

T. G. Chaus, V. P. Lyashenko, S. M. Lukashov, G. G. Chaus
Action of amitriptyline on bioelectric activity of hippocampus on the background of development of long-term stress

УДК 612.82:615.214.24

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

Дніпропетровський національний університет

ДІЯ АМІТРИПТИЛІНУ НА БІОЕЛЕКТРИЧНУ АКТИВНІСТЬ ГІПОКАМПУ НА ФОНІ РОЗВИТКУ ДОВГОТРИВАЛОГО СТРЕСУ

Проаналізовано динаміку змін потужностей біоелектричної активності гіпокампу у тварин контрольної групи та за умов іммобілізаційного стресу паралельно зі щурами, які на фоні розвитку стрес-реакції приймали амітриптилін. Динаміка змін біоелектричної активності гіпокампу відображає особливості перебудови пристосувальних механізмів мозку при стійкій зміні режиму його функціонування за умов розвитку довготривалого стресу.

Dynamics of changes of capacities of hippocampus bioelectric activity in control rats, in animals under immobilization stress and in the long-term stressed rats, which was administrated by amitriptyline, was analyzed. The dynamics of changes of the hippocampus bioelectric activity reflects features of reorganization of the brain adaptive mechanisms with the constant change of its functioning mode under conditions of the long-term stress development.

Вступ

Живий організм намагається підтримувати оптимальні умови свого життя. Коли умови навколишнього середовища змінюються, індивідууми пристосовуються до цього шляхом адаптивної чи гомеостатичної відповіді, яка спрямована на захист внутрішнього середовища від небезпечних змін [3; 7]. Якщо організму висувають надмірні вимоги або погрози, адаптивна відповідь починає набувати неспецифічного

© Чаус Т. Г., Ляшенко В. П., Лукашов С. М., Чаус Г. Г., 2005

202

характеру – стан відомий як «стрес» [9]. Реакції організму в процесі взаємодії з чинниками середовища, які мають стресорний характер, можуть по-різному проходити залежно від сили чинника, часу впливу й адаптаційних можливостей організму, котрі визначаються наявністю функціональних ресурсів. Це обумовлено розвитком затяжного (довготривалого) стану негативного емоційного збудження. Виникнення емоцій посідає особливе місце у ряді пристосувальних реакцій тварин і людини, які забезпечують мобілізацію можливостей організму при зміні зовнішнього та внутрішнього середовища.

Гіпокамп як основний ланцюг емоційних реакцій є однією з ключових структур лімбічної системи, відповідальних за розвиток стійких адаптаційних реакцій мозку на стрес. Особливий інтерес при цьому становлять дослідження біоелектричної активності гіпокампу за ступенем участі головних ритмів ЕЕГ на фоні стресу, оскільки аналіз електроенцефалографічної активності може дати певну адекватну інформацію щодо механізмів формування та корекції стрес-реакції.

Багатокомпонентність дії фармакологічних препаратів регулює численні метаболічні, нейромедіаторні та інші зсуви в організмі й тим самим поширює компенсаторні можливості мозкових структур. Амітриптилін – трициклічний антидепресант, неселективний інгібітор зворотного нейронального захвату моноамінів. Антидепресивну дію амітриптиліну пов'язують зі стимуляцією адренергічних і серотонінергічних механізмів у головному мозку за рахунок пригнічення зворотного нейронального захвату медіаторів. Подібна дія може потенціювати або пролонгувати активність нейронів, оскільки зворотний захват грає важливу фізіологічну роль у передачі біогенних амінів. Препарат має седативну дію, антихолінергічну та антигістамінову активність, не здійснює прямої дії на ЦНС. Особливий інтерес приділяють дослідженням цих механізмів при стресі за рахунок обмеження рухової активності, які певним чином будуть порушуватися, що вплине, в свою чергу, на показники електроенцефалограми.

У нашій роботі ставилось завдання виявити особливості впливу амітриптиліну шляхом дослідження динаміки біоелектричної активності гіпокампу на фоні розвитку довготривалого стресу.

Матеріал і методи досліджень

Усі експерименти проведені відповідно до існуючих міжнародних вимог і норм гуманного ставлення до тварин.

Гострі експерименти проведені на нелінійних білих щурах-самцях масою на початку експерименту 200–230 г. Тварин поділено на три групи. Перша група слугувала контролем ($n = 24$). Ці щури жили за стандартними умовами утримання лабораторних тварин даного виду. Щурам другої ($n = 22$) та третьої ($n = 21$) груп утворювали стресову ситуацію шляхом обмеження життєвого простору до 80–100 см² на одну тварину. Це досягалось тим, що в стандартну клітку розміром 0,3 x 0,5 м² (де можна утримувати дві–три тварини) розміщували 21–22 щури. Для тварин цього виду така ситуація служить сильним стресовим чинником. На фоні означеної зооконфліктної ситуації до тварин третьої групи застосовували трициклічний антидепресант – 5-(3-диметиламінопропіліден)-10,11-дигідродибензоциклогептену гідрохлорид, добова доза якого склала 5 мг/кг. Фармакологічна назва цього препарату – амітриптилін, вона й надалі буде фігурувати в нашій роботі для полегшення сприйняття.

Експеримент тривав 21 тиждень. Зміни біоелектричної активності гіпокампу фіксували через кожні три тижні з початку експерименту. Хірургічна процедура та наступний експеримент виконувались під дією наркозу за таким дозуванням: кетамі-

ну 20 мг/кг та тіопенталу натрію 50 мг/кг маси тварини. Після наркозу тварину закріплювали в стереотаксичному приладі СЕЖ-2 (за конструкцією Ю. Н. Беленьова). Череп трепанували над постеромедіальною субзоною бочоночків (ПМСБ) коркової області за координатами: 2–3 мм каудальніше брегми та 5–6 мм латеральніше сагітального шва в області перехресту точки Бреґма (Bregma) з горизонтальною та інтрауральною віссю.

Фонову імпульсну активність гіпокампу реєстрували за допомогою уніполярного голчастого електрода, який занурювали в досліджену структуру перпендикулярно поверхні за допомогою маніпулятора. Координати гіпокампу (Hippocampus), визначені за атласом [4], були наступними: відстань від Bregma – 1,4 мм, латерально – 0,8 мм, вентрально – 4 мм. Після відновлення рухової активності щура починали запис електричної активності гіпокампу. Надалі підраховували середнє значення потужності кожного частотного діапазону біоелектричної активності та статистично визначали більш значимі відмінності потужностей гіпокамподіаграми в різних діапазонах ЕЕґ у тварин досліджених груп.

Отримані результати обробляли статистично з використанням поліпараметричного дисперсійного аналізу програми SPSS 10.0.5 (зміни вважали вірогідними при $p < 0,05$), комп'ютерних програм Mat Cad, Meanpow та Powspec (Інститут фізіології імені О. О. Богомольця, м. Київ), Origin professional 6.0. Для виявлення статистичної значимості впливу різних факторів на значення біоелектричної активності гіпокампу у різних діапазонах використовували багатофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). Для виявлення попарних розходжень величин між різними умовами експерименту як post-hoc аналіз використовували LSD-тест.

Результати досліджень та їх обговорення

Одним із найбільш характерних проявів, які спостерігалися протягом експерименту у тварин досліджених груп, було чітке вираження тенденції до збільшення частот домінуючої активності у гіпокампі періодів дельта-ритму (частоти порядку 0,3–3 Гц). Загальним феноменом, який спостерігався у тварин експериментальних груп, виявився характер розвитку потужностей упродовж 21 тижня дослідження.

Нами відмічено, що тенденція змін потужностей дельта-, альфа- та бета-ритмів у тварин I, II та III груп була подібною. У тварин контрольної та стресової груп збільшення потужності даних ритмів спостерігалось на 6-му (9-му) та 15-му тижнях дослідження. А у тварин, які на фоні стресу приймали амітриптилін, найбільші значення потужності мали місце на 12-му та 18-му тижнях експерименту. На нашу думку, така динаміка зміни потужностей у тварин I та II груп свідчить про зростання в організмі щурів вмісту «стресових» гормонів, які відіграють значну роль у довготривалих змінах нейрохімічних процесів у структурах мозку. Це відображається зменшенням логарифмічних показників потужності всіх хвиль гіпокампу, тобто характеризується десинхронізацією. Десинхронізація проявляється появою високочастотної, низькоамплітудної, нерегулярної за частотою електричної активності. Теоретичні та клінічні дослідження показують, що зв'язок між підвищенням рівня функціональної активності та десинхронізацією не випадковий [1].

Стрессова ситуація з часом призводить до глибоких та стійких змін електричної активності мозку та емоційної поведінки тварин. Очевидно, що в динаміці розвитку стресу поміж лімбічними структурами та негативними емоційними впливами поступово з'являлися тісні взаємовідносини, котрі, в цілому, максимально були виражені на 9-му та 21-му тижнях дослідження.

Динаміка змін потужності хвиль біоелектричної активності у тварин III групи впродовж експерименту свідчить про включення адаптивних механізмів організму, що можна охарактеризувати явищем синхронізації у нервових процесах гіпокампу, які мали місце починаючи з 12-го тижня експерименту. Це, на нашу думку, можна пов'язати з підвищенням потужності синаптичної передачі за рахунок блокади зворотного захвату медіатора.

Для того, щоб розподіл величин у діапазонах спектра потужності наблизити до нормального, нами введено логарифмічне значення потужності (десятичний логарифм від значення потужності).

Час дослідження по-різному впливав на показники потужності ритмів гіпокампограми. У тварин контрольної групи тривалість дослідження найбільш суттєво впливала на потужності альфа- та бета-ритмів і менш за все на дельта-ритм (табл. 1).

Таблиця 1

Динаміка відмінностей логарифмічних значень потужності біоелектричної активності гіпокампу у тварин контрольної групи

Ритми	Тривалість експерименту, тижні					
	6	9	12	15	18	21
δ	↑**	↓	↓*	↑*	↓	↑
α	↑*	↓	↓*	↑*	↓**	↑*
β	↑*	↑**	↓*	↑*	↓*	↑*

Примітка: «*» та «**» відмічено випадки достовірності зміни потужностей з $p < 0,05$ та $p < 0,01$ відповідно.

Вже на початку експерименту логарифмічне значення потужності (ЛЗП) дельта-ритму вірогідно збільшувалось на $0,398 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,014$). На 9-му та 18-му тижнях дослідження мала місце тенденція до зменшення ЛЗП. Логарифмічні значення потужності біоелектричної активності на 12-му та 15-му тижнях дослідження суттєво різнилися між собою: на 12-му тижні ЛЗП достовірно зменшувалось на $0,839 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$), а на 15-му тижні ЛЗП достовірно збільшувалось на $0,703 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$). Цей факт, як показують наші попередні дослідження [2; 6], можна пов'язати з тим, що саме в цей період експерименту в організмі щурів спостерігалось реактивне зростання вмісту «стресових» гормонів – глюкокортикоїдів і катехоламінів. На наш погляд, така динаміка потужностей біоелектричної активності гіпокампу у тварин відображає стадії формування та перебігу стрес-реакції.

Динаміка потужностей високочастотних ритмів гіпокампограми у тварин I групи була дещо відмінною від низькочастотних. Логарифмічні значення потужності альфа-ритму мали синусоїдальний характер змін. Так, на 6-му, 15-му та 21-му тижнях дослідження ЛЗП біоелектричної активності вірогідно збільшувались ($p < 0,001$) і становили $0,423$, $0,849$ та $0,407 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ відповідно. На 12-му та 18-му тижнях ЛЗП достовірно зменшувалось і становило $1,074 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$) та $0,266 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,016$) відповідно. Динаміка ЛЗП біоелектричної активності бета-ритму носила подібний до альфа-ритму характер змін. Із 3-го по 9-й тижні дослідження спостерігалось достовірне збільшення ЛЗП ($p = 0,005$ та $p = 0,029$). На 12-му тижні відмічено значне достовірне зменшення ЛЗП біоелектричної активності на $1,067 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$) та поступове його зростання на 15-му тижні на $0,751 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$).

Результати багатofакторного дисперсійного аналізу для тварин II групи, які підлягали впливу зооконфліктної ситуації, були дещо відмінними від даних контрольної групи (табл. 2). Характер зміни логарифмічних значень потужності низькочастотних і високочастотних ритмів гіпокампограми у тварин II групи був дещо відмін-

ним. Так, ЛЗП дельта-ритму вже на початку експерименту достовірно збільшувалось на $0,670 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$). Але вже на 12-му та 18-му тижнях мало місце зменшення ЛЗП біоелектричної активності на $0,529 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,006$) та на $0,550 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$). І лише на 21-му тижні показник ЛЗП вірогідно збільшувався на $0,919 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$).

Таблиця 2

Динаміка відмінностей логарифмічних значень потужності біоелектричної активності гіпокампу у тварин за умов стресу

Ритми	Тривалість експерименту, тижні					
	6	9	12	15	18	21
δ	↑*	↓	↓*	↑	↓*	↑*
α	↑**	↑	↓*	↑	↓*	↑*
β	↑**	↑	↓*	↑	↓*	↑*

Примітка: «*» та «**» відмічено випадки достовірності зміни потужностей з $p < 0,05$ та $p < 0,01$ відповідно.

Потужність альфа- та бета-ритмів упродовж експерименту змінювалась наступним чином. На 6-му тижні експерименту ЛЗП біоелектричної активності достовірно збільшувалось по відношенню до 3-го тижня на $0,262 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,040$) та $0,323 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,012$) відповідно. На 9-му та 15-му тижнях мала місце лише тенденція до збільшення ЛЗП без вірогідних змін. На 12-му та 18-му тижнях спостерігалось достовірне зменшення ЛЗП біоелектричної активності на $0,527 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$) та $0,311 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,005$) альфа-ритму, відповідно до $0,572 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$) та $0,383 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,001$) бета-ритму. І лише на 21-му тижні дослідження мало місце достовірне збільшення ЛЗП на $0,748 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$) та $0,771 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$) відповідно. На нашу думку, такі зміни характеру електричної активності гіпокампу за умов дії стресу не є випадковими.

Отримані результати підтверджують суттєву участь даної структури мозку у розвитку затяжних стресових реакцій, оскільки найбільш стероїдсенситивною структурою мозку, як відомо, є саме гіпокамп [5; 8; 10]. Глюкокортикоїдні рецептори приймають участь у розвитку стресових реакцій, як і гліоам гіпокампу. Відомо, що кортикостероїди опосередковують багато патологічних ефектів, які виникають при старінні, ішемії або довготривалому стресі. Кортикостероїдні гормони суттєво модифікують активність гіпокампу, де зміни можуть бути досить значними. Це обумовлює цілий каскад процесів, які призводять до значного фізіологічного дисбалансу.

Результати, отримані у тварин III групи, які на фоні розвитку стрес-реакції приймали амітриптилін, наведені у таблиці 3. Аналізуючи логарифмічні значення потужності дельта-ритму, ми виявили суттєві зміни лише на 12-му тижні дослідження. Узагалі, впродовж експерименту мала місце лише тенденція до змін ЛЗП біоелектричної активності як у бік збільшення, так і зменшення.

Таблиця 3

Динаміка відмінностей логарифмічних значень потужності біоелектричної активності гіпокампу у тварин за умов стресу та дії амітриптиліну

Ритми	Тривалість експерименту, тижні					
	6	9	12	15	18	21
δ	↑	↑*	↑*	↓	↑	↓
α	↓**	↑*	↑*	↓**	↑	↑
β	↓	↑*	↑*	↓**	↑*	↓

Примітка: «*» та «**» відмічено випадки достовірності зміни потужностей з $p < 0,05$ та $p < 0,01$ відповідно.

Дещо іншою була динаміка змін ЛЗП високочастотних ритмів. Потужність альфа-ритму на початку дослідження достовірно зменшувалась на $0,231 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,019$), а у бета-ритму спостерігалась лише тенденція до зменшення ЛЗП біоелектричної активності. Починаючи з 9-го тижня й до кінця експерименту потужність цих ритмів різко збільшувалась, досягаючи максимуму на 12-му тижні дослідження. При цьому логарифмічні значення потужності альфа- та бета-ритмів достовірно збільшувались. А вже на 15-му тижні зменшувались на $0,232 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,017$) та $0,220 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,025$) відповідно. З 18-го по 21-й тиждень ЛЗП альфа-ритму мали тенденцію до поступового збільшення потужності. Бета-ритм на 18-му тижні достовірно збільшувався на $0,308 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,002$), при цьому вже на 21-му тижні мав незначну тенденцію до зменшення значення потужності.

Результати дослідження, які порівнювали у тварин III групи з аналогічними I та II груп, наведені у таблиці 4.

Таблиця 4

Порівняльна характеристика відмінностей логарифмічних значень потужності між біоелектричною активністю гіпокампу тварин за умов стресу і застосування амітриптиліну та досліджуваних тварин I та II груп

Ритми	Група	Тривалість експерименту, тижні						
		3	6	9	12	15	18	21
δ	I	↓	↓**	↑**	↑*	↑*	↑*	↑*
	II	↓	↓*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*
α	I	↓	↓*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*
	II	↓	↓*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*
β	I	↓*	↓*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*
	II	↓*	↓*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*

Примітка: «*» та «**» відмічено випадки достовірної різниці потужностей з $p < 0,05$ та $p < 0,01$ відповідно.

При аналізі отриманих даних ми звернули увагу на те, що характер змін потужностей у тварин III групи відносно контролю та за умов дії стресу був подібним. Дельта-ритм змінювався так: на 3-му тижні дослідження мала місце тенденція до значного зменшення ЛЗП біоелектричної активності у тварин III групи по відношенню до показників ЛЗП тварин I та II груп. На 6-му тижні відмічено вірогідне зменшення ЛЗП на $0,383 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p = 0,013$) та $0,635 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$) відповідно. Починаючи з 9–12-го тижнів експерименту спостерігалось достовірне ($p < 0,001$) збільшення ЛЗП аж до закінчення спостереження.

Аналогічною була динаміка змін ЛЗП альфа-ритму. Лише зміни логарифмічних значень потужності бета-ритму дещо відрізнялися. З 3-го по 6-й тиждень дослідження мало місце достовірне зменшення ЛЗП біоелектричної активності на $0,350 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$) та $0,863 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$) у порівнянні з ЛЗП тварин контрольної групи та на $0,476 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$) та $0,973 \text{ мкВ}^2/\text{дек}$ ($p < 0,001$) відносно тварин, які підлягали впливу зооконфліктної ситуації. З 12-го по 21-й тиждень спостерігалось достовірне ($p < 0,001$) збільшення ЛЗП біоелектричної активності по відношенню до аналогічних результатів тварин I та II груп.

Висновок

Перші етапи дослідження (3–9 тижнів) показують розвиток адаптаційно-компенсаторної реакції, що проявляється в складних взаємовідносинах гіпокампу зі структурами, що включені в центральний ланцюг підтримки гомеостазу. На останніх тижнях дії стресу чітко простежується зростання ЛЗП усіх ритмів біоелектричної активності гіпокампу. Дія амітриптиліну протягом 21 тижня дослідження викликала зростання ЛЗП альфа- та бета-ритмів і зниження ЛЗП дельта-ритму, що може бути пов'язано зі змінами синаптичної передачі.

Бібліографічні посилання

1. **Зенков Л. Р.** Клиническая электроэнцефалография с элементами эпилептологии. – М.: МЕДпресс-информ, 2002. – 367 с.
2. **Лукашев С. Н.** Изменения гормонального спектра на ранних стадиях экспериментального атеросклероза / С. Н. Лукашев, В. П. Ляшенко, Ж. В. Зорова // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – Вип. 6. – Дніпропетровськ, 1999. – С. 7–12.
3. **Першин Ц. Б.** Стресс и иммунитет / Ц. Б. Першин, Т. В. Кончугова. – М., 1996.
4. **Стереотаксический атлас мозга крыс** // Электронная версия изготовлена под ред. проф. А. Ю. Буданцева. – Пушино: Аналитическая микроскопия, 2002.
5. **Шамякина В. Г.** Рецепторы кортикостероидов в мозгу как сигнальные системы стресса и адаптации / В. Г. Шамякина, Н. Э. Ордян // Успехи физиологических наук. – 2000. – Т. 31, № 4. – С. 86–111.
6. **Шеверева В. М.** Особенности формирования и обратимости эмоциональных нарушений у крыс при нейрогенном стрессе // Нейрофизиология. – 2003. – Т. 35, № 2. – С. 147–158.
7. **Ширяев О. Ю.** Нарушение вегетативного гомеостаза при тревожно-депрессивных расстройствах и методы их коррекции / О. Ю. Ширяев, Е. И. Ивлева // Прикладные информационные аспекты медицины. – Воронеж, 1999. – Т. 2, № 4. – С. 45.
8. **Distribution of the mineralocorticoid and glucocorticoid receptor mRNA in the rat hippocampus** / J. A. Van Ekeben, W. Jiang, E. R. de Kloet, M. C. Bohn // Neurosci. Res. – 1988. – N 21. – P. 88–94.
9. **Kamal E.** Нейроэндокринология стресса // Endocrinology and Metabolism Clinics. – 2001. – Vol. 30, N 3.
10. **The hippocampus: a site for modulator interactions between steroid hormones, neurotransmitters and neuropeptides** / D. S. McEwen, R. E. Briston, H. M. Chao et al. // Neuroendocrine Perspectives. – 1990. – N 8. – P. 93–132.

Надійшла до редколегії 03.10.05.