

УДК 612.647; 612.179.2; 612.216

ИЗМЕНЕНИЯ СЕРДЕЧНОЙ, ДЫХАТЕЛЬНОЙ И МОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПЛОДОВ КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ ВВЕДЕНИЕМ ИНГИБИТОРА ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ЭЗЕРИНА

© 2019 г. Н. Д. Вдовиченко^{1,*}, О. П. Тимофеева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: vdona@mail.ru

Поступила в редакцию 19.11.2018 г.

После доработки 27.12.2018 г.

Принята к публикации 16.01.2019 г.

DOI: 10.1134/S0044452919040120

Проблема становления регулирующих систем в пренатальном онтогенезе является актуальной, однако до настоящего времени остается недостаточно изученной. Одной из основных систем, обеспечивающих нормальное развитие растущего организма, является холинергическая система, о чем свидетельствуют многочисленные работы о последствиях применения средств, активных в отношении данной системы у беременных [1–3]. В основном рассматриваются отдаленные последствия употребления холинотропных препаратов. Данные же о непосредственном влиянии подобных веществ на плод практически отсутствуют. Целью настоящей работы стало изучение изменений в деятельности основных систем организма плода при активации холинергической системы, вызванной применением ингибитора холинэстеразы эзерина.

Исследования проводили в острых опытах на крысах линии Вистар на 18–20-й день гестации (E18–20) в соответствии с положениями Российского национального комитета по биоэтике РАН. У самки, находящейся под слабым уретановым наркозом (ICN Biomedicals, Inc.) (1 г/кг) в сочетании с эпидуральной анестезией лидокаином (ОАО “Борисовский завод медицинских препаратов”) (10 мг/кг), через разрез в брюшной стенке извлекали матку и помещали ее в кювету с термостатированным ($37 \pm 0.2^\circ\text{C}$) физиологическим раствором. У двух плодов, извлеченных из матки с сохранением плацентарного кровообращения, одновременно осуществляли регистрацию электрокардиограммы (ЭКГ) и пьезограмму плодных движений. Во время исследования осуществляли видеозапись. Последующий визуальный анализ позволял выделить дыхательные движения из общей моторной активности плода. Параллельно проводили регистрацию ЭКГ и внешнего дыхания у самки для контроля ее функционального состояния. Все полученные сиг-

налы вводили в компьютер с использованием АЦП E14-440 (фирма “L-card”, Россия) и программы “PowerGraph”, период дискретизации составлял 0.5 мс. Активацию холинореактивных структур вызывали введением плодам ингибитора холинэстеразы эзерина (05211751 MP Biomedicals, США) в дозе 3 мг/кг внутривентриально, которая является летальной дозой для 100% новорожденных крысят (по данным, полученным в нашей лаборатории В.А. Сизоновым и Л.Е. Дмитриевой [4]) и является среднесмертельной дозой для взрослой крысы [5]. При выборе дозы исходили из соображения о необходимости наличия выраженной реакции сердечно-сосудистой системы плода на действие эзерина при минимальных изменениях состояния самки. Общее время наблюдения составляло 70–80 мин (30 мин – фоновая запись и 40–50 мин – после введения препарата). Цифровую обработку проводили в программах “Origin 8” и “PowerGraph 3.3.8”. Для статистической обработки использовали последовательные 10-минутные фрагменты записи до и после инъекции эзерина. Различия оценивали по *t*-критерию Стьюдента. Статистически обработанные данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка. Все изменения рассматривали по отношению к фоновым показателям до введения препарата.

Действие эзерина проявлялось в виде резкого моторного возбуждения, которое начиналось через 1.5–2 мин после введения препарата. Двигательная активность плодов, в фоне представленная преимущественно комплексами генерализованных движений, (состоящих из латеральных и дорзовентральных флексий туловища, сопровождающихся движениями передних конечностей) на E18 и джерками (одиночными короткими экстензорными вздрагиваниями всего тела) на E19–20 [6], вне зависимости от срока гестации становилась непре-

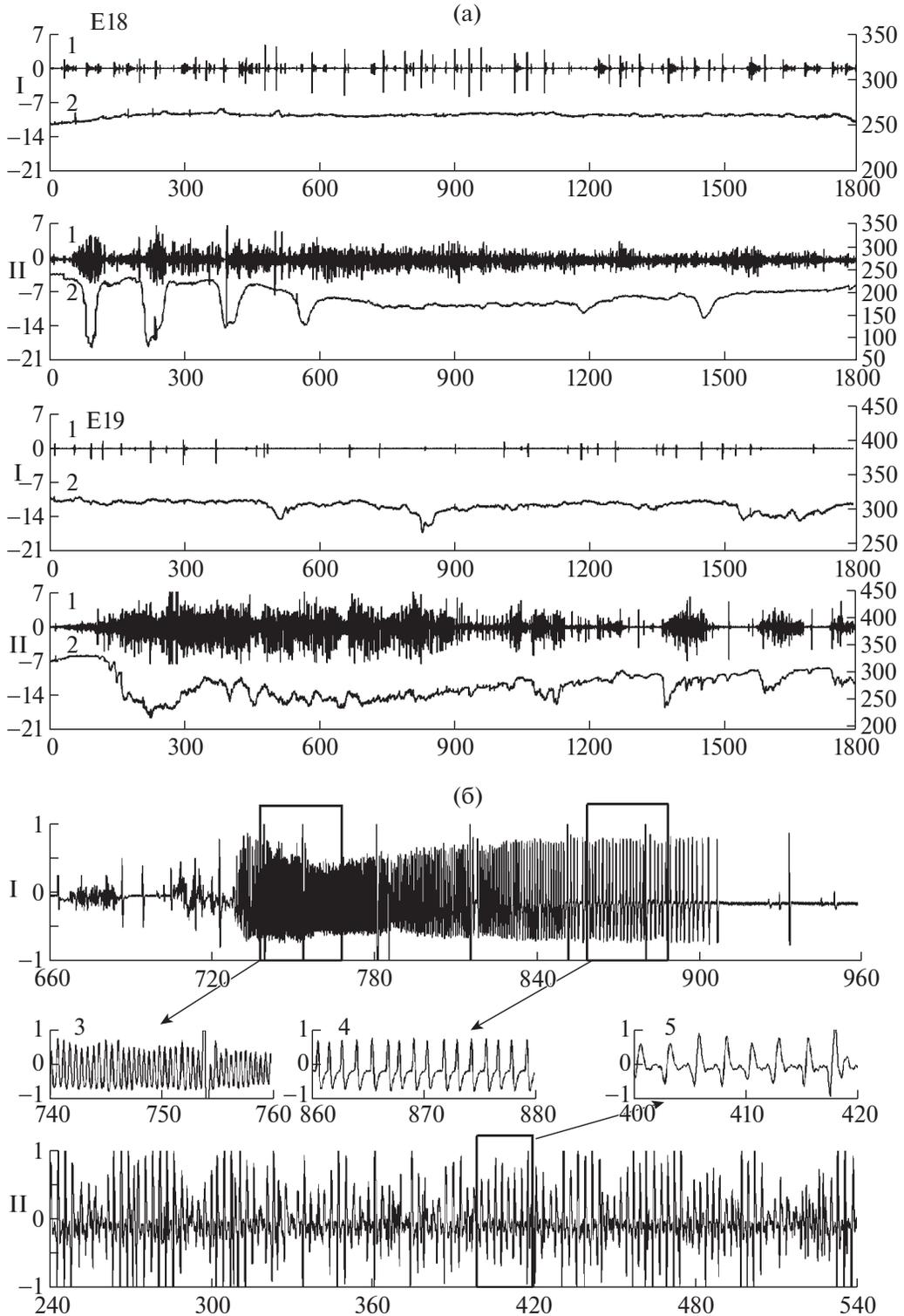


Рис. 1. Изменения активности сомато-висцеральных систем у плодов крыс, вызванные введением ингибитора холинэстеразы эзерина: а – запись моторной активности (1) и ЧСС (2) у плодов крыс на E18 и E19 в фоне и сразу после введения эзерина, б – запись пьезограммы дыхательных движений плода на E19 в фоне и через 4 мин после введения эзерина.

I – фон; II – после инъекции эзерина; 3, 4 – фрагменты записи дыхания интактного плода; 5 – фрагмент записи дыхания плода после инъекции эзерина.

По оси абсцисс – время наблюдения (с), по оси ординат: (а) – слева амплитуда пьезограммы моторной активности (у.е.), справа – ЧСС (уд. в мин.), (б) – амплитуда пьезограммы дыхательных движений (у.е.).

Таблица 1. Изменение ЧСС плодов разного срока гестации после введения эзерина (3 мг/кг)

Срок гестации	Кол-во	ЧСС, уд/мин (% к фону)					
		Фон	Эзерин, время после введения				
			0–10 мин	10–20 мин	20–30 мин	30–40 мин	40–50 мин
E18	15	223.4 ± 6.0	176.3 ± 9.3* (78.9)	156.9 ± 11.2* (70.2)	168.0 ± 10.8* (75.2)	194.0 ± 7.8* (86.8)	191.9 ± 14.5 (85.9)
E19	23	270.1 ± 12.2	213.2 ± 16.3* (78.9)	199.1 ± 16.4* (73.7)	221.4 ± 17.9* (82)	223.1 ± 21.5* (82.6)	230.7 ± 22.5 (85.4)
E20	19	299.1 ± 6.2	216.8 ± 5.8* (72.2)	191.5 ± 11.3* (63.9)	221.6 ± 11.9* (74.1)	261.1 ± 10.2 (87.6)	267.2 ± 12.8 (89.3)

Звездочками отмечена достоверность различий между фоном и препаратом: * – $p \leq 0.05$.

рывной (рис. 1). Активация начиналась с мощных латеральных флексий туловища, сопровождающихся гипертонусом экстензоров передних конечностей. Затем появлялись глотательные движения и альтернирующие движения передних конечностей, не характерные для интактных плодов, но наблюдаемые нами ранее после активации катехоламинергической системы введением прекурсора дофамина и норадреналина L-ДОФА [7]. С увеличением срока гестации длительность и выраженность моторного возбуждения снижались. На E18 двигательная активность оставалась непрерывной весь период наблюдения. У плодов на E19–20 через 15–30 мин непрерывная активность замещалась комплексами моторного возбуждения, оставаясь значительно выше, чем в фоне.

Возрастание моторной активности сопровождалось резким падением частоты сердечных сокращений (ЧСС) (табл. 1). Изменения начинались с мощной децелерации длительностью от 1 до 3 мин, во время которой ЧСС снижалась в 1.5–3 раза (рис. 1). Затем ЧСС несколько увеличивалась, но оставалась заметно ниже фоновых значений весь период наблюдения. Вне зависимости от срока гестации в дальнейшем на фоне сниженной ЧСС возникали периодические децелерации, сходные с брадикардическими комплексами, наблюдаемыми у крыс в постнатальном периоде после применения эзерина [4]. Децелерации часто были ассоциированы с боковыми флексиями и возникали с постепенно увеличивающимся периодом от 1 до 5 мин.

Особый интерес представляют данные о влиянии введения эзерина на плодное дыхание. Для интактных плодов характерны 2 типа дыхательных движений: одиночные глубокие вдохи – гаспинги и, начиная с E19, появляются редкие эпизоды ритмического регулярного дыхания длительностью от 3 до 8 мин [6]. В постнатальном периоде после применения препарата наблюдается торможение дыхания вплоть до полной остановки [4]. У плодов же препарат наоборот вызывает активацию обоих видов дыхания. На E18 происходит пятикратное, а на E19–20 трехкратное возрастание количества гаспингов. У старших плодов, помимо увеличения количества одиночных “вдохов”, начиная со 2–3-й минуты после введения

эзерина, всегда появляется регулярное ритмичное дыхание, продолжающееся до 20 минут. При этом частота дыхательных движений в 2–3 раза ниже, чем в эпизодах регулярного дыхания, наблюдаемых у интактных плодов (рис. 1).

Таким образом, нами получены данные, свидетельствующие о том, что уже в плодном периоде развития у крыс имеется высокая чувствительность сердечной, дыхательной и моторной систем к применению препаратов, активных в отношении холинергических структур. При этом стимуляция холинергических структур у плодов на E19–20 провоцирует возникновение более зрелых форм активности, таких как альтернирующие движения конечностей и длительные непрерывные эпизоды ритмического дыхания. Различия реакций дыхательной системы на эзерин между плодами и новорожденными могут быть связаны как с процессом созревания дыхательного центра и его регуляции, так и со спецификой плодного дыхания. Однако это требует дальнейших исследований.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (“Механизмы формирования физиологических функций в фило- и онтогенезе и влияние на них эндогенных и экзогенных факторов”, тема № АААА-А18-118012290373-7).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Настоящая статья не содержит результатов каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сташина Е.В., Гаврилов Н.А., Шабанов П.Д. Нейроповеденческие эффекты холинергических веществ в пренатальном периоде. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 15 (3): 5–21. 2017. [Stashina E.V., Gavrillov N.A., Shabanov P.D.

- Neurobehavioral effects of cholinergic drugs in prenatal period. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 15 (3): 5–21. 2017. doi: (in Russ)]. <https://doi.org/10.17816/RCF1535-21>
2. Dwyer J.B., McQuown S.C., Leslie F.M. The dynamic effects of nicotine on the developing brain. *Pharmacol Ther.* 122 (2): 125–139. 2009.
 3. Steingart R.A., Abu-Roumi M., Newman M.E., Silverman W.F., Slotkin T.A., Yanai J. Neurobehavioral damage to cholinergic systems caused by prenatal exposure to heroin or phenobarbital: cellular mechanisms and the reversal of deficits by neural grafts. *Brain Res Dev Brain Res.* 122 (2): 125–131. 2000.
 4. Сизонов В.А., Дмитриева Л.Е. Нарушения ритма сердца, вызванные инъекцией ингибитора холинэстеразы эзерина в раннем онтогенезе крыс. *Бюл. экпер. биол. и мед.* 165 (1): 52–56. 2018. [Sizonov V.A., Dmitrieva L.E. Heart Rhythm Disturbances Caused by Injection of Cholinesterase Inhibitor Physostigmine to Rats during the Early Ontogeny. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 165 (1): 52–56. 2018. (in Russ)].
 5. Летальные дозы высокотоксичных веществ. URL: <http://chemister.ru/Toxicology/l50.htm> [Letal'nye dozy vysokotoksichnyh veshchestv [Lethal doses of highly toxic substances] URL: <http://chemister.ru/Toxicology/l50.htm> (in Russ)].
 6. Тимофеева О.П., Вдовиченко Н.Д. Исследование сердечной, дыхательной и моторной деятельности у плодов крыс. *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 45 (6): 559–566. 2009. [Timofeeva O.P., Vdovichenko N.D. Study of cardiac, respiratory, and motor activities in rat fetuses. *Journ. Evol. Biochem. Physiol.* 45 (6): 559–566. 2009. (in Russ)].
 7. Тимофеева О.П., Вдовиченко Н.Д., Кузнецов С.В. Влияние изменения уровня активности катехоламинергических систем на дыхательную, двигательную и сердечную деятельность у плодов крыс. *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 48 (3): 264–273. 2012. [Timofeeva O.P., Vdovichenko N.D., Kuznetsov S.V. Effect of change in activity level of catecholaminergic systems on motor, respiratory, and cardiac activities in rat embryos. *Journ. Evol. Biochem. Physiol.* 48 (3): 264–273. 2012. (in Russ)].

Changes in Cardiac, Respiratory and Motor Activity of Rat Fetuses Evoked by Injections of a Cholinesterase Inhibitor Physostigmine

N. D. Vdovichenko^{a,#} and O. P. Timofeeva^a

^a *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

[#]*e-mail: vdona@mail.ru*