

М. П. БУЦХРИКИДЗЕ<sup>1</sup>, И. Г. БИЛАНИШВИЛИ<sup>1</sup>, Н. Г. БУКИЯ<sup>1</sup>,  
Н. А. ХИЗАНИШВИЛИ<sup>1</sup>, Л. И. МАЧАВАРИАНИ<sup>1</sup>, З. И. НАНОБАШВИЛИ<sup>1</sup>

## ВЛИЯНИЕ ОСТРОГО СТРЕССА НА РАЗВИТИЕ СУДОРОГ В МОДЕЛИ КИНДЛИНГА У КРЫС

Поступила 05.08.09

Изучалось влияние острого стресса, обусловленного ноцицептивным раздражением конечностей, на продолжительность электрокортикографической эпилептической активности и выраженность генерализованных моторных судорожных реакций в условиях киндлингиндуцированной модели эпилепсии у крыс. Спустя две и четыре недели после завершения процедуры киндлинга тестовые раздражения гиппокампа вызывали интенсивные приступы эпилептической активности. Кратковременная болевая стимуляция (интенсивное электрическое раздражение передних и задних конечностей) обусловила заметное ограничение как электрокортикографических, так и моторных поведенческих проявлений эпилептической активности при сформированном эпилептогенном очаге. Антиэпилептическое действие острого стресса было ограничено во времени; проявления данного эффекта достигали максимума спустя примерно 3 ч после болевой стимуляции, а через 6 ч он в значительной степени нивелировался.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** стресс, ницицептивная стимуляция, киндлинг, судорожная активность, гиппокамп.

### ВВЕДЕНИЕ

Актуальной проблемой неврологии является выяснение связей между развитием состояния стресса и генерализацией эпилептической активности. Такие анатомические структуры, как септум, гиппокамп, миндаля, медиальная префронтальная и орбитальная кора, ядра шва, ноцицептивные центральные пути (в частности, спино-таламо-кортикальный тракт), в существенной мере вовлечены в развитие стресса, в той или иной мере участвуют и в возникновении и распространении эпилептических феноменов в ЦНС [1–3].

Несмотря на то, что связи между стрессом и эпилептическими припадками были предметом многочисленных экспериментальных и клинических исследований, однозначных представлений об этих отношениях пока не сформировано. Изу-

чение данного вопроса осложняется следующими обстоятельствами. Практически невозможно точно количественно охарактеризовать уровень стресса. Восприимчивость к факторам, вызывающим стресс, в очень большой степени индивидуальна. Мониторинг взаимосвязи частоты и интенсивности проявлений эпилептических судорог с уровнем стресса у людей весьма сложен ввиду этических ограничений, несовершенства вопросников, нестандартизированности процедур при анализе электрокортикографических феноменов и нейрохимическом анализе и собственно экспериментальных подходов. Эти обстоятельства существенно затрудняют подобные исследования и ограничивают обоснованность применения антиэпилептической терапии.

Для получения объективной информации по данному вопросу целесообразно использовать модели эпилепсии в экспериментах на животных. Поэтому мы попытались на модели киндлинга [4, 5] установить, как изменяются электрокортикографические и поведенческие показатели судорожной активности в условиях индукции острого болевого стресса у крыс.

<sup>1</sup> Институт физиологии им. И. С. Бериташвили, Тбилиси (Грузия).  
Эл. почта: marina\_butskhrikidze@yahoo.com (М. П. Буцхрикидзе);  
irinebilanishvili@gmail.com. (И. Г. Биланишвили);  
nata\_buk@yahoo.com (Н. Г. Букия);  
nanakhizanishvili@gmail.com (Н. А. Хизанишвили);  
besarion@yahoo.com (З. И. Нанобашвили).

## МЕТОДИКА

Эксперименты выполнялись с учетом требований Декларации по использованию животных и уходу за ними, принятой Институтом физиологии им. И. С. Бериташвили АН Грузии, и Revised Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH GUIDE, 25(28), Хельсинки, Финляндия (1996).

Опыты были проведены на восьми самцах крыс ( $n = 8$ ) линии Вистар массой 200–250 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария, получая пищу и воду *ad libitum*.

Биполярные стальные электроды под нембуталовым наркозом (40 мг/кг) стереотаксически вживляли в вентральный гиппокамп (–4.8 мм каудально от брегмы, 5.2 мм латерально от средней линии и 6.5 мм вертикально от *dura mater*) [6] и моторную область неокортекса. Спустя семь–10 дней после операции гиппокамп раздражали в течение одного дня 40 сериями стимулов с интервалами 5 мин (продолжительность сеанса стимуляции 10 с, интенсивность 450 мкА, частота  $10 \text{ с}^{-1}$ , длительность стимула 1 мс). На второй день, а также спустя две и четыре недели после такой стимуляции производили тест-раздражения гиппокампа (пять стимулов с пятиминутными интервалами). В результате киндлинга у животных в головном мозгу создавался эпилептогенный очаг, который сохранялся на всю жизнь даже при отсутствии дополнительной стимуляции гиппокампа.

Далее таким животным, подвергнутым процедуре киндлинга, могло производиться ноцицептивное электрическое раздражение передних и задних конечностей в клетке с электрифицированным полом (прямоугольные стимулы 45 В через каждые 15 с в течение 1 мин), что обуславливало индукцию острого стресса.

У животных со сформированным эпилептическим очагом спустя 6 мин, 3 и 6 ч после болевой стимуляции отводили электрокортикограмму (ЭКоГ) и регистрировали поведенческие проявления эпилептической активности, инициированные тест-раздражением вентрального гиппокампа; электрокортикографические и поведенческие феномены после индукции стресса сравнивались с таковыми в отсутствие ноцицептивной стимуляции. Тестирование в различных условиях производилось в разные дни.

Для оценки интенсивности поведенческих проявлений судорожной активности использовали шкалу Рейсина [4]: 0 – нормальное поведение, воз-

можен моторный арест; 1 – встряхивание, клонус лицевых мышц; 2 – подергивание головы, отклонение туловища назад; 3 – клонические сокращения мышц передних конечностей; 4 – приподнимание на задние конечности, клонус передних конечностей; 5 – приподнимание на задние конечности, падение животного назад или на бок.

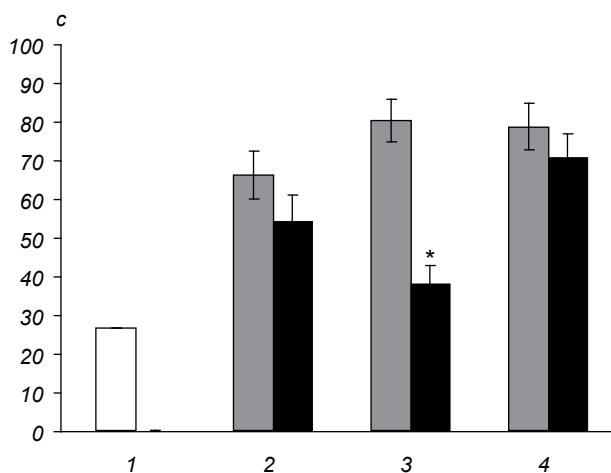
После завершения опытов животным вводили нембутал в летальной дозе, фиксировали мозг в 10 %-ном растворе формалина и определяли локализацию кончиков электродов на фронтальных срезах.

Для оценки межгрупповых различий параметров эффектов киндлинга числовые данные обрабатывали с использованием дисперсионного анализа (ANOVA). Статистически достоверными считали различия при  $P < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как уже упоминалось, для вызова эпилептической активности у крыс мы использовали схему ускоренного киндлинга, т. е. 40-кратное раздражение гиппокампа сериями стимулов с пятиминутными интервалами в течение одного дня. Через одни, 14 и 28 суток после завершения процедуры киндлинга животных подвергали пятикратным тест-раздражениям гиппокампа с пятиминутными интервалами. Результаты таких тестов показали, что уровень возбудимости был существенно повышенным как на следующий день, так и в более отдаленные сроки (через две и четыре недели) после процедуры киндлинга. Спустя 24 ч средняя оценка выраженности поведенческой судорожной активности была в 2.7 раза выше по сравнению с оценкой аналогичной активности после изолированных контрольных пяти тест-стимуляций, производившихся до начала индукции киндлинга ( $P < 0.01$ ).

В ходе последующих тестов мы регистрировали изменения судорожной активности после электрического раздражения лап у крыс с эпилептическим очагом при индукции болевого стресса и в его отсутствие. Как видно из рис. 1, через 6 мин после ноцицептивного электрического раздражения конечностей обнаруживалась явная тенденция к уменьшению продолжительности электрокортикографической судорожной активности после контрольных раздражений гиппокампа по сравнению с таковой в условиях без ноцицептивной стимуляции. Длительность периодов эпилептиформной электрокортикографической активности в данном



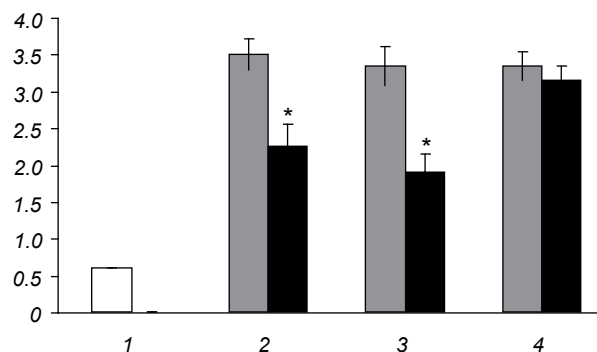
**Р и с. 1.** Подавление судорожных реакций, вызванных тест-раздражением гиппокампа, после кратковременной стрессогенной стимуляции.

Диаграммы средней длительности (с) электрокортикографических проявлений судорожной активности у крыс, подвергавшихся изолированному тест-раздражению гиппокампа (1), и крыс с киндлингиндуцированным эпилептическим очагом (2–4). Правые столбцы – данные для животных, получавших болевое электрическое раздражение передних и задних конечностей (45 В через каждые 15 с в течение 1 мин), левые – в отсутствие такого раздражения. 2 – спустя 6 мин, 3 – 3 ч, 4 – 6 ч после ноцицептивного электрического раздражения конечностей. Звездочкой отмечен случай достоверного различия средних значений ( $P < 0.01$ ).

**Р и с. 1.** Пригнічення судомних реакцій, викликаних тест-подразненням гіпокампа, після короткочасної стрессогенної стимуляції.

временном интервале после стрессогенной стимуляции в среднем по группе составляла  $54.0 \pm 4.6$  с, тогда как в отсутствие упомянутого болевого раздражения соответствующее значение составляло  $66.3 \pm 4.8$  с (различие было недостоверным из-за существенной интериндивидуальной вариабельности). В пределах того же временного интервала интенсивность поведенческих судорожных реакций после стрессирования равнялась в среднем  $2.3 \pm 0.3$  балла по сравнению с контрольным показателем  $3.5 \pm 0.2$  балла (различие достоверно,  $P < 0.05$ ).

Спустя 3 ч после болевого электрического раздражения конечностей указанная тенденция к подавлению судорожной активности, вызванной тест-раздражением гиппокампа, становилась еще более выраженной. Средняя длительность эпилептической электрокортикографической активности у стрессированных животных составляла  $38.0 \pm$



**Р и с. 2.** Подавление поведенческой судорожной эпилептической активности, вызванной тест-раздражением гиппокампа, после кратковременной стрессогенной стимуляции.

Диаграммы средних оценок интенсивности эпилептических моторных реакций (баллы). Обозначения те же, что и на рис. 1.

**Р и с. 2.** Пригнічення поведінкової судомної епілептичної активності, викликані тест-подразненням гіпокампа, після короткочасної стрессогенної стимуляції.

$\pm 4.7$  с, тогда как в отсутствие стрессиндуцирующей стимуляции она равнялась  $80.25 \pm 5.2$  с. Иными словами, влияние стресса в данном временном интервале обеспечивало сокращение длительности электрокортикографических проявлений эпилептической активности более чем вдвое ( $P < 0.01$ ). Соответствующие оценки интенсивности поведенческих моторных проявлений судорожной активности составляли  $1.9 \pm 0.3$  и  $3.4 \pm 0.2$  балла ( $P < 0.05$ ).

Через 6 ч после нанесения стрессиндуцирующих раздражений эффект подавления эпилептической активности в значительной степени нивелировался. Тенденция к некоторому уменьшению длительности электрокортикографической эпилептической активности и выраженности судорожных моторных эффектов еще сохранялась, но была крайне слабой, и соответствующие значения у стрессированных животных и в условиях контроля были близки и не демонстрировали существенных различий (рис. 1; 2).

Возможные механизмы, опосредующие влияние острого стресса на эпилептическую активность, очевидно, включают в себя, прежде всего, гипоталамо-гипофизарно-адреналовую ось (ГГО). Поскольку центральные структуры этой оси тесно связаны с амигдало-гиппокампальным комплексом, логично предполагать, что стрессиндуцирующие факторы способны существенно изменять функциональное состояние упомянутого комплекса [3, 7].

Ряд данных указывают на то, что влияния хронического и острого стресса на эпилептическую ак-

тивность заметно различаются [2, 3, 8, 9]. В наших опытах использовалось электрическое ноцицептивное раздражение конечностей, индуцирующее развитие состояния острого стресса. Возможно, именно острое кратковременное воздействие стрессогенных факторов боли и активации эмоциональных церебральных структур вызывает усиление секреции кортикостерона и соответствующее повышение эффективности ГАМК-эргических синаптических связей, что приводит к подавлению судорожной активности. Следует полагать, что в пределах этого временного интервала уровень эндогенного кортикостерона существенно возрастал. Действие стрессогенных факторов обуславливает также изменение уровней адренокортикотропного гормона и кортизола, причем содержание данных гормонов в крови заметно зависит от вида таких факторов [3, 5]. Под воздействием острого стресса также увеличивается содержание прогестерона в крови. Показано, что повышение уровня этого гормона оказывает модулирующее влияние на активность нейронов головного мозга. В частности, метаболит прогестерона аллопрегнанолаол активизирует ГАМК-эргические рецепторы [1–3]. Активация ГАМК-эргических синапсов тормозит генерализацию судорог, вызванную стимуляцией лимбических структур [10].

Таким образом, можно заключить, что воздействие острого стрессогенного фактора (ноцицептивной стимуляции) обуславливает заметное уменьшение продолжительности эпилептической электрокортикографической активности и частичное блокирование генерализации судорожных реакций. Действие острого стрессогенного фактора ограничено во времени (продолжительность соответствующих эффектов составляет несколько часов).

М. П. Буцхриқидзе<sup>1</sup>, І. Г. Біланішвілі<sup>1</sup>, Н. Г. Букія<sup>1</sup>  
Н. А. Хізанішвілі<sup>1</sup>, Л. ІІ. Мачаваріані<sup>1</sup>, З. І. Нанобаішвілі<sup>1</sup>

#### ВПЛИВ ГОСТРОГО СТРЕСУ НА РОЗВИТОК СУДОМ У МОДЕЛІ КІНДЛІНГА У ЩУРІВ

<sup>1</sup>Інститут фізіології ім. І. С. Беріташвілі АН Грузії, Тбілісі (Грузія).

#### Резюме

Вивчався вплив гострого стресу, зумовленого ноцицептивним подразненням кінцівок, на тривалість електро-

кортикографічної епілептичної активності та вираженість генералізованих моторних судомних реакцій у щурів з кіндлінгіндукованим епілептичним осередком. Через два й чотири тижні після завершення процедури кіндлінга тест-подразнення гіпокампа викликали інтенсивні напади епілептичної активності. Короткочасна больова стимуляція (електричне подразнення передніх і задніх кінцівок) зумовлювала помітне обмеження як електрокортикографічних, так і моторних поведінкових проявів епілептичної активності при сформованому епілептогенному осередку. Анти-епілептична дія гострого стресу була обмеженою в часі; прояви даного ефекту сягали максимуму приблизно через 3 год після больової стимуляції, а через 6 год епілептичні прояви у значній мірі нівелювалися.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. L. Andersen, M. Bignotto, R. B. Machado, and S. Tufik, "Different stress modalities result in distinct steroid hormone responses by male rats," *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **37**, 791-797 (2004).
2. M. L. Barbaccia, M. Serra, R. H. Purdyand, and G. Biggio, "Stress and neuroactive steroids," *Int. Rev. Neurobiol.*, **46**, 243-272 (2001).
3. B. S. McEwen and A. M. Magarinos, "Stress and hippocampal plasticity: implications for the pathophysiology of affective disorders," *Human Psychopharmacol.*, **16**, S7-S19 (2001).
4. R. J. Racine, "Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizures," *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **32**, No. 2, 281-294 (1972).
5. T. Sutula and J. Ockuly, "Kindling, spontaneous seizures, and the consequences of epilepsy: More than a model," in: *Models of Seizures and Epilepsy*, A. Pitkanen, P. Schwartzkroin, and S. Moshe (eds.), Elsevier, Amsterdam (2005), pp. 395-406.
6. G. Paxinos and Ch. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Acad. Press, New York (1983).
7. T. R. Taher, M. Salzberg, M. J. Morris, et al., "Chronic low-dose corticosterone supplementation enhances acquired epileptogenesis in the rat amygdale kindling model of TLE," *Neuropsychopharmacology*, **30**, 1610-1616 (2005).
8. R. D. Romeo, S. J. Lee, and B. S. McEwen, "Differential stress reactivity in intact and ovariectomized prepubertal and adult female rats," *Neuroendocrinology*, **80**, 387-393 (2004).
9. A. Vyas, S. Bernal, and S. Chattarji, "Effects of chronic stress on dendritic arborization in the central and extended amygdala," *Brain Res.*, **965**, 290-294 (2003).
10. B. Modhaddam, M. L. Bolinao, B. Stein-Behrens, et al., "Glucocorticoids mediate the stress-induced extracellular accumulation of glutamate," *Brain Res.*, **655**, 251-254 (1994).