В.Г. Башкатова, Н.Г. Богданова, Е.В Алексеева, Г.А. Назарова, С.К. Судаков

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНГИБИТОРА NO-СИНТАЗЫ - НА ПОКАЗАТЕЛИ ТРЕВОЖНОСТИ И БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРЕНАТАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ КОФЕИНА

Лаборатория физиологии подкрепления,
ФБГНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва

Резюме. Проведено исследование влияния ингибитора синтазы оксида азота (NO) на показатели тревожности и болевой чувствительности крыс в возрасте 35-45 дней при длительном пренатальном введении кофеина. Установлено, что пренатальное введение кофеина уменьшало болевую чувствительность, но не оказывало влияния на уровень тревожности крыс. При предварительном введении ингибитора NO-синтазы наблюдался анальгетический и анксиолитический эффекты у крыс, получавших пренатально, как кофеин, так и воду.

Ключевые слова: оксид азота, тревожность, анальгетический эффект, пренатальное воздействие, крысы, кофеин,

Актуальность. В последние годы в молодежной среде многих стран мира, включая и Россию, все большее распространение получают так называемые энергетические напитки, в состав которых почти всегда входит кофеин [1, 2]. Несмотря на большое количество исследований, посвященных изучению различных сторон механизма действия веществ, обладающих психостимулирующим эффектом, многие звенья их физиологических и нейрохимических эффектов остаются во многом неясными. В ряде исследований последнего времени, в том числе выполненных и нами, обнаружено, что нейрональный мессенджер свободнорадикальной природы оксид азота (NO) играет важную роль в физиологических механизмах психомоторных стимуляторов [3, 4, 5]. В то же время следует отметить, что участие NO в механизме эффектов кофеина изучено еще недостаточно [6]. При этом имеющиеся данные в значительной степени противоречивы. Целью работы явилось исследование влияния ингибитора NO-синтазы на показатели тревожности и болевой чувствительности крыс при длительном пренатальном введении кофеина

Материал и методы исследования. Эксперименты были выполнены на крысах-самцах линии Вистар возраста 35-45 дней, весом 160-180 г. До дня родов беременные самки содержались в индивидуальных клетках при постоянной температуре и влажности с 12-часовым световым циклом. Им был обеспечен свободный доступ к стандартному комбинированному корму. 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 03.09.2005 г.).

Для проведения экспериментов крысы были разделены на 4 группы, по 8 животных в каждой группе. Контрольную группу составили крысы, полученные от самок, которые пили на протяжении всего срока беременности только стандартную

бутилированную питьевую воду. В 1-ю экспериментальную группу вошли крысы, рожденные от самок, получавших в течение всего срока беременности водный раствор кофеина (1 г /л) в качестве единственного источника жидкости. Во 2-ю экспериментальную группу вошли крысы, рожденные от самок, получавших в течение всего срока беременности только питьевую воду, которым вводили неселективный ингибитор NO-синтазы N-нитро-L- аргинина (L-NNA) в дозе 50 мг/кг за 30 мин до тестирования. В 3-ю экспериментальную группу вошли крысы, рожденные от самок, получавших в течение всего срока беременности только водный раствор кофеина (1 г /л), которым вводили L-NNA в дозе 50 мг/кг за 30 мин до тестирования. Доза ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргинин (Sigma) были выбраны исходя из результатов наших предыдущих исследований и данных других авторов [7, 8].

Уровень тревожности крыс оценивали по длительности их нахождения на открытых лучах приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) в течение 5 минут (9). ПКЛ использовали в базовой модификации (Columbus Instruments, США). Тест ПКЛ проводили на самцах всех исследуемых групп на 36-й постнатальный день.

Для определения болевой чувствительности крыс использовали аппарат «горячая пластина» (TSE, Германия). Крыс помещали на металлическую поверхность, разогретую до 56 градусов и регистрировали латентный период (ЛП) первого облизывания задней лапы (10). Исследование анальгетической активности у крыс проводили спустя 7 дней после тестирования их в ПКЛ (43-й постнатальный день).

Для статистической обработки результатов использовали непараметрический U критерий Манна – Уитни.

Полученные результаты и их обсуждение. При исследовании болевой чувствительности, которое проводили в тесте "горячая пластина", ЛП облизывания лап контрольных самцов крыс линии Вистар составлял в среднем 8,5± 2.3 сек. Данный показатель был достоверно увеличен у крыс, подвергнутых пренатальному воздействию кофеина. Обнаружено, что при введении ингибитора NO-синтазы L-NNA в дозе 50 мг/кг за 30 мин до тестирования отмечалось значительное удлинение ЛП облизывания лап у крыс, получавших пренатально, как кофеин, так и воду. Следует отметить, что в условиях введения ингибитора NO-синтазы наиболее выраженное увеличение ЛП наблюдалось в группе крыс, получавших пренатально кофеин (рис.1). Таким образом, блокада синтеза NO вызывала изменение болевой чувствительности у крыс в виде гипальгезии.

При исследовании уровня тревожности в тесте ПКЛ не отмечалось достоверных различий между группами крыс, которые пренатально получали воду или кофеин. Ингибитор NO-синтазы L-NNA (50 мг/кг, в/б), введенный за 30 мин до тестирования крыс в ПКЛ, вызывал достоверное увеличение время нахождения на открытых рукавах ПКЛ крыс, получавших пренатально воду. Подобные результаты были получены и при введении L-NNA в группе крыс, рожденных от матерей, получавших в пренатальный период кофеин (рис.2).

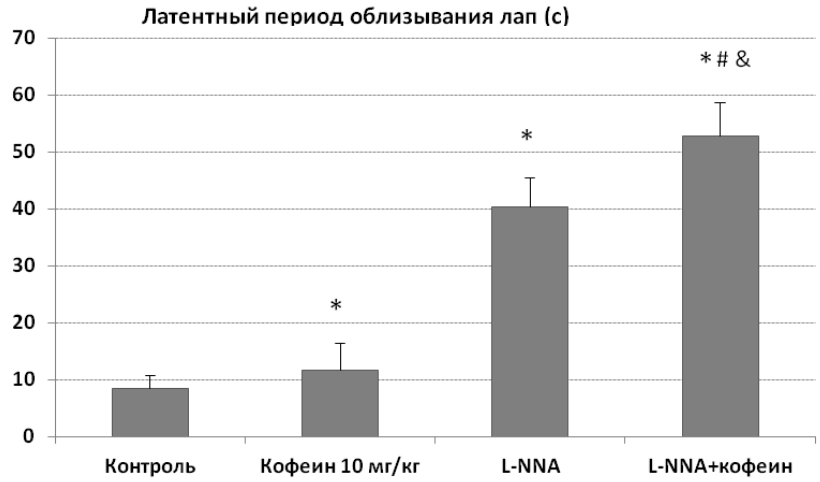


Рис.1 Влияние введения ингибитора NO-синтазы L-NNA на показатели болевой чувствительности крыс при длительном пренатальном введении кофеина.

*Примечание: * - отличие по сравнению с контрольной группой (* - p<0,05), # - отличие по сравнению с группой, получавшей пренатально кофеин. (# - p<0,05), & - - отличие по сравнению с группой, получавшей пренатально L-NNA (&- p<0,05)*

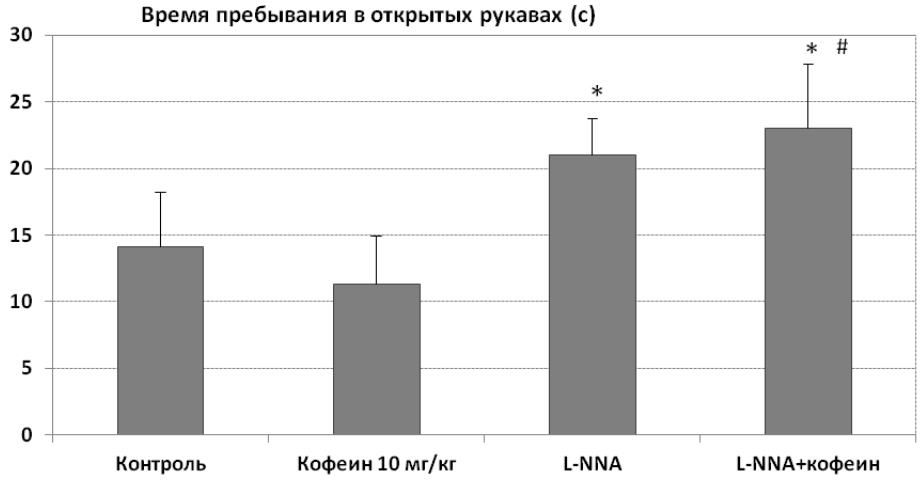


Рис.2 Влияние введения ингибитора NO-синтазы на показатели тревожности крыс при длительном пренатальном введении кофеина

*Примечание: * - отличие по сравнению с контрольной группой (* - p<0,05), # - отличие по сравнению с группой, получавшей пренатально кофеин. (# - p<0,05).*

Выводы. Таким образом, в результате проведенных экспериментов показано, что пренатальное введение кофеина вызывает анальгетический эффект, но не влияет на уровень тревожности крыс в возрасте 35-45 дней. Установлено, что предварительное введение ингибитора NO-синтазы L-NNA приводит к уменьшению болевой чувствительности и снижению уровня тревожности у крыс, получавших пренатально, как кофеин, так и воду. Полученные данные позволяют рассматривать нитроергическую систему мозга как важное звено в нейрохимических механизмах постнатального онтогенеза крыс в условиях длительного пренатального введения кофеина. Работа поддержана грантом РФФИ 16-04- 00722.

Литература.

1.Curran C.P., Marczinski C.A. Taurine, caffeine, and energy drinks: Reviewing the risks to the adolescent brain. Birth Defects Reserach. 2017; 109(20):1640-1648.

2.Судаков С.К., Башкатова В.Г. Некоторые аспекты нейрохимических эффектов кофеина. Наркология. 2015; 14(6):72-78.

3. Imam S.Z., Islam F., Itzhak Y., Slikker W. Jr., Ali S.F. Prevention of dopaminergic neurotoxicity by targeting nitric oxide and peroxynitrite: implications for the prevention of methamphetamine-induced neurotoxic damage. Annals of New York Academy of Sciences. 2000;914:157-71.

4. Bashkatova V., Mathieu-Kia A.-M., Durand C., Penit-Soria J. Neurochemical changes and neurotoxic effects of an acute treatment with sydnocarb, a novel psychostimulant comparison with d-amphetamine. Annals of New York Academy of Sciences. 2002; 965:180-192.

5.Downey L.A., Loftis J.M.. Altered energy production, lowered antioxidant potential, and inflammatory processes mediate CNS damage associated with abuse of the psychostimulants MDMA and methamphetamine. European Journal Pharmacology. 2014;727:125-129.

6. Ferré S., Orrú M., Guitart X. Paraxanthine: Connecting Caffeine to Nitric Oxide Neurotransmission. Journal of Caffeine Research. 2013;3(2):72-78

7. Abekawa T., Ohmori T., Honda M., Ito K. Koyama T. Effect of low doses of L-NAME on methamphetamine-induced dopaminergic depletion in the rat striatum. Journal of Neural Transmission (Vienna). 2001;108(11):1219-1230.

8. Bashkatova V., Rayevsky K., Kraus M., Prast H., Philippu A., Vanin A. Influence of NOS inhibitors on changes in Ach release and NO level in the brain elicited by amphetamine neurotoxicity. NeuroReport. 1999;10(15): 3155-3158.

9.Pellow S, Chopin P., File E., Briley M. J. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. Neuroscience Methods. 1985;14(3);149-167.

10. Бондаренко Д.А., Дьяченко И.А., Скобцов Д.И., Мурашев А.Н. In vivo модели для изучения анальгетической активности. Биомедицина. 2011;2:84-94.

Abstract.

Bashkatova V.G., Bogdanova N.G., Alexeeva E.V., Nazarova G.A., Sudakov S.K.

STUDY OF THE EFFECT OF NO-SYNTHASE INHIBITOR ON PARAMETERS OF ANXIETY AND PAIN SENSITIVITY UNDER LONG LASTING PRENATAL ADMINISTRATION OF CAFFEINE

P.K. Anokhin Research Institute of Normal Physiology, Moscow, Russia

The influence of inhibitor of nitric oxide synthase (NO) on anxiety and pain sensitivity of rats aged 35-45 days under long lasting prenatal administration of caffeine was studied. It was found that prenatal administration of caffeine reduced pain sensitivity, but did not influenced on level of anxiety in rats. Preliminary administration of NO synthase inhibitor induced analgesic and anxiolytic effects in rats treated prenatally, both caffeine and water.

Key words: nitric oxide, anxiety, analgesic effect, prenatal action, rats, caffeine,

Сведения об авторах: Башкатова Валентина Германовна – д.б.н., вед. научный сотрудник, ФБГНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва: v.bashkatova@nphys.ru; Богданова Наталья Григорьевна – к.б.н., ст. научный сотрудник, ФБГНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва; Алексеева Елена Валерьевна – мл. научный сотрудник, ФБГНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва; Назарова Галина Алексеевна – к.б.н., ст. научный сотрудник, ФБГНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва; Судаков Сергей Константинович - чл.- корр. РАН, д.м.н., проф., директор ФБГНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва.