

УДК 612.82:612.176+612.82:615.21

ИЗМЕНЕНИЯ ФОНОВОЙ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГИПОТАЛАМУСА КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ ПРИМЕНЕНИЕМ АМИТРИПТИЛИНА НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Чаус Т. Г., Ляшенко В. П., Лукашев С. Н., Мельникова О. З.

Исследование механизмов действия длительного стресса на организм является одной из наиболее актуальных научных проблем по ряду причин. Одной из них является поиск возможностей предотвратить развитие стрессовой патологии, которая возникает как заключительная фаза реакции организма на длительное воздействие стрессоров [1].

Известно, что ведущую и пусковую роль в развитии стресс-реакции играет активация центрального звена стресс - системы организма – гипоталамо-гипофизарного комплекса, координирующего эндокринную регуляцию обмена веществ с работой вегетативной нервной системы и эмоционально-поведенческими реакциями лимбической системы [2,3]. Поэтому исследование функционального состояния центральных структур и возможных медиаторных механизмов его изменения в условиях длительного стресса, может способствовать выявлению наиболее ранних проявлений различных фаз стресс-реакции организма и оптимальных путей их коррекции.

Целью данной работы было изучение фоновой биоэлектрической активности переднего и заднего отделов гипоталамуса крыс в условиях длительного стресса и применения на его фоне амитриптилина - блокатора обратного захвата нейронами моноаминов, являющихся основным классом центральных нейротрансмиттеров [2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все эксперименты были проведены согласно международным требованиям и нормам гуманного отношения к животным на нелинейных белых крысах – самцах, масса которых в начале исследования составляла 200-230 г. Общая длительность эксперимента составила 21 неделю.

Животные были разделены на три группы. В первую из них вошли крысы ($n = 21$), которых в течение всего эксперимента содержали в стандартных условиях [4]. Животным второй группы ($n = 21$) на протяжении 21^{ой} недель создавали стрессовую (зооконфликтную) ситуацию путём ограничения жизненного пространства до 80-

100см² на одну особь [5]. Крысам третьей группы ($n = 21$) на фоне такого стрессового воздействия вводили amitriptilin (5-(3-диметиламинопропилиден)-10,11-дигидродибензоциклогептен) в дозе 5 мг/кг массы тела животного в сутки [6].

Фоновую биоэлектрическую активность гипоталамуса крыс разных экспериментальных групп регистрировали через каждые 3 недели на протяжении всего эксперимента. Таким образом, у животных стрессовой группы первая запись электрогипоталаграммы была проведена через 3 недели стрессового воздействия, вторая – через 6 недель, третья – через 9 недель зооконфликтной ситуации и т.д. В те же самые недели регистрировали биоэлектрическую активность гипоталамуса в контрольной группе животных и у крыс, которые на фоне стресса получали внутримышечно amitriptilin.

Хирургическая процедура подготовки к эксперименту проводилась под действием наркотических веществ: кетамина (20мг/кг) и тиопентала натрия (50мг/кг). Наркотизированное животное закрепляли в стереотаксическом приборе СЭЖ-2 и осуществляли трепанацию черепа.

Регистрацию фоновой биоэлектрической активности гипоталамуса проводили униполярным игольчатым электродом (сталь, диаметр 100мкм, лаковая изоляция), который погружали в структуры гипоталамуса перпендикулярно его поверхности с помощью манипулятора. Индифферентный электрод закрепляли на ушной раковине животного. Координаты структур определяли по атласу [7]. Их значения для переднего отдела гипоталамуса (anterior hypothalamic area – АНА): bregma (В): - 1,4; латеральная ось : 0,8; интерауральная ось (I): 9; для задней зоны (dorsal hypothalamic area – DA): В: -2,3; латеральная ось: 0,3; I: 8. Идентификацию локализации электродов проводили на фронтальных срезах мозга.

В исследованиях использовали стандартное электрофизиологическое оборудование с 16-разрядным АЦП (частота выборки – 512 Гц). Эпоха регистрации биоэлектрической активности с каждой зоны составляла 1 минуту. Запись и сохранение результатов экспериментальных исследований проводили на ЭВМ с помощью программы “Experiment” (институт физиологии им. О. О. Богомольца, г. Киев).

Дальнейшую обработку зарегистрированных гипоталаграмм осуществляли с помощью пакета прикладных программ в составе “MathCAD 2000”. При этом во всех записях биоэлектрической активности длительность эпохи анализа составляла 10с с шагом дискретизации частоты df , равным 0,1Гц. Для устранения краевых эффектов применяли окно Хемминга. Анализировали среднюю мощность ($мкВ^2$) и количество (%) волн разных частотных диапазонов, выделенных методом цифрового преобразования Фурье согласно рекомендованной Международной федерацией общества электроэнцефалографии и клинической нейрофизиологии классификации колебаний: дельта (δ) – 0,5 – 3,5Гц, тета (θ) – 4 – 7Гц, альфа (α) – 8 – 13Гц, бета I (β_1) – 14 – 21Гц [8].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы Origin 6.0 Professional. Достоверность разницы значений мощности и процентного количества волн основных частотных диапазонов,

ИЗМЕНЕНИЯ ФОНОВОЙ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

полученных в разных экспериментальных группах, оценивали методом парных сравнений. Изменения биоэлектрической активности считали достоверными, если они соответствовали принятой для медико-биологических исследований доверительной вероятности ($P > 0,95$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование фоновой биоэлектрической активности гипоталамуса у животных разных экспериментальных групп показало, что под воздействием стресса и применения на его фоне амитриптилина происходила существенная модуляция её параметров. Результаты экспериментов, отражающие изменение процентного соотношения и мощности волн анализируемых частотных диапазонов в переднем отделе гипоталамуса представлены соответственно в табл. 1 и табл. 2.

Таблица 1.

Изменение процентного соотношения волн основных частотных диапазонов в переднем отделе гипоталамуса крыс под действием длительного стресса и применения на его фоне амитриптилина ($M \pm m$, $n = 21$)

Неделя исследования	Количество волн у животных разных экспериментальных групп (%):											
	δ-диапазона			θ-диапазона			α-диапазона			β-диапазона		
	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа
3	64±0,6	68±0,6	59±0,5	23±0,2	17,3±0,2	28±0,1	8±0,08	8±0,08	9±0,09	3±0,03	4±0,04	1±0,01
6	81±0,8	80±0,8	61±0,6	10±0,1	9±0,2	28±0,09	5±0,05	6±0,06	6±0,06	2±0,02	2±0,02	1±0,01
9	80±0,8	60±0,6	63±0,6	9±0,09	20±0,2	23±0,2	5±0,05	10±0,1	7±0,07	4±0,04	6±0,06	2±0,02
12	82±0,8	75±0,7	67±0,6	8±0,08	12±0,2	18±0,1	5±0,05	6±0,06	7±0,07	2±0,02	4±0,04	5±0,05
15	75±0,7	80±0,8	76±0,7	12±0,1	9±0,2	14±0,09	7±0,07	5±0,05	6±0,06	3±0,03	3±0,03	1±0,01
18	78±0,7	70±0,7	76±0,7	12±0,1	17±0,2	16±0,1	6±0,06	7±0,07	4±0,04	3±0,03	3±0,03	1±0,01
21	71±0,7	66±0,6	64±0,6	15±0,1	23±0,2	25±0,2	7±0,07	6±0,06	6±0,06	3±0,03	2±0,02	2±0,02

В электрогипоталаграмме животных всех экспериментальных групп доминировали волны δ-диапазона. У крыс контрольной группы их количество было минимальным на 3^{ой} неделе эксперимента и увеличивалось, начиная с 6^{ой} недели и до конца исследования. Под влиянием стресса процент волн данного диапазона увеличивался в начале эксперимента, а в дальнейшем наблюдались резкие колебания этого показателя. Применение на фоне стрессовой ситуации амитриптилина приводило к снижению процентного количества волн δ-диапазона по сравнению с другими экспериментальными группами и способствовало меньшим колебаниям этого показателя по сравнению с его значениями в стрессовой группе.

Динамика процентного соотношения волн θ-, α- и β-диапазонов в переднем отделе гипоталамуса животных контрольной группы на протяжении исследования была противоположной описанной для волн δ-ритма: их количество было

максимальным на 3^{ей} неделе исследования и устойчиво меньшим до конца эксперимента. У животных стрессовой группы значения указанного показателя для волн θ -, α - и β - диапазонов, в основном, превышали контрольные, кроме 15^{ой} и 21^{ой} недель для α - и β -волн и 3^{ей} и 15^{ой} недель для θ -волн. Применение на фоне стрессовой ситуации амитриптилина приводило к существенному возрастанию процентного количества в гипоталаграмме θ -волн и уменьшению данного показателя для волн β -диапазона.

Значения мощностей волн анализируемых частотных диапазонов в переднем отделе гипоталамуса сильно варьировали, однако были сходными у животных контрольной и стрессовой групп во всём спектре частот электрогипоталаграммы: от 3^{ей} до 9^{ой} недель исследования наблюдалось увеличение данного показателя, от 12^{ой} до 18^{ой} – его минимальные значения и нарастание к 21^{ой} неделе (табл. 2). На протяжении почти всего эксперимента мощности волновых процессов у животных контрольной группы превышали их значения в те же недели исследования у крыс, находившихся в стрессовой ситуации.

Таблица 2

Изменение мощности волн основных частотных диапазонов в переднем отделе гипоталамуса крыс под действием длительного стресса и применения на его фоне амитриптилина ($M \pm m$, $n = 21$)

Неделя исследования	Мощность волн у животных разных экспериментальных групп ($мкВ^2$):											
	δ -диапазона			θ -диапазона			α -диапазона			В-диапазона		
	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа
3	3631± 44	3631± 55,4	82± 3,4	1305± 17,4	920± 19,6	39± 1	453± 1,8	441± 5,3	12± 0,5	202± 0,7	252± 1,1	1± 0,05
6	11640± 135,7	10900± 427,4	31± 0,6	1512± 23,6	1322± 74,2	14± 0,2	750± 7,8	818± 46,6	3± 0,1	324± 3,4	373± 14,7	0,7± 0,02
9	14120± 133,8	4957± 38,4	25481± 132,8	1586± 18,2	1699± 20,3	6249± 321,8	942± 6,7	889± 4,7	2631± 116,3	733± 3,5	521± 6,0	1159± 112,6
12	3796± 29,2	1315± 19,5	32170± 396,1	406± 4,1	211± 4,8	8849± 161,6	229± 5,7	115± 1,9	3544± 115,5	118± 1,2	77± 1,3	2692± 160,7
15	4686± 58,3	4190± 150,5	73170± 567,1	767± 7,6	489± 16	13970± 147,2	454± 3,6	278± 2,9	6298± 84,6	232± 2,5	182± 8,3	1773± 10,9
18	5112± 55	3086± 145,7	112400± 130	799± 14,6	760± 30,8	23970± 364,1	396± 6,4	344± 15,3	6382± 70,9	210± 1,0	133± 4,4	2593± 27,8
21	9345± 120,8	12630± 94,1	50370± 465	1985± 26,1	4435± 25,7	19840± 305,6	973± 0,6	1236± 7,2	4847± 50,1	479± 2,0	412± 1,9	1581± 105

Динамика мощностей волн различных диапазонов существенно изменялась, когда на фоне стресса животным вводили амитриптин. В таком случае на 3^{ей} и 6^{ой} неделях происходило снижение значений этого показателя по сравнению с контрольной и стрессовой группами, которое сменялось резким его возрастанием с 9^{ой} недели и до конца эксперимента.

ИЗМЕНЕНИЯ ФОНОВОЙ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

В заднем отделе гипоталамуса модуляция фоновой биоэлектрической активности под влиянием стресса и применения на его фоне амитриптилина была, в основном, сходной с её проявлениями в передней зоне исследуемой структуры, особенно касаясь изменения мощностей волновых процессов анализируемых частотных диапазонов. Однако наблюдались более существенные и закономерные вариации процентного соотношения волн δ - и θ - диапазонов (табл. 3). В связи с этим в динамике показателей гипоталаграммы животных стрессовой группы можно было выделить отдельные, отличные друг от друга по своим электрографическим показателям периоды.

Первый из них, который длился с 3^{ей} до 6^{ой} недель исследования, характеризовался снижением под влиянием стресса количества θ -волн и нарастанием количества волн δ -диапазона. Противоположными изменениями процентного соотношения волн θ - и δ -диапазонов характеризовался период от 18^{ой} до 21^{ой} недель эксперимента. В течение 9^{ой} - 15^{ой} недель наблюдался переходный между указанными двумя период, когда происходило постепенное нарастание количества θ -волн в электрогипоталаграмме и уменьшение этого показателя δ -активности.

Таблица 3.
Изменение процентного соотношения волн основных частотных диапазонов в заднем отделе гипоталамуса крыс под действием длительного стресса и применения на его фоне амитриптилина ($M \pm m$, $n = 21$)

Неделя исследования	Количество волн у животных разных экспериментальных групп (%):											
	δ -диапазона			θ -диапазона			α -диапазона			β -диапазона		
	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа
3	70±0,7	77±0,7	67±0,6	17±0,1	9±0,09	21±0,2	6±0,06	7±0,07	8±0,08	3±0,03	4±0,04	1±0,01
6	68±0,6	86±0,8	76±0,7	17±0,1	6±0,06	17±0,1	9±0,09	3±0,03	4±0,04	3±0,03	2±0,02	1±0,01
9	76±0,7	70±0,7	75±0,7	11±0,1	12±0,1	16±0,1	5±0,05	11±0,1	5±0,05	5±0,05	4±0,04	1±0,01
12	82±0,8	72±0,7	74±0,7	10±0,1	14±0,1	15±0,1	4±0,04	8±0,08	6±0,06	2±0,02	4±0,04	2±0,02
15	72±0,7	77±0,7	75±0,7	11±0,1	12±0,1	13±0,1	9±0,09	6±0,06	7±0,07	5±0,05	3±0,03	2±0,02
18	83±0,8	64±0,6	77±0,7	8±0,08	21±0,2	13±0,1	4±0,04	8±0,08	6±0,06	2±0,02	3±0,03	2±0,02
21	81±0,8	74±0,7	73±0,7	8±0,08	16±0,1	18±0,1	5±0,05	5±0,05	6±0,06	3±0,03	2±0,02	1±0,01

Применение амитриптилина стабилизировало проявление в заднем отделе гипоталамуса доминирующей δ -активности, способствовало увеличению процентного количества θ -волн и достоверному снижению этого показателя волн β -диапазона.

Представленные данные свидетельствуют, что в условиях длительного стресса происходила существенная модуляция биоэлектрической активности разных зон гипоталамуса животных. Наличие в её динамике различных по электрографическим

показателям периодов соответствует представлениям о развитии стресс-реакции организма, в которой выделяют, по крайней мере, три фазы, последовательно переходящих одна в другую [1].

Однако нельзя с уверенностью утверждать, что изменения биоэлектрической активности гипоталамуса, которые мы наблюдали в условиях длительного стрессового воздействия, предшествовали по времени периферическим эффектам, характерным для различных стадий стресс-реакции организма и выявленным исследователями с помощью использованной нами в эксперименте модели создания стрессовой ситуации [9-11.]. Это связано с тем, что в фоновой биоэлектрической активности передней и задней зон гипоталамуса могли отражаться не только процессы, связанные с поступлением к ним информации о стрессоре от анализаторных и эмоциогенных структур мозга и эффекторной деятельностью гипоталамических нейронов, но и обусловленные изменением гормонального фона в организме [8, 12].

Вполне возможно, что функциональное состояние гипоталамических структур, начиная с 9^{ой} недели воздействия стрессовой ситуации, соответствовало той чрезмерной активации центрального звена стресс-системы организма, которую считают ответственной за развитие побочных явлений адаптивной по своей сути реакции на стресс – периферических повреждений тканей и органов [1]. Об этом могут свидетельствовать процессы десинхронизации ритмов гипоталамограммы, которые проявлялись в снижении при стрессе мощности фоновой биоэлектрической активности волн всех частотных диапазонов по сравнению с контролем; а по отношению к 3^{ей}-6^{ой} неделям эксперимента – появление периодов увеличения количества быстрых α - и β - волн, снижение степени синхронности и процента доминирующего δ -ритма и постепенное нарастание соответствующих показателей θ -волн с 9^{ой} до 15^{ой} недель эксперимента. Дальнейшее увеличение количества и степени синхронности тета-волн на 18^{ой}-21^{ой} неделях исследования вместе с другими показателями снижения функциональной активности гипоталамических структур (уменьшение показателей быстрой β -активности и доминирующих волн δ -диапазона, нарастание синхронности α -волн на фоне снижения их процентного содержания) могли быть электрографическими коррелятами стадии «истощения» центрального звена стресс-системы и стресс-реакции организма в целом.

Указанные процессы устранялись применением на фоне стрессовой ситуации амитриптилина, являющегося ингибитором обратного нейронального захвата моноаминов. Этому классу веществ принадлежит ведущая роль в осуществлении центральной нейротрансмиссии, в том числе в гипоталамических структурах [2]. Введение животным данного фармакологического препарата приводило, начиная с 9^{ой} недели эксперимента, к значительной синхронизации ритмов анализируемых частотных диапазонов гипоталамограммы, что проявлялось в существенном нарастании их мощности. Устранение амитриптилином в модуляции биоэлектрической активности под действием стресса электрографических показателей чрезмерной активации центрального звена стресс-системы с последующим периодом, очевидно, отражающим стадию «истощения» организма, может быть связано с ограничением активности моноаминоэргических систем мозга

данным фармакологическим препаратом. Это указывает на важную роль таких систем в вызванной стрессом модуляции биоэлектрической активности гипоталамуса, и позволяет рассматривать в качестве вероятной причины проявления периодов такой модуляции активацию моноаминоэргических систем мозга с последующим снижением в них уровня нейротрансмиссии под действием длительного стресса.

ВЫВОДЫ

1. На протяжении длительного стресса происходила существенная модуляция суммарной фоновой биоэлектрической активности переднего и заднего отделов гипоталамуса.

2. Длительный стресс оказывал, в основном, десинхронизирующее влияние на биоэлектрическую активность гипоталамуса, о чём свидетельствовало снижение мощности волновых процессов исследуемых частотных диапазонов.

3. В соответствии с особенностями изменения количества и мощности волн электрогипоталаграммы в динамике модуляции биоэлектрической активности под действием стресса были выявлены три периода, которые можно условно определить как начальный (3^{ая}-6^{ая} недели действия стрессовой ситуации), промежуточный (9^{ая}-15^{ая} недели) и заключительный (18^{ая}-21^{ая} недели).

4. Применение amitriptilina на фоне стрессового воздействия усиливало десинхронизирующее действие стресса в начальный период модуляции биоэлектрической активности и приводило к синхронизации волновых процессов с 9^{ой} недели и до конца эксперимента, на что указывало соответственно снижение и увеличение мощности волн всех частотных диапазонов.

5. Особенности влияния amitriptilina на динамику вызванной стрессом модуляции биоэлектрической активности гипоталамуса могут свидетельствовать об изменениях уровня нейротрансмиссии в моноаминоэргических системах мозга как вероятной причине проявления разных по электрографическим показателям периодов такой модуляции.

Список литературы

1. Пшенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии // Пат. физиология и эксперим. терапия. – 2000. – № 2. – С. 24-31
2. Вейн А. М. Вегетативные расстройства (клиника, диагностика, лечение) – Москва: МИА. – 1998
3. Никонов В. В. Стресс. Современный патофизиологический подход к лечению. – Харків: Консум. – 2002.
4. Калуев А. В. Стресс, тревожность и поведение (актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных). – Киев: Энигма. – 1998.
5. Ляшенко В. П., Лукашов С. М., Зорова Ж. В., Політаєва В. І. Спосіб моделювання атеросклерозу // Промислова власність. – 2002. – Бюл.№1.- С.4-81.
6. Машковский М.Д., Лекарственные средства . – Москва: Медицина. – 1988.
7. Буданцева А. Ю. Стереотаксический атлас мозга крыс (фронтальные сечения). – Пушкино: Аналитическая микроскопия. – 2002.
8. Зенков Л. Р. Клиническая электроэнцефалография (с элементами эпилептологии). – Москва: МЕДпресс-информ. – 2001.
9. Ляшенко В. П., Никифорова Е. А., Бойко М. А. Влияние стрессового фактора на динамику

- изменения уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови крыс. // Вісник ДДУ "Біологія. Екологія". – 2002. – №2, вип. 10. – С. 32-36
10. Ляшенко В. П., Никифорова О. А. Особливості співвідношення кортизолу та тестостерону в сироватці крові щурів за умов специфічного навантаження // Медична хімія. – 2004. – № 3. – С. 141-142
 11. Ляшенко В. П., Пахомов О. Є. Модуляція рухової і дослідницької діяльності щурів за умов зооконфліктної ситуації та застосування ніфедипіну чи празозіну // Науковий вісник Чернівецького університету "Біологія". - 2004. – Вип. 223. – С. 10-19
 12. Могилевский А.Я., Романов Д.А. Гипоталамус: активация мозга и сенсорные процессы. Киев: Наукова думка. 1989.

Поступила в редакцію 12.10.2006 г