

**ВРЕМЯ СУТОК НАНЕСЕНИЯ УДАРА ВЛИЯЕТ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ
НЕМЕДЛЕННЫХ СУДОРОГ И ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ КОРТИКОСТЕРОНА
ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ**

© 2022 г. И. Г. Комольцев^{1, 2}, С. О. Франкевич^{1, 2}, Н. И. Широбокова¹,
О. В. Костюнина¹, А. А. Волкова¹, Д. А. Башкатова¹, Д. В. Шальнева¹,
П. А. Кострюков¹, О. Ю. Салып¹, М. Р. Новикова¹, Н. В. Гуляева^{1, 2, *}

¹Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

²Научно-практический психоневрологический центр им. З.П. Соловьева, Москва, Россия

*E-mail: nata_gul@ihna.ru

Поступила в редакцию 21.09.2022 г.

После доработки 07.11.2022 г.

Принята к публикации 07.11.2022 г.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) в отдаленном периоде часто сопровождается психическими и неврологическими расстройствами. Глюкокортикоиды, регулирующие физиологический ответ организма на острый и хронический стресс, могут быть связаны с запуском длительных изменений в гиппокампе, отвечающих за развитие отдаленных последствий ЧМТ. Известно, что уровень кортизола у человека и кортикостерона у крыс в течение суточного цикла изменяется в широких пределах, и циркадианный ритм глюкокортикоидов влияет на стресс-реактивность организма. В данной работе мы проанализировали влияние времени нанесения латерального гидродинамического удара (ЛГУ) у крыс на развитие немедленных спровоцированных судорог и повышение уровня кортикостерона в остром периоде ЧМТ. Операции и нанесение ЛГУ проводили с 9:00 до 22:00. Животных выводили из эксперимента на 1-, 3-, 7- и 14-й день после ЧМТ с 10:00 до 12:00, что соответствовало низкому суточному уровню кортикостерона у крыс. Впервые показано, что время нанесения ЧМТ является значимым фактором, влияющим на повышение уровня кортикостерона в остром периоде ЧМТ: чем раньше проводили ЛГУ, тем выше был уровень кортикостерона у крыс в декапитационной крови ($r = -0.56$, $p = 0.0004$). Кроме того, при нанесении ЛГУ в утренние часы у животных длительность тонических судорог, а также представленность тонических судорог и прыжков были выше по сравнению с животными с травмой в вечерние часы. Таким образом, время нанесения ЧМТ является значимым фактором степени физиологического стресса на травму и может сказываться на развитии ее отдаленных последствий.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, циркадианные ритмы, кортикостерон, стресс, судорожные приступы

DOI: 10.31857/S086981392212007X

Травма головного мозга является распространенной причиной смерти и инвалидности людей всех возрастов и социальных слоев населения [1, 2]. В то время как смертность в результате черепно-мозговой травмы (ЧМТ) снизилась с 50 до 25% за последние 30 лет, поздние посттравматические тяжелые неврологические и психические расстройства становятся все более распространенным осложнением [3]. Посттравматическая эпилепсия, тяжелое осложнение ЧМТ, встречается у 10–20%

пациентов [4]. Показано, что ранние судорожные приступы повышают вероятность развития посттравматической эпилепсии [5]. Предположительно, эффекты глюкокортикостероидов (ГКС) имеют решающее значение в развитии дистантного повреждения гиппокампа и критически определяются конкретными аспектами их воздействия [6]. Согласно нашим данным, опубликованным ранее, длительные немедленные судороги ассоциированы с увеличением уровня кортикостерона в остром периоде ЧМТ у крыс [7]. Нами также было показано, что уровень кортикостерона в остром периоде ЧМТ влияет на выраженность дистантного повреждения гиппокампа [7].

Хорошо известно, что уровень кортизола у человека и кортикостерона у крыс в течение суточного цикла изменяется в широком диапазоне [8]. ГКС оказывают модулирующие эффекты на возбудимость нейронов, потенцируют эксайтотоксическое повреждение [9, 10] и повышают восприимчивость к судорогам [11]. Геномные локусы связывания рецепторов ГКС насчитывают сотни участков ДНК, которые активно изменяются в течение суточного цикла [12]. Нейрональные регуляторы гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО), играющей важную роль в развитии стрессорных реакций, имеют множественные связи с центрами циркадианных ритмов в гипоталамусе [13]. Высокий уровень ГКС и предшествующий стресс усугубляют повреждение гиппокампа после фокального повреждения мозга [14], в первую очередь инсультов у людей и на моделях инсульта у крыс [15]. В эксперименте также показано, что моделирование иммобилизационного стресса у крыс в течение 15 мин в утренние часы приводит к более выраженному ответу на стресс (уровню АКТГ, кортикостерона, цАМФ и др.) [16]. Таким образом, можно предположить, что время суток при моделировании ЧМТ может влиять на выраженность стрессорной реакции (по секреции кортикостерона в кровь) в остром периоде ЧМТ и выраженности немедленных судорог как показателя возбудимости нейронов. Цель настоящего исследования – выявить влияние времени нанесения латерального гидродинамического удара у крыс на развитие немедленных спровоцированных судорог и уровень кортикостерона в остром периоде ЧМТ.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты с животными выполнены в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета от 22 сентября 2010 г. и “Правилами лабораторной практики”, утвержденными приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (№ 708н г. от 23.08.2010). Протокол эксперимента утвержден Этической комиссией Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН (протокол № 2 от 24.05.2017). Были предприняты все меры для уменьшения числа используемых животных и минимизации их страданий.

Животные

Исследование проведено на 85 самцах крыс линии Вистар в возрасте 6 мес. и массой тела около 380 г. Животных содержали в виварии в стандартных условиях, со свободным доступом к пище и воде.

Экспериментальные группы

Животные были разделены на три группы: 36 крысам после трепанации черепа наносили латеральный гидродинамический удар (ЛГУ), 40 крыс составляли группу ложноперированных животных, и 9 животных – интактную контрольную группу.

Животных выводили из эксперимента на 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки (17, 17, 19 и 23 крысы соответственно) для биохимического анализа.

Нанесение ЧМТ и регистрация немедленных судорог

Трепанацию черепа проводили под изофлурановым наркозом (1–3%-ная газовая смесь). Диаметр отверстия в правой теменной кости составлял 3 мм. Отверстие располагалось на 3 мм каудальнее брегмы и на 3 мм латеральнее срединной линии. Визуально оценивалась интактность твердой мозговой оболочки, животные с повреждениями исключались из эксперимента. Наконечник типа Люэр-Лок приклеивали к месту краниотомии цианоакрилатным клеем с последующей фиксацией зубным цементом. Животных после операции извлекали из стереотаксиса и помещали в квадратную пенопластовую коробку со стороной 60 и высотой 40 см, для защиты крысы от дополнительной травмы во время острых судорог после нанесения ЛГУ. После выхода из наркоза крыс подключали к аппарату для нанесения ЛГУ (Fluid Percussion Device with a PC-Based Pressure Measurement Unit, Model FP302, США) с помощью 80-сантиметровой поливинилхлоридной трубки диаметром 3 мм. Сила удара составляла 3.03 ± 0.03 атм. В течение последующих периодов немедленного приступа и восстановления рефлексов животных тестировали, как описано ниже. Были сделаны видеозаписи момента травмы, непосредственных острых приступов, вызванных травмой, и последующего периода восстановления. После ЧМТ животных возвращали в домашние клетки. Критериями исключения были неудачная операция, повреждение твердой мозговой оболочки, наличие клея на твердой мозговой оболочке.

Анализ немедленных судорог

Был проведен визуальный анализ всех полученных записей. Каждая запись была разделена на периоды, соответствующие элементам немедленных судорог. Измеряли длительность этих периодов и анализировали последовательность элементов судорог. Отмечали, начался ли приступ с серии прыжков и фиксировали латерализацию этих прыжков; измеряли общую продолжительность эпизода судорог, продолжительность и латерализацию побежки, продолжительность клонических и тонических элементов судорог и судороги хвоста, латерализацию клонических судорог. Регистрировали продолжительность апноэ, диспноэ и гипопноэ, отмечали признаки цианоза конечностей. Регистрировали длительность восстановления вестибуло-спинального рефлекса и способности крыс сохранять позу. Проверяли реакцию чувствительности хвоста на болевое раздражение (путем защемления кончика хвоста крысы). При тестировании вестибуло-спинального рефлекса наклоняли животных вправо и влево. Отмечали восстановление правого или левого вестибуло-спинального рефлекса, если крысе удавалось вернуться в исходное положение.

Биохимический анализ

Животных выводили из эксперимента путем быстрой декапитации, собирали декапитационную кровь и центрифугировали при 1500 g и 4°C в течение 15 мин для получения сыворотки. Сыворотку крови использовали для определения уровня кортикостерона методом иммуноферментного анализа. Мозг извлекали сразу после декапитации и охлаждали в солевом растворе, выделяли гиппокампы обеих полушарий. Образцы гомогенизировали с использованием гомогенизатора Поттера в десятикратном избытке холодного буфера для гомогенизации (10 ударами пестика при скорости вращения 1000 об./мин в растворе 0.1%-ного NP-40, ингибитора протеаз (Roche) в фосфатно-солевом растворе). Концентрацию кортикостерона выра-

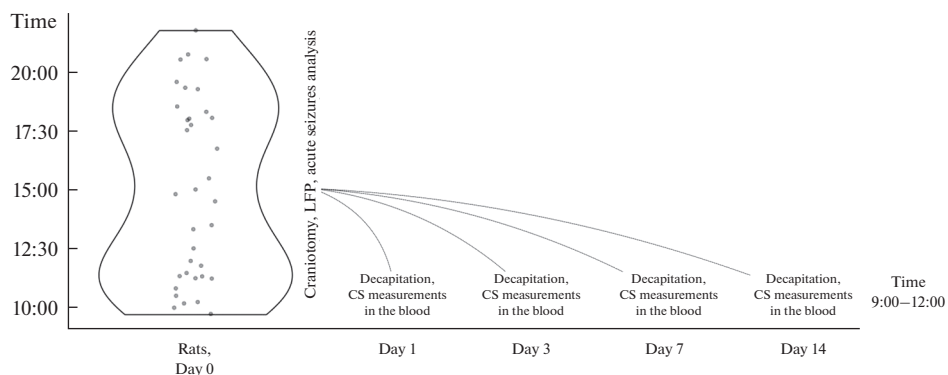


Рис. 1. Схема эксперимента. В левой части схемы представлено распределение животных с ЧМТ по времени нанесения ЧМТ (ось ординат соответствует времени нанесения ЧМТ). Животных выводили из эксперимента на 1-, 3-, 7- и 14-й день после ЛГУ. Операции и нанесение ЧМТ проводили с 9:00 до 22:00. Время декапитации с 10:00 до 12:00, что соответствовало низкому суточному уровню кортикостерона.

жали в нг/мл супернатанта. Аликвоты супернатантов хранили при температуре -80°C . Для измерения уровня кортикостерона в сыворотке крови и в супернатантах мозга использовали наборы для иммуноферментного анализа (Corticosterone ELISA, DRG, Германия), которые определяли как свободный, так и связанный кортикостерон с помощью метода конкурентного иммуноферментного анализа. Для измерения оптической плотности использовали спектрофотометр для считывания микропланшетов Hidex Sense (HIDEX, Финляндия).

Статистический анализ

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA 12 (StatSoft, Оклахома, Талса, США) и Jamovi 1.6 (Сидней, Австралия). Визуализация и корреляционный анализ были выполнены с использованием программы Prism 8 (GraphPad, Калифорния, Сан-Диего, США). Для оценки нормальности распределений использовали тест Шапиро–Уилка. Тест Манна–Уитни применялся для сравнения независимых переменных (ложнооперированные против ЧМТ). Корреляционный анализ проводили методом Спирмена. Кластерный анализ проводили с использованием метода К-средних на 2 группы и последующим их сравнением непараметрическим тестом Манна–Уитни. Для сравнения количества животных с наличием или отсутствием элементов немедленных судорог использовали двунаправленный точный тест Фишера. Все данные представлены в виде $M \pm SEM$ (среднее \pm стандартная ошибка среднего).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Повышение уровня кортикостерона в крови и гиппокампе

В 1-й день после ЧМТ повышение кортикостерона в крови наблюдалось у некоторых животных, но это повышение не было статистически значимым (рис. 2а). При сравнении с ложнооперированными крысами на 3-й день после ЧМТ уровень кортикостерона одновременно повышался в крови (543.9 ± 118.1 против 964.1 ± 108.0 нг/мл, $p < 0.05$), в ипсилатеральном и контралатеральном гиппокампе (23.0 ± 4.0 против 40.7 ± 6.0 нг/мл, $p < 0.05$, и 22.4 ± 3.2 против 34.0 ± 5.7 нг/мл, $p < 0.05$ соответственно). Уровень кортикостерона в крови коррелировал с его уровнем в ипси- ($r = 0.66$, $p < 0.001$) и контралатеральном гиппокампе ($r = 0.68$, $p < 0.005$).

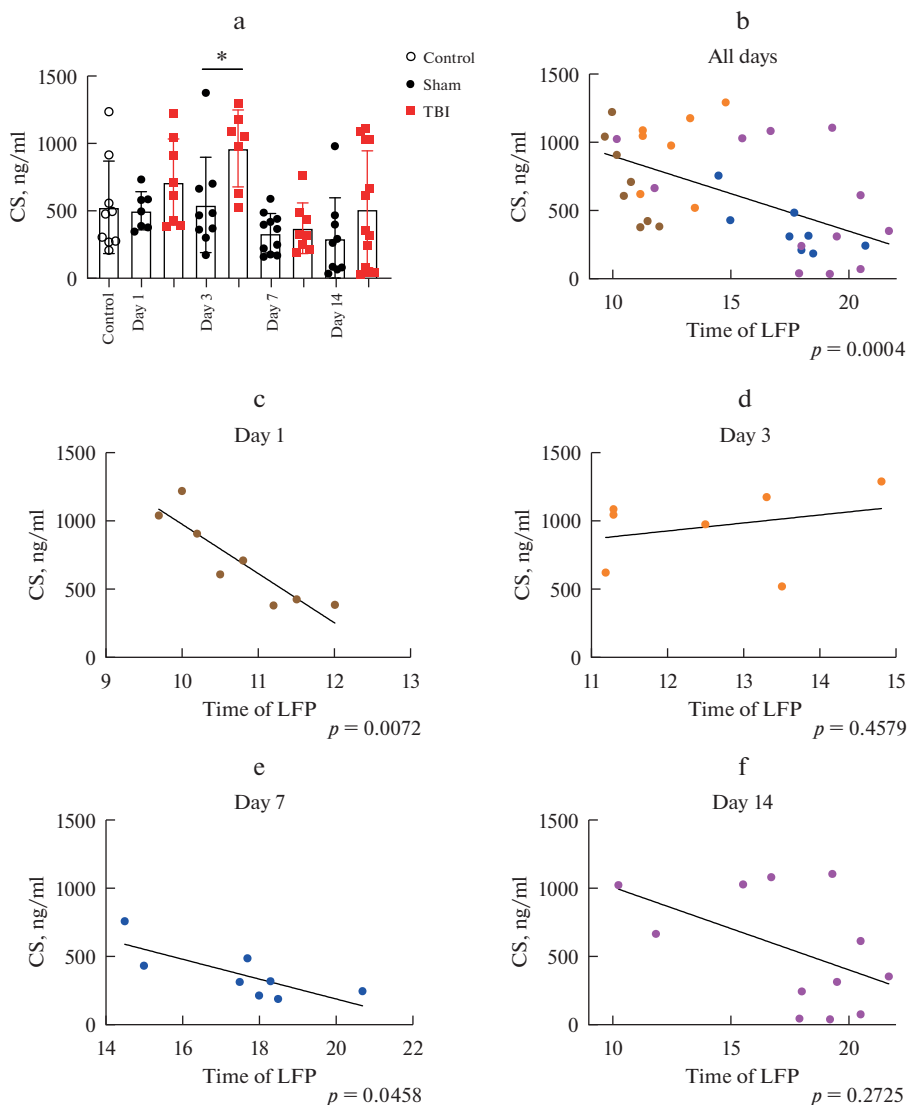


Рис. 2. Зависимость уровня кортикостерона в декапитационной крови от времени нанесения ЧМТ. (a) – уровни кортикостерона на 1-й (коричневый), 3-й (оранжевый), 7-й (синий) и 14-й (фиолетовый) дни после ЧМТ. (b) – корреляция времени нанесения ЧМТ и уровня кортикостерона в декапитационной крови (при включении в анализ всех животных с ЧМТ). (c–f) – корреляция времени нанесения ЧМТ и уровня кортикостерона в декапитационной крови в 1-, 3-, 7- и 14-й дни соответственно. * – $p < 0.05$, тест Манна–Уитни.

*Корреляция времени нанесения ЧМТ и уровня кортикостерона
в остром периоде ЧМТ*

Гистограммы распределения времени нанесения ЛГУ и концентрации кортикостерона имели два максимума – на высоких и низких значениях, и тип распределения обоих показателей был отличен от нормального (тест Шапиро–Уилка, $p < 0.01$).

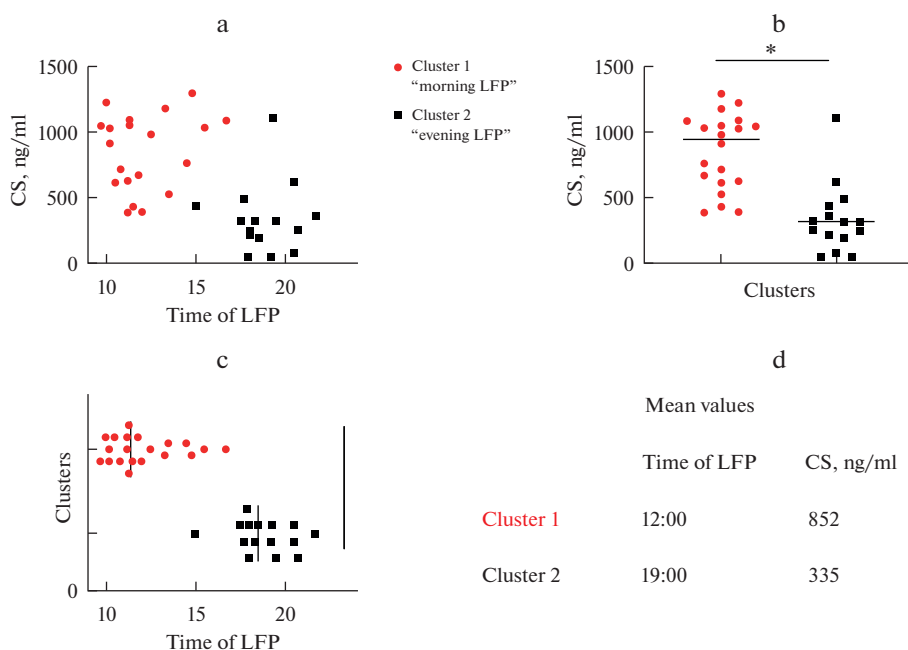


Рис. 3. Кластерный анализ: группы крыс с ЛГУ в утренние и вечерние часы. (а) – разделение крыс по уровню кортикостерона в декапитационной крови и времени нанесения ЧМТ на два кластера. (б) – сравнение уровня кортикостерона в декапитационной крови у крыс кластера 1 и 2. (с) – сравнение времени нанесения у крыс кластера 1 и 2. (д) – средние значения времени нанесения ЧМТ и уровня кортикостерона в декапитационной крови у крыс кластеров 1 и 2. * – $p < 0.05$, тест Манна–Уитни.

Установлено, что время нанесения ЧМТ коррелировало с повышением уровня кортикостерона при декапитации (при включении в анализ всех животных, $r = -0.56$, $p = 0.0004$, корреляция Спирмена) (рис. 2b). При анализе уровня кортикостерона в декапитационной крови (рис. 2b–с) этот показатель в 1-й день ($r = -0.88$, $p = 0.007$) и 7-й день ($r = 0.74$, $p < 0.05$) достоверно коррелировал со временем нанесения ЧМТ. Таким образом, чем раньше в течение дня проводили ЛГУ, тем выше был уровень кортикостерона в остром периоде ЧМТ (в утренние часы с базальным низким уровнем кортикостерона).

Выделение групп крыс с нанесением ЧМТ в разное время суток

На следующем этапе мы провели кластерный анализ методом К-средних для разделения крыс на две более однородные группы и их сравнения (рис. 4). По времени нанесения ЧМТ и уровню кортикостерона в остром периоде ЧМТ крысы достоверно разделялись на два кластера:

- 1) Кластер 1, $n = 20$ (57% животных) с ЛГУ в утренние часы (около 12:00) и высоким уровнем кортикостерона при декапитации (852 нг/мл) – “утренняя ЧМТ”;
- 2) Кластер 2, $n = 15$ (43% крыс) с ЛГУ в вечерние часы (около 19:00) и более низким уровнем кортикостерона при декапитации (335 нг/мл) – “вечерняя ЧМТ”.

При сравнении этих двух кластеров достоверно отличались среднее время нанесения ЧМТ (12.2 ± 0.4 против 18.8 ± 0.4 ч, $p < 0.05$) и средний уровень кортикостерона (852 ± 65 против 335 ± 69 нг/мл, $p < 0.05$) (рис. 3).

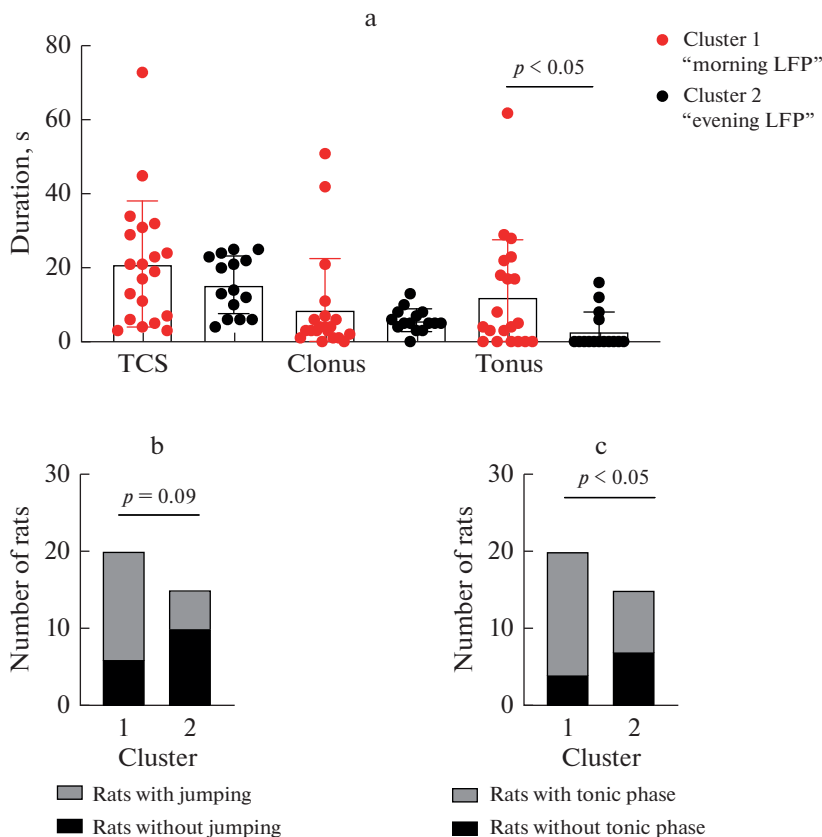


Рис. 4. Сравнение семиологии немедленных судорожных приступов у крыс с ЛГУ в утренние и вечерние часы. (a) – общая длительность судорожного приступа, а также ее тонических и клонических элементов. Длительность тонических судорог была выше у крыс с ЛГУ в утренние часы. (b) – представленность прыжков у крыс с ЛГУ в утренние и вечерние часы. (c) – представленность тонических судорог у крыс с ЛГУ в утренние и вечерние часы.

Семиология немедленных приступов зависела от времени нанесения ЧМТ

Мы провели сравнение длительности немедленных судорог для ЛГУ, нанесенного в утренние и вечерние часы. Характеристики немедленных судорог после ЧМТ опубликованы нами ранее [7], но подобный анализ зависимости от времени нанесения ЛГУ проведен впервые. Длительность тонических приступов была выше для крыс кластера 1, “утренняя ЧМТ” (12 ± 3 с против 3 ± 1 с) по сравнению с группой крыс с “вечерней ЧМТ”. Кроме того, у крыс с “утренней ЧМТ” при сравнении с “вечерней ЧМТ” количество животных с наличием конкретных элементов судорог также отличалась. Представленность тонических приступов была выше (14 из 19 против 6 из 16, $p < 0.05$), а число крыс с наличием прыжков во время начала приступов отличалось на уровне статистической тенденции (16 из 24 против 4 из 11, $p = 0.09$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Уровень ГКС в течение суток у животных и человека изменяется в широком диапазоне [8]. Результаты данного исследования впервые демонстрируют, что вре-

мя нанесения ЛГУ у крыс является одним из факторов, определяющим уровень кортикостерона в остром периоде ЧМТ, а характер немедленных судорог изменяется в зависимости от времени суток при моделировании травмы.

Нарушения в работе гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО) являются одним из предположительных механизмов развития поздних осложнений ЧМТ, таких как тревожно-депрессивные расстройства и посттравматическая эпилепсия. Кортикостерон (аналог кортизола человека у животных) имеет сложное влияние на процессы нейровоспаления, усиливает эксайтотоксичность и способен модулировать возбудимость нейронов в головном мозге [9, 10].

Нарушения работы ГГНО у пациентов с ЧМТ

Клинические исследования уровня кортизола в остром периоде ЧМТ ограничены. Показано, что уровень кортизола после ЧМТ может быть как понижен [17], так и повышен [18], что связано, в частности, с отсутствием достаточного количества данных о временной динамике гормона. ЧМТ как острый физиологический стресс приводит к повышению уровня кортизола у пациентов с ЧМТ при сохранной функции ГГНО. Однако у некоторых пациентов с ЧМТ развивается дисфункция переднего или заднего отделов гипофиза, что, в свою очередь, приводит ко вторичному гипокортицизму (снижению уровня кортизола вследствие снижения выработки адренкортикотропного гормона гипофиза, АКТГ). В исследовании [19] показано, что при стимуляции выработки АКТГ и кортизола при помощи введения глюкагона у пациентов с ЧМТ наблюдается нормальный или сниженный ответ на тест; у пациентов со сниженным ответом базальный уровень кортизола после ЧМТ понижен, а у пациентов с нормальным ответом — повышен. Факторами риска надпочечниковой недостаточности и снижения уровня кортизола в остром периоде ЧМТ являются переломы основания черепа, гипотензия и использование пропופола [20]. В целом признаки более легких ЧМТ — отсутствие амнезии и больший балл по шкале комы Глазго (более легкие травмы) — ассоциированы с более высоким уровнем кортизола [21]. Кроме того, динамика уровня кортизола в первые недели после ЧМТ зависит и от исходного уровня активации ГГНО. Показано, что у пациентов, перенесших стрессовые события до травмы головного мозга, при сравнении с пациентами без стресса перед ЧМТ, уровень кортизола достоверно снижался, а не повышался, как это обычно происходило у пациентов без предшествующего стресса.

Роль кортикостерона в развитии дистантного повреждения гиппокампа

Во время реакции на стресс ГКС связываются со своими рецепторами и модулируют функцию гиппокампа, влияя на многочисленные сигнальные и метаболические системы [22]. Предположительно, эффекты ГКС в гиппокампе имеют решающее значение в развитии двустороннего повреждения гиппокампа, в том числе при ЧМТ. Хорошо известно, что ГКС регулируют поведенческую реакцию на стресс, и их рецепторы широко экспрессируются в гиппокампе. Эффекты ГКС критически определяются конкретными аспектами их воздействия [6]. Функции ГКС в гиппокампе опосредуются высокоаффинными минералокортикоидными и низкоаффинными глюкокортикоидными рецепторами, последние активируются высокими уровнями ГКС. Существуют два типа этих рецепторов: цитоплазматические/ядерные рецепторы, связанные с медленным геномным действием, и негеномные мембраносвязанные рецепторы, быстро изменяющие возбуждающую нейромедиацию [23]. Геномные локусы связывания этих двух типов рецепторов насчитывают сотни участков ДНК, которые частично перекрываются, активно изменяются в течение суточного цикла и особенно — под действием острого стресса [12]. В основном геномные эффекты связаны с процессами адаптации, синаптической и нейронной пластичности. ГКС так-

Таблица 1. Распределение числа крыс кластеров 1 и 2 по дням выведения из эксперимента

Кластер	День 1-й	День 3-й	День 7-й	День 14-й	Сумма
1 (утренняя ЧМТ)	8	7	1	4	20
2 (вечерняя ЧМТ)	0	0	7	8	15
Сумма	8	7	8	12	35

Точный тест Фишера, $p = 0.000131$.

же дозозависимо влияют на возбудимость нейронов: глутаматергическая синаптическая передача усиливается низкими дозами кортикостерона, действующими на мембранные минералокортикоидные рецепторы (быстрая реакция на стресс), и снижается более высокими дозами, действующими на глюкокортикоидные рецепторы (восстановление после стрессовой ситуации) [23, 24].

ГКС регулируют возбудимость нейронов, нейровоспаление и могут играть ключевую роль в чувствительности гиппокампа к первоначальному эксайтотоксическому повреждению и дальнейшей вторичной гибели нейронов [9]. Влияние ГКС на судороги у крыс реализуется через модуляцию возбудимости и повышение восприимчивости к судорогам [11]. Показано также, что кортикотропин-рилизинг фактор у крыс с ЧМТ непосредственно способен повышать возбудимость амигдалы и гиппокампа и приводить к появлению патологических высокочастотных осцилляций [25]. Кроме того, ГКС повышают уязвимость нейронов к эксайтотоксичности [10]. Механизмы этих эффектов ГКС включают подавление транспорта глюкозы, обратного захвата глутамата астроцитами, изменение гомеостаза Ca^{2+} и подавление продукции нейротрофических факторов [26, 27]. ГКС проявляют либо про-, либо противовоспалительные свойства в зависимости от степени и продолжительности воздействия, внешних факторов, предшествующих ЧМТ, и характеристик травмы [6, 28, 29]. Важно отметить, что повышенный уровень ГКС перед провоспалительным стимулом оказывает дополнительный провоспалительный эффект [30]. Это подтверждается и тем фактом, что высокий начальный уровень ГКС и предшествующий стресс усугубляют повреждение гиппокампа после инсультов в эксперименте и клинике [15].

Опираясь на данные фундаментальных исследований, можно предполагать, что в основе долговременных последствий ЧМТ может лежать измененный физиологический ответ на острый стресс, однако убедительные клинические исследования в этой области на данный момент отсутствуют. Многие клинические исследования показали, что противоэпилептическое лечение, влияющее на эпилептиформную активность в раннем периоде травмы, не предотвращает развитие посттравматической эпилепсии [31, 32]. Разработка новых способов влияния на ГНО для предотвращения долговременных последствий ЧМТ является перспективным направлением в этой области.

ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данном эксперименте время забора крови на уровень кортикостерона было выбрано 10:00–12:00 (низкий базальный уровень кортикостерона у крыс как преимущественно ночных животных). Из-за необходимости строгого соблюдения времени от ЧМТ до биохимического анализа на более ранних сроках после ЧМТ, животные из каждого “временного” кластера оказались неравномерно распределены по дням вывода их из эксперимента. Как видно из табл. 1, все крысы, выведенные на 1- и 3-й день после ЧМТ попадали в кластер 1 (“утренняя” ЧМТ), а большинство крыс, выведенных из эксперимента на 7-й день после ЧМТ, пришлось на кластер 2 (“вечерняя ЧМТ”). Данная неравномерность включения крыс в кластеры

может иметь некоторый вклад в выявленные различия по уровню кортикостерона между кластерами. Тем не менее, корреляции уровня кортикостерона и времени нанесения ЧМТ, представленные на рис. 1, наблюдались в разные дни независимо друг от друга, а взаимосвязь семиологии острых судорог и времени нанесения ЧМТ не зависела от сроков вывода крыс из эксперимента.

ВЫВОДЫ

Впервые показано, что время нанесения ЧМТ является значимым фактором, влияющим на повышение уровня кортикостерона в остром периоде ЧМТ: чем раньше проводили ЛГУ, тем выше был уровень кортикостерона у крыс в декапитационной крови. У крыс при нанесении ЛГУ в утренние часы длительность тонических судорог, а также представленность тонических судорог и прыжков были выше. Таким образом, время нанесения ЧМТ является значимым фактором степени физиологического стресса на травму и может сказываться на развитии ее отдаленных последствий.

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

АКТГ	адренокортикотропный гормон
ГНО	гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось
ГКС	глюкокортикостероиды
ЛГУ	латеральный гидродинамический удар
ЧМТ	черепно-мозговая травма

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 22-25-00713.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

И.Г.К. – проведение операций на животных, подготовка текста статьи, статистический анализ, визуализация; С.О.Ф. – анализ немедленных судорог; Н.И.Ш. и О.В.К. – проведение иммуноферментного анализа; А.А.В. и Д.А.Б. – проведение операций на животных; Д.В.Ш. и П.А.К. – уход за прооперированными животными, получение и обработка образцов мозга; О.Ю.С. и М.Р.Н. – забор крови и подготовка текста статьи; Н.В.Г. – планирование эксперимента, окончательное редактирование текста статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Capizzi A, Woo J, Verduzco-Gutierrez M (2020) Traumatic Brain Injury. *Med Clin North Am* 104: 213–238.
<https://doi.org/10.1016/j.mcna.2019.11.001>
2. Roozenbeek B, Maas AIR, Menon DK (2013) Changing patterns in the epidemiology of traumatic brain injury. *Nat Rev Neurol* 9: 231–236.
<https://doi.org/10.1038/nrneurol.2013.22>
3. Lu J, Marmarou A, Choi S, Maas A, Murray G, Steyerberg EW (2005) Mortality from traumatic brain injury. *Acta Neurochir Suppl* 95: 281–285.
4. Annegers JF, Hauser WA, Coan SP, Rocca WA (1998) A population-based study of seizures after traumatic brain injuries. *N Engl J Med* 338: 20–24.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199801013380104>
5. Pagni CA, Zenga F (2005) Posttraumatic epilepsy with special emphasis on prophylaxis and prevention. *Acta Neurochir Suppl* 93: 27–34.

6. *Sorrells SF, Caso JR, Munhoz CD, Sapolsky RM* (2009) The Stressed CNS: When Glucocorticoids Aggravate Inflammation. *Neuron* 64: 33–39.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.09.032>
7. *Komoltsev IG, Frankevich SO, Shirobokova NI, Volkova AA, Onufriev MV, Moiseeva JV, Novikova MR, Gulyaeva NV* (2021) Neuroinflammation and Neuronal Loss in the Hippocampus Are Associated with Immediate Posttraumatic Seizures and Corticosterone Elevation in Rats. *Int J Mol Sci* 22: 5883.
<https://doi.org/10.3390/ijms22115883>
8. *Atkinson HC, Waddell BJ* (1997) Circadian Variation in Basal Plasma Corticosterone and Adrenocorticotropin in the Rat: Sexual Dimorphism and Changes across the Estrous Cycle. *Endocrinology* 138: 3842–3848.
<https://doi.org/10.1210/endo.138.9.5395>
9. *de Kloet ER, Meijer OC, de Nicola AF, de Rijk RH, Joëls M* (2018) Importance of the brain corticosteroid receptor balance in metaplasticity, cognitive performance and neuro-inflammation. *Front Neuroendocrinol* 49: 124–145.
<https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2018.02.003>
10. *Sorrells SF, Munhoz CD, Manley NC, Yen S, Sapolsky RM* (2014) Glucocorticoids Increase Excitotoxic Injury and Inflammation in the Hippocampus of Adult Male Rats. *Neuroendocrinology* 100: 129–140.
<https://doi.org/10.1159/000367849>
11. *Roberts AJ, Donald Keith L* (1995) Corticosteroids enhance convulsion susceptibility via central mineralocorticoid receptors. *Psychoneuroendocrinology* 20: 891–902.
[https://doi.org/10.1016/0306-4530\(95\)00016-X](https://doi.org/10.1016/0306-4530(95)00016-X)
12. *Mijfsud KR, Kennedy CLM, Salatino S, Sharma E, Price EM, Haque SN, Gialeli A, Goss HM, Panchenko PE, Broxholme J, Engledow S, Lockstone H, Cordero Llana O, Reul JM* (2021) Distinct regulation of hippocampal neuroplasticity and ciliary genes by corticosteroid receptors. *Nat Commun* 12: 4737.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-24967-z>
13. *Koch CE, Leinweber B, Drengberg BC, Blaum C, Oster H* (2017) Interaction between circadian rhythms and stress. *Neurobiol Stress* 6: 57–67.
<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.09.001>
14. *Gulyaeva NV* (2019) Biochemical Mechanisms and Translational Relevance of Hippocampal Vulnerability to Distant Focal Brain Injury: The Price of Stress Response. *Biochemistry (Mosc)* 84: 1306–1328.
<https://doi.org/10.1134/S0006297919110087>
15. *Gulyaeva NV, Onufriev MV, Moiseeva YV* (2021) Ischemic Stroke, Glucocorticoids, and Remote Hippocampal Damage: A Translational Outlook and Implications for Modeling. *Front Neurosci* 15: 781964.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2021.781964>
16. *Kant J, Mougey EH, Meyerhoff JL* (1986) Diurnal Variation in Neuroendocrine Response to Stress in Rats: Plasma ACTH, β -Endorphin, β -LPH, Corticosterone, Prolactin and Pituitary Cyclic AMP Responses. *Neuroendocrinology* 43: 383–390.
<https://doi.org/10.1159/000124553>
17. *Kusmenkov T, Braunstein M, Schneider H, Bidlingmaier M, Prall W, Flatz W, Boecker W, Bogner V* (2019) Initial free cortisol dynamics following blunt multiple trauma and traumatic brain injury: A clinical study. *J Int Med Res* 47: 1185–1194.
<https://doi.org/10.1177/0300060518819603>
18. *Kakati A, Devi BI, Bhadrinarayan V, Kalra P, Shukla D* (2013) Endocrine dysfunction following traumatic brain injury in acute stage. *Indian J Neurotrauma* 10: 92–96.
<https://doi.org/10.1016/j.ijnt.2013.10.002>
19. *Agha A, Rogers B, Mylotte D, Taleb F, Tormey W, Phillips J, Thompson CJ* (2004) Neuroendocrine dysfunction in the acute phase of traumatic brain injury. *Clin Endocrinol (Oxf)* 60: 584–591.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2004.02023.x>
20. *Bensalah M, Donaldson M, Aribi Y, Iabassen M, Cherfi L, Nebbal M, Medjaher M, Haffaf E, Abdennebi B, Guenane K, Djermane A, Kemali Z, OuldKablia S* (2018) Cortisol evaluation during the acute phase of traumatic brain injury—A prospective study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 88: 627–636.
<https://doi.org/10.1111/cen.13562>
21. *Tanriverdi F, Schneider HJ, Aimaretti G, Masel BE, Casanueva FF, Kelestimur F* (2015) Pituitary Dysfunction After Traumatic Brain Injury: A Clinical and Pathophysiological Approach. *Endocr Rev* 36: 305–342.
<https://doi.org/10.1210/er.2014-1065>
22. *Gulyaeva NV* (2015) Ventral hippocampus, Stress and Psychopathology: Translational implications. *Neurochem J* 9: 85–94.
<https://doi.org/10.1134/S1819712415020075>
23. *Prager EM, Johnson LR* (2009) Stress at the Synapse: Signal Transduction Mechanisms of Adrenal Steroids at Neuronal Membranes. *Sci Signal* 2 (86): re5.
<https://doi.org/10.1126/scisignal.286re5>

24. Gulyaeva N (2021) Glucocorticoid Regulation of the Glutamatergic Synapse: Mechanisms of Stress-Dependent Neuroplasticity. *J Evol Biochem Physiol* 57: 564–576.
<https://doi.org/10.1134/S0022093021030091>
25. Narla C, Jung PS, Bautista Cruz F, Everest M, Martinez-Trujillo J, Poulter MO (2019) CRF Mediates Stress-Induced Pathophysiological High-Frequency Oscillations in Traumatic Brain Injury. *eNeuro* 6 (2).
<https://doi.org/10.1523/ENEURO.0334-18.2019>
26. Mattson MP (2019) Excitotoxicity. In: *Stress: Physiology, Biochemistry, and Pathology*. Elsevier. 125–134.
27. Virgin CE, Ha TP, Packan DR, Tombaugh GC, Yang SH, Homer HC, Sapolsky RM (1991) Glucocorticoids Inhibit Glucose Transport and Glutamate Uptake in Hippocampal Astrocytes: Implications for Glucocorticoid Neurotoxicity. *J Neurochem* 57: 1422–1428.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1991.tb08309.x>
28. Bolshakov AP, Tretyakova LV, Kvichansky AA, Gulyaeva NV (2021) Glucocorticoids: Dr. Jekyll and Mr. Hyde of Hippocampal Neuroinflammation. *Biochemistry (Mosc)* 86: 156–167.
<https://doi.org/10.1134/S0006297921020048>
29. Gulyaeva NV (2019) Functional Neurochemistry of the Ventral and Dorsal Hippocampus: Stress, Depression, Dementia and Remote Hippocampal Damage. *Neurochem Res* 44: 1306–1322.
<https://doi.org/10.1007/s11064-018-2662-0>
30. Frank MG, Miguel ZD, Watkins LR, Maier SF (2010) Prior exposure to glucocorticoids sensitizes the neuroinflammatory and peripheral inflammatory responses to *E. coli* lipopolysaccharide. *Brain Behav Immun* 24: 19–30.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2009.07.008>
31. Piccenna L, Shears G, O'Brien TJ (2017) Management of post-traumatic epilepsy: An evidence review over the last 5 years and future directions. *Epilepsia Open* 2: 123–144.
<https://doi.org/10.1002/epi4.12049>
32. Christensen J (2015) The Epidemiology of Posttraumatic Epilepsy. *Semin Neurol* 35: 218–222.
<https://doi.org/10.1055/s-0035-1552923>

Acute Corticosterone Elevation and Immediate Seizure Expression in Rats Depends on the Time of the Day when Lateral Fluid Percussion Brain Injury Has Been Applied

I. G. Komoltsev^{a, b}, S. O. Frankevich^{a, b}, N. I. Shirobokova^a, O. V. Kostyunina^a, A. A. Volkova^a, D. A. Bashkatova^a, D. V. Shalneva^a, P. A. Kostrukov^a, O. Yu. Salyp^a, M. R. Novikova^a, and N. V. Gulyaeva^{a, b, *}

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia*

^b*Moscow Research and Clinical Center for Neuropsychiatry, Moscow, Russia*

*e-mail: nata_gul@ihna.ru

Traumatic brain injury (TBI) in the long term is often accompanied by mental and neurological disorders. Glucocorticoids, which regulate the physiological response of the body to acute and chronic stress, may be associated with long-term changes in the hippocampus and long-term behavioral consequences of TBI. It is well known that the level of cortisol in humans and corticosterone (CS) in rats varies widely during the daily cycle and affects stress reactivity. We analyzed if the time of the day when lateral fluid percussion brain injury (LFP) has been applied affects the development of immediate posttraumatic seizures and CS level as a marker of stress-reactivity. Surgery and LFP application were carried out from 9:00 to 22:00. The animals were sacrificed on days 1, 3, 7 and 14 after TBI from 10:00 to 12:00, which corresponded to a low daily CS level in rats. For the first time we have shown that the time of LFP application is a significant factor affecting CS level elevation in the acute period of TBI: the earlier LFP was associated with the higher CS level in decapitation blood ($r = -0.56$, $p = 0.0004$). In addition, the duration of tonic seizures and the representation of tonic seizures and jumps were higher when LFP was applied in the morning hours compared with the evening hours. Thus, the time of TBI is an essential factor of GCs elevation after trauma and may affect the development of posttraumatic long-term consequences.

Keywords: traumatic brain injury, circadian rhythms, corticosterone, stress, convulsive seizures