

УДК 612.821.6+612. 822.3

ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ГАМКЕРГИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ МЕДИАЛЬНОЙ СЕПТАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ МОДУЛИРУЮТ СУДОРОЖНЫЕ РАЗРЯДЫ В ГИППОКАМПЕ

Кичигина В.Ф., Судницын В.В., Брагин А.Г.

У бодрствующих кроликов исследовали влияния антагониста ГАМК_A рецепторов пикротоксина и агониста мусцимола, вводимых в медиальную септальную область, на ЭЭГ гиппокампа и на судорожные разряды, вызываемые стимуляцией перфорирующего пути (модель острой эпилепсии). Инъекция пикротоксина (0.5-1 нМ/1 мкл) приводила к возрастанию дельта- и тета-модуляции и появлению осцилляций с частотой 7-12 Гц, а также к резкому снижению порога генерации судорожных послеразрядов. Пикротоксин в большей дозе (1-1.5 нМ/1 мкл) в большинстве случаев вызывал осцилляции 7-15 Гц, с последующими электрографическими и поведенческими судорогами. Мусцимол (10-15 нМ/1 мкл) снижал амплитуду гиппокампальной активности без изменения ее частотного состава. В дозе (20-30 нМ/1 мкл) мусцимол ослаблял выраженность тета-ритма и значительно понижал амплитуду ЭЭГ. Введение агониста на фоне развившихся пикротоксиновых судорог, возвращало активность к контрольному уровню в течение 3-5 минут. Обсуждаются возможные механизмы влияния ГАМКергических внутрисептальных и септо-гиппокампальных взаимодействий на нормальную и судорожную активность гиппокампа.

Эпилепсия является одним из наиболее распространенных неврологических заболеваний. Височная форма эпилепсии практически не поддается существующим методам лечения и ассоциируется со склерозом полей СА1 и СА3 гиппокампа [5]. До настоящего времени неизвестно, какую роль в развитии этого заболевания играет медиальная септальная область (МС) – главный субкортикальный вход в гиппокамп. Эта область является основным источником холинергических и ГАМКергических афферентов гиппокампа [2,3]. В более ранней работе на модели острой эпилепсии нами было показано, что при возникновении судорожных разрядов септо-гиппокампальная система функционирует как единая нейронная сеть [1]. Целью данных экспериментов было выяснение влияния блокады или активации ГАМК_A рецепторов МС на развитие судорожной активности в гиппокампе.

Методы

Эксперименты проведены на бодрствующих, слегка ограниченных в движениях кроликах. За неделю до начала экспериментов проводили операцию по вживлению в поле СА1 гиппокампа электрода для отведения ЭЭГ, а в ангулярный пучок – электрода для раздражения перфорирующего пути (ПП, неокортикальный вход в гиппокамп); над МС устанавливали канюлю, посредством которой во время опытов в МС вводили антагонист ГАМК_A рецепторов пикротоксин (1-1.5 нМ/1 мкл) или агонист мусцимол (10-30 нМ/1 мкл). Судорожную активность вызывали стимуляцией ПП (5 Гц, 50-200 мкА, 10-20 сек). Запись ЭЭГ гиппокампа и ее обработку производили на компьютере Pentium-300 с помощью специальной программы. Для анализа ЭЭГ использовали метод быстрого преобразования Фурье. Для каждого теста вычисляли максимальное значение спектральной мощности частот от 0.5 до 30 Гц (шаг 0.5 Гц) в последовательных 1-минутных записях. Эффекты оценивали в процентном отношении к среднему контрольному значению, при-

нимаемому за 100%. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Origin 4.1; достоверность отличий от контроля определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA); $p < 0.05$ принимали за порог значимости различий.

Результаты

На трех кроликах проведено 60 опытов по регистрации активности гиппокампа в контроле (до введения веществ) и в опыте (в разные периоды времени после инъекции препаратов).

В контроле в ЭЭГ гиппокампа бодрствующих кроликов доминировала активность в полосах дельта- и тета-частот: 2-3.5 Гц и 4-6.5 Гц, соответственно. Активность в полосе 7-15 Гц была выражена слабо, а в полосе 15-30 Гц, как правило, отсутствовала (рис. 1, 1).

Инъекция в МС антагониста ГАМК_A рецепторов пикротоксина (0.5-1 нМ /1 мкл), вызывала постепенное, в течение 2-4 мин, изменение частотного состава ЭЭГ: возрастание мощности как дельта, так и тета-частот (в среднем на 145 ± 19 и 158 ± 21 %, $p < 0.05$) (рис. 1, 2). Кроме того, в 36 % экспериментов было выявлено постепенное усиление (на 179 ± 20 %, $p < 0.01$) или появление волн с частотой 7-12 Гц (рис. 1, 2-1 – 2-3); в отдельных случаях это сопровождалось дрожью вибрисс и легким беспокойством у животных, что, возможно, свидетельствовало о предсудорожном состоянии. Введение на этом фоне мусцимола (10-15 нМ) приводило к быстрому, в течение 1-3 мин, восстановлению активности (рис. 1, 3). Пикротоксин в указанных дозах резко снижал порог возникновения эпилептиформных разрядов при нанесении тетанизирующей стимуляции на ПП (рис. 2). Пикротоксин в дозах 1.2-1.5 нМ /1 мкл в большинстве случаев вызывал электрографические и поведенческие судороги (рис.3). Характерно, что перед появлением эпилептических разрядов в ЭЭГ гиппокампа наблюдалось рез-

кое возрастание (на 245 ± 21 %, $p < 0.001$) или возникновение осцилляций с частотой 7-15 Гц, которые могли сопровождаться беспокойством и дрожью вибрисс (рис. 3, 2-1). Через 3 ± 0.5 мин в 80 % случаев после введения этой дозы пикротоксина развивались электрографические и поведенческие судороги (рис. 3, 2-2). Введение на этом фоне агониста мусцимола (15-30 нМ), как правило, приводило к ослаблению или прекращению судорог уже через 3-5 мин (рис. 3, 3).

Введение в МС агониста ГАМК_A рецепторов мусцимола (10-15 нМ / 1 мкл) в 89 % проб приводило к незначительному снижению амплитуды гиппокампальной ЭЭГ, без изменения ее спектрального состава. Иногда наблюдалась стабилизация активности на частоте 4-4.5 Гц, при параллельном снижении амплитуды ритмических волн в этом диапазоне. Мусцимол в дозе 20-30 нМ вызывал существенное снижение мощности ритмической активности в тета-диапазоне (на 142 ± 16 %, $p < 0.05$) (рис. 4, 2), а также некоторое возрастание выраженности дельта-частот (на 129 ± 15 %, $p < 0.05$). Введение пикротоксина (1.25-1.5 нМ) через 5 мин после инъекции мусцимола (20-30 нМ) не приводило к развитию патологической активности (рис. 4, 3). Тетанизация ПП с обычными параметрами также не вызывала развития судорог (рис. 4, 4).

Обсуждение

Итак, нами впервые показана возможность управления гиппокампальной судорожной активностью при локальном воздействии на ГАМКергическую систему медиальной септальной области. Можно полагать, что введение в МС веществ ГАМКергической природы изменяет взаимоотношения между септальными нейронами, что приводит к изменению

суммарного выходного сигнала септум, и, как следствие, к изменению активности гиппокампа. Морфологические и электрофизиологические исследования демонстрируют сложные внутрисептальные нейронные коммуникации [4,9]. Недавние работы показали значительное разнообразие биохимических свойств клеток МС, проецирующихся на гиппокамп: кроме холинергических и ГАМКергических проекционных нейронов, обнаруженных в классических работах [2,3,8], выявлены глутаматергические клетки и нейроны, в которых колокализуются ГАМК и ацетилхолин [7]. В МС также выявлены локальные ГАМК-содержащие клетки (интернейроны), образующие basketные синаптические контакты на проекционных ГАМКергических септальных нейронах, и осуществляющих тормозный контроль их активности [4]. Последние, проецируясь на тормозные нейроны гиппокампа, осуществляют функцию "растормаживания" его основных, пирамидных клеток [8]. Мы предполагаем, что при введении пикротоксина в МС блокируется тормозный контроль растормаживающего ГАМКергического влияния МС на гиппокамп. Это, по-видимому, объясняет снижение порога генерации эпилептической активности в гиппокампе под пикротоксином, обнаруженное в нашей работе. Введение мусцимола может приводить к усилению внутрисептального тормозного контроля. В наших экспериментах это проявлялось в повышении порога генерации судорожной активности.

Работа поддержана фондом "Университеты России" (грант № УР 07.01.055) и фондом президента РФ (грант № НШ-1872.2003.4).

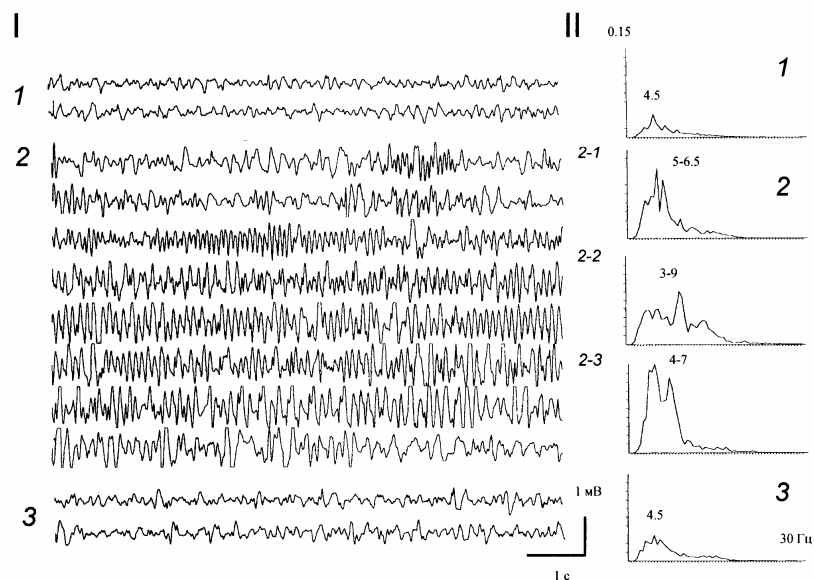


Рисунок 1. Изменение суммарной активности гиппокампа при введении антагониста ГАМК_A рецепторов пикротоксина (0.75 нМ) в МС. I – ЭЭГ гиппокампа в контроле (1), после введения пикротоксина (2) и после введения (на фоне действия пикротоксина) агониста ГАМК_A рецепторов мусцимола (30 нМ) (3). II – спектральные гистограммы для контрольной ЭЭГ (1), для ЭЭГ под пикротоксином (2) и мусцимол (3). По оси абсцисс – частота, Гц; по оси ординат – мощность ритмического процесса, относительные единицы. Цифры над гисто-

граммами – спектральные максимумы. На I и II: 2-1 – 3 мин, 2-2 – 10 мин, 2-3 – 14 мин после введения пикротоксина.

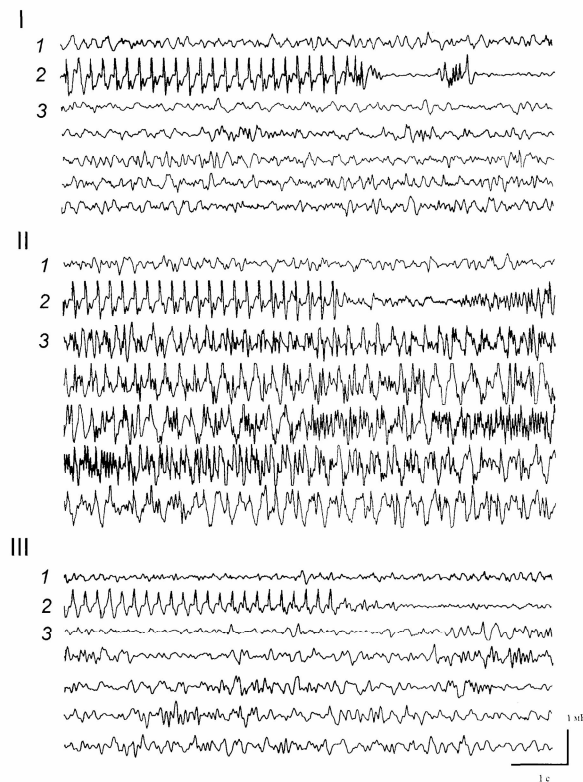


Рисунок 2. Снижение порога развития судорожных послеразрядов в гиппокампе (вызванных стимуляцией перфорирующего пути), после введение пикротоксина в МС. I – Контроль: 1 – фоновая активность. 2 – стимуляция перфорирующего пути, вызывающая единичный послеразряд. 3 – активность после стимуляции; сохраняется исходный паттерн разрядов. II – Введение пикротоксина: 1 – фоновая активность. 2 – стимуляция, вызывающая множественные послеразряды. 3 – развитие судорог. III – Введение мусцимола: 1 – фоновая активность. 2 – стимуляция перфорирующего пути, не вызывающая послеразрядов. 3 – активность после стимуляции; сохраняется исходный паттерн разрядов.

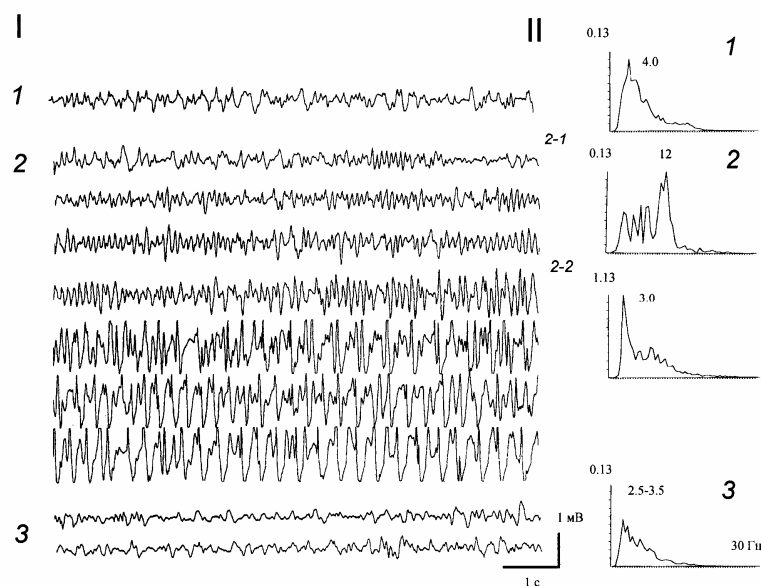


Рисунок 3. Возникновение судорожной активности в гиппокампе при инъекции в МС пикротоксина в дозе 1.5 нМ. I – ЭЭГ гиппокампа в контроле (1), после введения пикротоксина (2) и после введения (на фоне действия пикротоксина) агониста ГАМК_A рецепторов мусцимола (3). II – спектральные гистограммы для контрольной ЭЭГ (1), для ЭЭГ под пикротоксином (2) и мусцимолем (3). По оси абсцисс – частота, Гц; по оси ординат –

мощность ритмического процесса, относительные единицы. Цифры над гистограммами – спектральные максимумы. На I и II: 2-1 – 2 мин, 2-2 – 4 мин после введения пикротоксина.

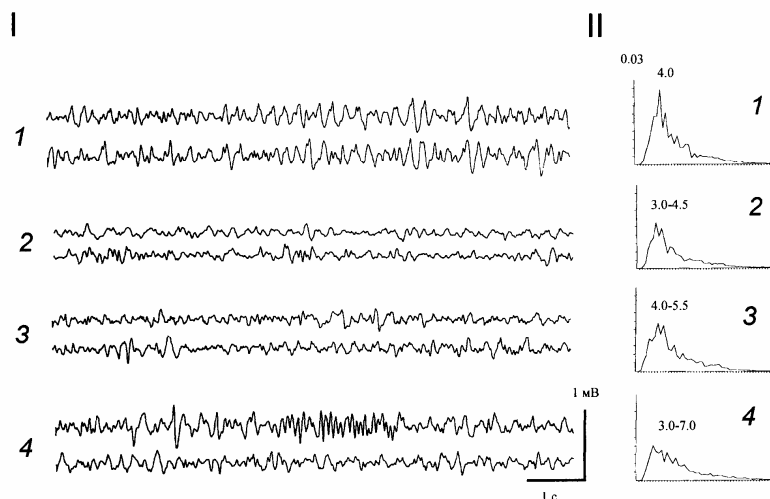


Рисунок 4. Изменение суммарной активности гиппокампа при введении агониста ГАМК_A рецепторов мусцимола (30 нМ) в МС. I – ЭЭГ гиппокампа в контроле (1), после введения мусцимола (2), после введения (на фоне действия мусцимола) антагониста ГАМК_A рецепторов пикротоксина (1.5 нМ) (3), и после стимуляции перфорирующего пути на фоне действия веществ (4). II – спектральные гистограммы для контрольной ЭЭГ (1), для ЭЭГ под мусцимолом (2), пикротоксином (3) и после стимуляции на фоне действия веществ (4). По оси абсцисс – частота, Гц; по оси ординат – мощность ритмического процесса, относительные единицы. Цифры над гистограммами – спектральные максимумы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кичигина В.Ф., Брагин А.Г. // Журн. высш. нерв. деят. 2005. В печати.
2. Freund T.F., Antal M. // Nature. 1988. Vol.336. P.170.
3. Frotscher M., Leranath C. J. // Comp. Neurol. 1985. Vol.239. P.237.
4. Henderson Z., Fiddler G., Saha S., Boros A., Halasy K. // European J. Neurosci. 2004. Vol.19. P.2753.
5. Lewis D.V. // Curr. Opin. 1999. Vol.12. P.197.
6. Petshe H., Stumpf C., Gogolák G. // Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol. 1962. Vol.14. P. 202.
7. Sotty F., Danik M., Manseau F., Laplante F., Quirion R., Williams S. // J. Physiol. 2003. Vol.551. P.927.
8. Toth K., Freund T.F., Miles R. // J. Physiol. 1997. Vol.500. P.463.
9. Wu M. Hajszan T., Leranath C., Alreja M. // European J. Neurosci. 2003. Vol. 18. P.1155

INFLUENCES TO THE GABAergic SYSTEM OF MEDIAL SEPTAL REGION MODULARE SEIZURE DISCHARGES IN THE HIPPOCAMPUS

Kitchigina V.F., Sudnitsin V.V., Bragin A.G.

The influences of GABA_A receptor antagonist picrotoxin and agonist muscimol delivered into medial septal region, on the hippocampal EEG and afterdischarges induced by perforant path stimulation (model of acute epilepsy) were investigated in the awake rabbit. Picrotoxin injection (0.5-1 nM/1μl) induced the increasing of the delta- and theta modulation and appearance of 7-12 Hz oscillations. Picrotoxin in the dosage of 1.2-1.5 nM in the most cases evoked the oscillations 7-15 Hz followed by EEG and behavioral seizures. Muscimol (10-15 nM/1μl) decreased the amplitude of hippocampal activity without changing of its frequency composition. In the dosage of 20-30 nM/1μl muscimol inhibited the theta rhythm expression and significantly decreased the amplitude of the EEG. Delivery of the agonist on the background of picrotoxin seizure development, restored the activity to the control level during 3-5 minutes. Possible mechanisms of GABAergic intraseptal and septohippocampal interrelations are discussed.