

© ¹Турицкая Т. Г., ²Лукашев С. Н., ¹Ляшенко В. П.

УДК 612.82:615.21

¹Турицкая Т. Г., ²Лукашев С. Н., ¹Ляшенко В. П.

ИЗМЕНЕНИЕ ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГИППОКАМПОГРАММЫ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ КОФЕИНОВОЙ АЛИМЕНТАЦИИ

¹Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара (г. Днепропетровск)

²НК ЛДЦ «Головная боль», областная клиническая больница

им. И. И. Мечникова (г. Днепропетровск)

more_pisem@mail.ru

Данное исследование является фрагментом научной работы кафедры физиологии человека и животных Днепропетровского национального университета им. О. Гончара «Дослідження нервових механізмів керування, регуляції і зв'язку в організмі людини і тварин», № государственной регистрации 0195U023144, а также является частью научно-исследовательской работы кафедры «Місцеві та центральні фізіологічні механізми адаптаційно-компенсаторних реакцій організму», № государственной регистрации 0113U000014.

Вступление. Электрическая активность является сложноорганизованной формой проявления аналитических процессов возбудимых тканей. Изменение этой активности может свидетельствовать о протекании адаптационных процессов, которые являются результатом действия стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем. Одну из главных ролей в этих системах играет гиппокамп. Именно в гиппокампе при хроническом стрессе в первую очередь развиваются нейродегенеративные процессы, в которых основное значение принадлежит длительным изменениям мембранного потенциала нейронов, потенцирующих эксайтотоксическое действие глутамата на нервные клетки [3-7]. Очевидно, что различные факторы, влияющие на организм извне, могут влиять на эффективность восстановления электрического гомеостаза.

Одними из таких факторов являются кофеинсодержащие вещества, что связано с их ингибирующим влиянием на фосфодиэстеразу и взаимодействием с пуриновыми рецепторами, что в конечном итоге приводит к превалированию процессов возбуждения в мозге. К тому же, на протяжении многих десятилетий очень выросло потребление продуктов, содержащих кофеин. Лидерами в этом списке продолжают оставаться кофе и чай. Параллельно с этим, увеличился риск инсультов и инфарктов без существенного атеросклеротического поражения церебральных артерий. Вероятнее всего, длительное традиционное применение кофеинсодержащих продуктов и напитков может приводить к апоптотической нейродегенерации, что в первую очередь будет отображаться на электрофизиологических характеристиках головного мозга.

В связи с этим, **целью** представленной работы было исследование активности функционального

состояния гиппокампа в условиях хронической кофеиновой алиментации (ХКА).

Объект и методы исследования. Исследования проведены соответственно к существующим международным требованиям и нормам гуманного отношения к животным. Эксперименты были проведены на нелинейных белых крысах-самцах. В начале исследования они были с массой 125-140 г и содержались в общепринятых санитарно-гигиенических условиях со стандартным режимом питания. В первую группу вошли контрольные животные (n = 22), которые вовремя всего эксперимента содержались в стандартных условиях. Вторая группа (n = 24) была представлена животными, которые получали с едой «Кофеин-бензоат натрия» (Дарница) в количестве 150 мг/кг/сутки.

Регистрацию электрогиппокампограммы (ЭГГ) проводили в условиях острого эксперимента в подгруппе из 3-4 животных через каждые 2 недели на протяжении всего исследования, которое длилось 12 недель. Хирургическая подготовка к отведению ЭГГ осуществлялась после внутрибрюшного введения 20 мг/кг кетамина и 50 мг/кг тиопентала натрия. После фиксации животного в стереотаксическом приборе и проведении трепанации черепа в гиппокамп вводили униполярный электрод (платина, диаметр 100 мкм) в соответствии со стереотаксическими координатами атласа головного мозга крыс [8]. Референтный электрод укрепляли на ушной раковине животного. Верификацию локализации кончика электрода отведения проводили на фронтальных срезах мозга.

Фоновую электрическую активность (ФЭА) гиппокампа регистрировали с помощью стандартного комплексного электрофизиологического оборудования. Запись начинали, когда в электрической активности гиппокампа исчезали наркотические веретена. С каждого животного проводили по 10-12 записей продолжительностью по 1-2 мин., которые в цифровом виде сохранялись на ПК и обрабатывались с помощью пакета прикладных программ в составе «MathCAD 2001». Анализировали спектральную (абсолютную) мощность (мкВ²) и нормированную (относительную) мощность (%) волн ФЭА гиппокампа в рамках общепринятых частотных диапазонов [1]. Статистическую обработку результатов исследования проводили методом парных

сравнений. Достоверность разницы между контрольными и экспериментальными показателями определяли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни для $P < 0,05$ [2].

Результаты исследований и их обсуждение. Ведущим ритмом в ФЭА гиппокампа крыс как контрольной, так и кофейиновой групп на протяжении всего эксперимента оставался дельта-ритм. Общая динамика показателей спектральной мощности дельта-подобной активности у крыс экспериментальной (кофейиновой) группы была трехфазной с максимумами значений через 2, 6 и 10 недель от начала исследования. Сами значения спектральной мощности дельта-ритма составляли $25,22 \pm 1,7$ мкВ², $26,34 \pm 2,59$ мкВ² и $28,3 \pm 1,33$ мкВ² соответственно. При этом, хроническое употребление кофеина приводило к достоверному ($P < 0,05$) снижению абсолютных значений мощности волн в диапазоне 0,5-4 Гц по сравнению со значениями, полученными в контроле (рис. 1). Относительно выразительности дельта-подобной активности в суммарной ФЭА гиппокампа крыс экспериментальной группы, следует отметить следующее. Общая динамика показателей нормированной мощности дельта-ритма имела двухфазный характер с максимумами значений через 6 ($64,79 \pm 4,8\%$) и 12 ($74,3 \pm 6,1\%$) недель и минимумами через 2 ($50,69 \pm 4,3\%$) и 8 ($53,95 \pm 3,1\%$) недель от начала эксперимента. При этом, со второй по десятую недели от начала исследования данные показа-

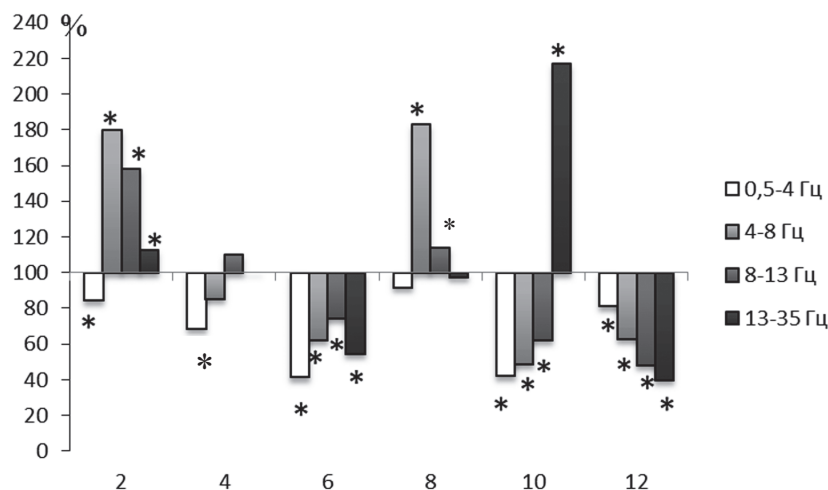


Рис. 1. Динамика показателей спектральной мощности гиппокампа крыс, к которым применяли кофеин, относительно аналогичных значений контрольной группы животных на протяжении всего эксперимента, %

Примечание: звездочки над столбиками – достоверные изменения ФЭА гиппокампа у животных экспериментальной группы относительно контроля за критерием Манна-Уитни ($P < 0,05$).

тели у животных кофейиновой группы всегда были ниже по сравнению с аналогичным результатом контрольной группы животных (рис. 2). И лишь в конце исследования (через 12 недель) отмечалась тенденция к увеличению значений нормированной мощности дельта-подобной активности в суммарной ФЭА кофейиновой группы животных.

В отличие от дельта-подобной активности, динамика показателей спектральной мощности тета-подобной активности крыс экспериментальной группы имела двухфазный характер и была в 2-3 раза менее выраженной в суммарной ФЭА. Максимальные значения тета-ритма были зарегистрированы через 2 ($12,4 \pm 0,89$ мкВ²) и 8 ($12,85 \pm 1,88$ мкВ²) недель от начала исследования, что было достоверно выше аналогичных значений контроля (рис. 1). В остальное экспериментальное время этот показатель достоверно был ниже абсолютных значений мощности волн в тета-диапазоне по сравнению с животными контрольной группы.

Следует также отметить, что динамика показателей нормированной мощности тета-ритма у животных экспериментальной группы имела тоже двухфазный характер с максимума через 2 ($24,93 \pm 1,5\%$) и 8 ($28,35 \pm 1,1\%$) недель от начала эксперимента. В начале исследования (через 2 недели) показатели нормированной мощности тета-подобной активности достоверно ($P < 0,05$) превышали аналогичный результат животных контрольной группы (рис. 2). В даль-

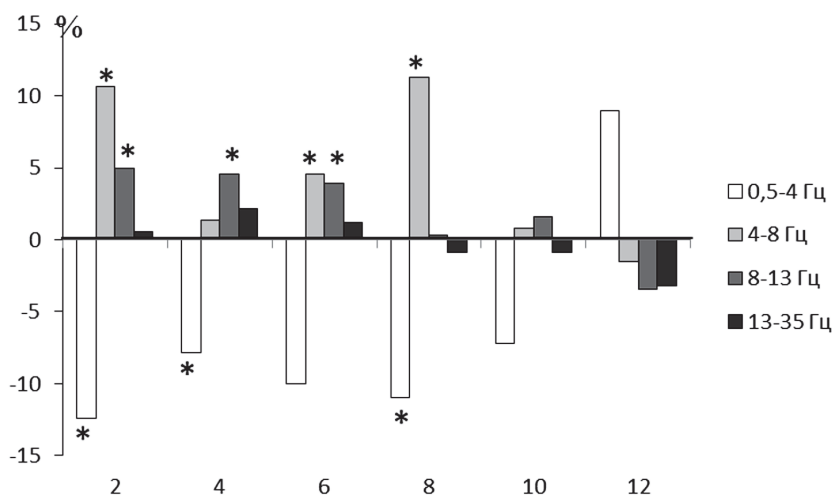


Рис. 2. Динамика показателей нормированной мощности гиппокампа крыс, к которым применяли кофеин, относительно аналогичных значений контрольной группы животных на протяжении всего эксперимента, %

Примечание: обозначения те же, что и на рис. 1.

нейшем (через 4-6 недель от начала исследования) у животных второй группы было отмечено достоверное снижение показателей нормированной мощности до 16-17%. Но уже через 8 недель хронического употребления кофеина было отмечено достоверное ($P < 0,05$) увеличение в 1,5 раза этих значений, которые превышали аналогичные данные контрольной группы животных. Далее (10-12 недели эксперимента) отмечалось уменьшение процентной части тета-подобной активности в суммарной ЭГГ до 13%, что для животных кофеиновой группы было минимальным.

Меньше всего в суммарной ФЭА гиппокампа как контрольной, так и экспериментальной групп были представлены высокочастотные ритмы (частотный диапазон 8-35 Гц), что в целом, в условиях нашего эксперимента, было характерным для электрической активности головного мозга крыс. Хроническое употребление кофеина приводило к постепенному уменьшению спектральной мощности альфа-подобной активности в суммарной ФЭА гиппокампа. Максимальные значения были зарегистрированы в начале эксперимента (через 2 недели) и составили $7,6 \pm 0,39$ мкВ², а минимальные – в конце исследования (через 12 недель, $2,01 \pm 0,01$ мкВ²). При этом, только через 2 и 8 недель от начала эксперимента данные показатели достоверно были выше значений контроля (рис. 1). Аналогичная динамика была характерной и для показателей нормированной мощности экспериментальной группы в диапазоне 8-13 Гц: максимальные показатели были отмечены через 2-4 недели от начала исследования (15-16%), а минимальные – через 10-12 недель (6%). При этом, со второй по десятую недели эксперимента эти значения были достоверно ($P < 0,05$) больше по сравнению с аналогичными показателями контроля (рис. 2). И лишь к концу исследования хроническое употребление кофеина приводило к уменьшению показателей и спектральной, и нормированной мощностей к контрольным значениям.

Общая динамика показателей спектральной мощности бета-подобной активности в суммарной ЭГГ крыс экспериментальной группы была двухфазной с относительными максимумами через 4 ($3,96 \pm 0,14$ мкВ²) и 8 ($3,02 \pm 0,09$ мкВ²) недель от начала эксперимента. Минимальные значения данного показателя были зарегистрированы в конце

исследования (через 12 недель) и не превышали $1,6 \pm 0,05$ мкВ². При этом следует отметить, что только через 2 и 10 недель от начала эксперимента значения спектральной мощности бета-ритма были достоверно больше аналогичных показателей контроля (рис. 1).

Представленность бета-подобной активности в суммарной ЭГГ животных второй группы не превышала 9%. К тому же, общая динамика нормированной мощности в частотном диапазоне 13-35 Гц была очень похожа с динамикой спектральной мощности: с максимумами через 2-4 недели исследования (7-9%), а минимумами – через 12 недель (5%). Так же следует отметить, что если со 2 по 8 недели от начала исследования данные значения были достоверно больше ($P < 0,05$) контроля (рис. 2), то с 10 по 12 – меньше аналогичных показателей контроля.

Таким образом, влияние кофеинсодержащих веществ на нейрофизиологические показатели электрической активности гиппокампа крыс отображает одно из многих направлений действия определенной формы алиментарного стресса, механизмы которого касаются согласованной работы активирующей и лимитирующей систем мозга во времени.

Выводы

1. Кофеин оказывает прямое воздействие на синаптическую пластичность клеток гиппокампа крыс.
2. Электрофизиологическим феноменом данного воздействия является отчетливая десинхронизация гиппокампограммы с тенденцией к постепенному снижению мощности высокочастотных ритмов.
3. Наиболее вероятным механизмом такого паттерна ЭГГ является повышение медиаторсинтетической активности пресинаптических и снижение порога возбудимости постсинаптических нейронов вследствие кофеинового блокирования деградации внутриклеточных фосфодиэстераз, стабилизации ц-АМФ и активации кофеиновых рецепторов высвобождения Ca^{++} из клеточного эндоплазматического ретикулума.

Перспективы дальнейших исследований

На следующем этапе исследований планируется изучить и проанализировать изменения основных электрофизиологических показателей коры головного мозга крыс в условиях длительного введения кофеинсодержащих веществ.

Литература

1. Воробьева Т. М. Электрическая активность мозга (природа, механизмы, функциональное значение) / Т. М. Воробьева, С.П. Колядко // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2007. – № 2. – С. 4-11.
2. Гланс Стентон. Медико-биологическая статистика / С. Гланс [Пер. с англ.] – М.: ИД «Практика», 1999. – С. 327-332.
3. De Kloet E. R. Hormones and the stressed brain / E. R. De Kloet. – Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2004. – V. 1018. – P. 1-15.
4. Fuchs E. Chronic social stress: effects on limbic brain structures / E. Fuchs, G. Flugge // J. Physiol. Behav. – 2003. – 79 (3). – P. 417-427.
5. Freund T. F. Inhibitory control of GABA-ergic interneurons in the hippocampus / T. F. Freund, A. I. Gulyas // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 1997. – V. 75, № 5. – P. 479-487.
6. Joels M. Effect of chronic stress on structure and functions in rat hippocampus and hypothalamus / M. Joels // Stress. – 2004. – 7(4). – P. 221-231.
7. McEwen Bruce S. Central effects of stress hormones in health and disease: understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators / Bruce S. McEwen // Eur. J. Pharmacol. – 2007. – V. 583, № 2-3. – P. 174-185.
8. Paxinos G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. Paxinos, Ch. Watson // Sydney, Academic Press, 2 Ed., 1986. – 579 P.

УДК 612.82:615.21

ЗМІНИ ОСНОВНИХ ПОКАЗНИКІВ ГІПОКАМПОГРАМИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ КОФЕЇНОВОЇ АЛІМЕНТАЦІЇ

Турицька Т. Г., Лукашов С. М., Ляшенко В. П.

Резюме. У статті проаналізовано основні показники фонові електричної активності гіпокампу щурів за умов тривалого кофеїнового навантаження. Показано, що кофеїн напряму впливає на синаптичну пластичність клітин гіпокампу, що відображається десинхронізацією гіпокампограми з тенденцією до поступового зниження потужності високочастотних ритмів. Найбільш ймовірно, що така модель ЕГГ пов'язана з підвищенням медіаторсинтетичної активності пресинаптичних та зниженням порогу збудження постсинаптичних нейронів, що викликано фармакодинамікою кофеїну.

Ключові слова: електрична активність, гіпокамп, кофеїн, нормована потужність.

УДК 612.82:615.21

ИЗМЕНЕНИЕ ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГИППОКАМПОГРАММЫ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ КОФЕИНОВОЙ АЛЛИМЕНТАЦИИ

Турицкая Т. Г., Лукашев С. Н., Ляшенко В. П.

Резюме. В статье проведено анализ основных показателей фоновой электрической активности гиппокампа крыс в условиях длительной кофеиновой нагрузки. Показано, что кофеин оказывает прямое воздействие на синаптическую пластичность клеток гиппокампа, что проявляется десинхронизацией гиппокампограммы с тенденцией к постепенному снижению мощности высокочастотных ритмов. Вероятнее всего, что такая модель ЭГГ связана с повышением медиаторсинтетической активности пресинаптических и снижением порога возбудимости постсинаптических нейронов, вызванных фармакодинамикой кофеина.

Ключевые слова: электрическая активность, гиппокамп, кофеин, нормируемая мощность.

UDC 612.82:615.21

VARIATION OF THE BASIC INDICATORS OF RAT HIPPOCAMPAL EEG UNDER CHRONIC CAFFEINE ALLIMINATION

Turitskaya T. G., Lukashev S. N., Lyashenko V. P.

Abstract. For decades consumption of caffeine containing products has been growing. The leading places in the list of these products are taken by coffee and tea. At the same time the risk of stroke and heart attack without significant atherosclerotic lesions of cerebral arteries had increased. And the most likely reason is the long intake of caffeine-containing products may lead to apoptotic neurodegeneration, that will be reflected on electrophysiological characteristics of brain. Thus the aim of the present work was to study the activity of the functional state of the hippocampus under chronic caffeine allimintation.

Experiments were carried out on non-linear white male rats. The first group consisted of control animals (n = 22). The second group (n = 24) was represented by the animals that were given a pure caffeine in an amount of 150 mg/kg/day with their meal. The registration of electrohippocampogram (EGG) was carried out in conditions of acute experiment, every 2 weeks for 12 weeks. The spectral (mkV²) and the normalized power (%) EGG waves were analyzed within the common frequency band.

The leading rhythm of both control and caffeine groups of rats remained the delta rhythm. Constant intake of caffeine has caused a significant ($P < 0.05$) decrease in both spectral and normalized power low frequency (0.5-4 Hz) indicators in the total spectrum of the background electrical activity of the hippocampus. Increased representation of delta-like activity in total EGG control group may indicate synchronization process. At the same time, caffeine usage has demonstrated desynchronizing influence as a result of increasing frequency of the presynaptic dopamine quantization. Least of all in the total EGG of tested animals the spectral frequencies of 7-13Hz and 14-30 Hz were detected, that in general, under our experimental conditions, was typical for the electrical activity of the rat's brain. Furthermore, indicators of normalized power of the high-frequency waves in the total EGG of caffeine animal group were almost always larger than in the control group. Thus it is shown that caffeine has a direct impact on synaptic plasticity of hippocampal cells, which is observed in desynchronizing of EGG with a tendency to a gradual decrease of power of high-frequency rhythms. It is likely that this EGG model is associated with increasing of neurotransmitter synthesizing activity of presynaptic and decreasing the threshold of excitability of postsynaptic neurons, caused by caffeine pharmacodynamics.

Keywords: electrical activity, hippocampal, caffeine, normalized power.

Рецензент – проф. Міщенко І. В.

Стаття надійшла 23.10.2015 року