

Агонист мускариновых холинорецепторов модулирует интенсивность процессов перекисного окисления липидов в структурах мозга крыс

Башкатова Валентина Германовна, доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник
ФБГНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина (Москва)

Аннотация. В работе изучено влияние ксаномелина, агониста мускариновых холинорецепторов первого и четвертого подтипов (M1/4) на интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в структурах мозга крыс. Интенсивность процессов ПОЛ определяли спектрофотометрическим методом. Обнаружено, что введение ксаномелина во всех изученных дозах приводило к увеличению содержания продуктов ПОЛ. Суммируя полученные нами результаты и данные литературы можно предположить, что процессы ПОЛ играют существенную роль в механизмах активации мускариновых холинорецепторов.

Ключевые слова: мускариновые холинорецепторы, агонист M 1/4 подтипа холинорецепторов, перекисное окисление липидов, стриатум, крысы

Холинергическая система мозга играет важную роль в формировании памяти, регуляции сложных двигательных реакций и в ряде других физиологических процессов организма [1]. Холинорецепторы нейронов мозга относятся преимущественно к мускариновому типу. Мускариновые холинорецепторы подразделяются на 5 подтипов (M1-M5) [2]. В работах ряда авторов показано, что M1-холинорецепторы вовлечены в такие процессы, как локомоторная активность, сон, терморегуляция, обучение и память [3, 4, 5]. В настоящее время установлено, что интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических мембранах влияет на функциональную активность клеток различных тканей, но, наиболее ярко это проявляется в случае нервной ткани [6, 7]. В наших предыдущих работах, была выявлена тесная взаимосвязь между интенсификацией свободнорадикальных процессов, и активацией рецепторов различных типов [8,9]. Вместе с тем, возможные механизмы взаимодействия процессов ПОЛ и холинергической нейротрансмиссии остаются во многом неизученными.

В связи с вышеизложенным, представлялось интересным изучить влияние различных доз ксаномелина, агониста M1/4 холинорецепторов на интенсивность процессов ПОЛ в коре и стриатуме мозга крыс линии Спрег-Доули.

Материал и методы

Эксперименты были проведены на крысах-самцах массой 180-220 г линии Спрег-Доули (Sprague-Dawley), которых содержали при постоянной температуре и влажности с 12-часовым световым циклом. Животным был обеспечен свободный доступ к стандартному комбинированному корму и воде, при температуре 21С. Эксперименты проводились в соответствии с требованиями приказа № 267 МЗ РФ (19.06.2003 г.), а также в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Учреждение Российской Академии медицинских наук НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, протокол №1 от 3.09.2005 г). В работе был использован селективный агонист M 1/4 холинорецепторов ксаномелин {3-гексокси-4- (1-метил-3,6-дигидро-2Н-пиридин-5-ил) -1,2,5-тиадиазол, 4}. Для проведения экспериментов крысы были разделены на 5 групп по 6-8 животных в каждой. Физиологический раствор

или ксаномелин в дозах 1.8, 3.2, 5.6 и 10.0 мг/кг крысам вводили подкожно. Доза агониста M 1/4 ксаномелина была выбрана, исходя из данных литературы [10].

С целью определения содержания продуктов ПОЛ через 30 минут после введения растворов животных декапитировали, мозг извлекали на лед и выделяли фронтальную кору и стриатум. Образцы ткани для последующих биохимических исследований хранили в жидком азоте. Интенсивность процессов ПОЛ определяли спектрофотометрическим методом по уровню вторичных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРП) [11]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием рангового теста Вилкоксона.

Результаты и обсуждение

В результате наших опытов установлено, что концентрация ТБКРП составляла 72 ± 9 нмоль/г в коре и 85 ± 7 нмоль/г в стриатуме мозга крыс контрольной группы (табл.). После введения M1/4 агониста холинорецепторов во всех изученных дозах отмечалось выраженное усиление интенсивности ПОЛ как в стриатуме, так и в коре мозга крыс. При этом, следует отметить, что введение ксаномелина в дозе 10.0 мг/кг вызывало почти трехкратное увеличение уровня ТБКРП в стриатуме.

При изучении влияния агониста M1/4 рецепторов на уровень ТБКРП во фронтальной коре обнаружено, что, введение ксаномелина во всех изученных дозах приводило к выраженному увеличению интенсивности ПОЛ, однако этот процесс был менее выражен, чем в стриатуме.

Таким образом, в нашей работе впервые показано усиление интенсивности процессов ПОЛ в стриатуме и фронтальной коре мозга крыс в ответ на введение агониста M1/4 холинорецепторов. Сходный характер изменений процессов ПОЛ в ответ на активацию M1/4 рецепторов в коре и стриатуме мозга крыс, по-видимому, можно объяснить тем, что в обеих изученных структурах мозга эти подтипы мускариновых холинорецепторов являются преобладающими. Известно, что M1-рецепторы являются преобладающими в коре и гиппокампе головного мозга [12] а вместе с подтипом M4 они рассматриваются как основные мускариновые холинорецепторы стриатума [13]. В литературе имеются отдельные работы, посвященные исследованию возможного взаимодей-

ствия процессов ПОЛ и функциональной активности М-холинорецепторов. Так, на культуре клеток нейронов фронтальной коры крыс было показано, что 4-гидроксинафтал, являющийся продуктом ПОЛ, в субтоксических концентрациях значительно ингибирует возросшую активность гуанизинтрифосфатазы и внутриклеточного Ca^{2+} , вызванные агонистом мускариновых рецепторов карбахолом [14]. В условиях *in vitro* было показано, что процессы ПОЛ

в клетках мозга крыс сопровождаются значительными изменениями микровязкости мембран и кинетических параметров связывания мускариновых рецепторов [15]. Результаты нашей работы совпадают с данными ранее выполненных нами экспериментов об увеличении уровня оксида азота в стриатуме мозга крыс в ответ на введение другого агониста М1 холинорецепторов McN-A-343 [16].

Таблица. Влияние ксаномелина агониста М1/4 ацетилхолиновых рецепторов на содержание продуктов ПОЛ в мозге крыс

Группы животных	Количество животных (n)	ТБКРП, нмоль/г	
		кора	стриатум
Контроль, 0,9% NaCl	6	72 ± 9	85 ± 7
Ксаномелин, 1.8 мг/кг	7	119±19*	144 ± 21*
Ксаномелин, 3.2 мг/кг	7	154 ± 27*	172 ± 19**
Ксаномелин, 5.6 мг/кг	8	157 ± 24**	189 ± 25**
Ксаномелин, 10.0 мг/кг	8	179 ± 23***	207 ± 29***

Примечание: отличие по сравнению с контрольной группой (* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$). отличие по сравнению с группой животных, получавших раствор ксаномелина в дозе 1.8 мг/кг (# - $p < 0,05$).

Таким образом, в нашей работе было показано, что введение селективного агониста М1/4-холинорецепторов ксаномелина сопровождается интенсификацией процессов ПОЛ в стриатуме и коре мозга крыс. При этом наиболее выраженный эффект наблюдался при введении высокой дозы (10

мг/кг) ксаномелина. Суммируя полученные нами результаты и данные литературы можно предположить, что процессы ПОЛ играют существенную роль в механизмах активации мускариновых холинорецепторов.

Литература:

1. Лобзин С.В. Соколова М.Г.Налькин С.А. Влияние дисфункции холинергической системы головного мозга на состояние когнитивных функций (обзор литературы). //Вестник Северо-Западного государственного мед. университета им. И.И. Мечникова – 2017. - Т. 9. - № 4. - С. 53-58.
- 2.Jakubik J., Michal P., Machovc E., Dolezal V. Importance and prospects for design of selective muscarinic agonists. //Physiol Res. – 2008. – Vol.57. - Suppl 3. –S. 39-47.
- 3.Mallick B.N., Joseph M.M. Role of cholinergic inputs to the medial preoptic area in regulation of sleep-wakefulness and body temperature in freely moving rats. //Brain Res. – 1997. – Vol.750. - № 1-2. P.311-307.
- 4.Romeo C., Raveendran A.T., Sobha N.M., Paulose C.S. Cholinergic receptor alterations in the brain stem of spinal cord injured rats. //Neurochem Res. – 2013. – Vol. 38- № 2. – P.389-397.
- 5.Prado V.F., Janickova H., Al-Onaizi M., Prado M.A. Cholinergic circuits in cognitive flexibility. //Neuroscience. – 2017. – Vol. 345. – P. 130-141.
- 6.Butterfield D.A., Howard B.J., LaFontaine M.A. Brain oxidative stress in animal models of accelerated aging and the age-related neurodegenerative disorders, Alzheimer's disease and Huntington's disease. //Curr Med Chem. – 2001 – Vol.8. - № 7. – P.815-828.
- 7.Раевский К.С., Башкатова В.Г. Окислительный стресс, апоптоз и повреждение мозга. //Нейрохимия. - 1996. - № 1. - С. 61-64.
- 8.Raevsky K.S., Bashkatova V.G., Vitskova G.Yu., Narkevich V.B., Mikoyan V.D., Vanin A.F. Convulsions induced by N-methyl-D,L-aspartate are attended with increase of nitrous oxide generation and lipid peroxidation in brain of rats. //Экспериментальная и клиническая фармакология. - 1998. - Т. 61. - № 1. - С. 13-16.
- 9.Башкатова В.Г., Хорник А., Праст Г. Позитивный модулятор АМРА-рецепторов IDRA-21 предупреждает повышение уровня продуктов перекисного окисления липидов в гиппокампе крыс, вызванное активацией мускариновых холинорецепторов. //Психофармакология и биологическая наркология. 2006. Т. 6. № 4. С. 1330-1334.
- 10.Thomsen M., Fulton B.S, Caine S.B. Acute and chronic effects of the M1/M4-preferring muscarinic agonist xanomeline on cocaine vs. food choice in rats. //Psychopharmacology (Berl). - 2014 – Vol. 231. № 3. – P.469-479.
- 11.Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. //Anal Biochem. - 1979. - Vol. 95. –P.351-358.
- 12.Levey A.I., Kitt C.A., Simonds W.F., Price D.L., Brann M.R. Identification and localization of muscarinic acetylcholine receptor proteins in brain with subtype-specific antibodies. //J Neurosci. -1991 –Vol. 11. - № 10. - P.3218-3226.
- 13.Bernard V., Normand E., Bloch B. Phenotypical characterization of the rat striatal neurons expressing muscarinic receptor genes. //J Neurosci. – 1992. – Vol. 12. - № 9. – P.3591-3600.

www.esa-conference.ru

14. Blanc E.M., Kelly J.F., Mark R.J., Waeg G., Mattson M.P. 4-Hydroxynonenal, an aldehydic product of lipid peroxidation, impairs signal transduction associated with muscarinic acetylcholine and metabotropic glutamate receptors: possible action on G alpha(q/11). //J Neurochem. - 1997 – Vol. 69. - № 2. - P.570-580.

15.Ghosh C., Dick R.M., Ali S.F. Iron/ascorbate-induced lipid peroxidation changes membrane fluidity and muscarinic cholinergic receptor binding in rat frontal cortex. //Neurochem Int. – 1993. – Vol.23 - № 5. –P.479-484.

16.Bashkatova, Hornick A, Vanin A, Prast H. Antagonist of M1 muscarinic acetylcholine receptor prevents neurotoxicity induced by amphetamine via nitric oxide pathway. //Ann N Y Acad Sci. - 2008 – Vol. 1139. – P.172-176.