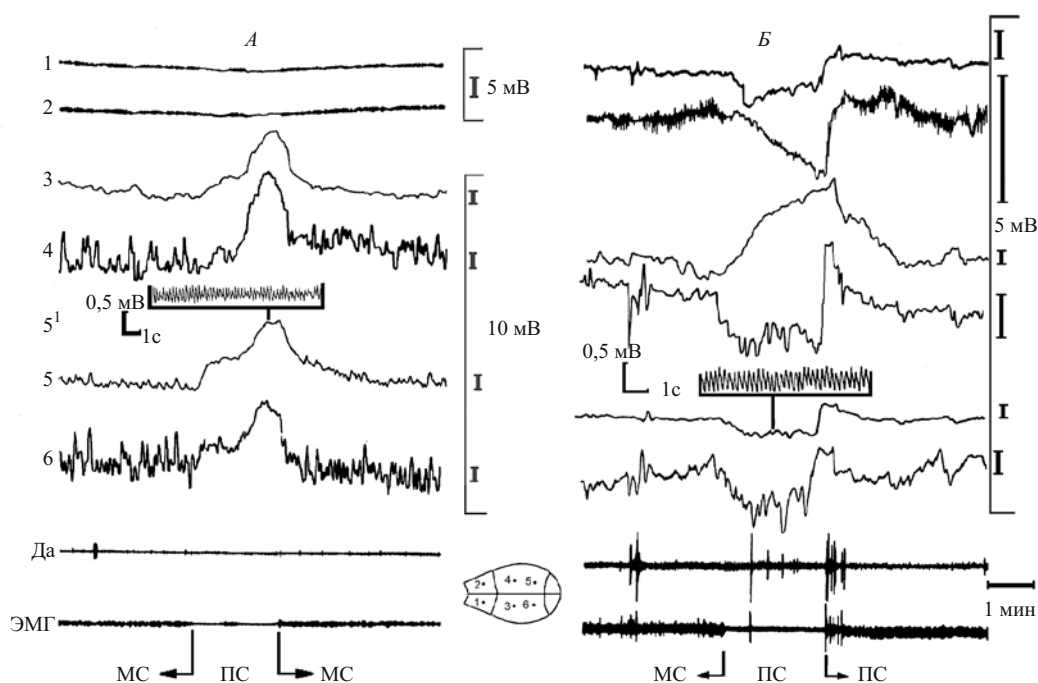


Рис. 1. А. Повышения окислительно-восстановительного потенциала (E) коры головного мозга крысы, сопровождающие эпизоды парадоксального сна в метаболически активных точках коры мозга крысы (точки 3, 4, 5 и 6), до приёма дисульфирама. Б. Увеличение числа метаболически активных точек в коре мозга, трансформация формы и направления сдвигов E , сопровождающих эпизоды парадоксального сна, на следующий день после приёма дисульфирама (100 мг/кг с пищей две ночи подряд).

Здесь и на рис. 2: точки на схеме головы крысы соответствуют месту расположения вживлённых электродов, цифры в начале каждой записи соответствуют точке коры, от которой произведена запись E . 5¹ фрагмент записи электрокортикограммы (ЭКоГ) в точке 5 во время эпизода парадоксального сна (время записи отмечено вертикальной чертой). ДА — запись общей двигательной активности крысы. ЭМГ — электромиограммы дорзальных шейных мышц. МС — эпизоды медленноволнового сна; ПС — эпизоды парадоксального сна. Калибровки напряжения и времени приведены на рисунке.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 6 свободноподвижных белых беспородных крысах-самцах массой 300 – 350 г (115 экспериментов). E мозга регистрировали платиновыми электродами, вживленными в симметричные точки передней, теменной и затылочной коры (рис. 1) на глубину 0,3–0,6 мм. Электромиограмму (ЭМГ) шейных мышц записывали вживлённым платиновым электродом. Общий платиновый электрод сравнения вживляли в носовые кости. Для усиления и регистрации E -сигналов использовали усилители постоянного тока (сопротивление входа 4 ГОм, полоса частот 0 – 20 Гц) с выходом на чернилопишущий самописец (Н3031 – 8, СССР). В такой частотной полосе на запись E накладывалась запись электрокортикограммы (ЭКоГ). В дополнение сигнал от одного из электродов подавали параллельно через емкость, позволяющую регистрировать сигнал только в полосе частот ЭКоГ на другой самописец с большей скоростью движения бумажной ленты.

Система записи общей двигательной активности крысы состояла из баллистокордиографа (КЭЗМИ, СССР), помещённого под экспериментальную камеру, и усилителя переменного тока (УБФ-2, СССР). Экспериментальную камеру помещали в середину другой,

решетчато экранированной камеры при постоянном освещении (лампочка 100 ватт). Полиграфическую запись (E коры в шести точках, ЭКоГ, ЭМГ и общей двигательной активности) в опытах проводили непрерывно на протяжении 6 ч (от 10 до 16 ч).

ДС крысы получали с пищевыми шариками (примерно 100 мг/кг) в течение двух ночей подряд. Для статистического анализа взяты данные опытов двух экспериментов на всех крысах перед приёмом ДС и двух экспериментов после второго приёма ДС. Оценку проводили с помощью 95 % доверительного интервала для доли вариант при альтернативном распределении. Более детально методы исследования описаны ранее в нашей работе [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Весьма выразительным был тот факт, что у всех животных осцилляции и сдвиги E , сопровождающие эпизоды бодрствования, МС и ПС, имели место в одних точках коры — метаболически активных точках (МАТ) и отсутствовали в других — метаболически молчащих точках (ММТ) (рис. 1, А). Рисунок распределения МАТ и ММТ коры у каждой крысы имел индивидуальный характер, который сохранялся в течение 8 – 10 дней до приёма ДС. Эпизоды ПС в экспериментах определяли по снижению амплитуды ЭКоГ в

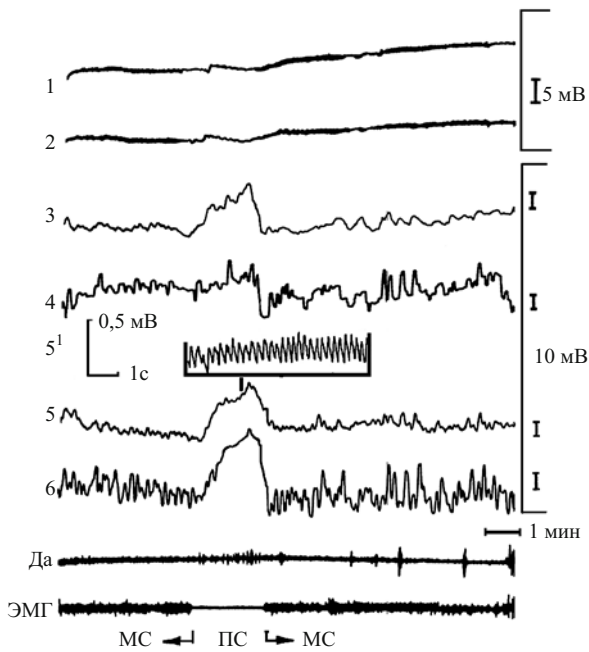


Рис. 2. Восстановление числа и распределения метаболически активных точек в коре и параметров локальных сдвигов Е, сопровождающих эпизоды парадоксального сна, через семь дней после приёма дисульфирама.

Обозначения те же, что на рис. 1.

записях от ММТ коры (рис. 1, А, точки 1 и 2), по характерному для ПС рисунку ЭКоГ (рис. 1, А, 5¹ — запись ЭКоГ в МАТ 5) и по снижению амплитуды ЭМГ. У всех исследованных крыс эпизоды ПС сопровождались в основном повышением Е в МАТ, которые имели вид волн Е, относительно синхронных во всех МАТ коры, пик которых мог достигать значений в несколько десятков милливольт (рис. 1, А, точки 3, 4, 5 и 6).

После приёма ДС почти вдвое увеличилось число эпизодов ПС (от 102 до 172 эпизодов), значительные изменения произошли в энергетическом метаболизме коры. Увеличилось число МАТ коры от (56,7 ± 10,9) %, $n = 72$, до (86,2 ± 7,95) %, $n = 72$. Это происходило за счёт того, что ММТ коры трансформировались в МАТ коры (рис. 1, А и Б).

Значительные изменения ДС вызвал в форме, направлении и амплитуде сдвигов Е, сопровождающих эпизоды ПС. Почти синхронные положительные сдвиги Е, наблюдаемые до приёма дисульфирама (рис. 1, А), сменились сдвигами Е, которые в разных точках коры имели различную форму и направление (рис. 1, Б). В эпизодах ПС кроме положительных сдвигов появились отрицательные сдвиги и двухфазные отрицательно-положительные сдвиги (рис. 1, Б).

После приёма дисульфирама вероятность наблюдения положительных сдвигов Е, сопровождающих ПС, уменьшилась с (91 ± 2,6) %, $n = 452$ до (6,8 ± 1,6) %, $n = 968$. Вероятность отрицательных сдвигов увеличилась с (9 ± 2,6) %, $n = 452$ до (41,9 ± 3) %, $n = 968$. В (51,3 ± 3) %, $n = 968$ эпизоды ПС сопровождались

двухфазными сдвигами Е. Абсолютные амплитуды как положительных, так и отрицательных сдвигов Е были существенно снижены по сравнению с таковыми до приёма дисульфирама. Средняя амплитуда положительных сдвигов снизилась с $21,7 \pm 20,4$ мВ, $n = 416$ до $3,3 \pm 2,8$ мВ, $n = 314$; абсолютная средняя амплитуда отрицательных сдвигов — с $7,5 \pm 4,9$ мВ, $n = 36$ до $-4,9 \pm 1,8$ мВ, $n = 754$.

Восстановление крыс в отношении числа МАТ в коре, распределения МАТ, направления сдвигов Е, сопряженных с эпизодами ПС, и амплитуд сдвигов Е происходило через 7–10 дней после приёма дисульфирама (рис. 2).

Представленные факты в первую очередь обнаруживают существование в коре свободно подвижных крыс относительно стабильного мозаичного распределения точек с разной выраженностью изменений в энергетическом метаболизме, сопровождающих циклы бодрствования-сна. Этот феномен наблюдался нами и ранее на крысах [6, 8] и кроликах [7] и по нашему мнению свидетельствует о том, что текущая “рутинная” деятельность животного в привычной обстановке поддерживается рядом нейроглиальных популяций, которые требуют большего энергетического обеспечения, чем “неработающие” нейроглиальные популяции. При мониторинге Е в циклах бодрствования-сна активные нейроглиальные популяции выявляются как МАТ коры, а “неработающие” как ММТ коры. Трансформация МАТ в ММТ после приёма ДС показывает, что в условиях действия на организм ДС для организации текущего поведения требуется больше нейроглиальных популяций, чем в условиях нормы.

Значительное повышение количества эпизодов ПС после приёма ДС соответствует данным [14] о том, что во время МС норадренергические клетки голубого пятна тонически тормозят формирование эпизодов ПС. Следовательно, истощение содержания норадреналина в ткани мозга, созданное ДС, облегчает формирование эпизодов ПС. Эти данные соответствуют сведениям [10], согласно которым у человека после лечения ДС повышается “давление” ПС (увеличение его интенсивности и его доли в общем времени сна).

Снижение числа эпизодов ПС, сопряженных с положительными сдвигами Е, и повышение числа эпизодов ПС, сопряженных с отрицательными сдвигами Е, позволяет утверждать, что после приёма ДС гликолиз становится основным источником энергии для снабжения коры мозга энергией во время ПС. Эти данные подтверждают генеральную концепцию, согласно которой в условиях патологии возрастает роль гликолиза (эволюционно более древнего компартмента) в энергетическом метаболизме мозга [2, 15]. Появление после приёма ДС двухфазных сдвигов (отрицательно-положительных волн), сопряженных с ПС, отражает, види-

мо, изменения в текущем балансе гликолиза и окислительного метаболизма.

Снижение абсолютных уменьшений средних значений амплитуд положительных и отрицательных значений волн E , сопряженных с эпизодами ПС, позволяет предположить, что ДС вызывает общее снижение энергетического метаболизма мозга. Это предположение согласуется с данными литературы, согласно которым у пациентов, получающих дисульфирам, в исследованиях методом ПЭТ обнаружено глобальное снижение скорости утилизации глюкозы в коре головного мозга [11].

Мы полагаем, что представленная работа, кроме конкретных фактов, демонстрирует, насколько многообещающими могут быть исследования в начатом нами направлении модельных исследований на животных влияния различных фармакологических препаратов на энергетический метаболизм мозга в условиях, приближенных к естественным.

ВЫВОД

В условиях проведенных экспериментов дисульфирам повышает содержание эпизодов парадоксального сна в циклах бодрствования-сна крысы; увеличивает количество метаболически активных точек коры мозга; оказывает отрицательное влияние на энергетический метаболизм коры, сдвигая баланс гликолиза/окислительного метаболизма в сторону повышения гликолиза и снижая общий уровень энергетического метаболизма коры.

EFFECT OF DISULFIRAM ON ENERGY METABOLISM (REDOX POTENTIAL SHIFT) COUPLED TO PARADOXICAL SLEEP EPISODES IN RAT CEREBRAL CORTEX

T. B. Shvets-Teneta-Gurii, A. G. Dubinin, and G. I. Troshin

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, ul. Butlerova 5a, Moscow, 117865, Russia

Disulfiram (DS) is widely used to treat patients with chronic alcoholism. DS treatment multiplies PS episodes. In this work, DS effect on the number of PS episodes and on the energy metabolism changes in the cerebral cortex (coupled to PS episodes) was investigated for the first time in rats. Polygraphic recording of the redox potential E (with platinum electrodes implanted in several cortical sites), electrocorticogram, neck electromyogram, and general motor activity were made in sleep – wake cycles. Rats received DS (100 mg/kg) with meals for two nights, after which the number of PS episodes increased almost twice during two subsequent sessions (prior to receiving DS). This was evidence of an increase in PS pressure coupled to a decrease of norepinephrine level in the brain. DS also evoked sharp decrease in the amount of the positive E shifts related to PS, which were replaced by the negative E shifts or by the two-phase E shifts (negative-positive waves). The absolute mean amplitude decreased both for the positive E shifts and the negative E shifts. These findings demonstrate prevailing glycolytic compartment as a source of fuel supporting PS and the inhibition in all brain energetic compartments. The data presented well agree with the conception that glycolysis becomes the main source for the brain activity under pathology conditions.

Key words: Paradoxical sleep, cerebral cortex, energy metabolism, redox potential, disulfiram, rats

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. Х. Божко, Т. П. Бойко, П. В. Волошин, *Фармакол. и токсикол.*, **54**(6), 37 – 39 (1991).
2. И. Г. Карманова, Г. А. Оганесян, *Физиология и патология цикла бодрствование-сон. Эволюционные аспекты*, Наука, Санкт-Петербург (1994).
3. О. С. Ксенжек, С. А. Петрова, *Электрохимические свойства обратимых биологических редокс-систем*, Наука, Москва (1986).
4. К. Ю. Саркисова, И. А. Коломейцева, *Журн. высш. нервн. деят.*, **40**(3), 524 – 534 (1990).
5. Т. Б. Шве́ц-Тэ́нэ́та-Гу́рий, *Биоэлектрохимическая активность головного мозга при обучении*, Наука, Москва, 1986.
6. Т. Б. Шве́ц-Тэ́нэ́та-Гу́рий, А. Г. Дубинин, Н. М. Хоничева и др., *Журн. высш. нервн. деят.*, **52**(5), 585 – 591 (2002).
7. Т. Б. Шве́ц-Тэ́нэ́та-Гу́рий, Г. И. Трошин, А. Г. Дубинин, *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*, **92**(10), 1161 – 1172 (2006).
8. Т. Б. Шве́ц-Тэ́нэ́та-Гу́рий, М. Н. Русалова, Г. И. Трошин, *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*, **96**(1), 13 – 25 (2010).
9. K. S. Barth, R. J. Malcolm, *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.*, **9**(1), 5 – 12 (2010).
10. J. C. Gillin, T. L. Smith, M. Irwin, et al., *Archives of General Psychiatry*, **51**(1), 189 – 197 (1994).
11. S. Gilman, K. M. Adams, D. Johnson-Greene, et al., *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **20**(8), 1456 – 1461 (1996).
12. S. Miyauchi, M. Misaki, *Exp. Brain Res.*, **192**(4) 657 – 67 (2009).
13. D. Nicholls and S. J. Ferguson (eds.), *Bioenergetics*, 3d ed., Aca. Press, London, 31 – 35 (2002).
14. D. Pal, B. N. Mallick, *Neuropharmacology*, **51**(1), 1 – 11] (2006).
15. B. K. Siesjo, *Brain energy metabolism. J. Willey and Sons*, Chichester, New York, Brisbabin, Toronto, (1978).

Поступила 09.12.10