

УДК 611.818.3:612.178:612.28

Н. Г. Сергиенко, В. П. Прожого

### ХАРАКТЕРИСТИКА УСЛОВНОРЕФЛЕКТОРНОГО СУДОРОЖНОГО ПРОЦЕССА ЛИМБИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ПОДАВЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ

К важнейшим проблемам нейрофизиологии, имеющим непосредственный выход в практику, относится исследование роли механизмов центральной нервной системы в возникновении и развитии судорожных состояний. Одним из путей изучения судорожных состояний является их моделирование. Исследование адекватной физиологической модели позволяет сделать определенные выводы, важные не только в теоретическом плане, но имеющие и клиническое значение. Условнорефлекторная модель эпилепсии относится к наиболее физиологическим моделям этого заболевания, позволяющим подвергнуть анализу механизм возникновения и развития патологической судорожной активности. Не вызывает сомнения и тот факт, что в сложных нейродинамических процессах, характерных для развития судорожного состояния, важное значение имеют нейромедиаторные механизмы. Есть основания полагать, что механизмы возникновения, развития и прекращения судорожных состояний в значительной степени определяются сложной нейрохимической динамикой хемореактивных систем, обеспечивающих передачу нервного импульса в синаптическом аппарате [4, 5, 8—11]. В ряде экспериментов [1, 2, 3, 19] была показана высокая чувствительность лимбических структур мозга к электрической стимуляции и установлено, что лимбические структуры имеют наименьший судорожный порог.

Мы изучали конкретные механизмы формирования и развития условнорефлекторного эпилептиформного процесса лимбического происхождения в условиях воздействия на функционирование нейромедиаторных механизмов. При этом исследовали влияние ингибитора моноаминоксидазы (МАО, моноамин:  $O_2$ -оксидоредуктаза дезаминирующая КФ 1.4.3.4.) ипрониазида на характеристики экспериментальной условнорефлекторной эпилепсии.

#### Методика исследований

Работа выполнена на 26 кроликах породы шиншилла, обоего пола, весом 2100—2500 г. Животным предварительно, используя стереотаксический метод, производили вживление электродов в кору и глубинные структуры мозга. Имплантировали электроды двух типов — монополярные — для регистрации биоэлектрической активности и биполярные — для стимуляции структур лимбической системы. В качестве материала для электродов использовали константовый провод в лаковой изоляции диаметром 0,1—0,15 мм. Биполярные электроды для стимуляции лимбических образований готовили также из константана в лаковой изоляции, покрытого стеклом. Электроды вживляли по стереотаксическим координатам атласа Фифковой и Маршалла [12] в следующие структуры мозга: базальное ядро миндалины, латеральное ядро миндалины, дорсальный и



вентральный гиппокамп, сенсомоторную кору, латеральную гипоталамическую область (рис. 1).

Биоэлектрическую активность регистрировали на 16-канальном электроэнцефалографе ЭЭГ-16-01, а в ряде экспериментов на 4-канальном приборе 4-ЭЭГ-01. Электрическую стимуляцию базального ядра миндалевидного комплекса осуществляли импульсами прямоугольного тока частотой 30 Гц, длительность импульса 1 мс, время раздражения 3 с. Предварительно у животных определяли порог стимуляции на возникновение судорожных разрядов (СР), а в дальнейшем пользовались этой величиной как кон-



Рис. 1. Локализация электродов в глубинных структурах мозга кроликов. Видны участки коагуляции в области кончиков электродов.

А — базальное и латеральное ядра миндалин, латеральная гипоталамическая область; Б — дорсальный гиппокамп.

трольной. В экспериментах по стимуляции применяли интенсивность раздражителя на 10% меньше контрольной. Так как в процессе стимуляции порог раздражения изменяется (как правило, в сторону уменьшения), каждый последующий день уменьшали напряжение стимуляции на 10% от предыдущей, однако, если в процессе стимуляции СР не возникали, возвращались к ранее выбранной величине. У каждого животного в процессе выработки условнорефлекторной реакции производили 150—300 стимуляций. Стимуляцию осуществляли с помощью электронного стимулятора ЭСУ-1 через радиочастотные приставки и специальное устройство, блокирующее проникновение сигнала стимулятора на выходы электроэнцефалографа.

Условнорефлекторную эпилептиформную реакцию лимбического происхождения вырабатывали по следующей схеме: в качестве условного раздражителя использовали звук (звонок) интенсивностью 40 дБ продолжительностью 10 с. Одновременно со звонком происходило затемнение экспериментальной камеры, которая вновь освещалась по окончании действия звука. В момент окончания действия звукового раздражителя включали прямую электрическую стимуляцию базального ядра миндалевидного комплекса. За 40 с до начала действия условного раздражителя, непосредственно во время его действия, а также в течение 1 мин после электрической стимуляции, производили регистрацию биоэлектрической активности исследуемых структур мозга. Подачу условных и безусловных раздражителей, включение и выключение приборов выполняли автоматически с помощью специально сконструированного нами программного устройства, которое обеспечивало возможность вмешательства экспериментатора в любой из элементов программы, а также ее изменения вручную. Такого рода сочетания условного и безусловного раздражителей производили каждые 30 мин — всего до 10 сочетаний в день.

Морфологический контроль локализации электродов выполняли по методике Фокс и Эйсмана [13], для чего из фиксированного формалином мозга вырезали блок со следами электродов. На замораживающем микротоме из него готовили срезы толщиной 100—150 мкм. Готовые срезы заливали глицерином и фотографировали через увеличитель на негативную фотопленку. Из полученных негативов контактным способом готовили отпечатки.

Ипрониазид вводили подкожно в дозе 100 мг/кг.

### Результаты исследований

*Динамика формирования условнорефлекторной эпилептиформной реакции.* В ходе многократного сочетания условного и безусловного раздражителей наблюдались закономерные изменения характера биоэлектрической активности исследуемых структур мозга. В процессе



многократных стимуляций, в полном соответствии с теорией «разжигающего эффекта» *Kindling Effect*) — *KE* [17], в мозге развивались явления, характеризующиеся появлением на ЭЭГ отдельных разрядов, общим повышением средней частоты ЭЭГ, развитием десинхронизации или наоборот, появлением  $\Theta$ -ритма, на котором отмечалось наложение высокочастотных низкоамплитудных разрядов. Как правило, начиная

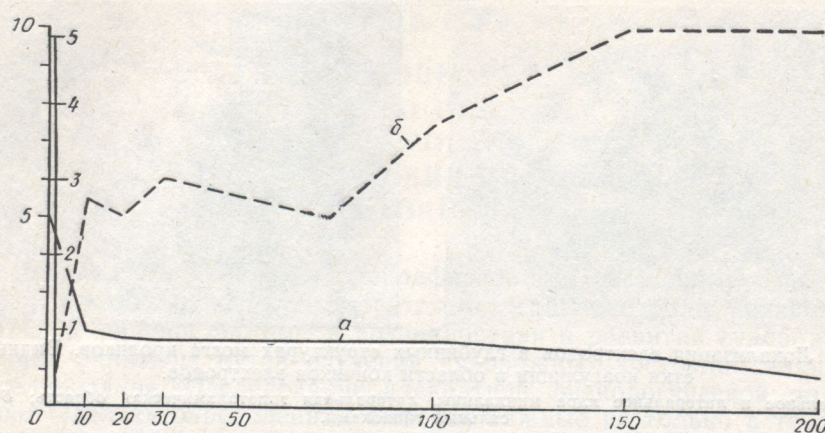


Рис. 2. Динамика порога судорожной электрографической реакции и длительности СР в процессе увеличения количества сочетаний условного и безусловного раздражителей (кролик № 16)).

По вертикали: а — порог судорожной реакции (в В), б — длительность СР (в с). По горизонтали — количество сочетаний.

с первых стимуляций, и, особенно заметно, в течение первых 20—30 стимуляций, происходило падение судорожного порога электрической стимуляции (в два раза и более) и значительное повышение длительности СР (среднее в 10—20 раз), а также их проявляемости (в исходном состоянии — 75%, через 10—15 стимуляций — 100%) — рис. 2.

Наблюдаемые сдвиги характера ЭЭГ можно интерпретировать в рамках гипотезы формирования функционального эпилептического очага в процессе многократных электрических стимуляций [6].

Проверку выработки условного рефлекса производили путем периодической подачи условного раздражителя без подкрепления его безусловным. Анализ наших результатов свидетельствует о том, что выработка условнорефлекторной реакции происходит с большим трудом и у немногих животных (3 из 16). Количество стимуляций, после которых возможно появление судорожной электрографической реакции, находилось в пределах 150—300 сочетаний. Однако даже через 150 сочетаний, как правило, устойчивой реакции на действие условнорефлекторного раздражителя мы не получали (рис. 3). Таким образом, воспроизведенная у животных условнорефлекторная реакция была неустойчивой и чрезвычайно легко угасала при неподкреплении.

*Влияние ипрониазида на развитие условнорефлекторных эпилептиформных припадков лимбического происхождения.* В данной серии экспериментов после предварительной подготовки животного и введения препарата сразу же начинали повторения сочетаний условного и безусловного раздражителей. После введения ипрониазида обращает на себя внимание, прежде всего, чрезвычайно быстрое (за четыре — пять сочетаний) появление синдрома *KE*. В исследуемых областях



мозга появлялись острые волны, высокочастотные разряды, выраженная аритмичность в характере биоэлектрической активности. Развитие условнорефлекторной реакции на звук начиналось уже через 10—15

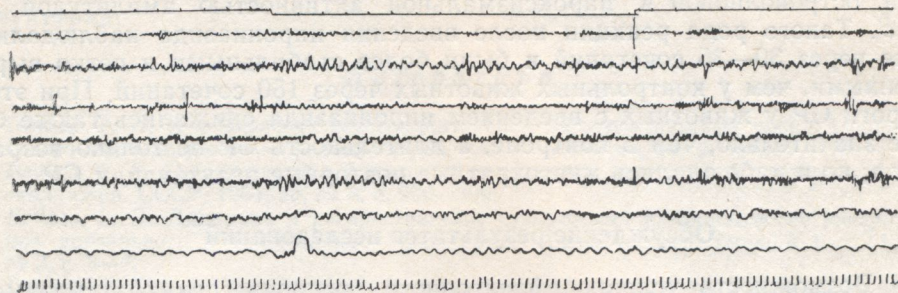


Рис. 3. Биоэлектрические проявления реакции на звуковой сигнал после 150 сочетаний условного и безусловного раздражителей (кролик № 16).

Сверху вниз: отметка времени (1 с) и раздражения, кора, базальное миндалевидное ядро, гиппокамп дорсальный, гиппокамп вентральный, латеральная гипоталамическая область, вентро-медиальное ядро гипоталамуса, дыхание, ЭКГ.

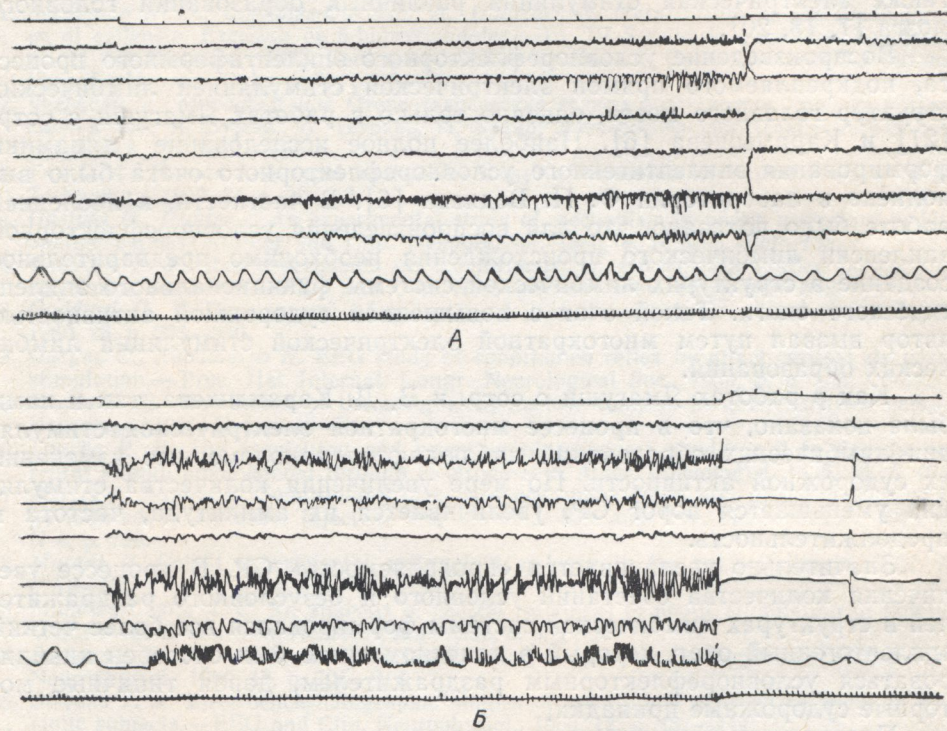


Рис. 4. Биоэлектрические проявления условнорефлекторной эпилептиформной реакции на звуковой сигнал на фоне действия ипрониазида (кролик № 20).

А — после 15, Б — после 35 сочетаний условного и безусловного раздражителей. Условные обозначения сверху вниз см. рис. 3.

сочетаний (рис. 4, А). В латеральном гипоталамическом ядре судорожная электрографическая реакция возникала прежде всего, и была наиболее выраженной, вслед за этим судорожная активность развивалась в вентромедиальном ядре гипоталамуса, базальном ядре миндалевидного комплекса и, наконец, в коре и дорсальном гиппокампе.



Далее, в ответ на условнорефлекторный раздражитель, развивалась четко выраженная условнорефлекторная судорожная активность (рис. 4, Б), характеризующаяся выраженными явлениями гиперсинхронизации, островолновой и пароксизмальной активностью амплитудой до 1 мВ. Такого рода реакции после введения ипрониазида наблюдались уже через 30—35 сочетаний и были более стабильными и четко выраженными, чем у контрольных животных через 150 сочетаний. При этом пороги СР у животных с введением ипрониазида снижались также более значительно, чем в контроле, а длительность СР не только возрастала, но и наблюдались многократные повторные реактивации СР.

#### Обсуждение результатов исследований

Возможность условнорефлекторного воспроизведения экспериментальных судорожных состояний впервые была изучена в 1939 г. Фоминым при использовании в качестве условнорефлекторного раздражителя введения камфоры. В дальнейшем для этой цели были использованы различные раздражители — фотостимуляция [15, 23—26], введение субконвульсивных доз коразола и стрихнина [14, 16, 21, 23], а также электрическая стимуляция различных образований головного мозга [7, 18, 20].

Воспроизведение условнорефлекторного эпилептиформного процесса, подкрепляемого прямой электрической стимуляцией лимбических структур головного мозга, описано только в работах Ямагуши с сотр. [27] и Карамышева [6]. Наиболее полное исследование динамики формирования эпилептигенного условнорефлекторного очага было выполнено в лаборатории Ф. П. Ведяева [6]. В частности, в последней работе было показано, что для воспроизведения условнорефлекторной эпилепсии лимбического происхождения необходимо предварительное создание в структурах лимбической системы функционального эпилептического очага. Такой очаг с повышенной судорожной активностью автор вызвал путем многократной электрической стимуляции лимбических образований.

Как в работах Ямагуши с сотр. и В. Д. Карамышева, так и нами было показано, что в процессе многократной электрической стимуляции лимбических образований наблюдаются закономерные изменения их судорожной активности. По мере увеличения количества стимуляций уменьшается порог СР, увеличивается их амплитуда, частота и продолжительность.

Значительно увеличивается «проявляемость» СР. В процессе увеличения количества сочетаний условного и безусловного раздражителей в структурах лимбической системы формировался все более четкий эпилептогенный очаг, который в конечном счете был способен инициироваться условнорефлекторным раздражителем, давая типичные моторные судорожные припадки.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что условнорефлекторная эпилепсия лимбического происхождения у кроликов формируется с большим трудом. Даже через 150—200 сочетаний условного и безусловного раздражителей четкой эпилептиформной реакции на их действие мы в большинстве случаев не наблюдали. В то же время феномены КЕ развивались четко и закономерно, что соответствует данным литературы. На фоне накопления моноаминов (норадреналина, серотонина, дофамина), под влиянием ипрониазида в мозге значительно ускорялось развитие явления КЕ и выработка условнорефлекторной эпилептиформной реакции.



Таким образом, на основании полученных данных можно прийти к выводу о наличии тесной связи между уровнем биогенных моноаминов мозга и формированием эпилептогенного очага в лимбических структурах.

### Л и т е р а т у р а

1. Ведяев Ф. П. К физиологии экспериментальных эпилептиформных реакций подкоркового происхождения.— физиол. журн. СССР, 1960, 46, № 2, с. 167—178.
2. Ведяев Ф. Х. Характеристика фокальных механизмов лодкорковой эпилепсии.— Физиол. журн. СССР, 1964, 50, № 8, с. 990—999.
3. Ведяев Ф. П. Динамика и распространение судорожных разрядов после раздражения дорсального и вентрального гиппокампа.— Бюлл. exper. биол. и мед., 1968, № 3, с. 3—7.
4. Громов Л. А. и др. Холинэргические и адренэргические процессы в коре мозга больных эпилепсией.— Журн. невропат. и психиатрии, 1973, 73, № 11, с. 1601—1604.
5. Громов Л. А. Нейромедиаторные механизмы судорожной готовности мозга.— В кн.: Эпилептогенный очаг и хирургическое лечение эпилепсии. Киев, 1974, 124—126.
10. Sergienko N. G., Gonzales, N., Gonzales-Quevedo, A. Metabolismo de los Mediadores en la epilepsia, Excrecion de acido vanililmandelico.— In: IV Seminario ceintifico. La Navana, 11—14 Diciembre 1973, Centro nacional de la Havana, Cuba: Instituto Cubano del libro, La Havana, Cuba, 1973, p. 182.
11. Sergienko N. G., Gonzales-Quevedo, A., Gonzales N. Metabolismo de los Mediadores en al epilepsia. Excesion de 5-hidroxyindoles.— In: IV Seminario cientifico. La Havana, 11—14 Diciembre, 1973. Centro nacional de La Havana, Cuba: Ivstituto Cubano del libro, La Havana, Cuba, 1973, p. 183.
12. Фифкова, Е., Маршалл. Дж. Стереотаксические атласы мозга кошки, кролика и крысы.— В кн.: Я. Буреш, М. Тетрань, Н. Захар, Электрофизиологические методы исследований. М., 1962.—456 с.
13. Fox C. A., Fikman J. A rapid method for locating intracerebral electrod tracks.—Stain Technology, 1959, 34, p. 39—42.
14. Gastaut H., Hunter J. An experimental study of mechanism of photic activation in idiopathic epilepsy.— FEG and Clin. Neuporhisiol. 1956, 8, N 4, p. 729—733.
16. Gellhorn E. Further experiments on the influence of afferent stimulation on cortical strychnine discharge.— EEG and Clin. Neurophysiol., 1960, 12, p. 613—669.
17. Goddard G. V. Development of epileptic seizures through brain stimulation.— Exptl. 1960, 25, p. 295—330.
18. Gurgea C., Raiciulesco N. EEG study of conditioned reflex by direct cortical electrical stimulation.— Proc. 11st Internat. Congr. Neurological Soc., 1959, 3, p. 156.
19. Kaada R. B. Stimulation of the amigdaloid nuclear complex in unanesthetized cats.— Neurology, 1951, N 4, p. 48—64.
20. Louche R. B. The acquisition and retention of responses conditioned to Faradic cerebral stimuli administered through electrodes.—J. Amer. Phisiologist, 1935, 10, p. 403.
21. Morrel F. Naguet R. Conditioning of hypersynchronous discharges of the mioclonic type induced by cardiazol injection into the cat.—EEGand Clin. Neurophysiol., 1956, 8, N 4, p. 728.
22. Mutani R. Cobalt experimental amigdaloid epilepsy in the cat.— Epilepsia, 1967, 8, p. 73—92.
23. Mundley-Castle A. C. An analysis of central responses to photic stimulation in normal adults.— EEG and Clin. Neurophysiol., 1953, 5, p. 1—22.
24. Stevens J. R., Stevens C. M. Cyclic conditioning of epileptic discharges.—EEG and Clin. Neurophysiol., 1960, 12, p. 705—714.
25. Stevens J. R. Electroencephalographic studies of conditional cerebral response in epileptic subjects.— EEG and Clin. Neurophysiol., 1960, 12, p. 431—444.
26. Walter H. G., Shipton H. W. The effect of synchronizing light and sound stimuli with various components of the electroencephalogram.— J. Physiology (London), 1949, 108, 50.
27. Joshi N., Jamaguchi J. Conditioning of seizure discharges with electrical stimulation of the limbic structures in cats.—Folia Psychiatr. et Neurol. Jap., 1963, 17, N 3, p. 276—286.

Центральная научно-исследовательская лаборатория  
Харьковского медицинского института

Поступила в редакцию  
15.V 1978 г.



N. G. Sergienko, V. P. Prozhoga

CHARACTERISTIC OF THE CONDITIONED-REFLEX AND CONVULSIVE  
PROCESS OF THE LIMBIC ORIGIN UNDER CONDITIONS OF  
MONOAMINE OXIDASE ACTIVITY INHIBITION

## Summary

In the experiments on rabbits the conditional and reflex reproduction of the epileptiform reaction was obtained by means of combination of the conditioned irritant (sound, turning on the light) and unconditioned irritant (direct electric stimulation of the amygdaloid nucleus) and the influence of iproniazid on this process was studied. It is shown that under the influence of iproniazid the duration of convulsive reflexes increases, threshold of the epileptiform convulsive reaction decreases, process of the elaboration and reproduction of the conditioned and reflex epileptiform process considerably increases (10 times as much). The obtained information apparently evidences for the importance of the monoaminergic mechanisms in the formation of the epileptogenous centres and reproduction of the convulsive process.

Central Research Laboratory,  
Medical Institute, Kharkov