

## НЕВРОПАТОЛОГІЯ

УДК 616.831-003.96-021.5-008.6

**О. З. Мельнікова, В. П. Ляшенко, С. М. Лукашов**

### **ЗМІНИ ПОТУЖНОСТЕЙ ФОНОВОЇ ЕЛЕКТРИЧНОЇ АКТИВНОСТІ СТРУКТУР ЛІМБІКО-НЕОКОРТИКАЛЬНОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ АМІНАЗИНУ**

Відомо, що центральною ланкою стрес-системи організму служить гіпоталамус, який здійснює запуск і регуляцію стрес-відповіді в тісній взаємодії з іншими структурами лімбічної системи, зокрема гіпокампом та неокортексом. Вважають, що одним з механізмів, що забезпечують підвищену функціональну активність указаних нервових структур у стресогенних умовах, служать адаптаційно-компенсаторні зміни синаптичної передачі [1, с. 1]. Однак на теперішній час відомості щодо їхньої динаміки в умовах хронічного стресу стосуються окремих нейротрансмітерних систем, що, враховуючи тісну взаємодію між ними в забезпеченні життєдіяльності головного мозку, зумовлює необхідність дослідження механізмів модуляції в різні фази стресу центральної нейротрансмісії в цілому.

Указане дослідження може бути здійснене шляхом аналізу характеристик фонові електричної активності (ФЕА) нервових структур: основною теорією її генези служить синаптична теорія, яка враховує властивість нейронів інтегрувати впливи різних нейротрансмітерних систем [2, с. 4, 5]. Показано, що у ФЕА центральних структур відображається результат взаємодії активності специфічних нейротрансмітерних систем і її альтернативної регуляції амінокислотними медіаторами – глутаматом і ГАМК [3, с. 64]. Останні широко розповсюджені у різних ділянках головного мозку, служать його основними збуджувальним і гальмівним медіаторами відповідно й здатні вивільнятися з нейрогліальних клітин залежно від ступеня збудливості того чи іншого нервового шляху [4, с. 227 – 229].

Дослідження адаптаційно-компенсаторних змін центральної нейротрансмісії шляхом аналізу характеристик ФЕА центральних структур є непростим завданням у зв'язку зі складністю її походження. Тому було запропоновано вивчати вказані зміни, коли людина або тварини знаходяться в ареактавному стані, що виключає вплив поточної діяльності нервових структур на характеристики їх ФЕА [5, с. 49]. Ми у своїй роботі вивчали характеристики ФЕА структур лімбіко-

неокортикальної системи щурів періоду ранньої постнаркозної депресії, коли у зв'язку з особливостями дії застосованих для наркозу речовин створювалися умови дослідження стану специфічних нейротрансмітерних систем. Серед них норадренергічній системі головного мозку належить роль пускового механізму всіх адаптаційно-компенсаторних змін в організмі [6, с. 27], оскільки норадреналін, як відомо, служить гормоном і нейромедіатором першої фази стресу.

Метою представленої роботи було з'ясувати характер і механізми адаптаційно-компенсаторних змін центральної синаптичної передачі в перебігу хронічного стресу шляхом аналізу динаміки характеристик ФЕА гіпоталамуса, гіпокампа і неокортексу, відведеної в періоді ранньої постнаркозної депресії в щурів, які зазнавали ізольованого стресового впливу і яким на тлі стресу вводили аміназин, що блокував центральні адрено- і дофамінові (катехоламінові) рецептори.

Експерименти здійснювали на нелінійних білих щурах-самцях відповідно до існуючих міжнародних вимог і норм гуманного ставлення до тварин. На початку дослідження щури мали вагу 125 – 140 г. Їм забезпечували загальноприйнятні санітарно-гігієнічні умови, раціон харчування і режим пиття. Перша група тварин була контрольною. Щурам другої групи протягом дослідження створювали стресогенні умови шляхом обмеження життєвого простору до 80 – 100 см<sup>2</sup> на одну особину [7, с. 481]. Як критерій різних стадій хронічного стресу використовували величини концентрації кортикостерону в сироватці крові, які визначали методом твердофазового імуноферментного аналізу за допомогою стандартного набору реактивів EIAgen Corticosterone Test (Глобал Біомаркетинг Груп, м. Київ). Щурам третьої групи на тлі стресу вводили нейролептик аміназин у добовій дозі 10 мг/кг [8].

Відведення ФЕА нервових структур проводили в підгрупах тварин, відібраних із трьох вищевказаних експериментальних груп через кожні три тижні впродовж усього періоду дослідження. Хірургічна підготовка до відведення ФЕА виконувалася після внутрішньо-очеревинного введення 20 мг/кг кетаміну та 50 мг/кг тіопенталу натрію. Після фіксації тварини в стереотаксичному приладі та проведення трепанації черепа в структури лімбіко-неокортикальної системи тварин, а саме в задню й передню зони гіпоталамуса, гіпокамп і неокортекс вводили уніполярний електрод (ніхром, діаметр 100 мкм) згідно з координатами атласу головного мозку щурів [9]. Референтний електрод закріплювали на вушній раковині тварини. Верифікацію локалізації кінчиків електродів проводили на фронтальних зрізах мозку.

ФЕА нервових структур реєстрували за допомогою поліграфа П6Ч-01 (Україна), з'єднаного через АЦП з комп'ютером, у якому записи

запам'ятовували в цифровому вигляді. Подальшу їхню обробку здійснювали за допомогою пакета прикладних програм у складі «MathCAD 2000». Підраховували абсолютні потужності ( $\text{мкВ}^2$ ) хвиль ФЕА гіпоталамуса, гіпокампа і неокортексу в межах загальноприйнятих частотних діапазонів [2, с. 5]. Аналізували відношення потужностей хвиль ФЕА структур лімбіко-неокортикальної системи тварин різних експериментальних груп. Кожні три тижні визначали середні значення вказаних відношень і похибки середніх. Достовірність відмінностей між показниками щурів різних експериментальних груп оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна – Уїтні для  $p < 0,05$ .

Результати нашого дослідження показали, що в умовах хронічного стресу відбувалася фаза модуляція характеристик ФЕА структур лімбіко-неокортикальної системи щурів (рис. 1). На початку дослідження зростала абсолютна потужність хвиль ФЕА задньої зони гіпоталамуса. Через 6 тижнів стресового впливу величина вказаного показника в частотному діапазоні домінуючої дельта-подібної активності складала  $198,6 \pm 6,1\%$  контрольного значення. Характеристики ФЕА передньої зони гіпоталамуса, гіпокампа і неокортексу через 3 – 6 тижнів експерименту залишались досить стабільними.

Через 9 тижнів стресового впливу, коли за даними вмісту кортикостерону в сироватці крові піддослідних тварин спостерігалася друга фаза стресу, відбувалося зменшення потужностей хвиль ФЕА обох зон гіпоталамуса, яке досягало максимального прояву через 12 тижнів експерименту. Абсолютні потужності домінуючих дельта-подібних хвиль у задній і передній зонах гіпоталамуса понижувалася відповідно до  $35,4 \pm 11,8$  і  $34,6 \pm 14,9\%$  контролю, і тільки через 15 тижнів експерименту вони відновлювалися в межі контрольних величин.

Абсолютні потужності дельта-подібних хвиль ФЕА неокортексу протягом другої фази стресу також зменшувалися, однак максимальний прояв вказаного явища спостерігався пізніше, ніж в обох зонах гіпоталамуса – через 15 тижнів експерименту до  $29,9 \pm 7,1\%$  контрольних значень. Потужність дельта-подібних хвиль ФЕА гіпокампа стресованих тварин на початку другої фази стресу була збільшеною відносно контролю. Через 12 тижнів хронічного стресу вони зменшувалися порівняно з попереднім періодом, досягаючи контрольних значень, а через 15 тижнів експерименту відбувалося їхнє зменшення до  $49,9 \pm 7,0\%$  контролю. У цей період спостереження абсолютні потужності хвиль обох зон гіпоталамуса відновлювалися в межі контрольних значень.

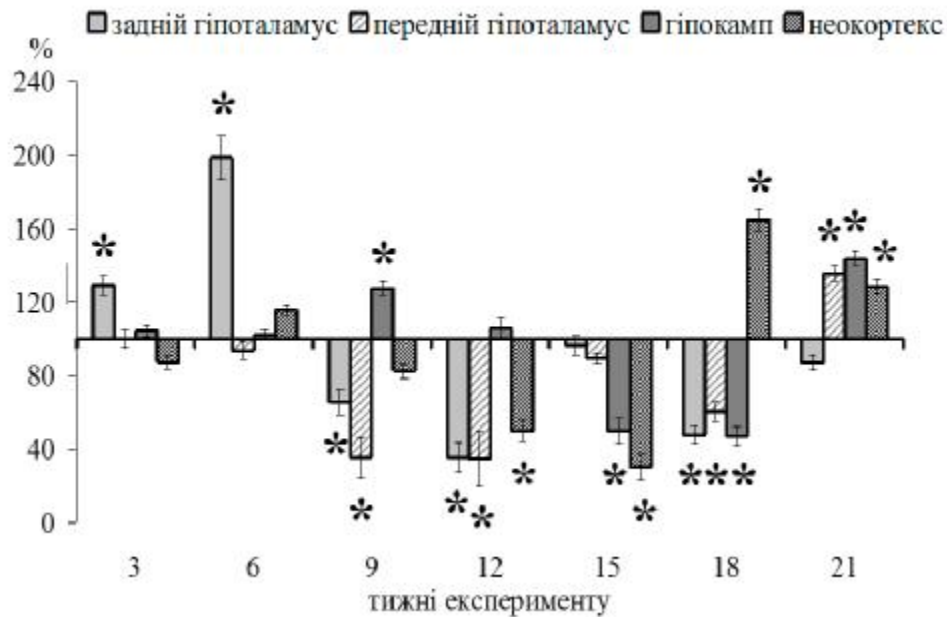


Рис. 1. Зміни абсолютних потужностей домінуючих хвиль фоновій електричній активності структур лімбіко-неокортикальної системи щурів стресової групи відносно значень цього показника у тварин контрольної групи у відповідні тижні спостереження, %

Примітка: зірочки над стовпчиками – достовірні зміни потужностей ФЕА нервових структур у тварин стресової групи відносно контролю за критерієм Манна – Уїтні ( $p < 0,05$ )

Через 18 – 21 тиждень хронічного стресу спостерігалася наступна фаза в динаміці змін ФЕА досліджених нервових структур. Через 18 тижнів відбувалося суттєве зменшення абсолютних потужностей дельта-подібних хвиль в обох зонах гіпоталамуса – до  $48,5 \pm 18,2\%$  контролю в задньому його відділі і до  $60,4 \pm 4,8\%$  – у передній зоні. У цей період абсолютна потужність ФЕА гіпокампа стресованих тварин також була пониженою відносно контролю (до  $47,0 \pm 4,9\%$ ), тоді як у неокортексі значення аналізованого показника зростало до  $164,6 \pm 6,0\%$  контролю. Через 21 тиждень експерименту спостерігалася збільшення абсолютних потужностей ФЕА усіх досліджених нервових структур у щурів стресової групи відносно попереднього періоду й контролю (окрім задньої зони гіпоталамуса).

Треба відмітити, що в щурів, які знаходилися в стресогенних умовах, змінювалися абсолютні потужності не тільки хвиль дельта-подібної активності, а й усіх інших частотних діапазонів ФЕА гіпоталамуса, гіпокампа і неокортексу. Однак в умовах наших експериментів дельта-подібна активність була домінуючою за

амплітудою і за відсотковим показником – зміни її характеристик у перебігу хронічного стресу найбільшою мірою впливали на загальну потужність ФЕА нервових структур.

Застосування на тлі стресу аміназину змінювало динаміку абсолютних потужностей хвиль ФЕА структур лімбіко-неокортикальної системи щурів так, що протягом першої фази стресу відбувалося майже повне пригнічення ФЕА досліджених структур, яке спостерігалось в обох зонах гіпоталамуса через 3 – 6 тижнів експерименту, а в гіпокампі й неокортексі проявлялося тільки через 3 тижні дослідження (рис. 2).

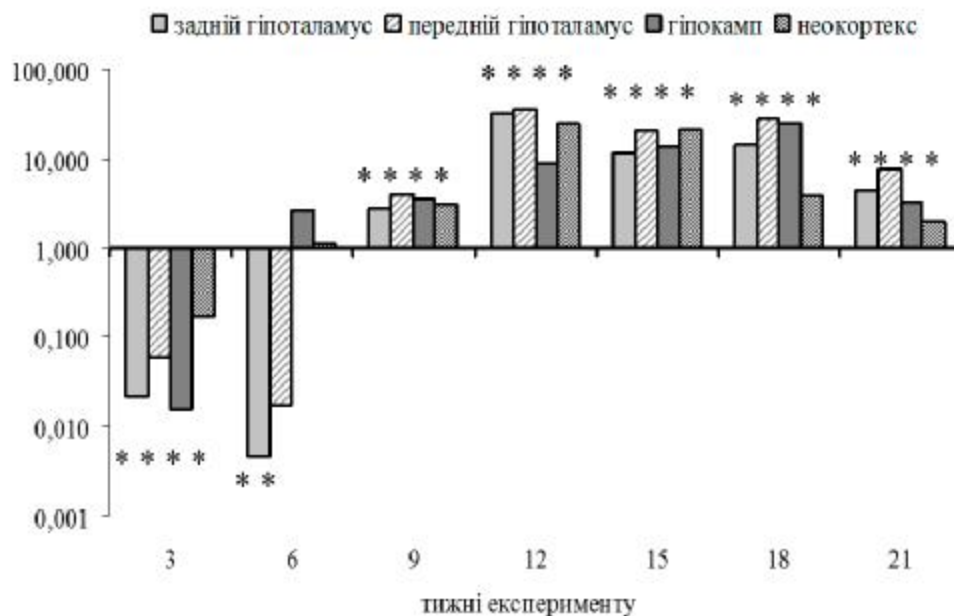


Рис. 2. Відношення абсолютних потужностей домінуючих хвиль фоновій електричній активності структур лімбіко-неокортикальної системи щурів, яким на тлі стресу вводили аміназин, до значень цього показника у тварин стресової групи у відповідні тижні спостереження (шкала логарифмічна)

Примітка: позначення такі самі, як на рис. 1

Через 9 – 21 тиждень застосування на тлі стресу аміназину відбувалося зростання абсолютних потужностей низькочастотних хвиль у ФЕА досліджених нервових структур у кілька разів, тобто спостерігалася синхронізація біоелектричних процесів у гіпоталамусі, неокортексі і гіпокампі. Максимальний прояв указанного явища був виявлений у ФЕА заднього і переднього відділів гіпоталамуса через 12 тижнів експерименту, коли потужності дельта-подібних хвиль у ФЕА щурів, яким вводили аміназин, перевищували значення аналогічних

показників у тварин стресової групи в середньому в  $32,1 \pm 3,3$  і  $36,2 \pm 4,6$  рази відповідно. У неокортексі зростання абсолютних потужностей низькочастотних хвиль під впливом аміназину досягало максимуму через 12 тижнів спостереження (у  $24,8 \pm 3,8$  рази), а в гіпокампі – через 18 тижнів (у  $24,6 \pm 4,3$  рази). У перебігу першої і другої фази стресу, значення аналізованих показників у щурів, яким на тлі стресу вводили аміназин, зворотно корелювали з його величинами у тварин, які зазнавали тільки стресового впливу ( $p < 0,05$ ), що могло свідчити про відмінний характер адаптаційно-компенсаторних змін центральної синаптичної передачі в обох випадках. На нашу думку, у перебігу першої фази стресу в умовах ізольованого стресового впливу зростання абсолютної потужності ФЕА задньої зони гіпоталамуса й збереження стабільними значень аналізованого показника у ФЕА передньої зони гіпоталамуса, гіпокампа і неокортексу досягалося шляхом посилення інтенсивності синаптичної передачі в специфічних нейротрансмітерних системах, які беруть участь у формуванні ФЕА нервових структур періоду ранньої пістнаркозної депресії. Пускову роль у цьому могла відігравати активація норадренергічної (НА) нейротрансмітерної системи, на що вказувала синхронізація через 3 – 6 тижнів спостереження ФЕА заднього відділу гіпоталамуса та її усунення аміназином.

Протягом другої фази стресу в наших дослідженнях спостерігалось зменшення потужностей ФЕА структур лімбіко-неокортикальної системи щурів, яке могло бути зумовлено пониженням інтенсивності синаптичної передачі в специфічних нейротрансмітерних системах. Очевидно, у такому випадку її ефективність могла забезпечуватися за рахунок зменшення порогу активації постсинаптичних нейронів, тобто деполяризації їхніх мембран глутаматом, який, вивільняючись з нейрогліальних клітин, може служити неспецифічним модулятором синаптичної передачі в усіх нейротрансмітерних системах головного мозку [4, с. 64]. Усе це могло викликати десинхронізацію ФЕА структур лімбіко-неокортикальної системи щурів, яку ми спостерігали через 9 – 15 тижнів ізольованого стресового впливу. При застосуванні аміназину в цей період стресу спостерігалось зростання потужностей хвиль ФЕА досліджених структур, яке могло бути наслідком відновлення активності специфічних нейротрансмітерних систем після її початкового блокування застосованим фармакологічним засобом. Адаптаційно-компенсаторні процеси, які виникали при цьому, могли сприяти утворенню балансу збудження й гальмування в головному мозку й відповідно зростанню потужності його ФЕА.

Разом з цим, зростання потужностей ФЕА досліджених структур, яке ми спостерігали через 18 – 21 тиждень хронічного стресу, на нашу

думку, не було наслідком указаних процесів. У наших більш ранніх роботах показано, що через 18 тижнів стресового впливу в головному мозку тварин спостерігалось максимальне накопичення іонів кальцію, у результаті чого його концентрація перевищувала в десятки разів контрольні показники [10, с. 31]. Це могло свідчити, що надто тривала дія стресогенних чинників могла призводити до суттєвих порушень функціональних властивостей нейронів, у результаті яких збудливість структур могла знижуватися, що могло проявлятися в синхронізації ФЕА структур лімбіко-неокортикальної системи щурів у термінальну фазу стресу.

Таким чином, в умовах хронічного стресу зміни потужностей ФЕА гіпоталамуса, гіпокампа і неокортексу щурів мали фазний характер. При застосуванні на тлі стресу аміназину динаміка потужностей ФЕА структур лімбіко-неокортикальної системи щурів змінювалася на протилежну відносно динаміки вказаних показників в умовах ізольованого стресового впливу. Особливості динаміки потужностей ФЕА структур лімбіко-неокортикальної системи щурів в умовах хронічного стресу й при застосуванні на його тлі аміназину могли відображати адаптаційно-компенсаторні зміни центральної синаптичної передачі.

#### Список використаної літератури

1. **Nicolaus S.** *In vivo* imaging of synaptic transmission in the central nervous system: I. Movement disorders and dementia / S. Nikolaus, C. Antke, H. W. Muller // *Behav. Brain Res.* – 2009. – Vol. 204, No. 1. – P. 1 – 31.
2. **Воробьева Т. М.** Электрическая активность мозга (природа, механизмы, функциональное значение) / Т. М. Воробьева, С. П. Колядко // *Экспериментальная и клиническая медицина.* – 2007. – № 2. – С. 4 – 16.
3. **Явление** саморегуляции электрогенеза центральной нейрональной передачи мозга человека / Т. Н. Майкова, С. Н. Лукашёв, М. А. Пирамидов и др. // *Вестн. Рос. Акад. естеств. наук.* – 2004. – Т. 4, № 1. – С. 64.
4. **Нейрохимия** / под ред. И. П. Ашмарина, П. В. Стукалова. – М. : Изд-во Ин-та биомед. хим. РАМН, 1996. – 470 с.
5. **Tononi G.** Sleep function and synaptic homeostasis / G. Tononi, C. Cirelli // *Sleep Med. Rev.* – 2006. – Vol. 10, No. 1. – P. 49 – 62.
6. **Меерсон Ф. З.** Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам / Ф. З. Меерсон, В. Г. Пшенникова. – М. : Медицина, 1988. – 256 с.
7. **Спосіб** моделювання атеросклерозу / В. П. Ляшенко, С. М. Лукашов, Ж. В. Зорова та ін. // *Промислова властивість (офіційний бюлетень).* – 2002. – № 1. – С. 4.81.
8. **Chlorpromazine** protects against apoptosis induced by exogenous stimuli in the developing rat brain / J. Wu, R. Song, W. Song et al. // *PloSOne.* – 2011. – Vol. 6, Issue 7. – P. 1 – 10.
9. **Стереотаксический** атлас мозга крыс (фронтальные сечения) /

под ред. проф. А. Ю. Буданцева. – Пушино : Аналит. микроскопия, 2002. – 205 с. **10. Порівняльне дослідження накопичення іонів кальцію у тканинах головного мозку і печінки в умовах аліментарної гіперхолістеринемії / А. А. Мірошніченко, В. П. Ляшенко, С. М. Лукашов та ін. // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 4. – С. 28 – 32.**

**Мельнікова О. З., Ляшенко В. П., Лукашов С. М. Зміни потужностей фонові електричної активності структур лімбіко-неокортикальної системи щурів при застосуванні на тлі хронічного стресу аміназину**

Аналізували зміни потужностей фонові електричної активності (ФЕА) структур лімбіко-неокортикальної системи щурів у перебігу хронічного стресу й при застосуванні на його тлі аміназину. ФЕА гіпоталамуса, гіпокампа і неокортексу реєстрували в періоді ранньої постнаркозної депресії. Виявлено зворотну кореляцію між змінами потужностей домінуючих хвиль ФЕА центральних структур в умовах ізольованого стресового впливу й при застосуванні аміназину. Розглянуто можливі механізми адаптаційно-компенсаторних змін центральної синаптичної передачі в перебігу хронічного стресу.

*Ключові слова:* хронічний стрес, фонові електрична активність, гіпоталамус, гіпокамп, неокортекс, аміназин.

**Мельнікова О. З., Ляшенко В. П., Лукашов С. Н. Изменения мощностей фоновой электрической активности структур лимбико-неокортикальной системы крыс при использовании на фоне хронического стресса аминазина**

Анализировали изменения мощности фоновой электрической активности (ФЭА) структур лимбико-неокортикальной системы крыс в процессе хронического стресса и при использовании на его фоне аминазина. ФЭА гипоталамуса, гиппокампа и неокортекса регистрировали в периоде ранней постнаркозной депрессии. Выявлена обратная корреляция между изменениями мощности доминирующих волн ФЭА центральных структур в условиях изолированного стрессового воздействия и при использовании аминазина. Рассмотрены возможные механизмы адаптационно-компенсаторных изменений центральной синаптической передачи в процессе хронического стресса.

*Ключевые слова:* хронический стресс, фоновая электрическая активность, гипоталамус, гиппокамп, неокортекс, аминазин.



**Melnikova O. Z., Lyashenko V. P., Lukashev S. N. The Changes of Background Electrical Activity Powers of Limbico-neocortical Structures in Rats by Aminazin Application during Chronic Stress**

Analyzed the changes of background electrical activity (BEA) powers of limbico-neocortical structures in rats during a chronic stress and when using on its background aminazin, which blocks the central adreno- and dopamine receptors. BEA of hypothalamus, hippocampus, neocortex were registered in the period of early post-narcosis depression. During first phase of chronic stress the BEA waves powers were increased in posterior hypothalamus and were stable in anterior hypothalamus, hippocampus and neocortex. Aminazin application in this period of stress led to depression of all neural structures BEA. During second phase of chronic stress the BEA waves powers were decreased in all investigated structures and aminazin application led to increasing of analyzed characteristics. Such an inverse correlation between the changes of the waves powers of central structures BEA in condition of the isolated stressful influence and when using aminazin could indicate, that mechanisms of adaptation-compensatory changes in neurotransmission systems are connected with activation of mediator-synthesis processes in all of them under the noradrenaline action during first phase and their depression in second phase of chronic stress. In the latter case, glutamate could play a significant role in the implementation and regulation of central synaptic transmission.

*Key words:* chronic stress, background electrical activity, hypothalamus, hippocampus, neocortex, aminazin.

Стаття надійшла до редакції 17.04.2013 р.

Прийнято до друку 26.06.2013 р.

Рецензент – д. б. н., проф. І. О. Іванюра.