

ИЗУЧЕНИЕ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ НЕЙРОПЕПТИДОВ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ЭТАНОЛОМ

Рейнюк В.Л., Ховпачев А.А., Мясников В.А., Колобов А.А.,
Халютин Д.А.

*Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение
высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия имени С.М.*

Кирова» Министерства обороны Российской Федерации,

194044, Санкт-Петербург, ул. Ак. Лебедева д.6

Тел. (812) 329-71-60, e-mail: vladton@mail.ru

Резюме: Представлена сравнительная оценка эффективности новых нейропептидных препаратов КК₁, DKP₉ и KRP_C в качестве средств терапии острых отравлений этанолом различной степени тяжести. На начальном этапе исследования этанол в виде 40% раствора вводили внутривенно в дозе 1,5 ЛД₅₀ (12 г/кг), далее при оценке индекса защиты и антидотной мощности нейропептида КК₁ использовали дозы 0,8 ЛД₅₀ (6 г/кг), 1 ЛД₅₀ (8 г/кг), 1,25 ЛД₅₀ (10 г/кг), 1,5 ЛД₅₀ (12 г/кг), 1,75 ЛД₅₀ (14 г/кг) и 2,0 ЛД₅₀ (16 г/кг). Пептиды КК₁, DKP₉ и KRP_C вводили интраназально в дозе 40 мкг/кг через 30 мин после начала интоксикации. Установлено, что острое отравление этанолом приводило крыс к гибели, вызывая у них дозозависимые нарушения функций центральной нервной системы, терморегуляции и дыхания. При интоксикации этанолом в дозе 1,5 ЛД₅₀ наибольшую эффективность показал пептидный препарат КК₁. Его введение предотвращало развитие комы, способствовало поддержанию нормальных значений температуры тела и частоты дыхательных движений, увеличивало выживаемость крыс до 83%. В тех же условиях пептиды DKP₉ и KRP_C были малоэффективны. Защитный эффект препарата по показателю индекса защиты составил $1,6 \pm 0,3$, а по показателю антидотной мощности – 0,84.

Ключевые слова: этанол; отравление; лечение; пептиды; выживаемость; индекс защиты; функции центральной нервной системы.

**STUDY OF THE PROTECTIVE EFFECT OF NEW SYNTHETIC
NEUROPEPTIDES AT ACUTE ETHANOL INTOXICATION**

Reynyuk V.L., Hovpachev A.A., Myasnikov V.A., Kolobov A.A.,
Halyutin D.A.

*Federal State Budgetary Military Educational Establishment of High Professional
Education «S.M. Kirov Military Medical Academy»
of the Ministry of Defense of the Russian Federation
194044, Saint Petersburg, 6 Ac. Lebedev st.
Phone: (812) 329-71-60, e-mail: vladton@mail.ru*

Abstract: It has been presented a comparative assessment of new neuropeptide drugs KK_1 , DKP_9 and KRP_C as the correction mean of acute poisoning with ethanol of varying severity. At the initial stage solution of the ethanol 40% has been entered intragastrically in dose $1.5 LD_{50}$ (12 g/kg), then when determined the evaluation index of protection and antidote-power neuropeptide KK_1 has been used ethanol in doses of $0,8 LD_{50}$ (6 g/kg), $1 LD_{50}$ (8 g/kg), $1,25 LD_{50}$ (10 g/kg), $1.5 LD_{50}$ (12 g/kg), $1,75 LD_{50}$ (14 g/kg) and $2.0 LD_{50}$ (16 g/kg). Peptides KK_1 , DKP_9 and KRP_C has been entered intranasally in the single doses of 40 mkg/kg later 30 min after introduction of ethanol. Acute ethanol intoxication has been leaded dose-dependent disorders of the Central nervous system, body temperature, respiration in rats and also leads to death of them. The survival has been greatest when the KK_1 was used poisoned rats were used in acute intoxication of alcohol in a dosage of $1,5 LD_{50}$. Therapeutic introduction of this drug has allowed to avoid emergence of the status classified as "coma", has helped to maintain body temperature and respiratory rate, the survival has increased to 83%. In the same conditions therapy has been ineffective when peptides DKP_9 and KRP_C were used. The usage of peptide KK_1 has a protective effect on the model of acute alcohol intoxication: the protection index has made 1.6 ± 0.3 and the antidote power – 0,84.

Key words: ethanol; poisoning; treatment; peptides; survival; index of protection; central nervous system function

Введение

Несмотря на значительное количество работ, посвященных вопросам коррекции острых отравлений этанолом, поиск новых препаратов, эффективных в терапии данных состояний, остается актуальным направлением современной токсикологии. Необходимость дальнейших исследований в этом направлении очевидна, поскольку около 60% всех смертельных исходов от экзотоксикозов в нашей стране обусловлено острыми алкогольными интоксикациями, причем свыше 90% летальных исходов наступают на догоспитальном этапе или до оказания медицинской помощи [1, 2]. Такая высокая смертность до поступления в стационар обусловлена тем, что лечение тяжелых отравлений этанолом помимо поддержания жизненно важных функций организма и терапии направленной на ускорение метаболизма этанола и его производных, в качестве основного компонента должно содержать в себе пособия, влияющие на нарушенные функции центральной нервной системы.

Научные достижения в области изучения молекулярных механизмов влияния целой молекулы этанола и его метаболитов позволяют лучше понять фундаментальные основы типовых патологических процессов, которые определяют диапазон направлений для эмпирического поиска средств эффективной терапии данной патологии. Так, получила дальнейшее развитие теория неэлектролитного действия этанола, когда главным образом поражаются мембранные структуры головного мозга, влекущие за собой изменение функций ионных каналов и медиаторные взаимодействия [3].

Одним из перспективных пособий в оказании помощи при острых алкогольных интоксикациях являются пептидные препараты [4, 5]. Однако, не смотря на их активное внедрение в лечебную практику в качестве средств коррекции состояний, ассоциированных с поражениями центральной нервной системы, вопрос их использования в условиях различных интоксикаций, в частности при острых тяжелых отравлениях этанолом, остается исследованным в недостаточной степени [6].

Цель исследования: экспериментальная оценка эффективности пептидных препаратов KK_1 , DKP_9 и KRP_C в терапии острых тяжелых отравлений этанолом.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование выполнено на 96 белых беспородных крысах самцах массой 180–220 г питомника лабораторных животных «Рапполово» (пос. Рапполово Ленинградской обл.).

При проведении исследования выполнялись рекомендации по экспериментальному

изучению новых фармакологических средств и требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним [7].

Моделирование острой алкогольной интоксикации проводили с использованием этанола (этиловый спирт, C_2H_5OH), который в различных дозах в виде 40% водного раствора вводили внутривентрикулярно при помощи зонда. В связи с тем, что объем введения этилового спирта превышал максимально допустимый для крыс [7], его делили поровну и вводили с интервалом 15 мин.

В исследовании были использованы пептидные препараты KK_1 , DKP_9 и $KRPC$. Субстанции KK_1 , DKP_9 и $KRPC$. (ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, г. Санкт-Петербург) представляют собой порошкообразные лиофилизаты белого цвета. Субстанция KK_1 относится к классу пептидов, гомологичных по первичной последовательности участку 15–18 адренкортикотропного гормона: Acetyl-(D-Arg)-(L-Arg)-(L-Lys)-(L-Lys)-amide, $KRPC$ – аналог эндогенного пептида неокиоторфина, DKP_9 – препарат пептидной природы, идентичный эндогенному соединению общей формулой $cyclo(Pro-Ala)$. Лиофильно высушенные препараты KK_1 , DKP_9 и $KRPC$ разводили в дистиллированной воде из расчета 0,2 мг/мл (0,02%) и вводили интраназально в дозе 40 мкг/кг через 30 мин после начала интоксикации. Выбор доз и схемы введения был осуществлен на основании данных литературы, инструкций и рекомендаций по применению [8, 9, 10]. Крысам контрольной группы в тот же временной промежуток в аналогичных объемах интраназально вводили физиологический раствор.

На начальном этапе исследования изучали защитную эффективность новых синтетических нейропептидов при остром отравлении этанолом в дозе 1,5 ЛД₅₀. По результатам исследования был выявлен препарат (KK_1), лечебное действие которого было лучшим по изучаемым показателям. В дальнейшем была проведена оценка защитной эффективности пептидного препарата KK_1 при лечебном применении на фоне острого отравления этанолом в дозах 6,0 г/кг, 8,0 г/кг, 10,0 г/кг, 12,0 г/кг, 14,0 г/кг и 16,0 г/кг

Оценку эффективности изучаемых препаратов проводили путем анализа показателей выживаемости, неврологического статуса, частоты дыхательных движений и температуры тела. Выживаемость оценивали при 3-х суточном наблюдении и выражали ее в процентах (%) по отношению к общему числу животных в группе. При оценке

функции ЦНС по критериям методики определения неврологических нарушений [11] помимо физиологической нормы у животных выделяли следующие состояния: 1) оглушение, 2) сопор, 3) кома поверхностная, 4) кома глубокая, 5) кома терминальная. Частоту дыхательных движений оценивали визуально путем подсчета количества дыханий за 1 мин. Для определения ректальной температуры тела использовали электронный медицинский термометр Microlife MT 3001.

Полученные в ходе экспериментальных исследований данные подвергали стандартной статистической обработке на персональном компьютере с использованием программы «Statistica+ 2005» версии 3.5.0.5 для операционной среды «Windows». Среднюю ошибку альтернативных показателей определяли по таблицам Генеса. Данные в таблицах представлены в виде $M \pm m_x$. Достоверность различий средних значений показателей выживаемости и состояния функции ЦНС животных оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента для относительных величин. Для оценки достоверности различий данных, характеризующих витальные функции животных, применяли *U*-критерий Манна–Уитни. Для уточнения индекса защиты использовали метод пробит-анализа по Финни. Вероятность $p \leq 0,05$ считали достаточной для вывода о статистической значимости различий полученных данных [12, 13].

Результаты исследования

На начальном этапе в качестве токсикометрического параметра этанола при оценке наличия защитного действия у пептидных препаратов была выбрана доза этанола 1,5 ЛД₅₀ (12 г/кг), поскольку она представляет собой наиболее точную количественную характеристику токсичности вещества по параметрам скорости развития клинической картины при внутрижелудочном введении и несомненным оцениваемым эффектом (гибель животного). Введение этанола в дозе 1,5 ЛД₅₀ вызывало у животных значительные нарушения функций центральной нервной системы, которые проявлялись постепенным снижением двигательной активности и защитного поведения, угнетением рефлексов переворачивания, сгибания конечностей, роговичного, корнеального и глоточного рефлексов, нарушением показателей витальных функций. Среднее время возникновения состояния комы после введения этанола составляло 25 ± 5 мин. Выживаемость в контрольной группе составила 33%.

В ходе проведенного исследования установлено, что на момент введения пептидных препаратов состояние всех крыс можно было оценивать как «сопор» или

«поверхностная кома». Лечебное применение пептида КК₁ позволяло снизить степень угнетения функций центральной нервной системы. Так, количество животных, находившихся в «глубокой» и «терминальной коме» снижалось при введении препарата и составило 17±17 %, по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы – 83±17%. Введение субстанций DKP₉ и KRPC₉ значимо не влияло на неврологический статус и выживаемость крыс (табл. 1).

Таблица 1

Влияние пептидных препаратов на течение острой интоксикации этанолом в дозе 1,5 ЛД₅₀ у крыс

Группа (n=6)	Неврологический статус после введения этанола, %					Выживаемость, %
	оглушение	сопор	поверхностная кома	комаглубокая	терминальная кома	
Контроль	100–17	50±22	100–17	83±17	83±17	33±21
Этанол+КК ₁	100–17	83±17	67±21	17±17*	17±17*	83±17
Этанол+DKP ₉	100–17	50±22	100–17	100–17	83±17	50±22
Этанол+KRPC ₉	100–17	33±21	100–17	100–17	100–17	33±21

Примечание: – * – различие с контрольной группой по t–критерию Стьюдента значимо, p ≤ 0,05.

Показано, что введение КК₁ способствовало нормализации и поддержанию изученных витальных функций на протяжении 3 ч после начала интоксикации по сравнению с контрольной группой. Терапия изучаемыми препаратами DKP₉ и KRPC₉ не

оказывала существенного влияния на температуру тела крыс, подвергнутых острой крайне тяжелой интоксикации этанолом (табл. 2).

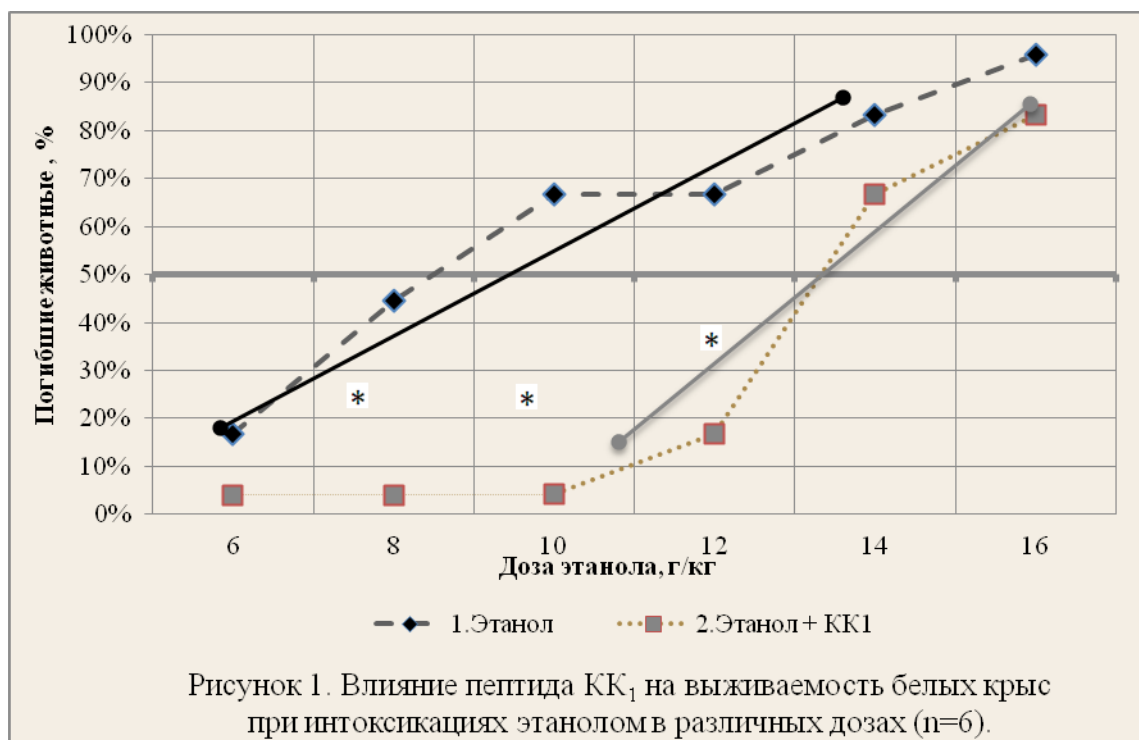
Таблица 2

Влияние пептидных препаратов на витальные функции крыс через 1, 2, 3 ч после начала интоксикации этанолом в дозе 1,5 ЛД₅₀

Группа (n=6)	Температура тела, °С			Количество дыхательных движений за 1 мин		
	Сроки наблюдения, ч					
	1	2	3	1	2	3
Контроль	36,2±0,2	34,9±0,3	34,3±0,3	95±3	71±5	62±5
Этанол+КК ₁	36,8±0,3*	36,4±0,2*	35,8±0,3*	101±4	102±4*	93±6*
Этанол+DKP ₉	36,1±0,3	35,1±0,2	34,5±0,2	89±2	69±5	67±3
Этанол+KRРс	36,4±0,2	34,7±0,2	34,2±0,1	86±2*	76±5	71±4

Примечание: – * – различие с контрольной группой по U–критерию Манна–Уитни значимо, $p \leq 0,05$;

Следовательно, по изученным показателям выживаемости, неврологического статуса и некоторых витальных функций животных, введение КК₁ было более эффективно, чем использование пептидов DKP₉ и KRРс. В дальнейшем была изучена эффективность пептида КК₁ при лечебном применении на фоне введения этанола в различных дозах. Показано, что по критерию выживаемости лечебное введение пептида КК₁ оказывало защитный эффект при отравлении этанолом в дозах меньших, чем 1,5 ЛД₅₀. Введение пептида КК₁ до наступления поверхностной комы на фоне введения спирта в дозах 0,8 ЛД₅₀ и 1 ЛД₅₀ полностью предупреждало дальнейшее угнетение функций центральной нервной системы. Несмотря на тот факт, что интоксикация в дозах 1,75 ЛД₅₀ и 2 ЛД₅₀ полностью нивелировала терапевтический эффект препарата КК₁, при отравлении этанолом в дозе 1,75 ЛД₅₀ наблюдалась некоторая тенденция к облегчению состояния животных (рис. 1).



Эффективность пептидного препарата КК₁ при острых алкогольных интоксикациях так же оценивали по показателям ЛД₅₀, ИЗ и АМ. Установлено, что значение ЛД₅₀ увеличилось с 8,3 г/кг в контрольной группе до 13,5 г/кг в опытной, индекс защиты составил $1,6 \pm 0,3$, а антидотная мощность – 0,84.

Обсуждение

В соответствии с классификацией токсикантов по «избирательной токсичности», представленной в Национальном руководстве «Медицинская токсикология», этанол относится психотропным веществам, обладающим нейротоксическим действием [14]. В основе специфического действия этилового спирта на нервную систему лежит прямое и опосредованное повреждение им и его метаболитами плазматических и внутриклеточных мембран [1, 3]. Такие нарушения мембранных структур сопровождаются возникновением липид-липидных и липид-белковых сшивок, изменением ориентации жирнокислотных остатков фосфолипидов, что приводит к изменению текучести биомембран, повышению их ионной проницаемости и нарушению функций рецепторных аппаратов нейронов [15]. Предполагается, что эти изменения и являются основой седативного и депримирующего действия этанола [3, 16]. Указанные механизмы действия этанола послужили критериями эмпирического поиска пептидов, имеющих функционально антагонистичные эффекты. Таким образом, в качестве изучаемых веществ для исследования были выбраны препараты

с предполагаемой нейропротекторной и нейротрофической активностью – КК₁, DKP₉ и KRPc.

Не смотря на сходную фармакодинамику, исследуемые нейропептиды влияли на течение острой алкогольной интоксикации по-разному. На начальном этапе исследования лечебное применение КК₁ положительно влияло на выживаемость и витальные функции, а так же предотвращало дальнейшее нарушение неврологического статуса отравленных животных. В то же время терапия пептидными препаратами DKP₉ и KRPc была малоэффективна.

В результате оценки индекса защиты и антидотной мощности КК₁ при интоксикации этанолом в различных дозах, было выявлено, что индекс защиты составил $1,6 \pm 0,3$; а показатель антидотной мощности – 0,82. Полученные данные показывают, что КК₁ оказывает выраженный терапевтический эффект при острой алкогольной интоксикации. Таким образом, индекс защиты и антидотная мощность препарата КК₁ при интоксикациях вызванных этанолом приближаются к таким показателям для лекарственных средств, которые уже применяются в клинике в качестве средств этиотропной терапии при различных отравлениях. Так, например, индекс защиты и антидотная мощность табельных лечебных антидотов для белых крыс составляют: для атропина сульфата (10 мг/кг подкожно, токсикант – зарин) – ИЗ=1,36, АМ = 0,85; для пентифина (10 мг/кг подкожно, токсикант – зарин) – ИЗ=1,7, АМ=1,08; для натрия тиосульфата (1000 мг/кг внутривенно, токсикант – цианид натрия) – ИЗ=1,56, АМ=1,0; для ацизола (30 мг/кг, внутривенно, токсикант – монооксид углерода) – ИЗ=1,7, АМ=1,1 [17]. Так же необходимо отметить, что профилактическое применение антидотных препаратов, как правило, в большей степени защищает от интоксикаций чем лечебное, и в рамках подобного применения от пептида КК₁ следует ожидать ещё большей эффективности.

Точный спектр механизмов действия пептидов, с общей формулой Acetyl-Lys-Lys-Arg-Arg-amide, в настоящее время полностью не изучен, однако известно, что эффекты КК₁ на организм, подвергшийся интоксикации этанолом, могут быть связаны с его влиянием на текучесть синаптических мембран, модуляцию рецепторных функций, процессы фосфорилирования белков, торможением активации микроглии и избыточного синтеза нейротоксичных цитокинов, влиянием как аналога участка адренкортикотропного гормона на симпатoadреналовую систему. Так же ранее было

доказано, что пептиды линии КК оказывали стимулирующее влияние на холинергические процессы в головном мозге на примере скополаминовой модели амнезии [8, 9].

Холинергические нейромедиаторные системы головного мозга вовлечены в регуляцию различных функций центральной нервной системы. По мнению ряда авторов, механизмы угнетения сознания этанолом помимо нарушения нормального функционирования ГАМК-, глутаматергических комплексов непосредственно опираются и на холинергические рецепторные системы мозга [1, 18].

С такой гипотезой хорошо согласуются данные о наличии пробуждающих свойств у обратимых ингибиторов ацетилхолинэстеразы (физостигмин) и у агентов, усиливающих холинергическую нейротрансмиссию в центральной нервной системе (ареколин). Однако активность данных препаратов заметно снижается при использовании на фоне сформировавшейся алкогольной комы [19]. Также у чистых холиномиметиков, имеющих центральное влияние, отсутствует мембраностабилизирующая компонента механизма действия.

В настоящем эксперименте было показано, что пептидный препарат КК₁, который возможно сочетает оба механизма действия, при однократном введении через 30 минут после интоксикации этанолом в различных дозах обладает защитными свойствами, в ряде случаев предотвращает дальнейшее нарушение неврологического статуса, а так же поддерживает температуру тела и дыхание у отравленных этанолом животных.

Выводы.

1. При интоксикации этанолом в дозе 1,5 ЛД₅₀ наибольшей эффективностью обладал пептидный препарат КК₁. Введение этого препарата предотвращало развитие комы, способствовало поддержанию температуры тела и частоты дыхательных движений.

2. Лечебное применение пептидного препарата КК₁ значительно увеличивало выживаемость крыс при остром отравлении этанолом в дозах 1 ЛД₅₀, 1,25 ЛД₅₀, 1,5 ЛД₅₀. Индекс защиты составил $1,6 \pm 0,3$, а антидотная мощность 0,84.

Литература

1. Головкин, А.И. Отрезвляющие средства, изменяющие токсидинамику этанола / А.И. Головкин // Биомедицинская химия. – 2013. – Том 59, вып.6. – С. 604-621.
2. Краева, Ю.В. Разработка научно-организационных подходов к оптимизации лечения больных с острыми отравлениями на догоспитальном этапе: дис. к-та мед. наук / Ю.В. Краева – г. Екатеринбург: УГМУ, – 2013. – 140 с.
3. Головкин, А.И. Механизмы фармакологической активности антидепримирующих средств, действующих на системы ГАМК и глутаминовой кислоты / А.И. Головкин, В.А. Баринов В.А. Башарин [и др.] // Биомедицинский журнал Medline.ru [Электронный ресурс] URL: http://www.medline.ru/public/pdf/13_014.pdf/ (дата обращения: 20.01.2015).
4. Гребенюк, А.Н. Сравнительная оценка эффективности пептидных препаратов при острых тяжелых отравлениях этанолом / А.Н Гребенюк, Д.А. Халютин, В.Л. Рейнюк [и др.] // Токсикологический вестник. – 2014. – №6. – С. 15-21.
5. Гребенюк, А.Н. Оценка эффективности пептидных препаратов в качестве средств коррекции нарушений функций центральной нервной системы, вызванных высокими дозами этанола / А.Н.Гребенюк, В.Л. Рейнюк, Д.А. Халютин [и др.] // Вестник Российской Военно–медицинской академии. – 2014. – №3 (47). – С. 145-149.
6. Sewald, N. Peptides: chemistry and biology / N. Sewald, H. Jakubke. // Willey–VCH Verlag GmbH. & Co., 2002. – 543 p.
7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд., перераб. и доп. / Под ред. Р.У. Хабриева – М.: Медицина – 2005. – 832 с.
8. Дейко, Р.Д. Тетрапептид и средство, обладающее церебропротекторной и антиамнестической активностями / Р.Д. Дейко, Е.А. Кампе-Немм, А.А. Колобов [и др.] // Заявка на патент РФ №2013119051/04(028190) от 25.04.2013 г.
9. Ковалицкая, Ю.А. Стресс – протекторная активность синтетического пептида СН₃СО–Lys–Lys–Arg–Arg–NH₂(протектина) / Ю.А. Ковалицкая, В.Б. Садовников, Ю.А. Золотарев, Е.В. Наволоцкая // Биоорганическая химия. – 2009. – № 35 (4). – С. 493-500.
10. Колобов, А.А. Средство обладающее ноотропным воздействием на организм средств / А.А. Колобов, А.Н. Прусаков, Г.В. Никифорович, В.М. Шпень // Патент РФ №2517209 от 06.07.2012 г.

11. Бонитенко, Е.Ю. Моделирование токсических ком, вызванных веществами депримирующего действия / Е.Ю. Бонитенко, А.Н. Петров, В.А. Башарин [и др.] // Труды института токсикологии, посвященные 75-летию со дня основания / Под. ред. С.П. Нечипоренко. – СПб, 2010. – С. 16-30.
12. Генес, В.С. Некоторые простые методы кибернетической обработки данных диагностических и физиологических исследований / В.С. Генес. – М.: Наука, 1967. – 150 с.
13. Платонов, А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы / А.Е. Платонов – М.: Изд-во РАМН, 2000. – 52 с.
14. Лужников, Е.А. Медицинская токсикология: национальное руководство // Под ред. Е.А. Лужникова. – М.: ГЭОТАР-Медиа – 2012. – 928 с.
15. Маркизова, Н.Ф. Молекулярный кислород и его активные формы в процессах токсикокинетики и токсикодинамики / Н.Ф. Маркизова, А.В. Епифанцев, В.А. Башарин // СПб: ВМедА, – 2004. – 45 с.
16. Rico, E.P. Ethanol and acetaldehyde alter NTPDase and 5'-nucleotidase from zebrafish brain membranes / E.P. Rico, D.B. Rosemberg, M.R. Senger [et al.] // Neurochem. Int. – 2008. – №52 (1–2). – С. 290-296.
17. Нечипоренко, С.П. Антисоды в лечении острых отравлений / С.П. Нечипоренко, В.А. Баринов // Труды института токсикологии, посвященные 75-летию со дня основания: Сб. ст. под ред. проф. С.П. Нечипоренко. – СПб: ЭЛБИ-СПб, 2010. – С. 233-258.
18. [Taslim, N. Role of mouse cerebellar nicotinic acetylcholine receptor \(nAChR\) \$\alpha\(4\)\beta\(2\)\$ - and \$\alpha\(7\)\$ subtypes in the behavioral cross - tolerance between nicotine and ethanol - induced ataxia / N. Taslim, K. Soderstrom, M.S. Dar // Behav. Brain. Res. – 2011. – Vol. 217. – P. 282-292.](#)
19. Sun, Y.-P. Systemic administration of arecoline reduces ethanol – induced sleeping through activation of central muscarinic receptor in mice / Y.-P. Sun, Q. Liu, J. Luo [et al.] // Alcoholism: Clin. and Exp. Res. – 2010. – №1. – P. 150-157.