

ОСОБЕННОСТИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ ПРИ КИНДЛИНГЕ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ КЕТОГЕННОЙ ДИЕТЫ И МОДИФИКАЦИИ ПРОДУКЦИИ ОКСИДА АЗОТА

Одесский национальный медицинский университет

Киндлинг — индуцированная хроническая эпилептизация мозга — характеризуется устойчивыми изменениями поведения животных в межприступном периоде [1; 2]. К подобным формам поведенческих расстройств также относится патологически усиленное агрессивное поведение, проявляющееся в снижении порога формирования драк в парах крыс на электродном полу [2]. Кетогенная диета (КД) обеспечивает прекращение киндлинг-провоцированной эпилептической активности [5]. Однако до последнего времени не проводились исследования особенностей агрессивных реакций животных с фармакологическим киндлингом в условиях применения КД.

Цель настоящего исследования — определение показателей агрессивного поведения киндлинговых крыс при их содержании на КД. Поскольку недостаточная продукция эндогенного оксида азота может стать элементом патогенеза агрессивного поведения [4; 7], дополнительной задачей было изучение эффектов предшественника оксида азота — L-аргинина, а также ингибитора синтазы оксида азота — метилового эфира NG-нитро-L-аргинина (L-NAME) в условиях применения КД на порог агрессивных реакций киндлинговых животных.

Материалы и методы исследования

Наблюдения проводились во время острого эксперимента на крысах-самцах линии Вистар массой 180–250 г, которые содержались в стандартных условиях вивария ОНМедУ, в соответствии с требованиями GLP

и комиссии по биоэтике Одесского медуниверситета (протокол № 84 от 10 октября 2008 г.).

Киндлинг у крыс формировали с помощью методики [2] путем ежедневных повторных введений коразола в подпороговой дозе — 25,0 мг/кг внутривентрикулярно (в/вр). В исследовании использовали тех животных (всего 65 особей), которые во время последних трех инъекций эпилептогена демонстрировали генерализованные судорожные реакции.

Кетогенная диета содержала 80 % липидов, 3,3 % углеводов и 16,7 % белков [8]. Влияние КД на выраженность агрессивных реакций исследовали таким образом: после завершения киндлинга в течение 2 и 4 нед. животных удерживали на данной диете, после чего на 15-е и 29-е сутки с момента начала КД тестировали агрессивное поведение крыс. Группой контроля стали киндлинговые животные, которые в такой же промежуток времени содержались в стандартных условиях вивария.

Агрессивность поведения изучали у крыс, находящихся в цилиндрической коробке (25 × 45 × 30 см) с токопроводящим полом [2]. Пары животных помещали в такую коробку, через 10–15 с пропускали электрический ток, начальная сила которого составляла 0,2 мА. Силу тока плавно увеличивали до появления четкого агрессивного поведения (драки). Отбирали пары крыс, у которых драки возникали при значении тока не более 3,0 мА. Повторное тестирование проводили не менее чем через 2 ч с момента первого удара током. Животным контрольной группы вводили физиологический раствор NaCl и осуществляли ложное воздействие источником магнитных импульсов.

Ингибитор синтазы оксида азота, L-NAME, и L-аргинин (“Sigma Aldrich. rus.”, Москва) применяли в дозах 5,0–50,0 и 150–500 мг/кг, в/вр соответственно за 30 мин до тестирования поведенческих реакций. Крысам группы контроля внутривентрикулярно вводили аналогичный объем физиологического раствора NaCl.

Результаты исследований обрабатывали статистически с применением метода ANOVA и теста Newman–Keuls.

Результаты исследования и их обсуждение

Формирование киндлинга сопровождалось снижением порога агрессивных реакций у крыс на 38,9 % в сравнении с показателями у интактных животных после введения физиологического раствора NaCl — (1,8±0,2) и (1,1±0,3) мА соответственно (рис. 1). Тестирование агрессивных реакций в группе контроля (удерживание интактных крыс на КД в течение 2 нед.) показало незначительное увеличение исследуемого показателя в сравнении с интактными животными — на 3,3 % (P>0,05). При этом у киндлинговых крыс порог агрессивных реакций оставался на 29,4 % меньшим, чем в группе интактных животных (P<0,05). Через 4 нед. в группе контроля этот показатель достоверно повысился — на 12,0 % — в сравнении с интактными крысами (P>0,05). Тестирование агрессивных реакций через 4 нед. удерживания киндлинговых животных на КД показало увеличение порога

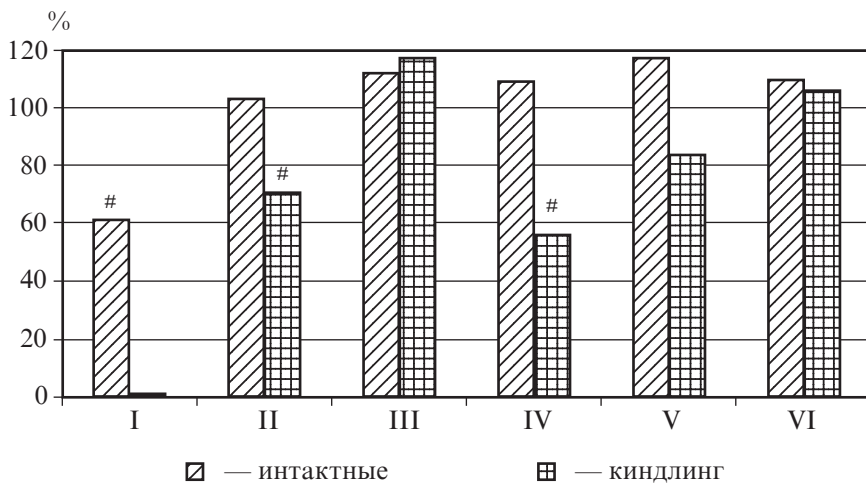


Рис. 1. Показатель агрессивного поведения у интактных и киндлинговых крыс в условиях раздельного и сочетанного применения кетогенной диеты L-аргинина

По оси абсцисс: I — киндлинговые крысы; II и III — применение кетогенной диеты в течение соответственно 2 и 4 нед.; IV и V — применение L-аргинина соответственно в дозах 150,0 и 500,0 мг/кг, в/бр; VI — сочетанное применение кетогенной диеты (1 нед.) и L-аргинина (150,0 мг/кг, в/бр); по оси ординат: порог развития драк в парах животных в процентах к соответствующему показателю в группе интактных крыс, принятому за 100%; # — $P < 0,05$ в сравнении с соответствующим показателем в группе контроля.

драк крыс, который в этих условиях превышал таковой в группе киндлинговых животных без КД в 1,9 раза ($P < 0,05$; см. рис. 1, III).

Тестирование агрессивных реакций после применения L-аргинина (150,0 мг/кг, в/бр) несущественно (на 8,7%) увеличивало порог агрессивности крыс группы контроля ($P > 0,05$), в то время как у киндлинговых животных этот показатель в условиях применения аналогичной дозы L-аргинина составлял ($1,0 \pm 0,3$) мА и оставался достоверно меньшим, чем у интактных животных ($P < 0,05$; см. рис. 1, IV). В то же время применение L-аргинина в дозе 500,0 мг/кг, в/бр у интактных и киндлинговых крыс сопровождалось тенденцией к возрастанию исследуемого показателя соответственно до ($2,1 \pm 0,3$) и ($1,5 \pm 0,3$) мА ($P > 0,05$; см. рис. 1, V). Сочетанное применение L-аргинина (150,0 мг/кг, в/бр) и КД (2 нед.), которые не оказывали эффекта на исследуемый показатель при самостоятельном применении, сопровождалось незначительным увеличением порога агрессивности у интактных животных — на 9,7% ($P > 0,05$). Более выраженным был эффект у киндлин-

говых крыс, который на 72,7% превышал показатель, зарегистрированный до применения лечебных воздействий ($P < 0,05$) и при этом не отличался от такового, отмечавшегося у интактных особей в отсутствие воздействий ($P > 0,05$; см. рис. 1, VI).

Поскольку полученные результаты показали, что L-аргинин оказывает эффект в отношении порога агрессивного поведения животных, в отдельной серии экспериментальных наблюдений мы изучали эффекты КД (2 нед.) в условиях применения L-NAME, блокирующего синтазу оксида азота (рис. 2).

Под влиянием L-NAME (50,0 мг/кг, в/бр) у интактных и киндлинговых крыс отмечалось снижение порога возникновения агрессивных реакций соответственно до ($1,2 \pm 0,3$) и ($0,4 \pm 0,1$) мА ($P < 0,05$; см. рис. 2, I). Аналогичные показатели в условиях двухнедельного удерживания животных на КД на фоне применения L-NAME (50,0 мг/кг, в/бр) оставались достаточно низкими — соответственно ($1,3 \pm 0,3$) и ($0,5 \pm 0,2$) мА ($P < 0,05$; см. рис. 2, II).

Таким образом, применение КД, являющейся эффективной в отношении киндлинг-индуцированных судорожных прояв-

лений [5], обеспечивает также компенсацию интериктальных нарушений поведения у киндлинговых крыс. В частности, речь идет о снижении выраженности агрессивных реакций, и данный эффект носит зависимый от продолжительности удерживания на КД характер.

Механизмы осуществления корректирующих эффектов КД в отношении киндлинг-провоцированных нарушений интериктального поведения могут быть связаны с влиянием КД на энергетический метаболизм нейронов — митохондриальный биогенез гиппокампальных нейронов значительно стимулировался при удерживании животных на КД, что проявлялось возрастанием экспрессии митохондриальных белков на 46%, увеличением соотношения фосфокреатин/креатин [6]. Кроме того, КД обеспечивает снижение тонуса системы эндогенных возбуждающих аминокислот на фоне усиления ГАМК-ергического торможения [8].

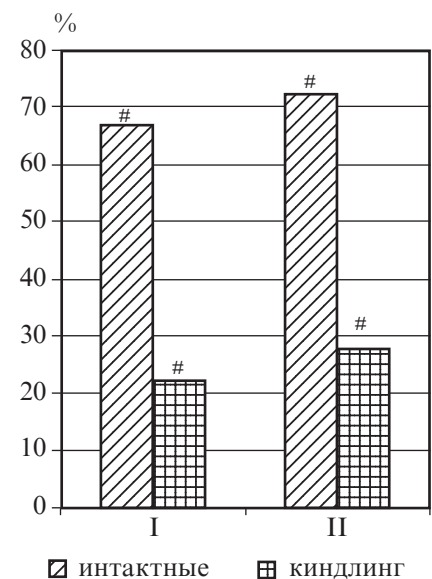


Рис. 2. Показатели агрессивного поведения интактных и киндлинговых животных в условиях раздельного и сочетанного применения L-NAME и кетогенной диеты

По оси абсцисс: I — введение L-NAME (50,0 мг/кг, в/бр); II — применение кетогенной диеты на фоне введения L-NAME (50,0 мг/кг, в/бр); по оси ординат — то же, что на рис. 1; # — $P < 0,05$ в сравнении с соответствующим показателем в группе контроля.

Роль эндогенного оксида азота в контроле агрессивного поведения также подтверждает установленный в настоящем исследовании факт дозозависимого снижения порога агрессивных реакций при применении L-аргинина и повышения агрессивности крыс в условиях использования ингибитора оксида азота L-NAME. Этот результат соответствует данным [4], показывающим, что утрата генов, кодирующих нейрональную синтазу оксида азота, сопровождалась более высокой агрессивностью животных. Кроме того, крысы, лишённые генов нейрональной синтазы оксида азота, имели более высокую чувствительность к болевым раздражителям, что, согласно мнению авторов, способствовало усилению выраженности агрессивных форм поведения животных.

Таким образом, можно полагать, что коррекция интериктальных поведенческих нарушений у киндлинговых крыс, вызываемая КД, может реализоваться за счет зависимых от оксида азота эндогенных механизмов. При этом следует отметить, что L-аргинин оказывает различные эффекты на разных моделях судорожного синдрома. Так, в частности, на модели пентилентетразол-индуцированных судорог отмечается усиление их проявлений, что отмечено и при судорожных реакциях, вызываемых агонис-

тами рецепторов возбуждающих аминокислот [3].

Принимая во внимание важное значение дофаминергической системы мозга в обеспечении агрессивного поведения животных [1; 2; 9], отмечаемое у киндлинговых крыс длительное снижение активности мезолимбической и мезостриарной дофаминергических систем [2], по-видимому, сопровождается развитием гиперчувствительности дофаминергических рецепторов мозга и формированием синдрома агрессивного поведения. В этой связи следует отметить, что усиление синтеза оксида азота обеспечивает снижение уровня дофамина в структурах гиппокампа [9]. Можно полагать, что взаимодействие системы эндогенного оксида азота с другими нейромедиаторными системами мозга, в частности дофаминергической системой, также имеет значение в провоцировании высокой агрессивности крыс с высокой судорожной готовностью мозга.

Выводы

1. Киндлинг-провоцированное агрессивное поведение корригируется применением КД.

2. Сочетанное применение КД и L-аргинина обеспечивает потенцированный эффект подавления агрессивного поведения у крыс с коразол-индуцированным киндлингом.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Моделирование и механизмы подавления экспериментального эпилептического синдрома* / Л. С. Годлевский, Е. В. Коболев, В. Ф. Мустаца, Г. А. Дроздова. – Одесса : КП ОГТ, 2010. – 350 с.

2. *Шандра А. А.* Киндлинг и эпилептическая активность / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. И. Брусенцов. – Одесса : Астропринт, 1999. – 270 с.

3. *Yildirim M.* Endothelial nitric oxide synthase activity involves in the protective effect of ascorbic acid against penicillin-induced epileptiform activity / M. Yildirim, M. Ayyildiz, E. Agar // *Seizure*. – 2010. – Vol. 19, N 2. – P. 102–108.

4. *Inhibition of neuronal nitric oxide synthase increases aggressive behavior in mice* / G. E. Demas, M. J. Eliasson, T. M. Dawson [et al.] // *Mol. Med.* – 1997. – Vol. 3, N 9. – P. 610–616.

5. *Ketogenic diet: effects on expression of kindled seizures and behavior in adult rats* / A. Hori, P. Tandon, G. L. Holmes, C. E. Stafstrom // *Epilepsia*. – 1997. – Vol. 38, N 7. – P. 750–758.

6. *Mitochondrial aconitase reaction with nitric oxide, S-nitrosoglutathione, and peroxynitrite: mechanisms and relative contributions to aconitase inactivation* / V. Tortora, C. Quijano, A. Freeman [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. – Vol. 42. – P. 1075–1088.

7. *Pleiotropic contributions of nitric oxide to aggressive behavior* / R. J. Nelson, B. C. Trainor, S. Chiavegatto, G. E. Demas // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2006. – Vol. 30, N 3. – P. 346–355.

8. *The ketogenic diet: from molecular mechanisms to clinical effects* / J. Freeman, P. Veggiotti, G. Lanzi [et al.] // *Epilepsy Res.* – 2006. – Vol. 68. – P. 145–180.

9. *Wegener G.* Endogenous nitric oxide decreases hippocampal levels of serotonin and dopamine in vivo / G. Wegener, V. Volke, R. Rosenberg // *Br. J. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 130. – P. 575–580.

УДК 671-001.4-022.7:611.018

В. А. Полясный

ОСОБЕННОСТИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ ПРИ КИНДЛИНГЕ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ КЕТОГЕННОЙ ДИЕТЫ И МОДИФИКАЦИИ ПРОДУКЦИИ ОКСИДА АЗОТА

В опытах на крысах линии Вистар с воспроизведением модели фармакологического киндлинга с помощью повторного применения коразола в подпороговой дозе (25,0 мг/кг, в/бр) отмечено снижение порога развития агрессивного поведения в тестах драк пар животных на электродном полу. Под влиянием L-аргинина (150,0 мг/кг, в/бр) и кетогенной диеты (КД) (2 нед.), не оказывающих эффекта при самостоятельном применении, отмечалось увеличение порога агрессивности у киндлинговых крыс на 72,7% в сравнении с исходным значением. Под влиянием L-NAME (50,0 мг/кг, в/бр) у интактных и киндлинговых крыс отмечалось достоверное снижение порога возникновения агрессивных реакций и устранение эффектов КД.

Ключевые слова: кетогенная диета, коразол, киндлинг, оксид азота, агрессивное поведение.

UDC 671-001.4-022.7:611.018

V. A. Polyasny

PECULIARITIES OF KINDLING-INDUCED AGGRESSIVE BEHAVIOR UNDER CONDITIONS OF KETOGENIC DIET AND MODIFICATION OF NITROGEN OXIDE PRODUCTION

In Wistar rats kindled via repeated intraperitoneal corazol administration (25.0 mg/kg, i. p.) the reduction of the threshold of aggressive reactions precipitation was seen in test of pairs of animals fighting on electrode floor. L-arginin (150 mg/kg, i. p.) combined with ketogenic diet (KD) (2 weeks) caused the heightening of the threshold of aggressive reactions of rats while separately applied they had no effects. Threshold raised by 72.7% in comparison with the initial level detected at stage of kindled seizures development. L-NAME (50.0 mg/kg, i. p.) induced significant reduction of the threshold of aggressive reactions both in intact and kindled rats, and abolished effects of RD.

Key words: ketogenic diet, kindling, corazol, nitrogen oxide, aggressive behaviour.