

**УДК 612.82:615.214.22**

## **ФОРМУВАННЯ ЕЛЕКТРИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ГІПОКАМПА ЗА УМОВ ДОВГОТРИВАЛОГО СТРЕСУ І МОДУЛЮЮЧОЇ ДІЇ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЧНИХ ЛІГАНДІВ**

*Сидоренко Г.Г.<sup>1</sup>, Чаус Т.Г.<sup>1</sup>, Ляшенко В.П.<sup>1</sup>, Мельникова О.З.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ, Україна,  
e-mail: annuschka\_@mail.ru*

<sup>2</sup> *Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна*

Встановлено, що дія довготривалого стресу призводила до змін показників електрогіпокампोगрама, пов'язаних зі стадіями стресу. Отримані дані про динаміку електричної активності гіпокампа на фоні стресу і модулювання синаптичної передачі нейрофармакологічними лігандами вказують на те, що не зважаючи на механізми дії препаратів, спостерігалися синхронізуючі впливи, які є наслідком протікання процесів саморегуляції за умов стресу.

**Ключові слова:** електрична активність, гіпокамп, довготривалий стрес, карбамазепін, амітриптилін.

### **ВСТУП**

Просторово-часова організація частотних діапазонів електричної активності головного мозку дає можливість визначити зміни стану мозку в співвідношенні з перебігом того чи іншого виду пристосувальної діяльності [1]. Реакції організму в процесі взаємодії з чинниками середовища мають різний перебіг залежно від сили чинника, який діє, часу впливу й адаптаційних можливостей організму, що визначають наявність функціональних резервів. На вплив несприятливих факторів організм відповідає стрес-реакцією, яка направлена на відновлення гомеостазу та нормальної життєдіяльності [2]. За допомогою розгортання стрес-реакції можна дослідити механізми саморегуляції адаптивних реакцій, які давно привертають до себе увагу й на сьогодні ще залишаються нез'ясованими. Гіпокамп за своєю природою є відділом мозку, який полегшує розгортання стресової відповіді, володіє регулюючим впливом на баланс гальмівних та збуджуючих систем мозку, особливо в різні стадії стресу [3]. Стрес-лімітуюча система, яка проявляє свою активність з перших хвилин захисної реакції є одним із механізмів, що регулює активність і реактивність стрес-системи [4]. Залишаються нез'ясованими питання щодо пускових механізмів активації стрес-лімітуючої системи. Нейрофармакологічні ліганди можуть слугувати сильним модулятором електричної активності головному мозку. Відомо, що фармакологічні препарати не однаково впливають на ЦНС за рахунок вибіркової дії на синаптичну передачу [5], отже й механізми, які лежать в

основі нейрофізіологічних корелятивів реактивних станів можуть відрізнятись. Тобто, за участі різних фармакологічних речовин як стрес-активуюча так і стрес-лімітуюча системи будуть працювати по-різному. Визначення ролі рівня активності нейрохімічних систем гіпокампа за умов довготривалого стресу допоможе розкрити нейрофізіологічні механізми, за допомогою яких існує саморегуляція, а також дозволить прослідити перебіг стрес-реакції, що може бути основою формування нового стійкого адаптивного системогенеза.

### **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ**

Усі дослідження проведені відповідно до існуючих міжнародних вимог і норм гуманного відношення до тварин. Експерименти були проведені на нелінійних білих щурах-самцях масою 200 – 230 г на початку експерименту. Тварин було поділено на 4 групи. В першу групу ввійшли контрольні тварини (n=35). Друга група (n=33) була представлена тваринами, яким створювали стресову зооконфліктну ситуацію шляхом обмеження життєвого простору до 80-100 см<sup>2</sup> на одну тварину [6, 7]. Усі наступні групи були представлені тваринами, які паралельно зі створеною зооконфліктною ситуацією отримували речовини, що певним чином модулювали синаптичну передачу. До тварин третьої групи (n=21) застосовували карбамазепін (50 мг/кг/добу), який сприяє підвищенню концентрації в центральній нервовій системі ГАМК, інгібує токи кальцію, потенціалзалежні натрієві канали і вихід із клітини калію, тобто модулює баланс гальмівних та збуджуючих процесів в ЦНС [8, 9]. Тварини четвертої групи (n=21) отримували амітриптилін (5 мг/кг/добу), механізм дії якого пов'язаний з пригніченням зворотного нейронального захоплення катехоламінів в ЦНС [8, 10]. Усі фармакологічні речовини щурам досліджуваних груп вводили перорально вранці (о 8<sup>00</sup> - 10<sup>00</sup>), натще. Об'єм фізіологічного розчину (для тварин 1 та 2 груп) чи розчинених препаратів складав 1 мл. З метою оцінки електричної активності (ЕА) гіпокампа щурів електрогіпокампограму (ЕГГ) відводили за умов гострого експерименту через 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 тиждень дослідження. В електрогіпокампограмі визначали відсоткову представленість хвиль в частотному діапазоні від 0,5 до 35 Гц. Статистичну обробку результатів дослідження проводили методом парних порівнянь. Достовірність різниць між контрольними та досліджуваними показниками визначали за t-критерієм Стьюдента (P<0,05) [11].

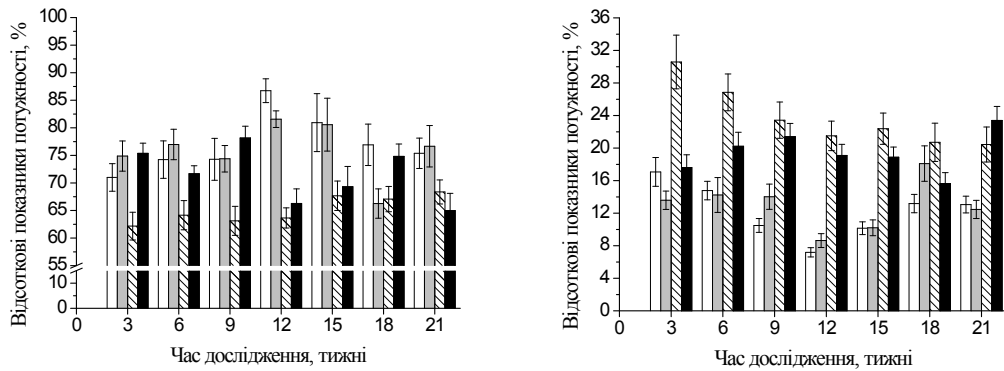
### **РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ**

Відсоткові показники потужності хвиль електричної активності гіпокампа щурів в частотному діапазоні від 0,5 до 4 Гц свідчать, що значення дельта-активності тварин контрольної групи у відсотковому співвідношенні протягом експерименту коливались в межах 71-87 % (рис. 1, А).

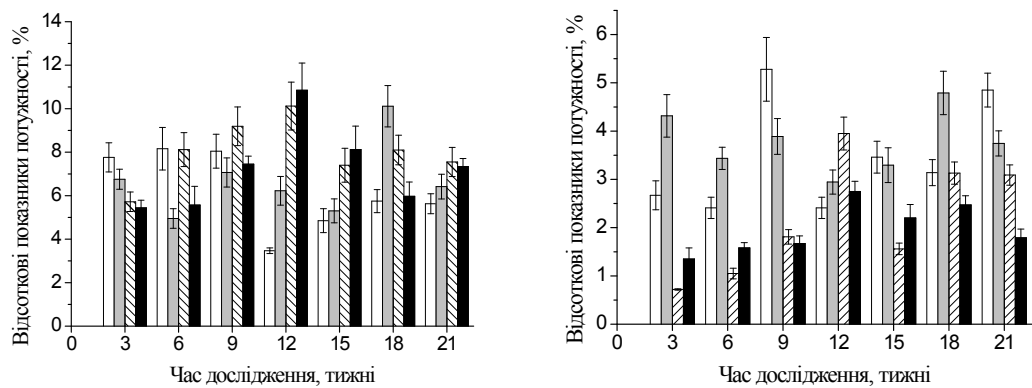
Превалювання дельта-активності електрогіпокампограми щурів контрольної групи у відсотковому співвідношенні, може бути, обумовлене видоспецифічними особливостями нейропередачі у тварин даного виду та, можливо, пов'язане з протіканням раннього постнаркозного періоду.

Щодо тета-ритму гіпокампа тварин контрольної групи, то він коливався в межах 7-17 % з максимальними значеннями через 3, 6 та 18 тижнів експерименту

(рис. 1, Б). Значення відносних показників потужності гіпокампа у діапазоні 8-13 Гц та 14-35 Гц у тварин контрольної групи були значно меншими по відношенню до показників низькочастотних діапазонів біоелектричної активності і коливались в межах 3,5-8 % (рис. 2 - А) та 2-5 % відповідно (рис. 2, Б).



**А** **Б**  
Рис. 1. Динаміка відносних значень потужності гіпокампа у дельта-діапазоні (А) та тета-діапазоні (Б) тварин контрольної (білі стовпчики) групи, за умов стресу (сірі стовпчики), на фоні застосування карбамазепіну (посмуговані стовпчики) та амітриптиліну (чорні стовпчики) протягом експерименту. По вісі абсцис – час від початку досліду, тижні; по вісі ординат – відсоткові значення потужності, %



**А** **Б**  
Рис. 2. Динаміка відносних значень потужності гіпокампа у альфа-діапазоні (А) та бета-діапазоні (Б) тварин контрольної (білі стовпчики) групи, за умов стресу (сірі стовпчики), на фоні застосування карбамазепіну (посмуговані стовпчики) та амітриптиліну (чорні стовпчики) протягом експерименту. По вісі абсцис – час від початку досліду, тижні; по вісі ординат – відсоткові значення потужності, %

Результати експериментальних даних свідчать про те, що динаміка відсотків потужностей ритмів ЕГГ тварин контрольної групи є фізіологічною і пов'язана з тривалістю експерименту.

На початку експерименту (через 3-6 тижнів) у тварин, що підлягали дії стресового чинника (II група) відсоткові показники потужності дельта-активності були достовірно більшими за аналогічні показники тварин, що жили за фізіологічних умов (рис. 1, А). А вже через 12-18 тижнів дослідження відсоткові показники потужності дельта-активності тварин, що підлягали дії стресового чинника були нижчими за показники потужності гіпокампограми тварин контрольної групи ( $P < 0,05$ ). Тобто, динаміка дельта-активності ЕГГ тварин контрольної групи та тих, що підлягали дії стресового чинника була схожою.

Динаміка відсоткових показників потужності тета-ритму ЕГГ щурів II групи була протилежною аналогічним значенням дельта-ритму (рис. 1, Б). Показники потужності тета-ритму електричної активності гіпокампа тварин, що підлягали дії довготривалого стресу були нижчими за відповідні показники тета-ритму тварин контрольної групи на початку (через 3-6 тижнів) та наприкінці (через 21 тиждень) дослідження ( $P < 0,05$ ) з максимальними значеннями через 6, 9 та 18 тижнів дослідження. Стосовно динаміки тета-ритму ЕГГ тварин I та II груп, то вони також були схожими, тільки дещо відрізнялись у кількісних показниках.

Відсоткові показники потужності високочастотної альфа-подібної активності тварин, що підлягали дії стресового чинника через 3, 6 та 9 тижнів дослідження були нижчими за аналогічні показники тварин контрольної групи, а починаючи з 12 тижня і до кінця експерименту – вищими ( $P < 0,05$ ) (рис. 2, А). Відсоткові показники потужності бета-подібної активності тварин, що підлягали дії стресу достовірно перевищували відповідні показники тварин, що жили за фізіологічних умов через 3, 6, 12 та 18 тижні дослідження (рис. 2, Б). А через 9, 15 та 21 тижні експерименту показники потужності бета-подібної активності ЕГГ у відсотковому співвідношенні тварин, що підлягали дії стресового чинника були достовірно меншими за відповідні значення ЕГГ щурів контрольної групи.

Таким чином, дія довготривалого стресу зумовила стійкі зміни в електричній активності гіпокампа щурів. Вже на ранній стадії дії стресового чинника (через 3-9 тижнів), характеризувались дифузною реакцією активації у вигляді синхронізації фонові електричної активності гіпокампа, що свідчить про зміни процесів взаємодії між складовими нейротрансмітерів гіпокампа і, відображає протікання фази тривоги стресу [4]. Через 9-15 тижнів експерименту синхронізація електричної активності в гіпокампі змінювалась десинхронізацією ритмів, яка є відображенням активної участі гіпокампа в процесі утворення стрес-реакції та характерною для вираженого емоційного напруження [12] і, можливо, є відображенням другої стадії стресу – стадії резистентності. Подальша дія стресової ситуації (через 15-21 тижні) викликала у тварин синхронізацію ЕА в гіпокампі. Можливо, такі зміни ЕЕГ щурів свідчать про зсуви в механізмах регуляції стрес-реакції і є нейрогенною основою стресу. Отже, здобуті дані дають підстави вважати, що стрес-реакція реалізується за допомогою зміни (переважно збільшення) продукції медіаторів і гормонів компонентами стрес-системи та відповідними структурами стрес-лімітуючих систем

й дозволяють припустити, що отримані електричні прояви в гіпокампі є наслідком його функціональної активації за умов протікання стадій стресу.

Протягом майже всього часу дослідження відсоткові показники потужності дельта-активності тварин, що на фоні розвитку стрес-реакції отримували карбамазепін (III група), були достовірно нижчими за аналогічні показники ЕГГ щурів II групи (рис. 1, А). Стосовно показників потужності тета-ритму у відсотковому співвідношенні тварин III групи, то вони були вищими за відповідні показники тварин, що підлягали дії стресового чинника протягом усього експерименту ( $P<0,05$ ) (рис. 1, Б). Аналізуючи відсоткові показники потужності альфа-подібної активності тварин, що на фоні розвитку стрес-реакції отримували карбамазепін бачимо, що через 6, 9, 12, 15 та 21 тижні дослідження вони були достовірно вищими за показники ЕГГ тварин, що підлягали дії стресового фактору (рис. 2, А), а через 3 та 18 тижні експерименту – меншими ( $P<0,05$ ). Максимальні значення відсоткових показників потужності альфа-подібної активності тварин, що на фоні розвитку стрес-реакції отримували карбамазепін спостерігались через 9 (9%) та 12 (10%) тижнів дослідження, а мінімальні – через 3 (5,7%), 15 (7,4%) та 21 (7,6%) тижні. Високочастотна бета-подібна активність гіпокампограми щурів III групи у відсотковому співвідношенні була достовірно нижчою через 3-9 та 15-21 тижні дослідження за аналогічні значення тварин, що підлягали дії стресового чинника з мінімальними показниками через 3 (0,7%), 6 (1%) та 15 (1,5%) тижнів експерименту (рис. 2 - Б). І лише через 12 тижнів дослідження значення відсоткових показників потужності бета-подібної активності тварин, що на фоні розвитку стрес-реакції отримували карбамазепін перевищували аналогічні показники ЕГГ щурів II групи ( $P<0,05$ ) з максимальним значенням 4%. Слід зазначити, що на початку експерименту (через 3-6 тижнів) у тварин, які на фоні розвитку стрес-реакції отримували карбамазепін спостерігалася синхронізація ЕГГ, яка змінювалась десинхронною активністю (через 9-21 тижні).

Тобто, при застосуванні карбамазепіну, підвищення вмісту ГАМК відбувається не як компенсаторна реакція на збільшення синтезу медіатора, а як відповідь на блокування натрієвих каналів та синтезу ГАМК-декарбоксилази. Так як ГАМК гіперполяризує постсинаптичну мембрану, то для її збудження необхідно підвищення квантової ємності медіатора, що, на наш погляд, ми спостерігали під час дослідження і в результаті чого відбувалася синхронізація електричної активності досліджуваних структур головного мозку щурів.

Відсоткова представленість дельта-активності гіпокампа щурів, що на фоні розвитку стрес-реакції отримували амітриптилін (IV група) серед сумарних показників електрогіпокампограми коливалася в межах 64-78 %, причому мінімальні значення були зареєстровані наприкінці спостереження (через 21 тиждень), а максимальні – через 9 тижнів (рис. 1, А). До того ж, у більшості випадків (окрім 3, 9 та 18 тижнів) відсоткові показники потужності дельта-діапазону гіпокампа щурів, до яких застосовували амітриптилін, були меншими ( $P<0,05$ ) за аналогічний результат щурів, що підлягали впливу стресової програми.

У динаміці відносної представленості тета-діапазону гіпокампа щурів, до яких застосовували амітриптилін, можна відмітити дві фази змін: через 3-9 тижнів та через

12-21 тиждень (рис. 1, Б). Загалом, відсоткова частка тета-ритму гіпокампограми щурів IV групи коливалась в межах 15-23 % та майже завжди (окрім 3 та 18 тижнів) достовірно була більшою за відповідні значення тварин II групи. Стосовно відсоткової частки альфа-подібної активності, то через 3-12 тижнів спостереження відмічалось поступове зростання показників ЕГГ щурів IV групи з 5% до 11 % (рис. 2, А). Надалі відмічалось поступове зменшення даних показників до 6 % (через 18 тижнів), які вже наприкінці дослідження (через 21 тиждень) відновлювались до 7 %. Зміни відсоткової представленості бета-діапазону гіпокампа щурів, до яких застосовували амітриптилін були найменшими та коливались в межах 1-2 % (рис. 2, Б). На початку експерименту (через 3 тижні) відсоткова частка бета-подібної активності гіпокампа щурів даної групи були найменшими і становили 1,3 %.

До того ж, на початку дослідження для гіпокампа тварин, що на фоні розвитку стрес-реакції отримували амітриптилін були характерними явища десинхронізації. Що можливо, пов'язано із зменшенням кількості медіатора у зв'язку з початковим розгортанням стрес-реакції. Проте вже наприкінці спостереження для ЕГГ були характерними явища синхронізації. Дані процеси, на нашу думку, пов'язані з пригніченням зворотного нейронального захоплення катехоламінів в досліджуваній структурі головного мозку. У зв'язку з цим наростає квантова активність, тобто спостерігається гіпермедіація. Як компенсаторна відповідь на це явище збільшується активність ГАМК-ергічної системи.

Таким чином, препарати, що застосовувались під час дослідження, в більшій чи меншій мірі впливали на синаптичну передачу, що певним чином відобразилось у модуляції електричної активності гіпокампа за умов довготривалого стресу. На основі отриманих нами результатів можна припустити, що найбільш імовірним ультраструктурним механізмом компенсації довготривалого стресу є створення умов для підвищення концентрації медіатора в синаптичній щілині шляхом стимулювання синтетичної активності пресинаптичного нейрону, блокади зворотного захвату медіатора (амітриптилін), чи блокади його поглинання (карбамазепін).

### **ВИСНОВКИ**

1. Формування електричної активності гіпокампа під час дії довготривалого стресу на початку експерименту супроводжувалось синхронізацією ритмів електрогіпокампограми, яка через 9-15 тижнів дослідження змінювалась десинхронізацією. Наприкінці експерименту десинхронізація електричної активності в гіпокампі знову змінювалась на синхронізацію.
2. При застосуванні карбамазепіну на початку експерименту (через 3-6 тижнів) спостерігалася синхронізація ЕГГ, яка змінювалась десинхронізацією (через 9-21 тиждень). Механізми, що лежать в основі цих явищ, на нашу думку, пов'язані з нейромодуляторною дією карбамазепіну.
3. Застосування амітриптиліну формувало двофазний характер ЕГГ у вигляді явищ десинхронізації (протягом перших 6 тижнів) та синхронізації (протягом 9-21 тижня) ритмів електричної активності в наслідок блокади зворотного захоплення медіатора, підвищення його поглинання та вторинної активації ГАМК-ергічного впливу на постсинаптичне збудження.

Список літератури

1. Степанова С.И. Биоритмологические аспекты проблемы адаптации / С.И.Степанова – М.: Наука, 1990. – №4 – С. 31.
2. Аркелов Г.Г. Стресс и его механизмы / Г.Г. Аркелов // Вест. Моск. Ун-та. Психология. – 1995. – №2 – С. 45–47.
3. Степанов С.С. Изменения ангиоархитектоники гиппокампа белых крыс при экспериментальном стресс-синдроме и их коррекция методом биорезонансной терапии / С.С. Степанов, Е.В. Кудинова // Омский научный вестник. – 2003. – №1 – С. 110–112.
4. Пшенникова М.Г. Феномен стресса / М.Г. Пшенникова // Пат. физиология и экспериментальная терапия. – 2000. – № 2. – С. 24–31.
5. Харкевич Д.А. Фармакология / Харкевич Д.А. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 544 с.
6. Ляшенко В.П. Модуляція параметрів ЕМГ щурів за умов зооконфліктної ситуації та застосування ніфедипіну / В.П. Ляшенко, О.З. Мельникова // Вісник ЗДУ, Серія Біол. Науки. – 2004. – № 2. – С. 188–192.
7. Ляшенко В.П. Влияние стрессового фактора на динамику изменения уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови крыс / В.П. Ляшенко, Е.А. Никифорова, М.А. Бойко // Вісник ДНУ, Серія Біологія, Екологія. – 2002. – Вип. 10, №2. – С. 32–36.
8. Лекарственные препараты в России: справочник Видаль / Ю.Ф. Исаков, Ф.И. Комаров, В.Г. Кулес [и др.] – М.: АстраФарм Сервис, 2001 – №2 – С. 35–245.
9. Wiffen P. Carbamazepine for acute and chronic pain / P. Wiffen, R. Moore // Fortschr Neurol Psychiatr. – 2005. – Vol.20, № 3. – P. 451–468.
10. Вайнштейн А.Э. Антидепрессанты в лечении стрессовых расстройств / А.Э. Вайнштейн // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2005. – Т. 7, № 2. – С. 120–127.
11. Лакин Г.В. Биометрия / Лакин Г.В. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
12. Ведяев Ф.П. Модели и механизмы эмоциональных стрессов / Ф.П. Ведяев, Т.М. Воробьева. – К.: Здоров'я, 1983. – 136 с.

**Сидоренко А. Г. Формирование электрической активности гиппокампа при условиях длительного стресса и модулирующего действия нейрофармакологических лигандов / А. Г. Сидоренко, Т. Г. Чаус, В. П. Ляшенко, О. З. Мельникова // Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2009. – Т. 22 (61). – № 4. – С. 167-173.**

Вывявлено, что действие длительного стресса приводило к изменениям показателей электрогиппокампограммы, связанных со стадиями стресса. Полученные данные о динамике электрической активности гиппокампа на фоне стресса и модулирования синаптической передачи нейрофармакологическими лигандами указывают на то, что не зависимо от механизма действия препаратов, отмечались синхронизирующие влияния, которые являются следствием протекания процессов саморегуляции при условиях стресса.

**Ключевые слова:** электрическая активность, гиппокамп, длительный стресс, карбамазепин, амитриптилин.

**Sydorenko A.G. Formation of electric activity hippocamp under conditions of long stress and modulating action neyropharmacological ligand / A.G. Sydorenko, T.G. Chaush, V.P. Lyashenko, O.Z. Melnikova // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. - Series: Biology, chemistry. - 2009. – V.22 (61). – № 4. – P. 167-173.**

It was proved that the effect of long stress lead to changing in indices of electrohippocampogram, which are connected with stress stages. The obtained data about dynamics of electric activity hippocamp against stress and modulation synaptycal transmission neyropharmacological ligand specifies that is not dependent on the mechanism of action of preparations, synchronising influences which are a consequence of course of processes of self-control under stress conditions were marked.

**Keywords:** electric activity, hippocampus, long stress, carbamazepin, amitriptylinum.

*Поступила в редакцию 04.12.2009 г.*