

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ДЕСЯТСЬКИЙ Валерій Володимирович

УДК 616.024-009.27.612.37

МЕХАНІЗМИ ПАТОЛОГІЧНО ПОСИЛЕНОЇ ЗБУДЛИВОСТІ ГОЛОВНОГО
МОЗКУ ЗА УМОВ МОДУЛЯЦІЇ АКТИВНОСТІ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

14.03.04 - патологічна фізіологія

Дисертація
на здобуття наукового ступеню
кандидата медичних наук

Науковий керівник
Годлевський Л.С,
доктор медичних наук,
професор

Одеса – 2013

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ І	
РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В КОНТРОЛІ ЗБУДЛИВОСТІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	10
1.1. Взаємодія оксиду азоту і нейромедіаторних систем	11
1.2. Оксид азоту в патогенезі епілептичного синдрому	13
1.3. Оксид азоту в патогенезі кіндлінгу. Методичні особливості моделі	20
1.3.1. Ефекти модуляції системи оксиду азоту при кіндлінгу	22
1.4. Цитохром С-залежні механізми реалізації ефектів оксиду азоту	26
РОЗДІЛ 2	
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1. Експериментальні тварини	32
2.1. Моделі епілептичної активності	33
2.1.1. Осередки ЕпА	33
2.2. Коразол-індукований кіндлінг	34
2.4. Поведінкові реакції	35
2.4.1. Оцінка позно-рухових реакцій	35
2.4.2. Дослідження циклу снання-неснання	37
2.5. Імплантація електродів для реєстрації електричної активності, внутрішньомозкові введення препаратів	38
2.6. Плавальна поведінка	39
2.7. Дослідження агресивної поведінки щурів	40
2.8. Реєстрація електричної активності	41
2.9. Дослідження стану тіол-дисульфідної та окислювально- відновних систем крові	42
2.10. Препарати, що застосовувалися в роботі	43
2.11. Гістологічна верифікація зон введення препаратів, канюль і електродів	43
2.12. Статистична обробка результатів досліджень	44

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ВИНИКНЕННЯ ТА РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОГО ЕПІЛЕПТИЧНОГО СИНДРОМУ ЗА УМОВ МОДУЛЯЦІЇ ПРОДУКЦІЇ ЕНДОГЕННОГО ОКСИДУ АЗОТУ

3.1. Ефекти модуляції продукції ендogenous оксиду азоту на прояви абсансної та судомної форм кіндлінгового синдрому	45
3.1.1. Прояви абсансної форми кіндлінгового епілептичного синдрому на тлі застосування L-аргініну та L-NAME	46
3.1.2. Прояви генералізованих кіндлінгових судом на тлі застосування L-аргініну та L-NAME	51
3.1.3. Вплив L-аргініну та L-NAME на кіндлінгові судоми за даними розрахунків середньоефективних доз препаратів.	54
3.1.3.1. Ефекти L-аргініну	54
3.1.3.2. Ефекти L-NAME	56
3.2. Особливості міжнападкових змін поведінки щурів з хронічною формою епілептичного синдрому	58
3.2.1. Плавальна поведінка щурів	59
3.3. Особливості циклу сну-неспанню у кіндлінгових щурів за умов модуляції продукції оксиду азоту	63
3.4. Особливості проявів післянападової депресії за умов модуляції продукції ендogenous оксиду азоту	72
3.5. Особливості стану тіол-дисульфідної системи крові кіндлінгових щурів за умов модуляції продукції оксиду азоту	77

РОЗДІЛ 4

ЕФЕКТИ МОДУЛЯЦІЇ СИСТЕМИ ПРОДУКЦІЇ ЕНДОГЕННОГО АЗОТУ У ІНТАКТНИХ ЩУРІВ 88

4.1. Вплив L-NAME та L-аргініну на ЕЕГ показники у інтактних щурів	88
4.1.1. Період неспанню	89
4.1.2. Період глибокого повільнохвильового сну	95
4.2. Роль оксиду азоту в реалізації протиепілептичних ефектів бактеріального ліпополісахариду (ЛПС)	100
4.2.1. Ефекти ЛПС, L-NAME та L-аргініну на пеніцилін-індуковані вогнища епілептичної активності	100
4.2.2. Ефекти ЛПС, L-NAME та L-аргініну на вогнища епілептичної активності, індуковані бікукуліном, каїновою кислотою та стрихніном	103

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ 110

ВИСНОВКИ 125

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 128

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АЕП – антиепілептичні препарати;
ГАМК – гама-аміномасляна кислота;
ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр;
ІЛ-1-бета – інтерлейкин-1-бета;
ЕпА – епілептична активність;
ЕП – електричне подразнення;
ЕПР – електронний парамагнітний резонанс;
КС – клонічні судоми;
ПТФ – пентоксифілін;
ЛПС – ліпополісахарид (бактеріальний);
МДА – малоновий діальдегід;
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів;
ПТЗ – пентилентетразоль;
ПС – парадоксальний сон
СОД – супероксиддисмутаза
ТСК – тіосемікарбазид;
ЦНС – центральна нервова система;
ФНП-альфа – фактор некрозу пухлин альфа;
5-НТ – 5-гідрокситриптамін;
СсО – цитохром С-оксидаза;
L-NAME – N^G-нітро-L-аргінін метиловий ефір;
NMDA – N-метил-D-аспартат;
NO – оксид азоту;
7-NI – 7-нітронідазол;
NOS – синтаза оксиду азоту;
nNOS – нейрональна синтаза оксиду азоту;
iNOS – індукцибельна синтаза оксиду азоту.

ВСТУП

Актуальність теми. Епілепсія є хронічним ураженням нервової системи, яке характеризується повторними спонтанними судомами, які супроводжуються пароксизмальними змінами електричної активності в структурах головного мозку [1, 10, 23, 24, 25, 26, 56, 111]. В патогенезі епілептиформних проявів важливим є утворення активних радикалів кисню, які спричинюють порушення гальмівного контролю та викликають патологічно посилене збудження нейронів [2, 20, 28, 29, 52, 53, 90, 171, 213]. Висока ефективність антиоксидантів у відношенні до судомних проявів також свідчить про участь перекісних сполук у формуванні судом [58, 171, 197].

Одним із ендогенних метаболітів, який спричинює надмірне утворення перекісних сполук, є оксид азоту [3, 8, 20]. З іншого боку, оксид азоту впливає на функціональний стан багатьох нейромедіаторних систем, які відіграють важливу роль в контролі збудливості нейрональних утворень, зокрема серотонінергічної, дофамінергічної, ГАМК-ергічної системи та системи збуджуючих амінокислот [208, 253, 254, 255, 282, 283]. Блокування синтезу ендогенного оксиду азоту усуває протиепілептичні ефекти греліну, аскорбінової кислоти та піридоксину [276, 277, 287].

Однак, не дивлячись на встановлену роль цієї сполуки у формуванні епілептиформних проявів на різних моделях епілепсії [16, 36, 44, 46, 48, 54, 71, 117, 143, 179, 229], що доводилось шляхом застосування L-аргініну та інгібіторів синтази оксиду азоту, результати залишаються неоднозначними. Так, згідно даних низки авторів [117, 129, 146, 148, 178, 182] оксид азоту може бути ендогенним антиконвульсантом, в той час як в других дослідженнях встановлена його проконвульсивна функція [75, 102, 196].

Встановлено, що N^G-нітро-L-аргінін метиловий ефір (L-NAME) - інгібітор NOS може знижати ефективність застосування деяких антиепілептичних препаратів [246]. В роботі Nomayoun H. et al., 2002 [145] також встановлено, що попереднє застосування L-NAME (1 і 10 мг/кг, на протязі 4 діб) доза-залежним

чином гальмувало як антиконвульсивні так і проконвульсивні ефекти морфіну. 7-нітронідазол (7-NI) є селективним інгібітором нейрональної синтази оксиду азоту (nNOS). Хоча в багатьох роботах показана антиконвульсивна ефективність 7-NI на моделях експериментального судомного синдрому [68, 75, 183, 276] в ряді досліджень встановлені проконвульсивні ефекти 7-NI [148, 160, 278].

Таким чином, результати досліджень свідчать про подвійну роль оксиду азоту в патогенезі епілептичного синдрому, розвиток протилежних за характером ефектів при застосуванні інгібіторів синтази оксиду азоту. Відповідно, існує потреба в визначенні патогенетичної ролі залежних від продукції оксиду азоту механізмів контролю патологічно посиленої збудливості утворень головного мозку.

Необхідним було з'ясувати ефекти попередника оксиду азоту L-аргініна, а також блокатора синтази оксиду азоту L-NAME на моделях епілептичного синдрому, які відображають особливості хронічного епілептогенезу. Однією з таких моделей є коразол-індукований кіндлінг, який широко використовується для досліджень патогенезу епілептичного синдрому, а також досліджень механізмів нейротропної дії різних факторів [40, 58, 259]. До останнього часу ця модель не використовувалась для досліджень оксид азот-залежних патогенетичних механізмів розвитку судомних проявів.

Зв'язок роботи з науковими планами, програмами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідницької роботи кафедри біофізики, інформатики та медичної апаратури Одеського національного медичного університету (ОНМедУ), затвердженої МОЗ України «Вивчити дію фізичних факторів на головний мозок лабораторних тварин» (№ держреєстрації 0198U007842). Дисертант є співвиконавцем зазначеної теми.

Мета і завдання дослідження. Мета роботи полягала у визначенні залежних від оксиду азоту патофізіологічних механізмів виникнення та розвитку хронічного епілептичного синдрому та в обґрунтуванні нових підходів до подолання епілептиформних проявів.

Завдання дослідження.

1. Дослідити особливості збудливості нейроструктур головного мозку за умов моделювання кіндлінгового синдрому, викликаного коразолом, та застосування попередника оксиду азоту L-аргініну та інгібітора нейрональної синтази оксиду азоту L-NAME.
2. Виявити особливості міжнападової поведінки щурів і циклу спання-неспанья, а також проявів синдрому післянападової депресії у кіндлінгових щурів за умов модуляції функціонального стану системи продукції оксиду азоту.
3. Визначити динамічні зміни стану тіол-дисульфідної системи крові кіндлінгових щурів за умов модуляції продукції оксиду азоту.
4. Дослідити особливості біоелектрогенезу головного мозку щурів в різні фази циклу спання - неспанья при застосуванні L-аргініну і L-NAME.
5. З'ясувати особливості протиепілептичного впливу бактеріального ліпополісахариду за умов фармакологічної модуляції системи продукції оксиду азоту.

Об'єкт дослідження – патогенез епілептичного синдрому.

Предмет дослідження – патофізіологічні механізми розвитку і припинення епілептичного синдрому за умов модуляції продукції ендogenous оксиду азоту.

Методи дослідження – нейропатологічні, біофізичні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. В дослідженні вперше досліджено вплив неспецифічного інгібітору синтази оксиду азоту L-NAME та попередника оксиду азоту L-аргініну в різні фази формування коразол-провокованого кіндлінгу. Встановлено, що на ранній стадії кіндлінгу, яка за своїми патогенетичними механізмами відповідає абсансній формі епілепсії, L-NAME викликає полегшення епілептиформних проявів, в той час як L-аргінін здійснює протиепілептичні впливи. Пізня стадія формування кіндлінгу супроводжується діаметрально-протилежним характером ефектів відповідних фармакологічних засобів у відношенні до генералізованих судом. Вперше

досліджено вплив модуляторів продукції оксиду азоту на формування рухових програм у кіндлінгових щурів в плавальному тесті. Показано збільшення показника варіабельності плавання під впливом L-аргініну, зменшення порогу уникнення із басейну, в той час як дія L-NAME викликала протилежні за характером впливи. Встановлено зниження агресивної поведінки кіндлінгових щурів під впливом L-аргініну, а також посилення виразності опіат-обумовлених компонентів постсудомного депресивного синдрому. Вперше встановлено відновлення фази парадоксального сну у кіндлінгових щурів під впливом L-аргініну. Вперше встановлено зниження вмісту тіолових груп в крові кіндлінгових щурів під впливом застосування L-NAME та високої дози L-аргініну, а також зниження вмісту дисульфідних груп за умов застосування невисоких доз L-аргініну. Показано, що L-NAME викликає зниження потужності загальної біоелектричної активності в структурах кори головного мозку інтактних щурів, виразну редукцію потужності коливань дельта-діапазону, збільшення загальної потужності біоелектричної активності під впливом L-аргініну, яке є найбільш виразним в дельта-діапазоні та тета-діапазонах. Вперше досліджено впливи препаратів на ЕЕГ залежно від фаз циклу снання-неснання. Вперше встановлено потенціювання протиепілептичного впливу бактеріального ліпополісахариду під впливом L-аргініну на вогнища ЕпА сформовані епілептогенами в вентральному гіпокампі.

Практичне значення отриманих результатів. На підставі проведених досліджень представлено патогенетичні особливості перебігу епілептичного синдрому при посиленні та послабленні продукції ендogenous оксиду азоту, що є обґрунтуванням корекції протиепілептичних заходів за умов комплексного застосування протиепілептичних заходів.

Доведено перспективність подальшого дослідження протиепілептичної дії модуляції системи продукції оксиду азоту з метою пригнічення епілептичної активності, а також перспективність подальшої розробки експериментальної моделі патологічного підвищення збудливості головного мозку, яка може бути провокована надмірною продукцією оксиду азоту.

Результати досліджень впроваджено у навчальний процес на кафедрах: біофізики, інформатики та медичної апаратури, фізіології, загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є особистою науковою працею автора. Здобувач самостійно вивчив і узагальнив сучасний стан проблеми за даними інформаційних джерел, сформулював мету і завдання дослідження, здійснив планування. Самостійно опанував методи експериментальних досліджень і виконав запланований обсяг експериментів. Зробив узагальнення і провів аналіз отриманих результатів, опублікував і апробував основні дані, написав і оформив дисертаційну роботу.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації доповідались на науково-практичних конференціях: VIII-й науковій конференції «Читання В.В.Підвисоцького» (Одеса, 2009; 2011); «Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині» (Одеса, 2010); XVIII з'їзді Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, (Одеса, 2010); V пленумі наукового товариства патофізіологів України присвяченого 110- річчю з дня народження М.М.Горєва, (Луганськ, 2010); Національному Конгресі з неврології (Гавана, Куба, 16-18 березня, 2010); Міжнар. науковій конф. молодих вчених, присвяченої 135-річчю з дня народження М.Д. Стражеска, (Одеса 2011); V-у Конгресі Українського тов-ва нейронаук, (Київ, 2011).

Публікації. За матеріалами дисертації надруковано 16 наукових праць: 7 статей в профільних журналах, які рекомендовані ВАК України (з них 3 одноосібні), а також 9 тез.

Структура і обсяг дисертації. Зміст роботи викладено на 159 сторінках комп'ютерного тексту і включає вступ, огляд літератури, матеріал і методи дослідження, два розділи власних досліджень, аналіз й узагальнення результатів, висновки і список використаної літератури. Робота ілюстрована 10 таблицями і 30 рисунками. Бібліографічний покажчик містить 287 джерел, із яких 62 викладено кирилицею.

РОЗДІЛ І

РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В КОНТРОЛІ ЗБУДЛИВОСТІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Оксид азоту (NO) як фактор регуляції стану судин, в нервовій тканині також виконує подібну функцію [8]. Присутність оксиду азоту також визначена в нейрональних та гліальних клітинах [15, 23, 24]. Синтез оксиду азоту здійснюється із L-аргініну шляхом активації синтази оксиду азоту (NOS) в результаті чого продукується оксид азоту із цитруліну [106, 129]. В процесі синтезу приймають участь три типи синтази: конституційна, яка є постійно активною, нейрональна та індукційна. Активність останньої викликається під впливом бактеріального ліпополісахариду та прозапальних цитокинів [8, 15]. NO, хоча і визначається в якості нейротрансмітера, однак, є атипичним, так як на відміну від класичних нейротрансмітерів не акумулюється в мікровезикулах, відрізняється високою дифузійною здатністю, розчинністю в ліпідах, здатен формувати ковалентні зв'язки з численними білковими та небілковими молекулами [3, 27, 35, 36, 37, 39]. Причому дифузія через клітинну мембрану здійснюється за відсутності специфічних транспортерів [106]. Тривалість існування у вільному вигляді молекули оксиду азоту є незначною і оцінюється в 6 секунд [8]. Завдяки цьому, функціональні впливи після утворення молекули NO визначаються відстанню, на якій знаходиться структурно-функціональне утворення – мішень його впливу, а також кінетикою реакцій утворення ковалентних зв'язків з молекулами білків, супероксиду кисню, а також тіоловими групами [24]. Зважаючи на високу активність молекули, наявність специфічного цГМФ-NO-залежного шляху активації внутрішньоклітинних процесів, ця сполука відіграє значну роль у забезпеченні фундаментальних механізмів діяльності центральної нервової системи (ЦНС). Зокрема, йдеться про регуляцію збудливості нейронів, синтез, накопичення макромолекулярних сполук та діяльність нейромедіаторних систем мозку [1, 56, 208, 282]. Крім того,

слід зазначити, що активність нейрональної синтази оксиду азоту є високою в нейронах гіпоталамічного паравентрикулярного ядра, утворень гіпоталамо-гіпофізарно-адrenalового аксису, тобто структур, які залучені до формування механізмів стресу [247]. Цей факт є свідченням патогенетичної обумовленості стрес-провокованих порушень механізмами синтезу та вивільнення NO.

Таким чином, важливе значення системи продукції оксиду азоту в підтримці фундаментальних процесів життєдіяльності нервової тканини передбачає відповідну її роль в патогенезі нейропатологічних синдромів, в тому числі синдромів, які відрізняються патологічним збільшенням збудливості нейрональних утворень.

1.1. Взаємодія оксиду азоту і нейромедіаторних систем

В декількох дослідженнях було встановлено, що NO може модулювати функціональний стан різних нейротрансмітерних систем в головному мозку, зокрема таких як серотонінергічна, дофамінергічна, ГАМК-ергічна та систему збуджуючих амінокислот [172, 178, 208, 253, 254, 255, 282, 283]. Крім того, NO здатен активувати триптофан гідроксилазу, яка є лімітуючим ензимом на шляху синтезу 5-гідрокситриптаміну (5-НТ) [168, 169], а також здатен стимулювати вивільнення вмісту синапсом в гіпокампі [188, 207]. Також NO приймає участь в регуляції зворотного захоплення 5-НТ [235, 236, 237], гальмуванні зворотного захоплення [3Н]-дофаміну в стріарних синапсосомах [176, 177] і в трансформуванні 5-НТ в активні форми молекул [213]. Встановлено, що взаємодія між білком-транспортером серотоніну та нейрональною синтазою оксиду азоту знаходиться в основі реципрокного регулювання їх активності [233].

Взаємозв'язок між NO та 5-НТ є добре відомим із неврологічних даних, які вказують на їх роль в патогенезі мігрени [211]. Викликає інтерес той факт, що L-аргінін блокує дію класичних трициклічних антидепресантів, зокрема іміпраміну [212]. Цей факт вказує на розвиток антидепресивних ефектів

застосування L-NAME за рахунок активації серотонінергічних/норадренергічних механізмів мозку.

Встановлено, що оксид азоту, який продукується конституційною синтазою оксиду азоту здатен модулювати дію морфію, що проявляється модифікацією рівня ноцицептивної чутливості [220]. Автори дійшли висновку, що толерантність так як і залежність від морфію чи виникнення синдрому відміни препарату попереджаються пригніченням активності синтази оксиду азоту. Крім того, активація мю- та дельта - опіатних рецепторів судин приводить до підвищення продукції оксиду азоту [34].

Таким чином оксид азоту приймає участь і відіграє важливу роль в діяльності багатьох нейромедіаторних систем мозку, перш за все тих систем, які мають пряме відношення до контролю збудливості нейрональних утворень та є відповідальними за виникнення та розвиток епілептичного синдрому. Причому, зв'язок з формуванням судомної активності може здійснюватися за рахунок активації синтезу цГМФ, який може стимулюватися під впливом агоністів рецепторів збуджуючих амінокислот, зокрема N-метил-D-аспаратату (NMDA) який в свою чергу активує конституційну синтазу оксиду азоту, що призводить до надмірної продукції NO та формує механізм самопідтримки розвитку патологічного процесу [134]. Важливим є той факт, що модуляція ЕпА під впливом NO є комплексною і кінцевий ефект залежить від багатьох факторів. Так, важливими є дані, що NO здатен як блокувати NMDA рецептори за механізмом зворотного негативного зв'язку, що супроводжується пригніченням епілептичної активності (ЕпА) [215], так і викликати їх активацію [166]; може як викликати, так і пригнічувати вивільнення глутамату персинаптичними терміналями [202]; а також здатен зменшувати ГАМК-ергічне гальмування [204], яке реалізується за рахунок активації рецепторів ГАМК типу А.

1.2. Оксид азоту в патогенезі епілептичного синдрому

Епілепсія є хронічним ураженням нервової системи, які характеризуються повторними спонтанними судомими, які супроводжуються пароксизмальними змінами електричної активності в структурах головного мозку [111]. Більшість епілептичних судом є наслідком розвитку епілептичних розрядів в корі та гіпокампі, хоча в їх формуванні приймає участь і низка підкіркових структур мозку [80]. Було висловлено припущення, що активні радикали кисню викликають формування епілептиформних проявів [90, 156]. Наступні дослідження ефективності антиоксидантів у відношенні до судомних проявів також підтвердило справедливості подібної ролі перекисних сполук [171, 197]. Більш того, в дослідженнях Arzimanoglou A. et al., (2002) [126] обґрунтована думка про те, що антиепілептична терапія має в своїй основі нейропротекцію, так як спрямована на скорочення загального часу розвитку судомних реакцій.

Збільшення активності nNOS спостерігалось на протязі продромального періоду формування пікротоксин-індукованих судом в різних ділянках мозку щурів [239]. Застосування конвульсанту на тлі введення інгібітору nNOS 7-нітроіндазолу (7-NI), доза-залежним чином викликало зниження активності nNOS. За цих умов застосування порогових доз антиепілептичних препаратів (діазепам, фенобарбітал і габапентин) на фоні введення 7-NI супроводжувалось розвитком потенційованого протисудомного ефекту. Таким чином, автори показали, що оксид-азот залежні механізми приймають участь у формуванні пікротоксин-викликаних судом і у формуванні протисудомної дії антиепілептичних препаратів.

Зважаючи на зазначену взаємодію оксиду азоту та серотонінергічної системи, слід підкреслити, судоми можуть бути провоковані зниженням кількості 5-гідрокситриптаміну (5-НТ) в мозку, в той час як антиепілептичні препарати, як правило, збільшують сертонінергічну медіацію [256]. Автори досліджували вплив селективного антагоніста 5-НТ3 рецепторів граністерона та агоніста SR57227 гідрохлориду на поріг виникнення ПТЗ-індукованих судом у

мишей. Можлива взаємодія з системою продукції ендogenous NO також було досліджено шляхом використання L-NAME та попередника оксиду азоту L-аргініну. Було встановлено, що SR57227 (10 мг/кг, в/очер) збільшує поріг виникнення судом у порівнянні до групи контролю, в той час як висока доза граністерону (10 мг/кг, в/очер) викликає проконвульсивні ефекти. Поєднане застосування підпорогових доз 5-HT₃ та L-NAME (відповідно в дозах 5,0 та 60,0 мг/кг, в/очер) викликало виразний протисудомний ефект, в той час як незначна доза граністерону (34,0 мг/кг, в/очер) викликала проконвульсивну дію за умов сумісного застосування з аргініном в дозі 75,0 мг/кг, в/очер. Таким чином, отримані результати засвідчили, що у механізмах виникнення протисудомної дії серотонінергічної системи мозку важливу роль може відігравати також ендogenous система продукції оксиду азоту.

В дослідженні Gahm C. et al., (2002) [131] показано, що продукція оксиду азоту зростає за умов відтворення епілептичного синдрому. Автори підкреслюють, що всі три ізоформи синтази оксиду азоту - індукцйбельна, ендотеліальна і нейрональна збільшують свою активність у тварин в післятравматичному періоді, який характеризується підвищенням чутливості до епілептогенного збудження. При цьому експресія індукцйбельної форми синтази була максимальною на протязі 6 г з моменту розвитку судом, з піком в період між 8 і 23 годинами і спостерігалась в нейронах, макрофагах, нейтрофілах, астроцитах и олігодендроцитах.

Дослідження експериментального епілептичного синдрому свідчать про подвійну патогенетичну роль, яку відіграє індукцйбельна синтаза оксиду азоту [125]. Відрази після початку впливу епілептогену активність цього ферменту супроводжується накопиченням пероксинітритів, що може розглядатися в якості патогенного фактора, а застосування інгібіторів індукцйбельної синтази оксиду азоту, навпаки, є фактором фармакопротекції.

Слід також відмітити, що дезокси-, карбокси- та оксигемоглобін легко взаємодіють з оксидом азоту з наступним утворенням стійких комплексів чи перетворенням оксиду азоту в нітрат. При цьому гемоглобін можна розглядати

як важливий фактор, який модулює рівень оксиду азоту в організмі, а HbNO є проміжною формою – сполукою, яка забезпечує вплив оксиду азоту дистантно від місця його синтезу та впливає на його ефекти за умов норми та патології [73, 140, 147, 219, 223]. Через це в патогенезі ішемічного травматичного ушкодження мозку суттєву роль можуть відігравати механізми взаємодії гемоглобіну та оксиду азоту.

Оксид азоту відіграє ключову роль в механізмах формування пероксинітритів, які належать до найбільш потужних прооксидантів і, таким чином, можуть забезпечувати патогенетичні механізми розвитку посттравматичних порушень [141]. Автори в досліджах на мишах-самцях лінії CF-1, у яких відтворювали травму головного мозку середнього ступеню тяжкості, досліджували виразність нейродегенерації у термін до 120 г з моменту травми, а також визначали рівень 3-нітротирозину і 4-гідроксинонєналу, які представляють собою продукти пероксинітритного пошкодження білків та ліпідів. Автори встановили, що пік нейродегенерації спостерігався у проміжку з 72 до 120 г з моменту моделювання черепно-мозкової травми і в цей же період концентрація продуктів дії пероксинітритів була найвищою. Причому, зона наявності 4-гідроксинонєналу була набагато більшою, ніж така у 3-нітротирозину.

Таким чином, оксид азоту і гемоглобін порівняно легко утворюють стійкі парамагнітні нітрозильні комплекси гемоглобіну, що може мати патогенетичне значення в розвитку патологічних процесів, пов'язаних з крововиливами в нервову тканину.

Оксид азоту приймає активну участь у виникненні та припиненні судомних реакцій. Так, зокрема, в дослідженнях Раєвського К.С. и соавт., (2000) [46] на висоті судомного нападу, який було викликано максимальним електрошоком (тонічна фаза судом), введенням коразолу чи тіосемікарбазиду (ТСК), вміст оксиду азоту в корі мозку щурів перевищував показник в групі контролю в 3-5 разі. В середньому кількість оксиду азоту в корі мозку, який утворюється за 30 хв, на моделі максимального електрошоку становила 5 ± 1

нмоль/г проти $(1,5 \pm 0,5)$ нмоль/г в корі мозку тварин групи контролю. При клоніко-тонічних судомах, які було викликано коразолом (120 мг/кг), вміст NO в корі мозку щурів зростав в 5 разів у порівнянні до контролю. Вміст NO при судомах, які було викликано ТСК, також значно перевищував контрольні значення і складав $(6,0 \pm 1,0)$ нмоль/г.

Генерування вільних радикалів являє собою один із найбільш важливих механізмів наступних порушень в тканині головного мозку при розвитку епілептичної активності [91]. В своєму дослідженні автори вивчали нейропротекторні впливи бромкріптину – агоніста дофамінових рецепторів другого типу, який має виразні антиоксидантні властивості, на когнітивну функцію, гістопатологічні характеристики і перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) на моделі нейротравми у гризунів. Бромкріптин (5,0 мг/кг) вводили в/очер за 15 хв до відтворення травми головного мозку. Автори показали, що тварини із застосуванням бромкріптину з травмою головного мозку зберігали більш високу здатність локалізувати платформу в плавальному тесті Морріса. При цьому також в більшому ступені зберігались нейрони поля СА3 гіпокампу. В результаті травми головного мозку у всіх досліджуваних регіонах мозку спостерігалось збільшення концентрації малонового діальдегіду (МДА), в той час як на тлі застосування бромкріптину подібні порушення були значно менш виразними. Так концентрація МДА в стріатумі склала $4,22 \pm 0,52$ проти $(5,60 \pm 0,44)$ нмоль/мг тканини в контролі, а в чорній речовині відповідно $(4,18 \pm 0,35)$ та $(7,76 \pm 2,05)$ нмоль/мг. В той же час у фронтальній корі мозку відмінності не були статистично достовірними.

В роботі Kovács R. et al., (2009) [118] досліджували властивості зрізів гіпокампу і енторинальної кори мишей з відсутністю генів, які кодують синтез нейрональної синтази азоту. Автори встановили, що якщо в зрізах гіпокампу мишей без подібного генетичного дефекту зниження рівня іонізованого магнію в культуральному середовищі приводило до виникнення епілептиформної активності та збільшення продукції оксиду азоту, використання інгібіторів синтази азоту, а також антиоксидантів, які зв'язують NO, супроводжувалось

пригніченням як збуджуючих, так і гальмівних постсинаптичних потенціалів і попереджало розвиток епілептиформних проявів. Подібний ефект спостерігався як в культурі гіпокампальних нейронів, так і в гіпокампальних та енторинальних зрізах і не залежав від активності цГМФазного шляху його реалізації. Пригнічення епілептиформних проявів можливо було спостерігати за умов застосування значного числа інгібіторів синтази оксиду азоту і подібні прояви спостерігались значно рідше у мишей з відсутністю відповідних генів, які є відповідальними за продукцію оксиду азоту. Автори дійшли висновку, що на рівні синаптичних шляхів продукція оксиду азоту є механізмом, який спрямований на самопідтримку розвитку епілептиформних проявів.

На моделі судом, які було викликано застосуванням пестициду ліндану (4 мг/кг, в/очер), який здатен блокувати ГАМК-рецептори типу А, застосування L-аргініну (600; 800 і 1000 мг/кг, в/очер) доза-залежним чином збільшувала виразність судом, їх тяжкість, скорочувало латентний період їх виникнення у щурів [275]. Напроти, застосування L-NAME (500; 700 та 900 мг/кг, в/очер) зменшувало тяжкість судом, затримувало їх виникнення навіть при використанні високої дози ліндану (8 мг/кг, в/очер). Таким чином, автори дійшли висновку, що оксид азоту виступає в якості ендogenous проконвульсивного фактора на моделі ліндан-провокованих судом.

Разом з тим, дані щодо впливу інгібіторів синтази оксиду азоту на судомні реакції, які індуковані застосуванням агоністів рецепторів збуджуючих амінокислот більш однозначно вказують на проепілептичну роль, яку виконує NO в їх виникненні та розвитку. Так, в дослідженні Микоян В.Д. и соавт. (1998) [54] встановлено, що внутрішньомозкове застосування M-метил-0,1-аспартата (NMDLA) викликає чотирьократний підйом рівня оксиду азоту в тканині мозку щурів, що визначалось методом ЕПР та активує ПОЛ, що відбувається на тлі розгорнутого судомного синдрому.

Надмірне насичення організму щурів киснем при гіпербаричній оксигенації (ГБО) супроводжується судомним синдромом. Причому, якщо ГБО не викликала суттєвих змін вмісту глутамінової та аспарагінової кислот в

інтерстиції нервової тканини, то з боку вмісту ГАМК спостерігалось зниження на $37\pm 7\%$ [203]. У щурів, яким застосовували інгібітор nNOS ГБО не супроводжувалась виникненням епілептиформних розрядів в ЕЕГ. Також попереджалось зменшення рівня ГАМК, що зменшувало умовний індекс цитотоксичності глутамінова кислота/ ГАМК.

В дослідженні Номayoун Н. Et al., (2002) [145] встановлено, що протиепілептичний ефект циклоспорину А (10 мг/кг, в/очер), який спостерігався на моделі ПТЗ-індукованого кіндлінгу у щурів блокувався під впливом L-аргініну в дозі 60 мг/кг, в/очер, в той час як L-NAME (10 та 30 мг/кг, в/очер), але не аміногуанідин (50 та 100 мг/кг, в/очер) посилював протиепілептичні впливи циклоспорину А.

В дослідженнях Osonoe K. et al., (1994) [221]; Del-Bel E.A. et al., (1997) [74] встановлено, що як одноразове (120 мг/кг), так і повторне (25 мг/кг, двічі на добу на протязі 4 діб) в/очер застосування інгібітора синтази оксиду азоту NG-нітро-L-аргініну (L-NOARG) було досліджено у відношенні до судом, які провокували застосуванням пілокарпіну, пентиленететразолу (ПТЗ), а також аудіогенних судом у схильних та резистентних до їх розвитку щурів. Автори встановили, що пілокарпін в дозі 100 мг/кг виявляв здатність викликати судоми тільки за умов застосування інгібітору синтази оксиду азоту. Крім того, застосування L-NOARG посилювало тяжкість лімбічних судом, які були провоковані застосуванням ПТЗ (60 мг/кг) і попереджало виникнення тонічного компоненту судом, які також було викликано ПТЗ (80 мг/кг). Не було визначено впливу препарату на аудіогенні судоми, що свідчить про відсутність значення стовбурових механізмів мозку в контролі епілептогенного збудження, яке здійснюється за участю системи оксиду азоту.

Таким чином, при інтерпретації отриманих даних у відношенні до ролі оксиду азоту в формуванні ЕпА, можливо зазначити, що продукція NO відіграє протиепілептичну роль на моделі пілокарпінових судом та лімбічних судом, викликаних незначною дозою ПТЗ, в той час як при застосуванні високої дози ПТЗ продукція NO викликає проепілептогенні впливи. Слід зазначити, що в

дослідженні було використано досить значні дози інгібітора, застосування яких на думку авторів при однократному введенні викликає пригнічення активності NOS на 50%, а при чотирьохдобовому застосуванні – більше, ніж на 95%. Отримані результати знаходяться у відповідності до даних [202], які встановили, що застосування L-NOARG викликає виразне посилення бікукулін-індукованих судом, а також даних [154], які показали посилення судом, викликаних каїновою кислотою під впливом L-NOARG.

Мелатонін головний гормон епіфізу викликає антисудомні ефекти [161]. Так, його в/очер застосування в дозах 40 та 80 мг/кг суттєво збільшувало поріг виникнення ПТЗ-провокованих судом. Цей ефект спостерігався вже через 1 хв з моменту застосування мелатоніну і тривав близько 30 хв з максимумом виразності на третій хвилині із моменту застосування. Комбінування самостійно неефективних доз мелатоніну (10 та 20 мг/кг) та L-аргініну (30, 60 мг/кг) супроводжувалось виникненням виразного протисудомного ефекту. Цей ефект блокувався застосуванням L-NAME, (30 мг/кг), що є свідченням про залежність впливу мелатоніну від стану NO продукуючих систем. Натомість попереднє застосування L-NAME (30 мг/кг) та N(G)-нітро-L-аргініну (L-NNA, 10 мг/кг) блокувало антиепілептичний вплив мелатоніну.

Таким чином, наведені результати свідчать про те, що за умови виникнення ЕпА під впливом агоністів рецепторів збуджуючих амінокислот оксид азоту відіграє переважно проепілептичну роль. В цьому відношенні також важливою є висока потужність епілептогенного збудження, як фактор, що обумовлює проепілептичну роль оксиду азоту – за умов її розвитку має місце надмірна продукція оксиду азоту. В той же час, відносно слабкий рівень ЕпА пов'язаний з протиепілептичною функцією оксиду азоту.

1.3. Оксид азоту в патогенезі кіндлінгу. Методичні особливості моделі

На сьогодні кіндлінг розглядають в якості загальнобіологічного феномену, який характеризується виникненням хронічного епілептичного синдрому із стійкими та тривалими порушеннями поведінки кіндлінгових тварин у міжнападному періоді [65, 113, 271]. Так, класична електроподразнювальна форма кіндлінгу супроводжується розладами пам'яті, навчання, а також підвищенням агресивних форм поведінки тварин [72, 87]. Встановлено порушення фундаментальних характеристик діяльності мозку в ході формування кіндлінгу, зокрема – циклу сну-несну при електричному подразненні ЕП мигдалика у кішок [85]. Вказані поведінкові порушення можуть носити як пароксизмальний характер та виникати після провокації електричним подразненням, так і мати сталий континуальний характер в міжнападному періоді.

Модель кіндлінгу має певні методичні переваги при вивченні епілептизації мозку. До них слід віднести можливість контролю початку формування ЕпА, стадійність судомного синдрому, високу відтворюваність судом, кореляцію ЕЕГ та поведінкових змін, а також тривале підтримання стійкої підвищеної епілептичної готовності мозку за умов відсутності впливу епілептогенних чинників [58].

Фундаментальний аспект кіндлінгу полягає в можливості здійснення системного аналізу хронічної ЕпА. У цьому відношенні дослідження феномену кіндлінгу дозволило отримати нові дані щодо закономірностей трансинаптичної взаємодії утворень мозку, які засвідчили їх відповідну роль у формуванні проявів судомного синдрому. Крім того, тривалий, стійкий характер порушень, які мають місце, дозволив визначити функціональний стан різних фізіологічних систем організму – імунологічної, репродуктивної, ендокринної та інших.

Дослідження патогенезу фармакологічного кіндлінгу дозволили отримати нові дані щодо концепції патологічної системи [30, 58]. Було встановлено, що в основі виникнення епілептогенних ефектів за даної форми кіндлінгу знаходиться формування первинного детермінантного вогнища збудження в структурах гіпокампу, а залежних ланок системи – в інших нейрональних утвореннях, які контролюють рухову активність, визначені умови здійснення ефектів патологічної системи, закономірності її розпаду та ліквідації [29, 30, 47, 58, 59, 61]. Формування гіперактивної детермінанти в утвореннях гіпокампу, що обумовлює розвиток епілептичної патологічної системи, активність якої проявляється в судомних реакціях, індукує виникнення патологічних вогнищ збудження і в інших нейрональних утвореннях, які не мають прямого відношення до контролю рухової активності. Діяльність останніх знаходиться в основі нерухоливих проявів епілептичного синдрому.

Іншим важливим аспектом кіндлінгу, як моделі формування ЕпА, є те, що поведінкові порушення можливо розглядати в якості еквівалентів поведінкових несудомних порушень при клінічних формах епілепсії. Так, відомі деякі несудомні епілептичні пароксизми такі як психомоторні, афективні, оральні, які можливо розцінювати як клінічні прототипи певних кіндлінг-провокованих порушень поведінки. Зокрема йдеться про синдром патологічно посиленої агресивної поведінки, стереотипної поведінки та інших. В міжпадовому періоді при епілепсії спостерігаються брадикінетичні порушення, які, можливо, мають спільні патогенетичні механізми з кіндлінг-викликаним зниженням рухової активності у експериментальних тварин.

Важливим аспектом розробки кіндлінгової моделі епілептогенезу останнього часу є визначення механізмів фармакологічної резистентності даної форми ЕпА до дії протиепілептичних препаратів [103]. Актуальність цієї проблеми пояснюється широкою розповсюдженістю як первинної резистентності хворих на епілепсію до фармакотерапії (близько 20,0%), так і набутою нечутливістю до дії препаратів. Розробка патогенетичних механізмів фармакологічної резистентності за умов кіндлінгу дозволяє обґрунтувати

патогенетично виправдане лікування цього контингенту хворих. Вказані особливості кіндлінгу забезпечують значні переваги цієї моделі в дослідженнях механізмів діяльності головного мозку.

1.3.1. Е ф е к т и м о д у л я ц і ї с и с т е м и о к с и д у а з о т у п р и к і н д л і н г у. В роботі Herberg L.J. et al., (1995) [143] досліджено вплив L-аргініну та L-нітро-аргнініу (L-No-арг) на протязі перших шести діб розвитку амігдалярного електроподразнювального кіндлінгу у щурів. Встановлено, що застосування L-аргініну в дозі 750 мг/кг, в/очер не впливало на процес формування кіндлінг-провокованих судом, в той час як L-No-арг в дозі 100 мг/кг, в/очер викликав збільшення тривалості після розряду та виразність судом на добу, коли застосовували препарат, але не впливав на виразність кіндлінгових судом, що провокували на наступну добу. Також був встановлений принциповий факт зниження резистентності кіндлінгових щурів до виникнення судом, що провокували після попередніх кіндлінгових судом. Тобто, під впливом L-No-арг зменшувалась виразність постнападової депресії. За цих умов також збільшувалась летальність щурів. Таким чином, застосування модуляторів оксиду азоту не впливало на розвиток тривалих за часом ефектів кіндлінгу, хоча спостерігалась значна модуляція провокованих ЕП мигдалика судомних проявів.

Залежність характеру впливу оксиду азоту від стану зрілості нервової тканини встановлено в дослідженні A.P. Vasconcelos et al., (2000) [249]. У 10-добових щурят застосування незначної дози ПТЗ викликало летальність від судом у 18-29% щурят, в той час як застосування тієї ж дози на тлі введення L-NAME (10 мг/кг) та 7-NI (40 мг/кг) супроводжувалось летальними судомами відповідно в 100% та 89% випадках. Застосування L-аргініну (300 мг/кг) не мало впливу на ефекти ПТЗ. В той же час, застосування інгібіторів у 21-добових щурят не впливало на показник летальності від судом, які було викликано ПТЗ і який складав 82-89%. Причому, в цьому віці застосування L-аргініну зменшувало летальність до 29%. Автори дійшли висновку, що на стадії виразної

незрілості щурят (10 діб) попередження летального виходу від ПТЗ-індукованих судом пов'язане з продукцією оксиду азоту. В той же час, у більш зрілому віці (21 доба) залежні від оксиду азоту механізми залучаються до генерування клонічних компонентів ПТЗ-провокованих судом.

Важливо зазначити, що вплив ендogenous оксиду азоту може залежати від рівня статевих гормонів в крові щурів [258]. Так, автори встановили, що L-NAME збільшував латентний період та зменшував виразність ПТЗ-провокованих судом у щурів-самців, в той час як у самиць викликав протилежні ефекти. Автори зазначають, що залежно від статі препарат по-різному впливав на проникність гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ). Застосування L-NAME у самиць супроводжується виникненням виразного підвищення проникності бар'єру в структурах середнього мозку, таламусу, гіпокампу, стріатумі та мозочку, чого не спостерігається у самців. Причому, завдяки цим ефектам L-NAME збільшує загальний рівень нітратів та нітритів в тканині мозку самців, а у самиць, навпаки, знижує його.

Залежність ефектів оксиду азоту від рівня жіночих статевих гормонів досліджена в роботі Hosseini M. et al., (2009) [269].. Авторами було визначено роль оксиду азоту в розвитку ПТЗ-індукованих судом у щурів-самиць за умов оваріектомії. Встановлено суттєве зростання тривалості латентного періоду генералізованих клоніко-тонічних судом, які викликали в/очер застосуванням ПТЗ в дозі 90 мг/кг, у оваріектомованих щурів у порівнянні до групи контролю, яку складали хибно оперовані тварини. Причому, латентний період перших клонічних судом не змінювався. Застосування L-NAME (10 мг/кг, в/очер щодобово на протязі чотирьох тижнів) супроводжувалось достовірним збільшенням латентного періоду перших клонічних та генералізованих судом у щурів групи контролю за відсутності ефекту у оваріектомованих тварин. Причому, якщо L-аргінін (500 мг/кг, в/очер щодобово протягом чотирьох тижнів) не викликав ефекту на латентний період перших і генералізованих судом в контролі, у щурів з оваріектомією спостерігалось зменшення латентного періоду розвитку генералізованих судомних реакцій. Отримані результати

дозволили авторам дійти висновку, що гормони яєчника регулюють судомний поріг по відношенню до ПТЗ і в цьому процесі важлива роль належить оксиду азоту.

В дослідженні Han D. et al., (2000) [159] у щурів із сформованим кіндлінгом ПТЗ в дозі 40,0 мг/кг, в/очер збільшував рівень метаболітів оксиду азоту в гіпокампі не впливаючи на їх рівень при застосуванні аналогічної дози епілептогену у інтактних щурів. Причому однократне застосування ПТЗ в епілептогенній дозі збільшувало рівень метаболітів NO в гіпокампі щурів, а подібне застосування ПТЗ на тлі інгібітору нейрональної синтази оксиду азоту 7-нітроіндазолу (7-NI) зменшувало ефект підйому метаболітів без впливу на виразність судом. Формування кіндлінгу на тлі попередніх введень 7-NI блокувало розвиток судом та зменшувало ступінь підняття вмісту метаболітів NO. Суттєве збільшення нейротрофічного фактору мозку (BDNF) реєструвалось у гіпокампі кіндлінгових щурів, яке зменшувалось після судом, індукованих ПТЗ. 7-NI викликав зниження рівня BDNF в гіпокампі у кіндлінгових щурів. Таким чином, автори дійшли висновку, що NO відіграє важливу роль в формуванні ПТЗ-викликаного кіндлінгу и що BDNF може залучатися до виникнення NO-залежних пластичних змін, які знаходяться в основі нейрональної патологічно посиленої збудливості

У мишей-самців зі сформованим ПТЗ кіндлінгом (три тижні застосування епілептогену в дозі 40,0 мг/кг, в/очер та 24 г з моменту останніх судом) в нейронах кори головного мозку спостерігається підвищення рівня внутрішньоклітинного $[Ca^{2+}]$ [192]. Крім того в тканині кори мозку збільшувався вміст МДА, активність синтази оксиду азоту, лактатдегідрогенази, але зменшувався рівень активності супероксидисмутази (СОД) та редукувався рівень глутатіону. При гострих ПТЗ-провокованих судамах (24 г з моменту застосування ПТЗ в дозі 50 мг/кг, в/очер) не спостерігалось подібних зрушень, що свідчить про їх патогенетичну обумовленість власне кіндлінг-специфічними механізмами. Антиоксидант таурин (100 мг/кг, в/очер) блокував ефекти зрушень рівня внутрішньоклітинного $[Ca^{2+}]$, лактатдегідрогенази, синтази NO, глутатіону

та СОД, в той час як ніфедипін (30 мг/кг, в/очер) попереджав порушення з боку лактатдегідрогенази та глутатіону. Препарати не впливали на рівень МДА.

Формування ПТЗ кіндлінгу пов'язане із зростанням активності nNOS [179]. Вимірювання вмісту оксиду азоту *in vivo* та *ex vivo* за допомогою електронного парамагнітного резонансу засвідчило зростання продукції оксиду азоту. Автори підкреслюють, що відставлені в часі судоми у кіндлінгових щурів (після перерви у введеннях епілептогену) виникали на тлі низького вмісту оксиду азоту. Викликає цікавість той факт, що загальний об'єм мозочка в процесі кіндлінгу зменшувався на 20%, але не у щурів, яким застосовували інгібітор nNOS 3-бромо-7-нітроіндазол (3Br-7NI), що вказує на патогенетичне значення продукції оксиду азоту в тканині мозочка щодо відповідних морфологічних змін, які спостерігаються в процесі розвитку ПТЗ-кіндлінгу.

У мишей, які мали дефект гена, що кодує нейрональну синтазу оксиду азоту (nNOS) застосування ПТЗ в дозі 40 мг/кг, в/очер викликало тяжкі судоми, в той час як у інтактних мишей ця доза була підпороговою [162]. Причому, судоми викликали загибель мишей. Застосування селективних інгібіторів nNOS у мишей дикого типу, які не мали відповідних генетичних порушень -1-[2-(трифлуорометил)феніл] імідазолу (TRIM) та 3Br-7NI в великих дозах супроводжувалось пригніченням тонічних судом, які викликали за допомогою ПТЗ в дозі 60 мг/кг, в/очер. В той же час, менша доза інгібіторів приводила до появи судом, які було провоковане підпороговою дозою ПТЗ (40 мг/кг, в/очер). Подібний проконвульсивний ефект спостерігався тільки за умов застосування інгібіторів nNOS, але не інгібіторів інших типів синтази оксиду азоту. Автори також встановили, що на тлі відсутності nNOS судоми, які провоковані ПТЗ виникають за участі стимуляції глутаматних рецепторів.

Таким чином характер впливу на ЕпА з одного боку залежить від дози епілептогену (слабкі чи тяжкі судоми), з іншого – від дози інгібітору синтази оксиду азоту, а також від типу синтази, гальмування якої викликали в тих чи інших дослідженнях.

Таким чином, значною мірою патогенез хронічної епілептичної активності може бути пов'язаним із змінами механізмів, які є залежними від стану системи продукції оксиду азоту. Це стосується як виникнення, так і розвитку та пригнічення епілептиформних проявів де можливим є участь NO-залежних механізмів в дії антиепілептичних препаратів а також в виникненні функціональної активності структур антиепілептичної системи.

На сьогодні відсутні дані щодо шляхів обміну оксиду азоту - їх модифікації за допомогою використання попередника оксиду азоту - L-аргініну, а також інгібіторів синтази оксиду азоту за умови моделювання хронічного епілептичного синдрому - фармакологічного кіндлінгу. Через високу адекватність цієї моделі клінічним формам захворювання, високу відповідність патогенетичних механізмів розвитку кіндлінг-індукованого епілептогенезу механізмам виникнення та розвитку епілепсії, дослідження ролі оксиду азоту в формування епілептогенних ефектів кіндлінгу є високо актуальним завданням.

1.4. Цитохром С-залежні механізми реалізації ефектів оксиду азоту

Після відкриття потенційної біологічної ролі, яку відіграє NO [123, 224] було встановлено його ключова роль у здійсненні глутаматергічної нейротрансмісії [133]. Було показано, що шляхом активації розчинної гуанілат циклази NO приймає участь у активації внутрішньоклітинного сигнального процесу, який має результатом активацію цГМФ-залежних протеїнкіназ [132]. Універсальні для клітин ефекти NO свідчать про його критичне значення в процесах збереження їх життєдіяльності, включаючи й нервову тканину [69, 205, 206]. В 1994 р. чотири незалежні повідомлення засвідчили, що NO який додавали до препаратів, які містили мітохондрії, або ж NO, який було стимульовано до продукції клітинами самих інтактних препаратів за рахунок активації індукцибельної NO-синтази (NOS2) викликало гальмування активності цитохром С оксидази (CсO) - термінальної частини мітохондріального дихального ланцюга [92, 216, 242, 252]. Однак, в трьох дослідженнях ефект

пригнічення СсО за рахунок додання NO зовнішнього походження був реверсивний [92, 242, 252] і блокувався під впливом кисню [92, 252]. В той же час, в одному дослідженні, коли вивчали вплив оксиду азоту ендогенного походження гальмівний вплив на активність СсО був прогресивним та постійним.

На сьогодні реверсивна взаємодія між СсО та оксидом азоту для питань фізіології клітини має виключне значення [93, 107, 187, 190, 267].

Слід зазначити, що гальмування СсО, яке відбувається під впливом NO збільшує співвідношення АМФ/АТФ шляхом стимуляції АМФ-індукованої протеїнкінази (АМФПК), що індукує гліколіз [70]. Крім того, редукція цитохрому С, яка супроводжує ефект гальмування СсО під впливом NO викликає збільшення продукції O_2^- , що стимулює сигнальні механізми цитопротекції [193, 194] та гіпоксії [110]. Більше того, важливим є те, що продукція O_2^- , яка спостерігається в результаті гальмування СсО оксидом азоту, виникає до того як виникають прояви гіпоксії [120, 149]. Редукований цитохром С має здатність взаємодіяти з NO та продукувати нітроксил аніон (NO^-) [225, 261]. При цьому як O_2^- , та NO [86], так і $O_2^- NO^-$ [225, 291] можуть спонтанно вступати в реакції утворення пероксинітритного аніону ($ONOO^-$). Таким чином, через взаємодію оксиду азоту та СсО мітохондрій виступає як у вигляді мішені на яку впливає NO, так і джерелом утворення пероксинітриту. Однак, слід зазначити, що можливе і позамітохондріальне утворення цих аніонів, а саме - через взаємодію NO з аніонами кисню, які утворюються на плазматичній мембрані завдяки активності НАДФ [83, 181]. Незважаючи на специфічне джерело формування, пероксинітрит може легко дифундувати через мембрану завдяки високій розчинності в ліпідах [174] і, таким чином може викликати ефекти на відстані від місця безпосередньої продукції. Так, встановлено, що пероксинітрит викликає пошкодження багатьох клітинних структур, включаючи мітохондріальні ензими такі як аконітаза [100, 191, 210], НАДФ-дегідрогеназа [89, 151], сукцинатдегідрогеназа [151], альфа-кетоглутаратдегідрогеназа [189], а також наряду з мітохондріальними ензимами може викликати пошкодження

ДНК [98, 105, 155] та ліпідів [226]. Також встановлено що пероксинітрит може формуватись *in vivo* [84], та здатен модифікувати та пошкоджувати невизначене число протеїнів [173]. Причому точний механізм взаємодії пероксинітриту та протеїнів є невизначеним. Найбільш відомим є механізм взаємодії з нітрогрупою в молекулі тирозину в третьому її положенні [238], а також окислення сульфгідрильних груп [100].

Зазначені ефекти можуть викликати модифікацію структури білкових молекул із виникненням їх інактивації. Дійсно, на сьогодні імунодетекція 3-нітротирозинів в протеїнових фракціях є хорошим індикатором формування пероксинітриту [139, 216]. Більше того, комплексні зміни ензиматичної активності виникають внаслідок нітрозилування (нітрування залишків тирозину) та окиснення (сульфгідрильне окиснення) ключових ензимів, таких як НАДФ дегідрогеназа [170]. Молекулярний механізм, який є відповідальним за незворотне гальмування СсО пероксинітритами був вперше описаний Sharpe and Cooper, (1998) [261].

Внаслідок високої потреби в енергії, яка є необхідною для підтримки нейрональної діяльності, нервова система є найбільш чутливою тканиною до пошкодження функціональної активності мітохондрій [64, 96, 144, 200]. Слід зазначити, що нервова тканина не є гомогенною і включає декілька типів клітин, які є відповідальними за її функцію - нейрони, астроцити, мікроглія і олігодендроцити [144]. Названі клітини не працюють ізольовано одна від одної, а між ними реалізовані тісні функціональні взаємозв'язки, наприклад на рівні забезпечення гомеостазу глутатіону в нервовій тканині [128]. Астроцити та нейрони формують єдину паракринну комунікаційну систему що працює шляхом вивільнення водорозчинних транспортних форм різних біологічно активних речовин, включаючи цитокіни [157], перекисні сполуки, пероксинітрит [150] та їх попередники [64].

Стосовно астроцитів, наявність цитокінів (інтерферон-гама, інтерлейкин-1-бета, фактор некрозу пухлин-альфа), імуногенних нейрональних протеїнів (S100-бета) чи інших компонентів, таких як ендотоксини бактеріального чи

вірусного походження, наприклад, ліпополісахарид (ЛПС) викликають транскрипцію численних генів, що виливається в загальну добре відому реакцію активації [150]. Є достатнє число захворювань людини, в основі яких знаходяться нейроімунологічні процеси. Серед них, перш за все такими є множинний розсіяний склероз [199], хвороби Паркінсона та Альцгеймера [184, 78]. Подібні механізми добре відомі і у відношенні до хронічної епілепсії, а також резистентних до лікування форм епілептичного синдрому.

Нейрони та астроцити відрізняються чутливістю до пошкоджуючих впливів нітро-сполук. Так, активовані астроцити, в яких визначається експресія NOS2 [266], відрізняються високою продукцією оксиду азоту [209], який є відповідальним за гальмування цитохромоксидази типу C [216]. Більше того, постійне гальмування цього ензиму (<25% загального рівня активності) має функціональні наслідки у відношенні до дихальної функції мітохондрій, так як повне видалення оксиду азоту з активованих астроцитів суттєво редукує (на <18%) споживання кисню [209]. Однак, було встановлено, що ці клітини є високо резистентними до наслідків подібного гальмування і визначення наявності NOS2-викликаного збільшення швидкості перетворення глюкози в лактат може бути свідченням того, що мітохондріальна біоенергетична криза може бути ефективно компенсована підвищенням інтенсивності процесів гліколізу [216]. Подальші поглиблені дослідження в цьому напрямку засвідчили існування специфічних механізмів, які пов'язують мітохондріальне гальмування з підвищенням гліколізу під впливом оксиду азоту, які реалізуються на рівні перемикачів на шлях активації 5'АМФ-залежної кінази – 6-фосфофрукто-2-кінази/фруктоза - 2,6-біфосфатази (ізоформа 3) в астроцитах, але не в нейронах [70]. Таким чином, астроцити є клітинами, які здатні вивільняти значну кількість перекісних сполук без шкоди для власної життєдіяльності. Але завдяки високій розчинності перекісних сполук в ліпідах сусідні нейрони стають мішенями їх пошкоджуючих впливів.

Слід зазначити, що система глутатіону виконує захисну роль по відношенню до нейротоксичного впливу пероксинітриту. Так, інкубація

нейронів з додаванням екзогенного пероксинітриту викликає доза-залежне гальмування цитохромоксидази, яке за подібної концентрації пероксинітриту не спостерігається в астроцитах [209]. Виразність ефекту корелює з дефіцитом внутрішньоклітинної концентрації глутатіону в нейронах, що визначає астроцити як високорезистентні клітини до подібних токсичних впливів [209]. За умови культивування нейронів в присутності активованих астроцитів, вимірювання продукції АТФ та залежності виживання нейронів від здатності продукувати АТФ свідчить, що протективні механізми є пов'язаними з функцією астроцитів, а не одних лише нейронів [217]. Дослідження активної ролі астроцитів в захисті нейронів від пошкоджуючого впливу пероксинітриту засвідчило, що в цих процесах відбувається трансфер глутатіону чи його попередника від астроцитів до нейронів [232]. Подібний механізм передачі глутатіону від астроцитів до нейронів є добре відомим [112]. Встановлено, що спільна інкубація нейронів з астроцитами, в яких було знижено рівень глутатіону супроводжується підвищенням чутливості нейронів до пошкоджуючих впливів оксиду азоту та пероксинітриту [135]. Це є також свідченням того, що збільшення антиоксидантного потенціалу астроцитів може бути одним із підходів до розробки методів протекції нейронів по відношенню до різних за своєю природою пошкоджуючих впливів. Причому, важливим механізмом патогенезу пошкодження нервової тканини може бути й те, що зниження глутатіону в астроцитах викликає різке підвищення їх чутливості до ушкоджуючого впливу пероксинітриту, що, в свою чергу, буде викликати подальше виразне пошкодження нейронів. Тобто, на рівні взаємодії астроциту та нейрону може складатися своєрідне самоусилення патогенних ефектів [137]. Також слід зазначити, що сьогодні дослідження ролі внутрішньоклітинного глутатіону та його обміну на рівні астроцитів та нейронів є предметом інтенсивних досліджень в напрямку розробки методів нейропротекції [77, 218, 240]. Таким чином, в механізмах впливу оксиду азоту на нервову тканину важливим є взаємодія з цитохромоксидазою типу С, особливо на рівні взаємодії пероксинітриту з мітохондріальним комплексом клітини. Останнє є найбільш

важливим для життєдіяльності нейронів, так як вони є особливо чутливими до порушень функції мітохондрій [209]. В основі подібної чутливості є нездатність нейронів інтенсифікувати гліколіз і через такий механізм компенсувати недостатню продукцію макроергічних сполук [209, 268]. Низький рівень внутрішньоклітинного глутатіону в нейронах також сприяє їх надмірній чутливості до пошкоджуючих впливів оксиду азоту. Таким чином, незворотне гальмування мітохондріальної цитохромоксидази типу С пероксинітридом може бути критичним фактором, що лежить в основі загибелі нейронів та виникнення дегенеративних змін при хронічних ураженнях нервової тканини, в тому числі і при епілепсії [79, 115, 130].

Таким чином, аналіз даних літератури свідчить про важливе патогенетичне значення NO в формуванні та розвитку судомних проявів, які розвиваються як в гострому, так і в хронічному варіантах. Прикінцеві ефекти впливу оксиду азоту залежать від типу моделі епілептичного синдрому, яку було обрано для тестування; застосованих доз – як епілептогенів, так і модуляторів синтезу оксиду азоту, функціонального стану головного мозку експериментальної тварини. Крім того, встановлено значення таких факторів як ступінь зрілості нервової системи, стать експериментальної тварини, специфічність впливу інгібіторів ізоформ синтази оксиду азоту. В механізмах проепілептогенних впливів оксиду азоту визначається його потенціюючий вплив на стан ендогенної системи збуджуючих амінокислот, а також гіперпродукція прооксидантних сполук, в той час як протиепілептична роль може бути пов'язана із активацією ендогенної опіатної та серотонінергічної систем. Нарешті продукція ендогенного оксиду азоту визначається в якості механізму, який може опосередковувати антиепілептичні впливи препаратів та фармакологічних агентів, зокрема – аскорбінової кислоти, греліну, піридоксину та інших. Однак, потребують подальшого дослідження визначення характеру впливу системи оксиду азоту на моделях хронічної ЕпА, зокрема коразол-провокованого кіндлінгу.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Експериментальні тварини

У дослідженнях, присвячених вивченню механізмів різних форм підвищення збудливості мозку, а також патогенезу епілептичного синдрому, найчастіше об'єктом дослідження використовують мозок щура [55]. Виходячи з методичних переваг, а також ґрунтуючись на цілях і завданнях дослідження, в дійсному дослідженні експериментальними тваринами було обрано статевозрілих щурів-самців лінії Вістар. Робота з експериментальними тваринами проводилася відповідно до вимог, викладених в "Міжнародних рекомендаціях по проведенню медико-біологічних досліджень з експериментальними тваринами", запропонованих Радою міжнародних медичних організацій в 1985 р., розробленому на їх основі додатку до Наказу Міністерства охорони здоров'я СРСР № 755 від 12.08.1977 р. "Про заходи щодо подальшого вдосконалення форм роботи з використанням експериментальних тварин", а також відповідно до зауважень, викладених в "Листі комісії з проблеми етики відношення до тварин" (Успіхи фізіологічних наук.- 1993-Т.24,№4.- С.108).

Дослідження проводилися в умовах гострого і хронічного експерименту на 383 білих щурах-самцях лінії Вістар масою від 180 до 320 г. Тварин утримували в індивідуальних боксах з природною зміною світла і темряви та вільним доступом до води і їжі. З метою приручення, щурів перед початком експеримента тримали в руках по 2-3 хв щодобово протягом 5 діб, що полегшувало подальші експериментальні дослідження з тваринами [7].

2.1. Моделі епілептичної активності

2.1.1. О с е р е д к и Е п А. Поодинокі епілептичні осередки викликали у експериментальних тварин за умов їх вільної поведінки шляхом внутрішньомозкового введення епілептогенів. Імплантацію канюль для моделювання осередків ЕпА в структури гіпокампу проводили по методиці, описаній в літературі [7, 11]. Оперативні втручання з приводу імплантації направляючих канюль і реєструючих електродів у щурів проводили під кетаміновим наркозом (100,0 мг/кг, в/очер) для чого тваринних фіксували в стереотаксичному апараті „СЕЖ-5”. Після фіксації голови тварини здійснювали інфільтрацію м'яких тканин голови і області зовнішнього слухового проходу 0,5% розчином новокаїну. Стереотаксична імплантація канюль здійснювалась через висвердлені за допомогою бормашини БЕБ-06М трепанаційні отвори. З метою введення каїнової кислоти в лівий бічний шлуночок схожим чином імпантували канюлі відповідно до координат стереотаксического атласу ($AP = 0,8$; $L = 1,5$; $H = 3,5$) [227].

В якості канюль використовували електролітично заточені ін'єкційні голки із неіржавіючої сталі із зовнішнім діаметром 0,6 мм; довжина канюлі складала 7,0 мм. Краї операційних ран інфільтрували 0,5% розчином новокаїну. Місцеве знеболення повторювалося кожні 0,5 години. Канюлі і реєструючі електроди кріпили до поверхні черепа за допомогою швидкотвердіючої стоматологічної пластмаси типу «Норакріл». Тварин спостерігали в експерименті через 10-14 діб з моменту здійснення оперативного втручання.

Осередки епілептичної активності викликали за допомогою введення у вентральні відділи гіпокампу ($AP = -4,3$; $L = 4,5$; $H = 8,0$) [227] розчинів різних епілептогенів. Так, з цією метою застосовували введення натрієвої солі бензілпеніциліну (10000 ОД/мл свіжого розчину), каїнової кислоти (2,0 мг/мл), бікукуліну метийодиду (50,0 мг/мл), а також азотнокислого стрихніну (30,0 мг/мл). 1,0 мкл вказаних розчинів епілептогенів вводили впродовж 1,0 хв за допомогою мікроін'єктора “Hamilton”, сполученого за допомогою

поліхлорвінілової трубки діаметром 800 мкм з ін'єкційною, електролітично заточеною голкою зовнішнім діаметром 400 мкм, після чого ін'єкційні канюлі залишалися на місці ще впродовж 30 с.

Визначали латентний період появи епілептичних розрядів в зоні застосування епілептогену, тривалість їх існування. Для характеристики осередкової ЕпА використовували показники амплітуди розрядів (мВ), а також частоту потенціалів за 1 хв спостереження. Застосовували також показник потужності вогнищ, який обчислювали шляхом множення середньої амплітуди розрядів на число потенціалів за 1 хв спостереження [55].

2.2. Коразол-індукований кіндлінг

Для відтворення фармакологічного кіндлінгу тваринам проводили 20-24 щоденних однократних внутрішньоочеревинних введень підпорогових доз коразолу (25,0-30,0 мг/кг) [29, 31, 43, 54]. Коразол викликає ефекти блокуючи хлорний канал рецепторів ГАМК і порушуючи тим самим ГАМК-ергічний гальмівний контроль [138]. Встановлено, що коразол може також надавати ефекти активування мембранних фосфоліпідів, протеаз і нуклеаз [87]. У свою чергу, фосфоліпоїнозїтиди грають важливу роль в міжклітинній сигналізації, формуванні вторинних месенджерів, активуванні генів, що забезпечують швидкі адаптивні зміни, і кінець кінцем, - у формуванні довгострокових пластичних відповідей на стимул-реакцію, що діє. Одним із наслідків порушень функціонального стану фосфоліпідів мембран, коразолу, що відзначається під впливом, є вивільнення вищих жирних кислот, діацилгліцеридів, ейкозаноїдів, перекисів ліпідів і радикалів кисню. Тому при введенні епілептогенів має місце посилена пероксидація ліпідів і протеїнів, зниження рівня глутатіону, а також активності ферментів, що забезпечують антиоксидантний захист [50, 133, 178].

Важливою особливістю коразол-індукованого судомного синдрому є його подібність абсансним проявам епілепсії [55, 259]. Тому дана модель і, зокрема,

рання фаза кіндлінг-синдрому була застосована в дослідженні як модель абсансної епілепсії на якій досліджували ефекти вживання ЛПС.

Епілептоген вводили в об'ємі 0,10-0,20 мл в однакових умовах (в один і той же час доби, в лабораторії з однаковою освітленістю, вологістю, температурою і шумовим фоном). Після ін'єкції конвульсанту щурів поміщали в індивідуальні прозорі пластмасові камери (10 см x 25 см x 30 см) і спостерігали течію 60 хв. Тваринам контрольних груп в аналогічних умовах вводили однакову кількість 0,9% фізіологічного розчину NaCl (pH=7.4).

На ранній стадії кіндлінгу, що індукується коразолом, абсансні прояви судом верифікували по характерних малих судомних реакціях тварин - завмиранням, тремору викид і голови тварин, сіпанню окремих груп м'язів морди і шиї, короткочасному почастишанню дихальних рухів, а також ністагм [274]. Крім того, як показники судорожної активності досліджували характерні спайк-хвильову вибухову активність, яку реєстрували в корі головного мозку. Досліджували середню тривалість і частоту розвитку подібних спайк-хвильових комплексів [274].

Судорожні прояви оцінювали за шкалою, запропонованою Шандра А.А. і соавт., (1999) [58]: 0 балів - відсутність судорожної реакції; 1 бал - міоклонічні здригання голови або тулуба; 2 бали - клонічні судоми м'язів тулуба і кінцівок; 3 бали - клонуси м'язів передніх кінцівок, підйом тварин на задні кінцівки ("поза кенгуру"); 4 бали - генералізовані тоніко-клонічні судоми з падінням тварин на бік.

2.4. Поведінкові реакції

2.4.1. Оцінка позно-рухових реакцій. З метою дослідження поведінкових реакцій тварин з експериментальним синдромом судомної активності, використовували тест за Myslobodsky M. et al., (1980) [198], який дозволяє дослідити опіат-обумовлені компоненти поведінки тварини. Слід зазначити, що здійснення даного тесту забезпечує також ідентифікацію

нейролептичних змін, тобто тих змін, які пов'язані із зниженням активності дофамінергичних систем мозку.

Проведення даного тесту включає ряд проб, що забезпечують комплексну оцінку стану тварин:

1. Оцінка положення передніх кінцівок тварин при їх розміщенні на горизонтальному майданчику. Виділяли два типа симптомів, які виникали за цих умов: а) лапи широко розставлені, б) лапи знаходяться під тулубом (приведені).

2. Рефлекс перевертання. Рефлекс вважали нормальним, якщо після перевертання на бік тварина приймала вихідне вертикальне положення протягом 5 с. Якщо щур приймав вихідне положення більше, ніж за 5 с, рефлекс вважали порушеним.

3. Очні симптоми. Визначали наявність або відсутність екзофтальму і птозу.

4. Рефлекс рогівки. Рефлекс рогівки досліджували, проводячи по рогівці тварини тонким м'яким пензликом. Рефлекс вважали нормальним, якщо тварина при доторканні до рогівки негайно заплющувала око. Якщо щур заплющував око через 2 і більше секунд, рефлекс вважали порушеним.

5. Положення задніх лап при підніманні тварини за хвіст (вимушена поза). Щура піднімали за хвіст так, щоб передні лапи залишалися на поверхні столу, а задні піднімалися над поверхнею. Виділяли три типа поведінки тварини в даній пробі: а) лапи приведені до тулуба, б) лапи відведені від тулуба, в) лапи займають проміжне положення між відведенням і приведенням.

6. Тонус хвоста. Після закінчення дослідження "вимушеної пози" плавно відпускали хвіст тварини. В тому випадку, якщо хвіст залишався на вазі протягом 5-10 с, тонус хвоста вважали нормальним. Якщо хвіст зберігав тонічну напругу і утримувався не торкаючись підлоги більше, ніж 15 с, тонус вважали підвищеним; якщо тонус хвоста зберігався протягом 1-5 с його вважали зниженими. Нарешті, якщо при опусканні хвоста він відразу ж падав на поверхню столу, визначали відсутність тонусу.

7. Захват передніми лапами. Щурів утримували у висячому положенні за хвіст. До передніх лап тварини торкалися олівцем і визначали здійснює тварина захват олівця чи ні.

8. Тест "місток". Передні і задні лапи тварини поміщали на горизонтальну щабліну, що відстояла один від одного на довжину тулуба тварини. Тест вважали позитивним, якщо тварина зберігала надану їй позу протягом 30 с і більше.

9. Тест "вертикальний стрижень". Тварину поміщали на верхівку вертикально поставленого стрижня діаметром 3 см. Тест вважали позитивним, якщо щур залишався на верхівці стрижня протягом 10 с і більше.

10. Больовий рефлекс. Реакцію тварин на больове подразнення визначала за характером поведінки щурів при заципуванні корнцангом кінчика хвоста протягом 30 с з моменту здійснення заципування. Ступінь реакції на больовий подразник виражали в балах, прийнявши наступну шкалу оцінки : 0 балів - щур залишається нерухомим, не реагує на больовий чинник, 1 бал – в момент здійснення заципування підстрибує вперед, гризе і кусає розташовані перед ним предмети, не локалізуючи джерело подразнення, 2 бали - повертається у бік джерела больових відчуттів, гризе поверхню столу, пищить, але точно не локалізує подразник, 3 бали - щур чітко локалізує джерело болю, кидається на корнцанг, гризе, пищить, намагається звільнитися. У окремих дослідженнях визначали також латентний період виникнення больової реакції.

2.4.2. Д о с л і д ж е н н я ц и к л у с п а н н я – н е с п а н н я. Враховуючи залежність проявів епілептичного синдрому від фаз циклу спання-неспаня [56], а також розвиток порушень циклу спання-неспаня у щурів з кіндлінг-індукованим епілептичним синдромом [55], представляло інтерес дослідити особливості даного циклу за умов застосування ЛПС у кіндлінгових щурів.

Дослідження циклу сну-несну проводилося в один і той же час доби впродовж чотирьох годин (в основному в період з 12.00 до 16.00 год). Кожна група експериментальних тварин складалася з 8 щурів. Після розміщення тварини в клітці з постійним рівнем штучного освітлення, проводили запис ЕКоГ. ЕКоГ оцінювали кожні 50 с. При обробці отриманої інформації використовували наступні характеристики циклу сну-несну: загальний час поведінкового несну, загальну тривалість сну, абсолютний час тривалості повільнохвильового сну, абсолютний час тривалості парадоксального сну, латентний період першого епізоду парадоксального сну і латентний період засипання. Оцінку фрагментованості парадоксального сну оцінювали по числу його епізодів за весь період спостереження.

2.5. Імплантація електродів для реєстрації електричної активності, внутрішньомозкові введення препаратів

Імплантацію електродів проводили за методикою, яка описана в літературі [7, 87]. Використовували ніхромовий, або константановий дріт в лаковій ізоляції з діаметром кінчика 0,10-0,15 мм. Тварин наркотизували шляхом в/очер введення нембуталу (35,0 мг/кг) або кетаміну (100,0 мг/кг) і імплантували електроди у відповідності до координат стереотаксичого атласу Paxinos G., Watson C., (1982) [227] базолатеральний мигдалик (AP = -2,8; L = 4,5; H = 8,2), вентральний гіпокамп (AP = -4,3; L = 4,5; H = 8,0), дорзальний гіпокамп (AP = -4,8; L = 4,5; H = 3,5), фронтальну (AP = 1,7; L = 2,0; H = 1,0) і потиличну кору (AP = -6,3; L = 3,0; H = 1,0) головного мозку. Індиферентний електрод фіксували в носових кістках. Електроди кріпили до черепа за допомогою швидкотвердіючої стоматологічної пластмаси. Через тиждень після хірургічного втручання тварин приручали шляхом щодобового утримування в руках протягом 5 хв.

2.6. Плавальна поведінка

В дослідженні Vrijmoed de Vries M.C., Cools A.R. (1986) [281], а також в дослідженнях А.А.Шандри і співав. (1990) [59], показано, що вивчення пасивно-адаптивних плавальних елементів у тварин свідчить про їх здатність формувати рухові програми за умов відсутності кондиціонуючих аферентних впливів. Дані програми детерміновані функціональним станом нейронів хвостатих ядер [220]. Показано, що певному типу змін нейромедіаторних механізмів на рівні стріатума відповідає певний паттерн плавальної пасивно-адаптивної поведінки експериментальних тварин, що може бути використано для опосередкованої оцінки нейромедіаторних механізмів стріатума при кіндлінзі [43].

Вивчення плавальної поведінки здійснювалось за методом Vrijmoed de Vries M.C., Cools A.R. (1986) [281]. Басейн для дослідження плавальної поведінки уявляв собою скляний циліндр висотою 45 см, діаметром 35 см, який був наповнений на 2/3 водою при температурі 37°C. Метод полягав в спостереженні характеру плавання тварин на протязі 6 хв після їх розміщення у басейні. Відразу після їх занурення в воду протягом 2-4 хв у щурів виникали орієнтовно – дослідницькі реакції, а також спостерігались спроби уникнення із води, що уявляло собою, згідно з Vrijmoed de Vries M.C., Cools A.R. (1986) [281], поведінку, яка визначається зовнішніми стимулами, або активно-адаптивні форми плавання. Протягом наступного періоду спостереження у щурів реєструвались елементи плавальної поведінки пасивно-адаптивного характеру: плавання вздовж стінки басейну, плавання кругами на відстані від стінки, "топтання" води в центрі басейна – хаотичне перебирання кінцівками, яке не було спрямоване на уникнення щура із води, "топтання" води, притримуючись стінки, нерухоме повільне занурення в воду з головою і "зависання" - нерухоме положення тварини без занурення в воду. При оцінці виразності пасивно-адаптивних форм плавання визначали показник варіабельності – відсоток щурів, у яких спостерігали три і більше пасивно-

адаптивних поведінкових паттернів по відношенню до загального числа щурів в групі, яке приймали за 100%. Поведінка, яка визначалась зовнішніми подразненнями, не приймалась до уваги. Крім того, також визначали показник максимально виразного числа пасивно-адаптивних плавальних елементів, який вираховували по числу тварин, які демонстрували всі шість наведених форм пасивно-адаптивної форми плавання.

Заключним етапом проведення плавального тесту було визначення здатності тварин до перемикання на активно-адаптивну поведінку. Згідно уявлень Vrijmoed de Vries M.C., Cools A.R. (1986) [281], здатність до перемикання на активно-адаптивну поведінку, так як і плавальна поведінка, детерміновано хвостатими ядрами і відображує особливості їх функціонального стану. В заключному тесті дослідження визначали інтенсивність зовнішнього подразника, який індукував у щурів цілеспрямований завершений руховий акт. Для цього в басейн з водою опускали канат діаметром 1 см, яка була фіксована на Г-подібному кронштейні висотою 65 см. Ступінь контакту з канатом, яка була необхідна для уникнення тварини із води, оцінювалась в балах - щур покидав басейн шляхом вилізання по канату після того як: 1) побачив канат (візуальний контакт) - 0 балів; 2) контактував з канатом кінчиком морди - 1 бал; 3) контактував з канатом кінчиком морди і передніми лапами - 2 бала; 4) контактував з канатом кінчиком морди і всіма кінцівками - 3 бали; 5) при контакті з канатом мордою, передніми і задніми кінцівками щур не вибирався із води - 4 бали.

2.7. Дослідження агресивної поведінки щурів

Агресивність вивчали у щурів, які знаходились в циліндричній коробці (25 x 45 x 30 см) з струмопровідною підлогою [7]. Пари тварин розміщували в такій коробці і через 10-15 с пропускали електричний струм, початкова сила якого складала 0,2 мА. Силу струму плавно збільшували до появи чіткої агресивної поведінки (бійки). Відбирали пари щурів у яких бійки виникали при значенні

сили струму не більше, ніж 3,0 мА. Повторне тестування проводили не раніше, ніж через 2 г з моменту першого удару електричним струмом.

2.8. Реєстрація електричної активності

Електричну активність реєстрували за допомогою комп'ютерної системи «DX – 4000» (Харків) монополярно, для чого індіферентний електрод кріпили в носових кістках черепа.

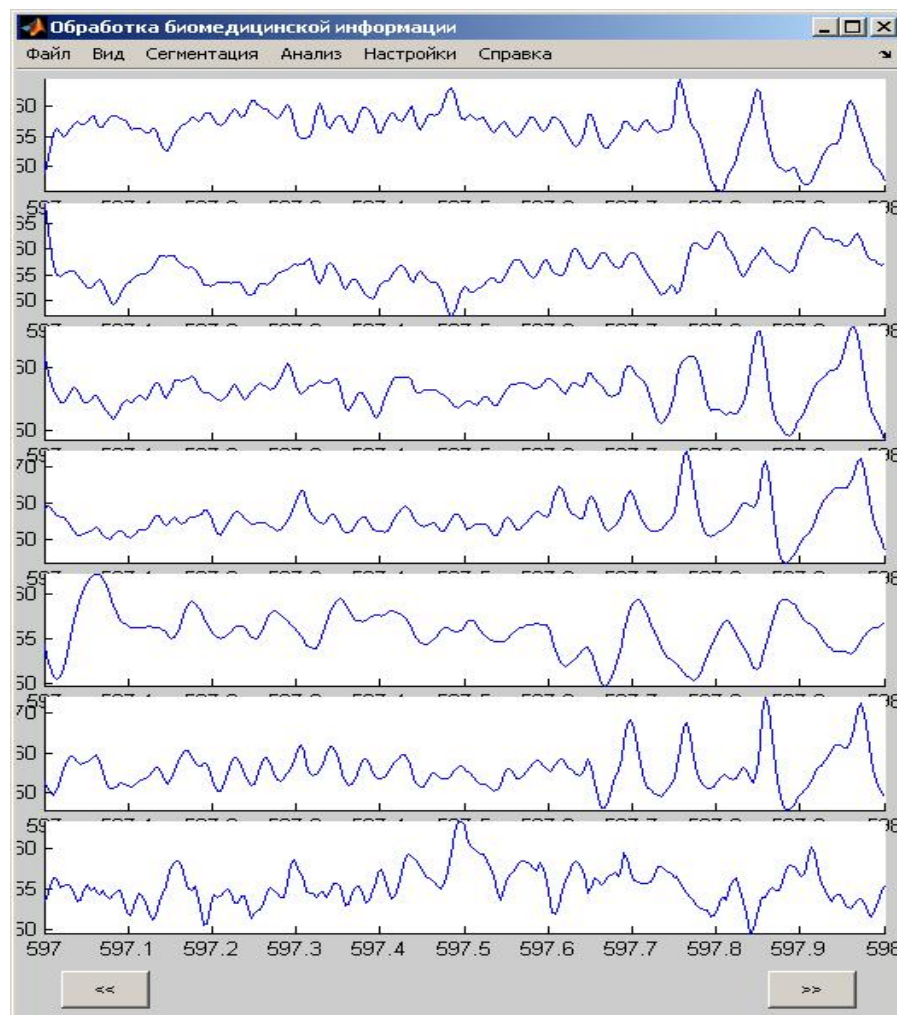


Рис. 2.1. Приклад сегментів ЕЕГ - спайк-хвильових судомних розрядів, виділених для подальшого аналізу в програмі MatLab 7.0.

П о з н а ч е н н я: внизу - час реєстрації (крок в 0,1 с). Час для аналізу - починаючи з моменту в 597,6 с (нижня шкала рисунка).

Для оцінки ЕЕГ використовувався комп'ютерний аналіз. При цьому частота опиту каналів склала 256 імпл/с - дані візуалізували на екрані і записували на жорсткий диск для подальшої off-line обробки. Частотний діапазон сигналів склав 0,5-40 Hz. Подальшу off-line обробку сигналів проводили за допомогою програми "Matlab 7,0" (рис. 2.1.). ЕЕГ піддавали аналізу Фур'є, виключаючи ділянки ЕЕГ, що містили артефакти і визначали показники загальної і спектральної потужності ЕЕГ (мкВ^2), досліджувані показники представляли у вигляді відносних величини (контроль-100%). Частотні діапазони класифікували таким чином (у Гц): 0,5-4,0 (дельта), 4,0-8,0 (тета), 8,0- 12,0 (альфа), 12,0-25,0 (бета), і 25,0-40,0 (гама) діапазони активності. Всі виміри здійснювали у фазу активного і пасивного неспання тварин.

Для характеристики ЕпА враховували загальну тривалість реєстрації спайкових і іктальних розрядів. Крім того, для оцінки активності осередків, сформованих мікроін'єкціями натрієвої солі бензілпеніциліну в структури мозку, і які характеризувалися генеруванням спайкової інтеріктальної активності, розраховували показник потужності вогнищ шляхом множення середньої (за 1 хв) частоти спайків на їх середню амплітуду (у мВ) і виражали цей показник в умовних одиницях.

2.9. Дослідження стану тіол-дисульфідної окислювально-відновних систем крові

Для визначення вмісту в крові сульфгідрильних і дисульфідних груп застосовували амперметричне титрування нітратом срібла [48]. Перевага методу амперметричного титрування в порівнянні із спектрофотометрією полягає в його чутливості, яка складає 0,1-1,0 мкмоль SH-сполуки, а також в можливості проведення аналізу в каламутних, забарвлених розчинах і навіть суспензіях. Принцип методу полягає в наступному. В ході титрування розчину тіолової сполуки азотнокислим сріблом іони срібла зв'язуються SH-групами з утворенням стійкого меркаптиду. Після досягнення кінцевої точки титрування в

розчині з'являється надлишок іонів срібла. При цьому в електричному ланцюзі, що складається із занурених в розчин платинового індикаторного електроду і електроду порівняння, що титрує, виникає електричний струм, пропорційний концентрації іонів срібла і вимірюваний мікроамперметром. Вміст SH-груп в досліджуваному розчині еквівалентно кількості нітрату срібла, витраченого на титрування.

2.10. Препарати, що застосовувалися в роботі

У роботі використовувалися наступні препарати: коразол, каїнова кислота («Sigma-Aldrich Co.», США), натрієва сіль бензілпеніциліну, азотнокислий стрихнін («Sigma-Aldrich Co.», США), бікукуліну метийодид («Sigma-Aldrich Co.», США), хлорид натрію - ізотонічний розчин, нембутал, ефір, стрептоміцин, біцилін-3, новокаїн, лістенон ("Hemi Lincag", Австрія), кетамін.

NG-нітро-L-аргініну метиловий ефір (L-NAME), інгібітор синтази оксиду азоту та L-аргінін («Sigma-Aldrich Co.», США) застосовували в дозах 5,0 - 50,0 мг/кг та 100 - 500 мг/кг, в/очер відповідно.

Бактерійний ЛПС «Пірогенал» (НДІ ім. М.Ф.Гамалєї РАМН, РФ) вводили в дозах від 0,05 до 1,0 мг/кг, в/очер. Тваринам контрольної групи за аналогічних умов застосовували 0,9% фізіологічний розчин NaCl.

Розчини препаратів готували безпосередньо перед введенням, для чого епілептогени розчиняли у фізіологічному розчині NaCl, а каїнову кислоту - в трис-буферному розчині (рН = 7,0).

2.11. Гістологічна верифікація зон введення препаратів, канюль і електродів

Після закінчення експерименту щурів убивали введенням великої дози нембуталу і мозок перфузували 10 % розчином формаліну. Зрізи завтовшки 32 мкм готували із замороженої тканини мозку, забарвлювали за Нісслем і

визначали локалізацію електродів, що здійснювали по треку голки мікроін'єктора, зіставляючи зрізи із зображеннями в стереотаксичному атласі G.Paxinos & C.Watson (1982) [227] і мікрофотографіями. При остаточному аналізі виключали тварин з неточною локалізацією електродів.

2.12. Статистична обробка результатів досліджень

Для розрахунку середньоефективної дози ED₅₀ використовували метод пробит-аналізу за Miller, Tainter (1944).

Всі отримані результати спостережень і лабораторних досліджень піддавали обробці на основі закону нормального розподілу даних. Для кожного варіаційного ряду за програмою STATMAT визначали:

- математичне очікування - *men*;
- дисперсію - *sko*;
- помилку репрезентації - *sos*;
- максимальне і мінімальне значення, діапазон значень ряду, відповідно *mх*, *mн*, *dіар*;
- медіану, моду, кількість мод - *med*, *mod*, *nmod*;
- коефіцієнт варіації *cv*.

З метою визначення кореляційних зв'язків між різними ознаками захворювання і прогнозу течії і результату епілептичного синдрому використаний метод кореляційних функцій. Для порівнюваних варіаційних рядів за програмою CORRMAT визначали достовірність різниці середніх величин за критерієм *t*.

Вищеперелічені програми складені в пакеті MATLAB.

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ВИНИКНЕННЯ ТА РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОГО
ЕПІЛЕПТИЧНОГО СИНДРОМУ ЗА УМОВ МОДУЛЯЦІЇ ПРОДУКЦІЇ
ЕНДОГЕННОГО ОКСИДУ АЗОТУ

В дослідженні виходили з того, що на сьогодні модель кіндлінгових епілептиформних проявів є однією з найбільш широко застосованих при вивченні патогенетичних механізмів формування епілептичного збудження [55, 124, 259, 260]. Перевагами цієї моделі є можливість більш точного відтворення проявів клінічних форм епілепсії, можливість спостерігати як абсансну, так і судомну форми епілепсії на різних стадіях формування кіндлінгу, а також відтворення міжнападкових форм порушень поведінки. Через це в нашому дослідженні біли вивчені особливостей формування коразол-провокованих кіндлінгових порушень за умов посилення та пригнічення продукції оксиду азоту.

3.1. Ефекти модуляції продукції ендogenous оксиду азоту на прояви абсансної та судомної форм кіндлінгового синдрому

Приймаючи до уваги діаметрально протилежні механізми формування проявів малої (абсансної) та судомної генералізованих форм епілепсії, які полягають відповідно в активуванні ГАМК-ергічних нейронів кори мозку в першому випадку та пригніченні їх активності – в другому, визначали за доцільне дослідити особливості застосування модуляторів системи продукції ендogenous оксиду азоту на цих моделях епілептичного синдрому. Модель фармакологічного кіндлінгу дає можливість послідовно відтворювати обидві форми епілептичного синдрому [259]. Тому завданням дійсної частини дослідження було вивчення впливу L-аргініну та L-NAME на прояви кіндлінг-провокованих абсансних та судомних генералізованих епілептиформних проявів.

3.1.1. Прояви абсансної форми кіндлінгового епілептичного синдрому на тлі застосування L-аргініну та L-NAME. Завданням даної частини роботи було дослідження ефектів системного (внутрішньоочеревинного) застосування L-NAME та L-аргініну в різних дозах на спайк-хвильову активність, провоковану в корі головного мозку щурів введенням коразолу (25,0 мг/кг, в/очер).

Таблиця 3.1.

Вплив L-NAME та L-аргініну на спайк-хвильову активність, індуковану в ранній стадії коразолового кіндлінгу ($M \pm m$)

Час із моменту введення коразолу (хв)	Контроль n = 7		L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) (n = 10)		L-аргінін (200,0 мг/кг) (n = 10)		L-аргінін (500,0 мг/кг) (n = 10)	
	Трива лість (с)	Частота (за хв)	Трива лість (с)	Частота (за хв)	Трива лість (с)	Частота (за хв)	Трива лість (с)	Частота (за хв)
30	3,6±0,4	3,7±0,4	3,5±0,3	3,8±0,3	2,9±0,3	3,0±0,4	2,5±0,2	3,4±0,4
60	4,3±0,2	4,3±0,4	5,4±0,4	3,4±0,2	3,4±0,4	3,4±0,4	2,7±0,3*#	3,2±0,4
90	4,9±0,3	4,5±0,5	6,5±0,3*	3,9±0,2	3,0±0,4*	3,0±0,4	2,2±0,4*#	2,7±0,4
120	4,6±0,3	4,1±0,5	4,2±0,3	4,3±0,4	2,5±0,3*	2,5±0,3*	2,0±0,4*	2,3±0,4*
150	3,5±0,4	3,3±0,4	3,2±0,4	3,2±0,5	2,0±0,3*	2,1±0,4	1,5±0,3*#	1,5±0,3*#
180	2,9±0,4	2,6±0,4	2,8±0,3	3,2±0,4	1,7±0,2	1,9±0,4	1,5±0,2	1,3±0,3
210	2,1±0,2	1,6±0,3	2,1±0,3	2,1±0,2	1,3±0,1	1,8±0,3	-	-
240	1,3±0,3	1,0±0,3	1,3±0,4	1,3±0,5	-	-	-	-

Примітки:

- * - $P < 0,05$ у порівнянні із групою контролю;
- # - $P < 0,05$ у порівнянні з відповідним показником у групі щурів, яким застосовували L-аргінін у дозі 200,0 мг/кг.

Провокація спайк-хвильової активності на тлі застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) супроводжувалась збільшенням тривалості спайк-хвильових комплексів – на 32,6% у порівнянні з відповідним показником в групі контролю

($P < 0,05$) (табл. 3.1). Цей ефект відзначався через 1,5 години з моменту застосування коразолу. За подібних умов тривалість реєстрації спайк-хвильової активності за цих умов не відрізнялася від такої в групі контролю ($P > 0,05$) (табл. 3.1).

Застосування L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг, в/очер, через 90 хв з моменту введення коразолу супроводжувалось зменшенням тривалості спайк-хвильових комплексів у порівнянні до контролю на 38,8% ($P < 0,05$) (табл. 3.1). Ефект достовірного зменшення цього показника утримувався на протязі наступної години безперервного спостереження. Крім того, на 120-й хв з моменту застосування коразолу відбувалось зменшення частоти генерування спайк-хвильових комплексів на 40,0% у порівнянні до контролю ($P < 0,05$) (табл. 3.1).

За умов попереднього застосування L-аргініну в дозі 500,0 мг/кг, в/очер, тривалість спайк-хвильових комплексів, які було викликано коразолом через 60 хв з моменту його введення зменшувалось у порівнянні до групи контролю на 37,2% ($P < 0,05$) (табл. 3.1). При цьому вказаний показник був меншим від такого в групі щурів із застосуванням L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг, в/очер на 20,6% ($P < 0,05$). Через 90 хв із моменту введення коразолу, на тлі застосування L-аргініну в дозі 500,0 мг/кг відзначалось достовірне (на 55,1%) зниження тривалості спайк-хвильових комплексів у порівнянні із групою контролю (в/очер застосування фізіологічного розчину NaCl) ($P < 0,05$) (табл. 3.1). При цьому досліджуваний показник був також меншим на 26,7% ($P < 0,05$) у порівнянні з таким у групі щурів, яким L-аргініну застосовували в дозі 200,0 мг/кг. Відмінності в порівнянні із групою контролю відзначалися протягом 2,5 год з моменту введення коразолу ($P < 0,05$). Крім того, через 120 хв із моменту введення коразолу мало місце також зниження частоти генерування спайк-хвильових комплексів - на 43,9% у порівнянні із групою контролю ($P < 0,05$) й на 8,0% у порівнянні з показником у групі щурів, яким L-аргінін вводили в дозі 200,0 мг/кг ($P > 0,05$) (табл. 3.1). Ще через 30 хв безперервного спостереження зазначені відмінності між групами склали 54,5% і 28,6% відповідно ($P < 0,05$) (табл. 3.1).

Ефект застосування L-аргініну на електрографічні прояви абсансної форми кіндлінгового епілептичного синдрому наведено на рис. 3.1.

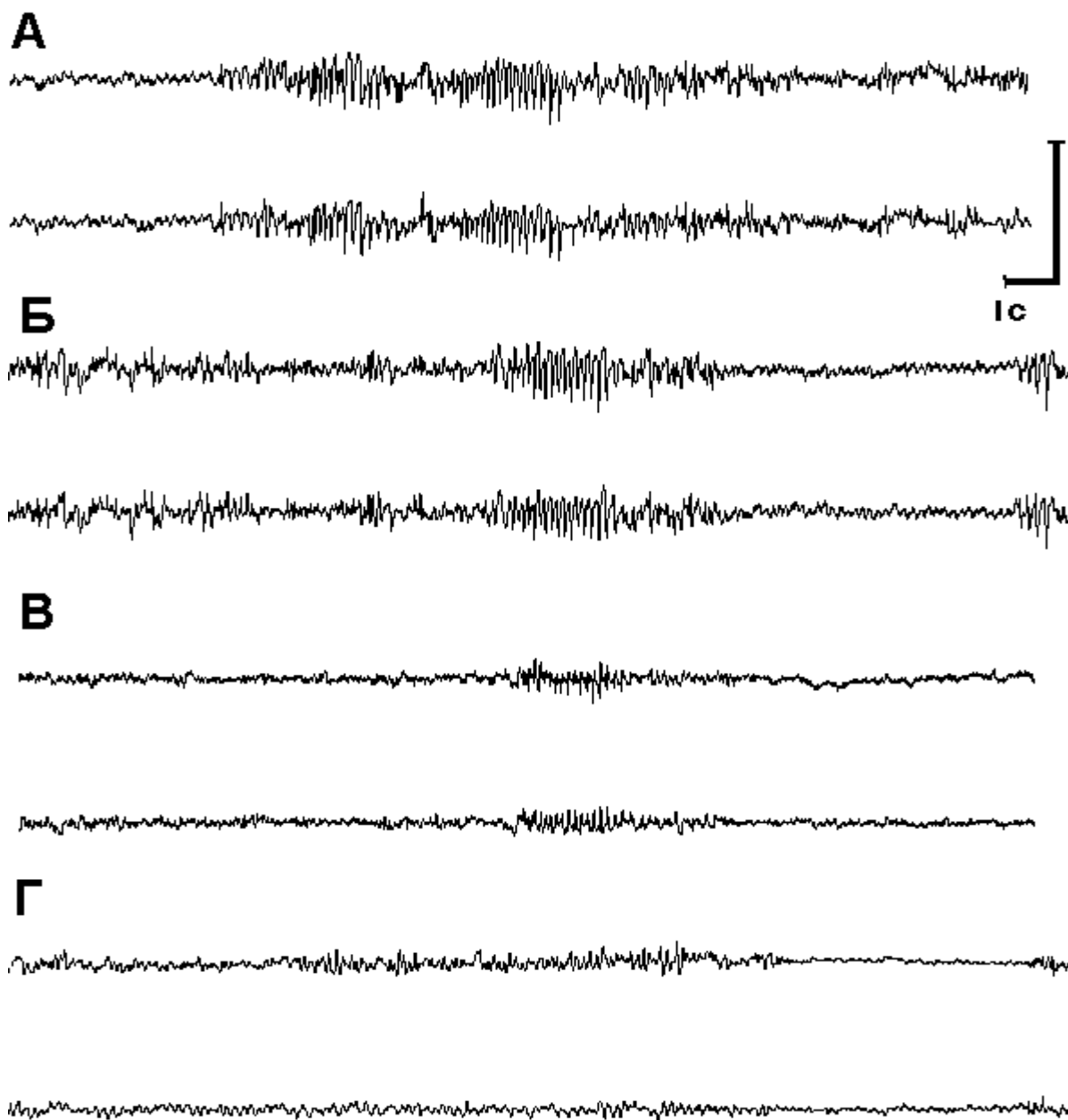


Рис. 3.1. Пригнічення спайк-хвильової активності під впливом L-аргініну в ранній фазі виникнення кіндлінгу.

П о з н а ч к и : Верхній та нижній відведення – відповідно лобна кора лівої та правої півкуль мозку. А - 7,5 хв з моменту застосування коразолу (25,0 мг/кг, в/очер); Б -, В - і Г - відповідно 10,0; 20,0 та 30,0 хв з моменту в/очер застосування L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер).

Калібровочний сигнал – 1,0 мВ, відмітка часу – 1 секунда.

В/очер введення L-аргініну (200,0 мг/кг), яке здійснювали на тлі наростаючого за виразністю або сталого генерування спайк-хвильових

комплексів, супроводжувалось вже через 5-10 хв з моменту застосування препарату зниженням як тривалості спайк-хвильових комплексів (до 1,0-3,5 с) та частоти їх генерування – до 2-4 за хвилину (рис. 3.1, Б). На протязі наступних 10-20 хв спостерігалось подальше зниження виразності спайк-хвильових комплексів та відбувалося їх повне зникнення (рис. 3.1, В, Г).

Тривалість реєстрації спайк-хвильових комплексів розрядів в умовах застосування L-аргінін у дозі 200,0 мг/кг складала ($55,3 \pm 12,9$) хв, у той час як у групі контролю (введення фізіологічного розчину NaCl) – ($275,0 \pm 21,1$) хв ($P < 0,05$).

Таким чином, представлені результати показали, що під впливом L-аргініну у тварин відзначається пригнічення проявів абсансної форми епілепсії, модульованої у ранній фазі формування коразол-індукованого кіндлінгу. Даний ефект проявляється в скороченні тривалості й частоти генерування спайк-хвильових комплексів, скороченні загального часу їхнього існування.

Застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер), яке здійснювали в період формування абсансних проявів коразол-індукованого кіндлінгу (10-12 введень епілептогену), вже через 5,0-10,0 хв викликало посилення електрографічних корелят поведінкових абсансних проявів (рис. 3.2).

Так, через 7,0-15,0 хв з моменту застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) тривалість спайк-хвильових комплексів зростала до 5,5-9,0 с, а амплітуда розрядів складала 250-400 мкВ (рис. 3.2, Б). Подібні комплекси генерувались з частотою 2-3 за хв і під час їх розвитку у щурів спостерігались завмирання, тремор, посилення дихання. Висока спайк-хвильова активність реєструвалась на протязі від 4 до 6 г з моменту її виникнення, після чого на протязі 1-1,5 г спостерігалось зменшення частоти і амплітуди спайк-хвильових комплексів та їх повне зникнення. Загальна тривалість абсансних проявів в 2,5 рази перевищувала таку в групі контролю ($P < 0,05$).

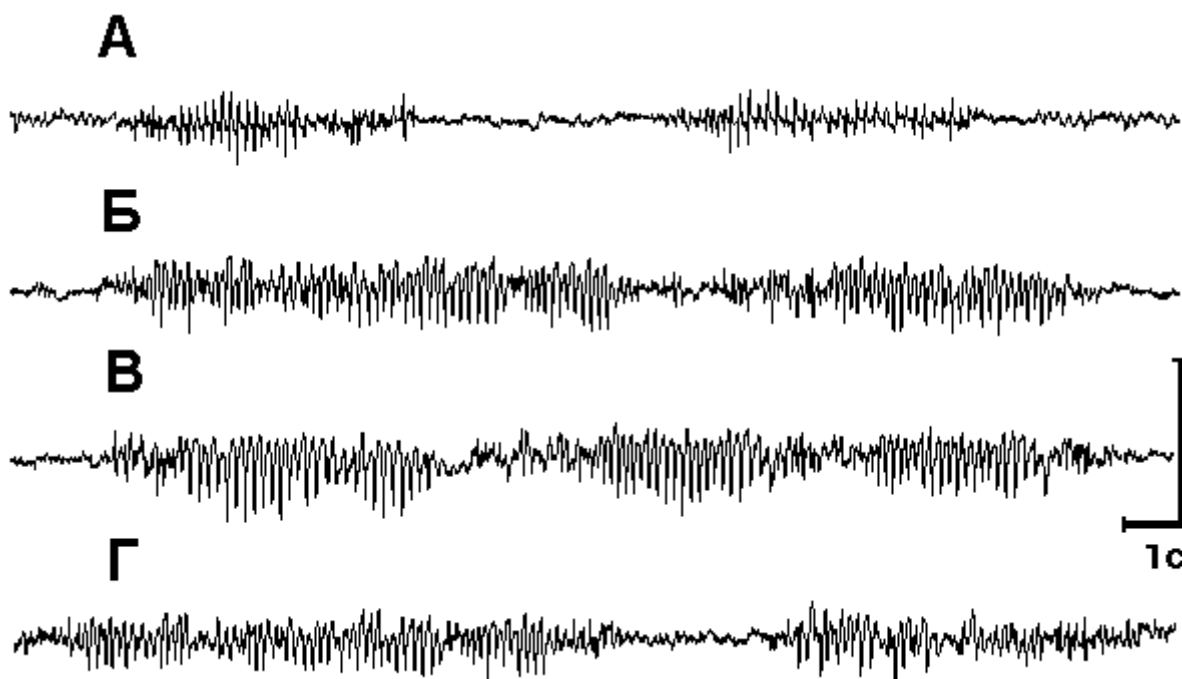


Рис. 3.2. Вплив L-NAME на спайк-хвильові комплекси, індуковані коразолом (25,0 мг/кг, в/очер) в ранній фазі формування кіндлінгу.

П о з н а ч к и : А - через 12,5 хв з моменту застосування коразолу (25,0 мг/кг, в/очер); Б - через 22,0 хв після А та 17,0 хв з моменту в /очер застосування L-NAME в дозі 10,0 мг/кг, в/очер; В - та Г – відповідно через 15,0 та 245,0 хв після Б. Калібровочний сигнал – 1,0 мВ, відмітка часу – 1 секунда.

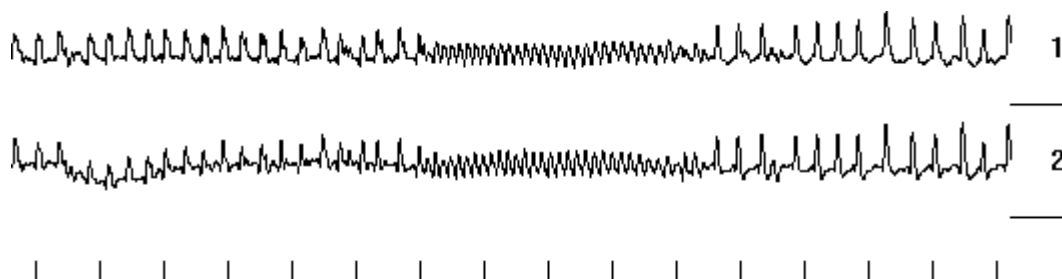


Рис. 3.3. Виникнення генералізованої синхронізованої ЕпА під час фази повільнохвильового сну у щурів із застосуванням L-NAME у щурів з абсансною формою коразолового кіндлінгового синдрому.

П о з н а ч к и: відповідно відведення № 1 та №2 - лобна кора лівої та правої півкуль головного мозку. Іктальна епілептична активність, зареєстрована на 37-й хвилині з моменту застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер). Калібровочний сигнал – 2500 мкВ (відстань між горизонтальними рисками справа. Відмітка часу - 1 секунда (відстань між вертикальними рисками внизу рисунка).

В 2 із 9 випадків відповідно на 37-й та 49-й хвилинах з моменту застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) у кіндлінгових щурів спостерігалось

виникнення генералізованих іктальних потенціалів, які корелювали з поведінковими клоніко-тонічними нападами (рис. 3.3).

Таким чином, електрографічні прояви абсансної епілепсії, яку моделювали на ранньому етапі розвитку коразол-індукованого кіндлінгу, пригнічуються під впливом посилення продукції ендogenousного оксиду азоту, яке індуковано застосуванням L-аргініну, та пригнічується в результаті гальмування синтази оксиду азоту L-NAME.

3.1.2. Прояви генералізованих кіндлінгових судом на тлі застосування L-аргініну та L-NAME. Розвинена фаза кіндлінг-синдрому має принципову відмінність від ранньої фази, яка полягає в діаметрально-протилежній зміні знаку функціонального стану ГАМК-ергічної системи мозку, а саме, - в її колапсі [55].

Застосування коразолу (25,0 мг/кг, в/очер) в кіндлінг-провокуючій дозі (25,0 мг/кг, в/очер), яке було здійснено щурові з розвиненим кіндлінгом супроводжувалось виникненням спайкових потенціалів через 2,5-5,5 хв в корі головного мозку, які збільшувалися за амплітудою та частотою на протязі наступних 5,0-8,0 хв спостереження до 1,9-2,2 мВ та 1-2 с відповідно (рис. 3.4, А). Подібна ЕпА супроводжувалась формування нападopodobних клонічних та клоніко-тонічних епілептиформних проявів. В той же час, аналогічне застосування коразолу (25,0 мг/кг, в/очер), яке здійснювали у кіндлінгових щурів, яким за 30-45 хв до цього в/очер вводили L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер), викликало появу перших спайкових потенціалів через 5,0-10,0 хв з моменту введення коразолу. На протязі наступного двохгодинного спостереження у щурів спостерігались спайкові потенціали, які виникали в утвореннях кори головного мозку з частотою від 15 до 30 за хв, а величини окремих розрядів складала від 0,8 до 1,7 мВ (рис. 3.4, Б).



Рис. 3.4. Пригнічення генералізованої ЕпА провокованої у кіндлінгових щурів застосуванням тестуючої дози коразолу (25,0 мг/кг, в/очер) застосуванням L-NAME.

П о з н а ч к и : відведення № 1 та № 2 - лобна кора лівої та правої півкуль відповідно; А - 11,5 хв з моменту в/очер застосування тестуючої дози коразолу (25,0 мг/кг, в/очер) у кіндлінгового щура (контроль); Б - 17,5 хв з моменту застосування тестуючої дози коразолу (25,0 мг/кг, в/очер) та 60 хв з моменту введення L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) кіндлінговому щурові.

Калібровочний сигнал – 2500 мкВ (відстань між горизонтальними рисками справа. Відмітка часу - 1 секунда (відстань між вертикальними рисками внизу рисунка).

У експериментальних тварин за цих умов не реєструвалось виникнення синхронізованої іктальної активності в структурах головного мозку.

Зважаючи на можливість виникнення проепілептогенних ефектів аргініну у щурів із розвиненим фармакологічним кіндлінгом, важливим було моделювати субмаксимальний характер епілептиформної активності. З цією метою у експериментальних тварин із розвиненим кіндлінг синдромом застосовували тестуючу дозу коразолу 15,0 мг/кг, в/очер, яка була меншою від кіндлінг-індукуючої дози в 1,67 разів. Введення подібної дози епілептогену

кіндлінговим щурам супроводжувалось виникненням в лобних відділах кори головного мозку спайкових потенціалів амплітудою від 0,8 до 2,0 мВ та частотою від 25 до 60 за хвилину (рис. 3.5, А). У щурів не спостерігались іктальні епілептиформні розряди. Застосування аналогічної дози коразолу (15,0 мг/кг, в/очер) на тлі введення L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) викликало появу іктальних розрядів (рис. 3.5, Б), які мали тривалість від 5,0 до 25,0 с і супроводжувались клоніко-тонічними судомними нападами.

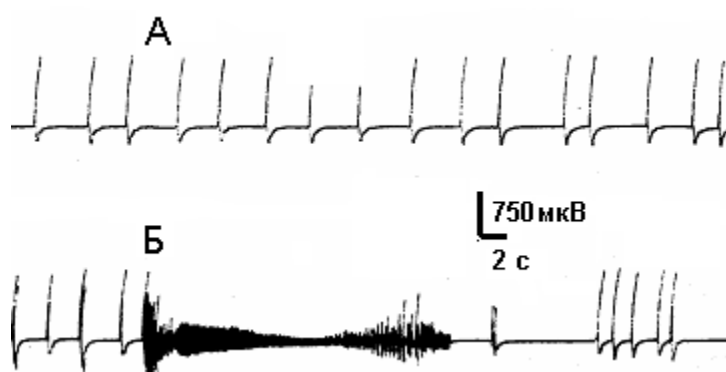


Рис. 3.5. Провокація іктальної ЕпА у щура з розвиненим кіндлінгом застосуванням тестуючого введення коразолу на тлі введення аргініну.

П о з н а ч к и: А - через 15,0 хв з моменту тестуючого застосування коразолу (15,0 мг/кг, в/очер); Б - 12,5 хв після тестуючого застосування коразолу (15,0 мг/кг, в/очер) и 30,0 хв з моменту в/очер застосування L-аргініну в дозі 500,0 мг/кг, в/очер.

Відмітка часу – 2 с, калібровка – 750 мкВ.

Таким чином, наведені результати свідчать про те, що електрографічні характеристики епілептиформних проявів у щурів із розвиненим коразол-індукованим кіндлінгом пригнічуються під впливом L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) та посилюються під впливом введення L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер).

3.1.3. Вплив L-аргініну та L-NAME на кіндлінгові судоми за даними розрахунків середньоефективних доз препаратів. Встановлена різнонаправлена дія модуляторів системи продукції оксиду азоту на ранній та пізній стадіях формування кіндлінгового синдрому була досліджена шляхом визначення середньоефективних доз L-аргініну та L-NAME на прояви відповідних синдромів – генералізованих абсансних та судомних проявів, що склало завдання дійсної частини дослідження.

3.1.3.1. Е ф е к т и L – а р г і н і н у. Під впливом L-аргініну, який застосовували в дозі 50,0 мг/кг виникнення абсансних проявів попереджалося у 20,0% експериментальних тварин (табл. 3.2). Збільшення дози препарату до 150,0 мг/кг, вочер супроводжувалося усуненням коразол-провокованих абсансних проявів у половини щурів.

Таблиця 3.2.

Визначення доз L-аргініну (ED_{16} , ED_{50} , ED_{84} , ED_{100} та середньоквадратичного відхилення $S ED_{50}$) на моделі абсансної форми коразол-провокованого кіндлінгу (коразол в дозі 25,0 мг/кг, вочер)

Доза, мг/кг	Число щурів	Число щурів з абсансними проявами	ED_{16} мг	ED_{50} мг	ED_{84} мг	ED_{100} мг	$S ED_{50}$ мг
Контроль (0,9% NaCl)	9	9	-	-	-	-	-
50,0	10	8					
100,0	10	6	24,9	141,4	257,9	316,1	26,0
150,0	10	5					
200,0	10	3					

Середньоєфективна розрахована доза L-аргініну, яка попереджала виникнення абсансних проявів у половини експериментальних тварин склала $(141,4 \pm 26,0)$ мг/кг (табл. 3.2).

В той же час, застосування L-аргініну у щурів з розвиненими судомними кіндлінговими проявами в дозі 200,0 мг/кг, в/очер на тлі введення тестової дози коразолу, яка самостійно не викликала генералізованих судомних нападів, супроводжувалась їх виникненням у 10,0% кіндлінгових тварин (табл. 3.3).

Таблиця 3.3.

Визначення доз L-аргініну (ED_{16} , ED_{50} , ED_{84} , ED_{100} та середньоквадратичного відхилення $S ED_{50}$), які провокують генералізовані судомні реакції у щурів з розвинутою формою кіндлінгового судомного синдрому (застосування коразолу в дозі 15,0 мг/кг, в/очер)

Доза, мг/кг	Число щурів	Число щурів з клоніко-тонічними судомними нападами	ED_{16} мг	ED_{50} мг	ED_{84} мг	ED_{100} мг	$S ED_{50}$ мг
Контроль (0,9% NaCl)	10	10	-	-	-	-	-
200,0	10	9					
250,0	10	7	200,6	350,5	500,3	575,3	18,7
300,0	10	6					
400,0	10	4					

Збільшення дози препарату вдвічі супроводжувалось формуванням генералізованих клоніко-тонічних судомних нападів, провокованих коразолом в дозі 15,0 мг/кг, в/очер, які спостерігались у 60% експериментальних тварин (табл. 3.3). Середньоєфективна доза препарату, яка сприяла провокації коразолових судом у щурів із розвиненим кіндлінгом склала $(350,5 \pm 18,7)$ мг/кг.

Таким чином, отримані результати свідчать, що рання фаза формування кіндлінгу, яка відтворює абсансні судомні прояви є чутливою до протиепілептичних впливів L-аргініну, середньоєфективна доза якого (ED_{50}) за

цих умов склала ($141,4 \pm 26,0$) мг/кг, в той час як за умов виникнення розвиненої форми кіндлінгу, що відтворює генералізовану судомну форму епілептичного синдрому, є чутливою до проепілептогенних ефектів препарату, який застосовується у відносно високих дозах и середньоефективна доза якого (ED_{50}) складає $350,5 \pm 18,7$ мг/кг.

3.1.3.2. Е ф е к т и L – N A M E. Застосування L-NAME в дозі 5,0 мг/кг, в/очер у щурів на стадії формування абсансних проявів кіндлінгового синдрому (10-12 щодобових введеннь коразолу в дозі 30,0 мг/кг, в/очер) супроводжувалось розвитком клонічних та клоніко-тонічних судомних проявів у 22,2% експериментальних тварин (табл. 3.4).

Таблиця 3.4.

Розрахунок ефективних доз L-NAME (ED_{16} , ED_{50} , ED_{84} , ED_{100} та середньоквадратичного відхилення $S ED_{50}$), які провокують судомну активність у щурів з кіндлінг-індукованою формою абсансного синдрому

Доза, мг/кг	Число щурів	Число щурів без судом	ED_{16} мг	ED_{50} мг	ED_{84} мг	ED_{100} мг	$S ED_{50}$ мг
Контроль (0,9% NaCl)	10	10	-	-	-	-	-
1,0	10	0					
5,0	9	2					
10,0	9	4	1,8	13,77	25,7	31,8	3,3
20,0	9	7					
30,0	9	8					
40,0	9	9					

Слід зазначити, що самостійне застосування коразолу у щурів в дозі 25,0 мг/кг, в/очер не викликало клінічних судомних проявів. Збільшення дози L-NAME вдвічі супроводжувалось виникненням коразол-провокованих судомних

проявів у 44,4% щурів, а L-NAME в дозі 30,0 мг/кг, в/очер сприяв виникненню судомних реакцій у 88,9% кіндлінгових щурів (табл. 3.4). Середньоєфективна доза (ED₅₀) препарату, яка сприяла провокації судомних реакцій у половини експериментальних тварин склала (13,7 ± 3,3) мг/кг.

Таблиця 3.5.

Розрахунок ефективних доз L-NAME (ED₁₆, ED₅₀, ED₈₄, ED₁₀₀ та середньоквадратичного відхилення S ED₅₀), які усувають кіндлінг-провоковані генералізовані судоми

Доза, мг/кг	Число щурів	Число щурів із судомами	ED ₁₆ мг	ED ₅₀ мг	ED ₈₄ мг	ED ₁₀₀ мг	S ED ₅₀ мг
Контроль (0,9% NaCl)	10	10	-	-	-	-	-
2,0	8	0					
5,0	8	1					
10,0	9	3	2,0	22,5	44,0	55,0	7,0
25,0	8	6					
50,0	9	8					
75,0	9	9					

Застосування L-NAME в дозі 5,0 мг/кг, в/очер у кіндлінгових щурів на стадії сформованих генералізованих судом усувало коразол-провоковані (25,0 мг/кг, в/очер) клоніко-тонічні судомні напади у 12,5% експериментальних тварин (табл. 3.5). Збільшення дози препарату в п'ять разів супроводжувалось попередженням судомних проявів у 75,0%. Розрахована середньоєфективна доза препарату, яка попереджала виникнення генералізованих коразол-провокованих кіндлінгових нападів склала (22,5 ± 7,0) мг/кг (табл. 3.5).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що L-NAME, який застосовували на стадії формування генералізованих кіндлінгових абсансних

проявів, сприяв виникненню генералізованих судом, в той час як на стадії формування кіндлінгового судомного синдрому, навпаки, викликав зменшення епілептиформних проявів. Відповідно середньоєфективні дози препарату склали $(13,7 \pm 3,3)$ мг/кг та $(22,5 \pm 7,0)$ мг/кг.

Отримані результати дозволяють зробити висновок про те, що подвійна роль оксиду азоту в механізмах епілептогенезу може залежати від характеру патогенетичних механізмів виникнення та розвитку відповідних епілептиформних проявів. Так, на ранній стадії формування кіндлінгу, коли йдеться про відтворення абсансної форми епілептогенезу, в основі якої знаходяться механізми активування ГАМК-ергічних механізмів мозку, застосування L-аргініну сприяє усуненню судомних проявів. На тлі розгорнутих генералізованих судом, які спостерігаються в пізній фазі формування кіндлінгу, застосування L-аргініну, навпаки, сприяє посиленню судомних проявів. В основі проепілептогенної дії L-аргініну може мати значення додаткове посилення прооксидантних ефектів за рахунок виникнення пероксинітритних сполук на тлі вихідного посилення перекисних механізмів мозку та посиленої продукції оксиду азоту.

3.2. Особливості міжнападкових змін поведінки щурів з хронічною формою епілептичного синдрому

Однією з характерних особливостей виникнення та перебігу кіндлінгової форми епілептичного синдрому є порушення поведінки щурів, яке може проявлятися у депресивних змінах видоспецифічних форм поведінки (агресивно-захисні реакції, споживання їжі, статева поведінка), а також у формуванні специфічних пароксизмальних форм порушень емоційної поведінки. Тому завданням окремої частини дослідження було вивчення проявів міжнападової поведінки кіндлінгових щурів за умов модуляції продукції ендогенного оксиду азоту застосуванням L-аргініну та L-NAME.

3.2.1. Плавальна поведінка щурів. Дослідження плавальної поведінки у інтактних щурів засвідчило, що у 11 з 17 тварин спостерігалось три та більше пасивно-адаптивних плавальних елементи (64,7%) (рис. 3.6). В той же час, у щурів із сформованим кіндлінгом (24 г з моменту останнього застосування епілептогену) три елементи плавання мали місце у 4 із 18 експериментальних тварин (22,2%) ($P < 0,05$) (рис. 3.6).

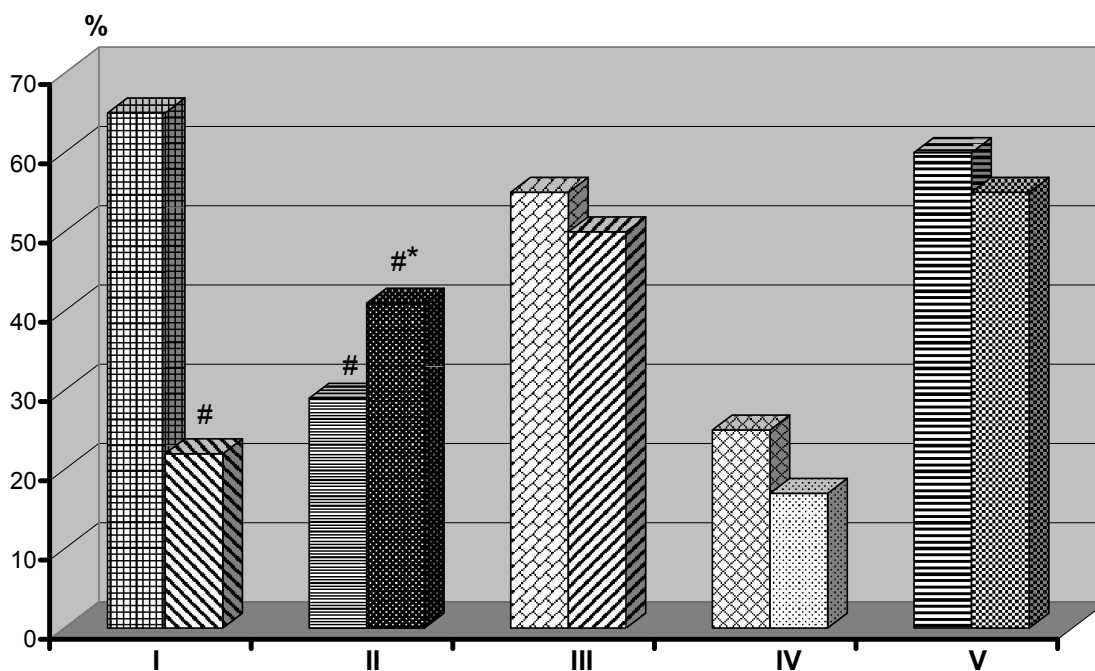


Рис. 3.6. Вплив модуляції продукції оксиду азоту на плавальну поведінку щурів в тесті Vrijmoed de Vries M.C., Cools A.R. (1986).

П о з н а ч к и: по вісі абсцис – I - кіндлінгові щури; II - та III - застосування L-аргініну відповідно у кіндлінгових та інтактних щурів (група контролю). Перший стовпчик - доза препарату 200,0 і другий - 500,0 мг/кг, в/очер; IV - і V - застосування L-NAME відповідно у кіндлінгових та інтактних щурів (перший стовпчик - доза 1,0 і наступний - 10,0 мг/кг, в/очер). По вісі ординат - число щурів, які демонструють три і більше патернів пасивно-адаптивних плавальних елементів у % по відношенню до загального числа щурів у відповідній групі (100 %).

- $P < 0,05$ у порівнянні до контролю (інтактні щури) і * - $P < 0,05$ у порівнянні до кіндлінгових тварин (ANOVA + Newman-Keuls тест).

За умов застосування L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг, в/очер три і більше число пасивно-адаптивних плавальних елементів спостерігалось у 5 з 17 кіндлінгових щурів (29,1%), що не відрізнялось від відповідного показника у

кіндлінгових тварин за відсутності застосування препарату ($P > 0,05$) (рис. 3.6). В той же час за умов використання більшої дози L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) три і більше пасивно-адаптивних плавальних елементів реєструвалось у 7 із 17 щурів (41,2%), що було достовірно більше, ніж у кіндлінгових щурів без використання L-аргініну ($P < 0,05$) (рис. 3.6).

Аналогічне застосування L-аргініну інтактним щурам в обох досліджуваних дозах не змінювало показник варіабельності пасивно-адаптивного плавання тварин - під впливом L-аргініну в дозах 200,0 і 500,0 мг/кг, в/очер три і більше елементів плавання спостерігалось відповідно у 8 із 15 (53,3%) та у 8 із 16 (50,0%) експериментальних тварин ($P > 0,05$).

Введення L-NAME кіндлінговим тваринам в дозі 1,0 мг/кг, в/очер супроводжувалось формуванням трьох і більше елементів плавання у 4 із 16 щурів (25,0%), в той час як за умов застосування більшої дози препарату (10,0 мг/кг) подібний патерн плавання спостерігався у 3 із 18 кіндлінгових щурів (16,7%). Застосування L-NAME інтактним щурам супроводжувалось варіабельністю плавання, яке складало відповідно 60,% (9 із 15 щурів) і 53,3% (8 із 15 щурів) ($P > 0,05$) (рис. 3.6).

В тесті уникнення щурів із басейну поріг уникнення кіндлінгових щурів склав $3,67 \pm 0,2$ балів, що було в 3,95 рази більше, ніж у групи інтактних щурів ($P < 0,05$) (рис. 3.7). При цьому щури уникали із басейну після контакту з канатом всіма чотирма лапами, в той час як для інтактних щурів достатнім для уникнення було торкання передніми кінцівками чи мордою канату.

В групі кіндлінгових щурів, яким застосовували L-аргінін (200,0 і 500,0 мг/кг, в/очер) поріг розвитку уникнення тварин із басейну зменшувався у порівнянні до такого, який було зареєстровано до введення препарату відповідно на 65,3% і на 119,7% ($P < 0,05$).

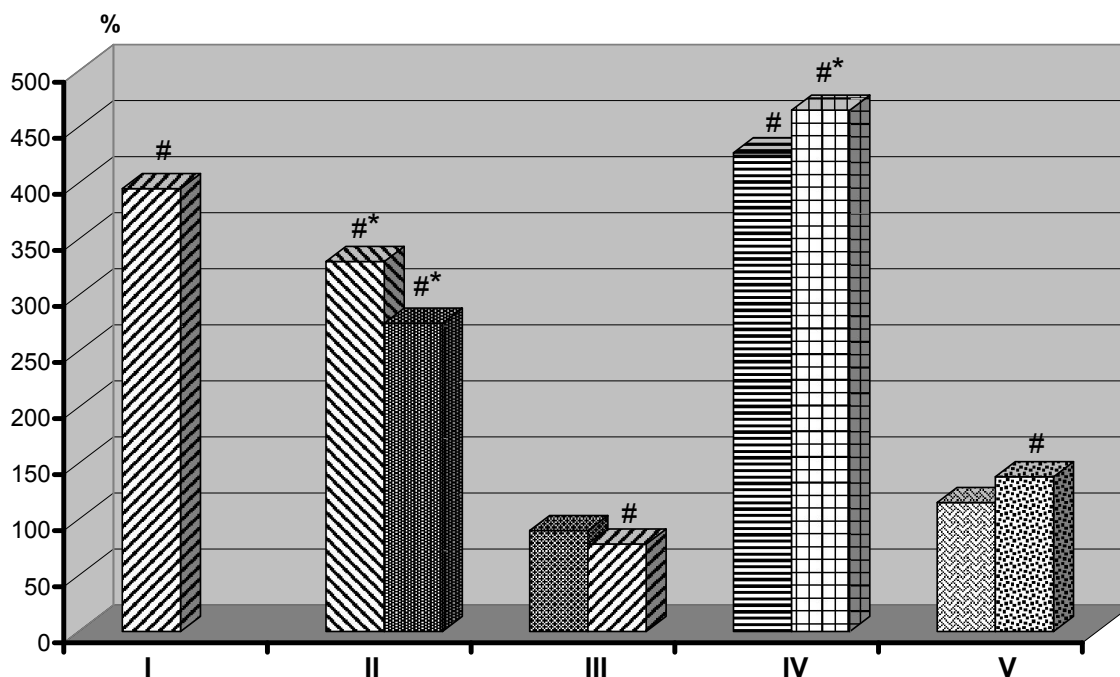


Рис. 3.7. Показники уникнення щурів із басейну в тесті Vrijmoed de Vries M.C., Cools A.R. (1986) за умов застосування L-аргініну та L-NAME.

П о з н а ч к и: по вісі абсцис - те ж, що й на Рис. 3.6.

По вісі ординат – поріг уникнення в % по відношенню до такого в групі інтактних щурів (100%).

- $P < 0,05$ у порівнянні до контролю (інтактні щури) і * - $P < 0,05$ у порівнянні до кіндлінгових щурів (ANOVA + Newman-Keuls тест).

При цьому досліджуваний показник був більшим, ніж в групі інтактних щурів відповідно в 3,3 та в 2,75 рази ($P < 0,05$). Аналогічне застосування L-аргініну (200,0 і 500,0 мг/кг, в/очер) інтактним щурам супроводжувалось зниженням порогу уникнення тварин відповідно на 10,2% ($P > 0,05$) і на 22,4% ($P < 0,05$). Під впливом L-NAME (1,0 і 10,0 мг/кг, в/очер) поріг уникнення кіндлінгових щурів зростав у порівнянні до його вихідного значення на 32,5% ($P > 0,05$) и на 71,2% ($P < 0,05$). При цьому у інтактних щурів застосування L-NAME (1,0 і 10,0 мг/кг, в/очер) також викликало збільшення порогу уникнення відповідно на 14,7% ($P > 0,05$) і на 37,5% ($P < 0,05$) (рис. 3.7).

Поріг розвитку бійок в парах кіндлінгових щурів склав $0,9 \pm 0,1$ мА, що було на 45,2% менше від відповідного показника в групі інтактних щурів ($P < 0,05$) (рис. 3.8). На тлі застосування L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер) поріг

формування бійок збільшувався на 12,1% у порівнянні до такого, який спостерігався до застосування препарату ($P>0,05$). При цьому поріг агресивних реакцій залишався достовірно більш низьким у порівнянні до групи інтактних щурів (на 33,2%) ($P<0,05$).

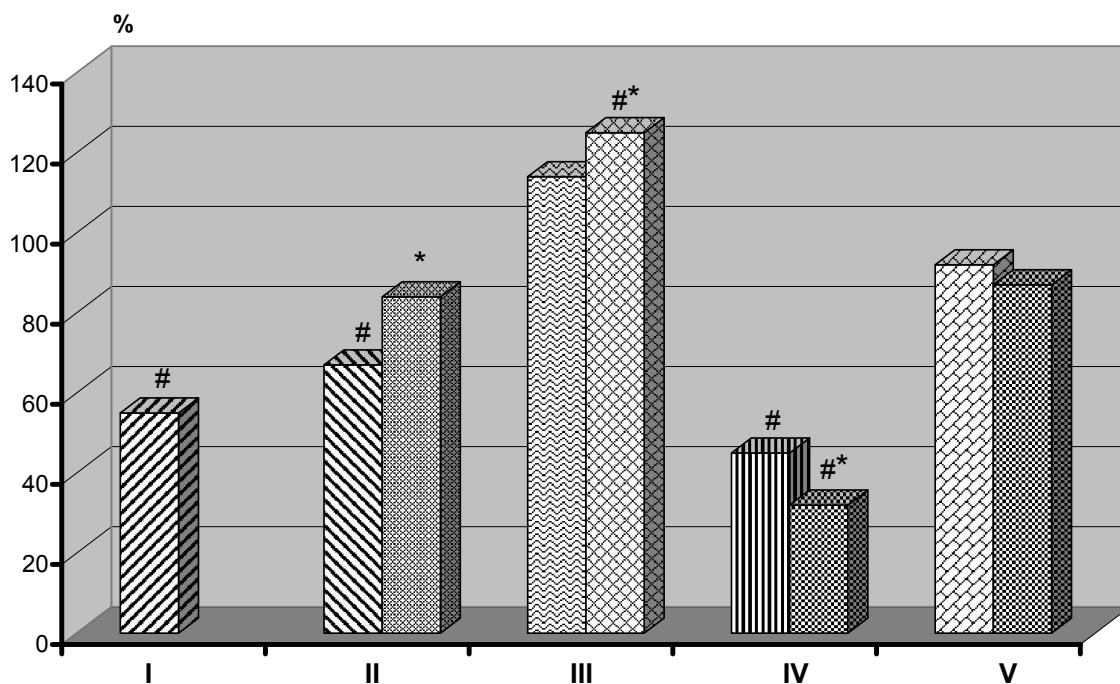


Рис. 3.8. Агресивність експериментальних тварин за умов модуляції системи продукції оксиду азоту.

П о з н а ч к и: по вісі абсцис - те ж, що й на Рис. 3.6. По вісі ординат - МА – в % по відношенню до порогової величини розвитку бійок в групі контролю (100%) # - $P<0,05$ у порівнянні до контролю (інтактні щури) і * - $P<0,05$ у порівнянні до кіндлінгових щурів (ANOVA + Newman-Keuls тест).

Застосування більш високої дози L-аргініну (500,0 мг/кг в/очер) супроводжувалось зростанням порогу агресивних реакцій кіндлінгових щурів – на 29,0% у порівнянні до показника, який спостерігався до введення L-аргініну ($P<0,05$). При цьому відмінності у порівнянні до інтактних тварин склали 15,7% ($P>0,05$). Застосування L-аргініну (200,0 і 500,0 мг/кг, в/очер) інтактним тваринам супроводжувалось збільшенням порогу розвитку бійок в парах тварин відповідно на 13,8% ($P>0,05$) та на 24,8% ($P<0,05$). Введення L-NAME (1,0 і 10,0 мг/кг, в/очер) викликало зниження порогу формування бійок в парах кіндлінгових щурів відповідно на 10,2% ($P>0,05$) і на 23,3% ($P<0,05$).

При цьому аналогічне застосування препарату у інтактних щурів супроводжувалось зниженням порогу розвитку агресивних реакцій відповідно на 8,0% та на 12,6% ($P>0,05$) (рис. 3.8).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що варіабельність плавання експериментальних тварин, яка була зниженою у зв'язку з формуванням кіндлінгу, зростала від впливом L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) на 19,0%. L-аргінін і L-NAME не викликали впливу на варіабельність плавання інтактних щурів. Поріг уникнення з басейну, який був збільшеним в результаті розвитку кіндлінгу, знижувався під впливом L-аргініну (200,0 і 500,0 мг/кг, в/очер) відповідно на 65,3% та на 119,7%. L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликав його збільшення на 71,2%. При цьому у інтактних щурів L-аргінін викликав зниження, в той час як L-NAME, навпаки, - підвищував поріг уникнення при застосуванні препаратів в найбільших із досліджуваних доз - відповідно на 22,4 та на 37,5%.

Виразність кіндлінг обумовленого зниження порогу агресивних реакцій зменшувалась під впливом L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) на 29,0%. L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликав зниження порогу розвитку бійок на 23,3%. У інтактних тварин під впливом L-аргініну (500,0 мг/кг в/очер) зростання порогу агресивних реакцій склало 24,8%.

3.3. Особливості циклу сну-не сну у кіндлінгових щурів за умов модуляції продукції оксиду азоту

Завданням дійсної частини дослідження було вивчення особливостей циклу сну-не сну у щурів за умов виникнення розвиненої форми кіндлінг – синдрому та впливу препаратів, які модулюють систему продукції оксиду азоту L-NAME та L-аргініну.

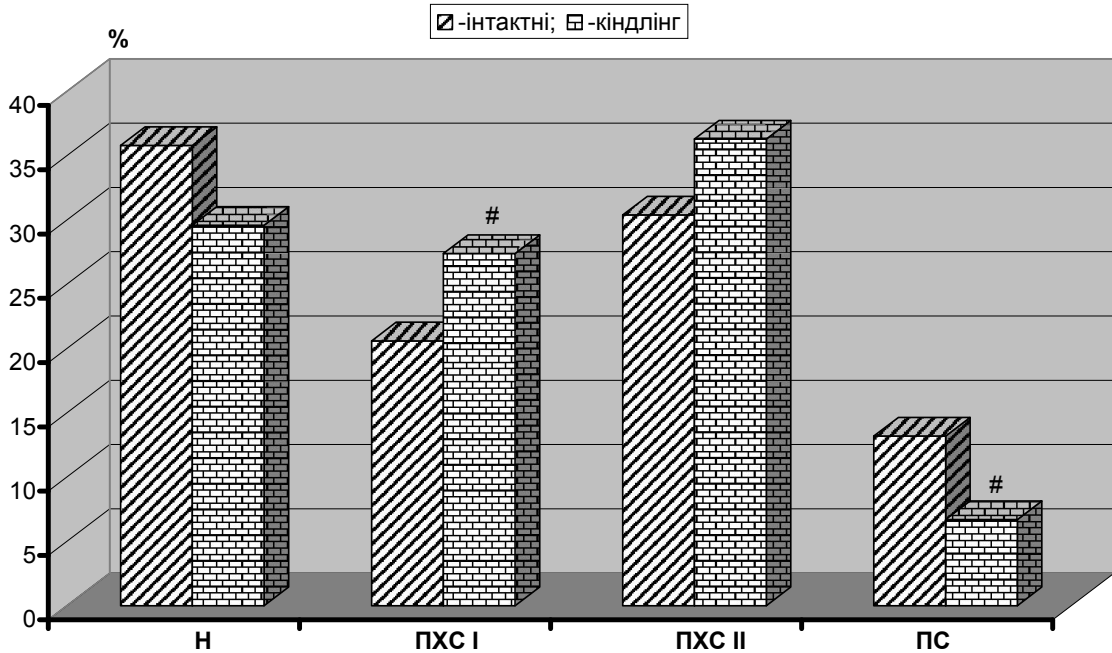


Рис. 3.9. Характеристики тривалості окремих фаз циклу сну-неспаннн у щурів з розвиненим кіндлінгом.

П о з н а ч к и: по вісі абсцис – Н - неспаннн, ПХС I – поверхневий повільнохвильовий сон; ПХС II – глибокий повільнохвильовий сон; ПС – парадоксальний сон.

По вісі ординат – тривалість окремих фаз у % по відношенню до загального часу спостереження, прийнятого за 100%.

$P < 0,05$ у порівнянні до відповідного показника в групі контролю (метод ANOVA + Newmann-Keuls тест).

У щурів із розвиненим генералізованим кіндлінговим судомним синдромом фаза неспаннн була дещо меншою у порівнянні до контролю (інтактні тварини із в/очер застосуванням фізіологічного розчину NaCl) і склала 29,6% від загальної тривалості спостереження (в контролі – 35,8%) ($P > 0,05$) (рис. 3.9). В той же час тривалість фази поверхневого повільнохвильового сну перевищувала відповідний показник в контролі – відповідно 27,4 та 30,6% ($P < 0,05$). Також спостерігалась тенденція до подовження тривалості фази глибокого повільнохвильового сну, яка складала 36,3% (в контролі – 30,4%) ($P > 0,05$). Тривалість фази парадоксального сну становила 6,7% і була достовірно меншою від такої в групі контролю (13,2%) ($P < 0,05$) (рис. 3.9).

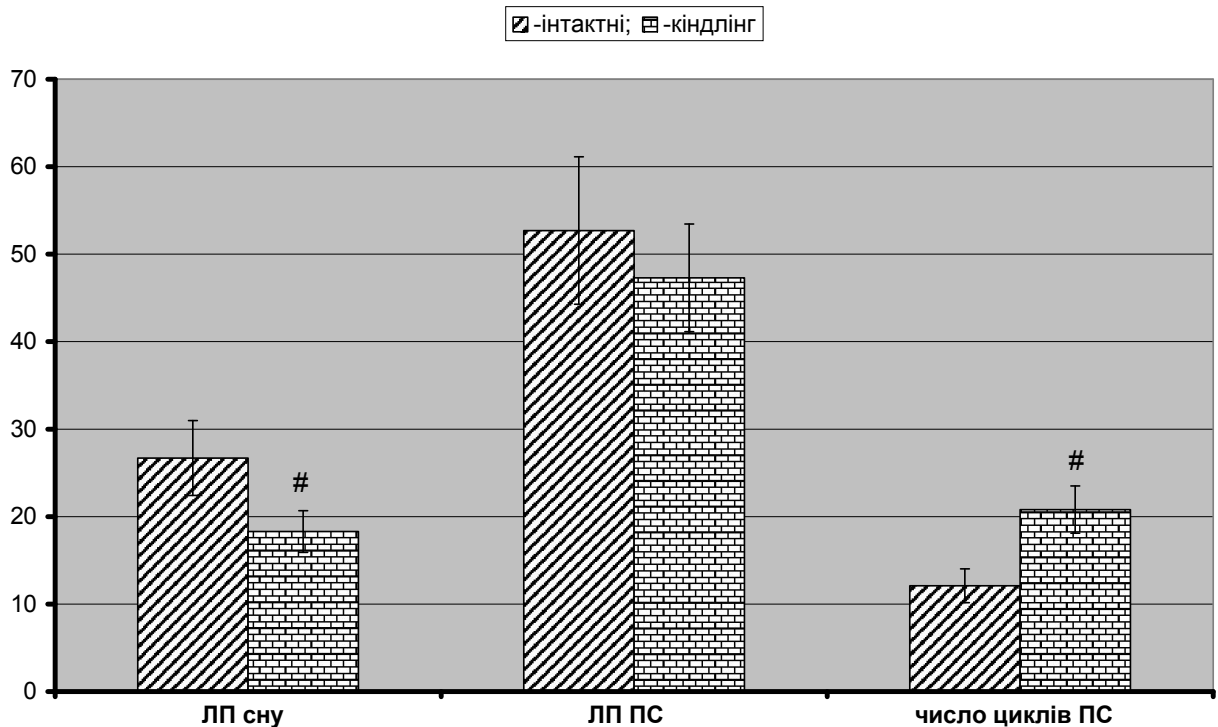


Рис. 3.10. Характеристики латентностей засинання, парадоксального сну та числа його циклів у щурів з розвиненим кіндлінг-синдромом.

П о з н а ч к и: по вісі абсцис – ЛП - латентний період, ПС - парадоксальний сон. По вісі ординат – досліджувані показники (в хв для латентностей та абсолютні значення числа циклів ПС).

- $P < 0,05$ у порівнянні до відповідного показника в групі контролю (метод ANOVA + Newmann-Keuls тест).

У щурів з розвиненим кіндлінг синдромом спостерігалось скорочення латентного періоду засинання – на 31,5% (до $18,3 \pm 1,7$ хв) ($P < 0,05$) (рис. 3.10). Також мала місце тенденція до скорочення латентного періоду ПС – на 11,3% ($P > 0,05$). Крім того достовірно зростало число циклів ПС – в 1,72 рази (до $20,8 \pm 1,9$) ($P < 0,05$) (рис. 3.10).

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що на тлі формування у експериментальних тварин розвинутої фази кіндлінгового судомного синдрому у щурів виникають розлади циклу сну-неснування, які проявляються у збільшенні тривалості фази поверхневого повільнохвильового сну (на 6,8% у порівнянні до контролю), зменшенні тривалості (в 1,97 рази) та збільшенні фрагментованості (в 1,72 рази) парадоксальної фази сну, а також в скороченні латентного періоду засинання (на 31,5%).

Застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) в групі контролю супроводжувалось збільшенням тривалості фази неспання, яка складала більше, ніж половину всього періоду спостереження тварин (52,0%) ($P < 0,05$) (рис. 3.11). Також реєструвалось достовірне (на 7,3%) зниження тривалості фази поверхневого повільнохвильового сну ($P < 0,05$), тенденція до зниження тривалості глибокого повільнохвильового сну – зменшення у порівнянні до контролю склало 2,9% ($P > 0,05$), а також зменшення тривалості фази парадоксального сну (в 1,83 рази) ($P < 0,05$).

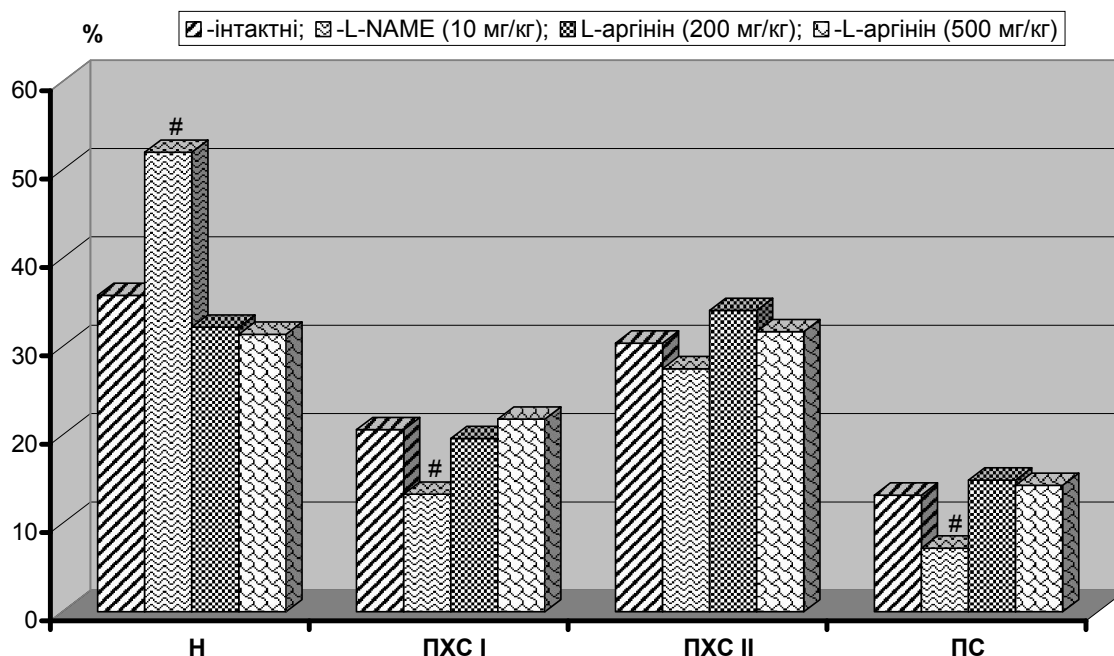


Рис. 3.11. Вплив інгібітору синтази оксиду азоту L-NAME та L-аргініну на тривалість фаз циклу сну-неспання у інтактних щурів

П о з н а ч к и: ті ж самі, що й на рис. 3.9.

- $P < 0,05$ у порівнянні до відповідного показника в групі контролю (метод ANOVA + Newmann-Keuls тест).

Введення L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг, в/очер щурам групи контролю (інтактні тварини із в/очер застосуванням фізіологічного розчину) супроводжувалось зменшенням тривалості фази неспання на 3,6%, а в дозі 500,0 мг/кг - на 4,4% ($P > 0,05$) (рис. 3.11). Показники тривалості поверхневого та глибокого повільнохвильового сну не змінювались суттєво: в меншій із

досліджуваних доз L-аргінін викликав зменшення поверхневого (на 1,0%) та подовження глибокого (на 3,7%) ($P>0,05$), а в більшій - відповідно збільшення на 1,2% та на 1,3% ($P>0,05$). Також мало місце незначне (на 1,7 та на 1,1%) збільшення тривалості фази ПС ($P>0,05$) (рис. 3.11).

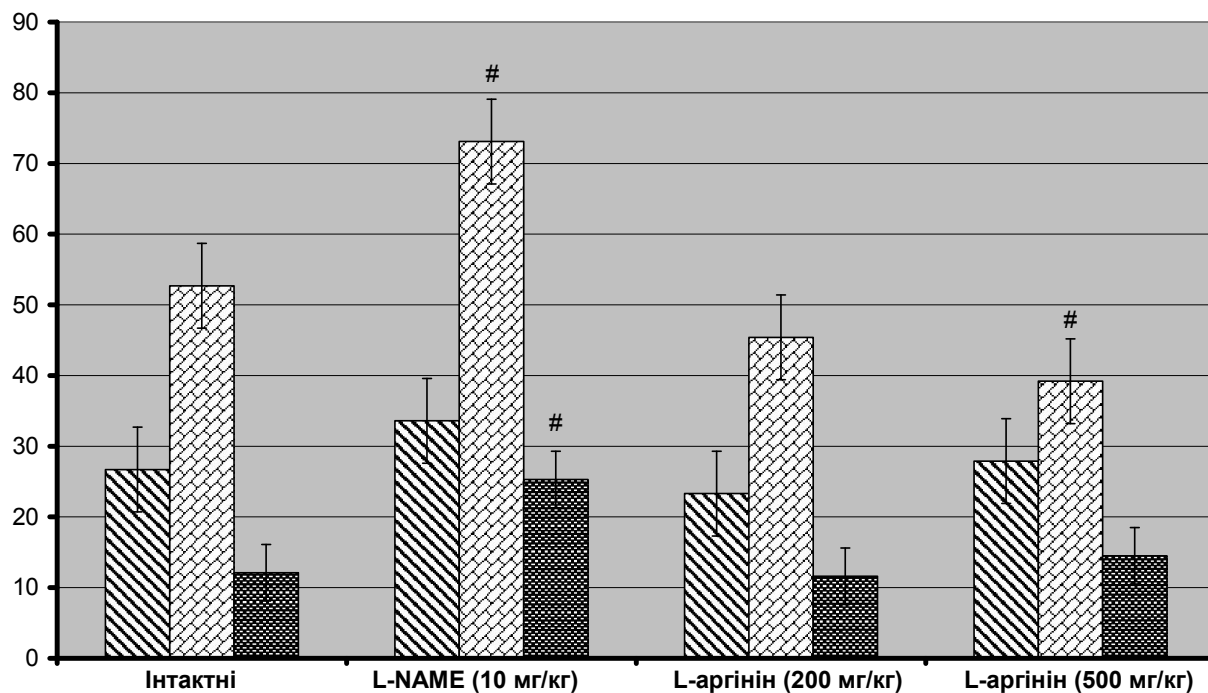


Рис. 3.12. Характеристики латентностей засинання, парадоксального сну та числа його циклів у інтактних щурів із застосуванням L-NAME та L-аргініну.

П о з н а ч к и: Перший стовпчик – латентний період засинання (хв); другий - латентний період парадоксального сну (хв), третій стовпчик – число циклів парадоксального сну. Решта - ті ж самі, що й на рис. 3.10.

- $P<0,05$ у порівнянні до відповідного показника в групі контролю (метод ANOVA + Newmann-Keuls тест).

Застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликало недостовірне збільшення тривалості латентного періоду засинання інтактних щурів (на 25,8%) до $33,6 \pm 4,2$ хв ($P>0,05$) та достовірне подовження (на 38,7%, $P<0,05$) тривалості латентного періоду виникнення ПС (рис. 3.12). Також за умов застосування L-NAME реєструвалось збільшення числа циклів ПС, яке склало $25,3 \pm 3,1$, що було в 2,1 рази вище, ніж в групі контролю ($P<0,05$).

Під впливом L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг, в/очер відбувалось незначне (на 3,4%, $P>0,05$) скорочення латентного періоду виникнення сну, недостовірне

скорочення латентного періоду ПС (на 7,3%, $P > 0,05$), а також скорочення тривалості фази ПС (на 0,5%, $P > 0,05$). В дозі 500,0 мг/кг L-аргінін викликав недостовірне збільшення тривалості фази неспання (на 1,2%, $P > 0,05$), достовірно зменшував латентний період виникнення ПС (на 25,7%, $P < 0,05$) та подовжував загальну тривалість фази ПС на 2,4% ($P > 0,05$) (рис. 3.12).

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що у інтактних щурів пригнічення активності синтази оксиду азоту застосуванням L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликає збільшення тривалості фази неспання (на 16,2%), зменшує тривалість поверхневого повільнохвильового сну (на 7,3%), а також редукує тривалість ПС (в 1,83 рази). За цих умов також достовірно подовжуються латентні періоди засинання щурів, виникнення ПС (відповідно на 25,8% та на 38,7%), а також збільшується число циклів ПС в 2,1 рази. L-аргінін в найбільшій із застосованих доз (500,0 мг/кг, в/очер) викликав зменшення латентного періоду виникнення ПС (на 25,6%).

Застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) у кіндлінгових щурів викликало недостовірне збільшення тривалості фази неспання - на 4,1% у порівнянні до групи контролю (кіндлінгові щури без введення препарату) ($P > 0,05$) (рис. 3.13). Спостерігалась також тенденція до зниження тривалості як фази поверхневого, так і глибокого повільнохвильового сну - відповідно на 1,1% та на 2,8% ($P > 0,05$). Тривалість фази парадоксального сну не змінювалась у порівнянні до кіндлінгових щурів без застосування L-NAME і складала 6,5% від загальної тривалості спостереження експериментальних тварин ($P > 0,05$) (рис. 3.13).

Застосування L-аргініну кіндлінговим щурам в дозі 200,0 мг/кг, в/очер супроводжувалось недостовірним (на 1,3%) збільшенням тривалості фази неспання, достовірним зменшенням тривалості фази поверхневого повільнохвильового сну (на 6,2%, $P < 0,05$), а також достовірним збільшенням тривалості фази ПС (в 1,76 рази, $P < 0,05$).

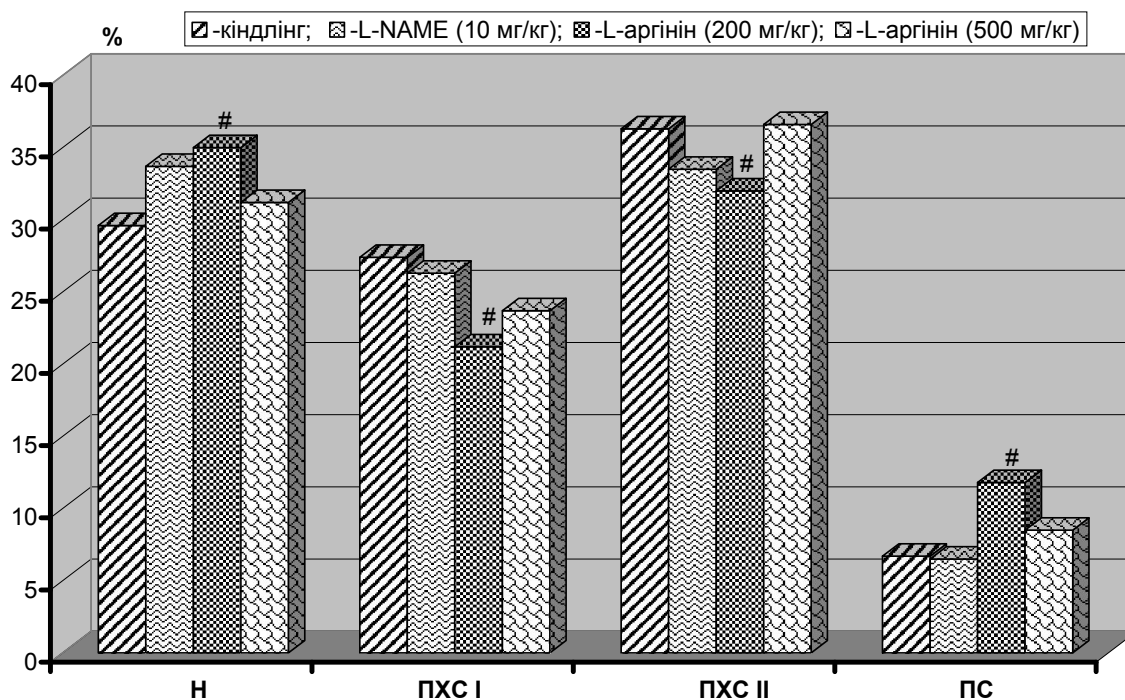


Рис. 3.13. Вплив інгібітору синтази оксиду азоту L-NAME та L-аргініну на тривалість фаз циклу сну-неспаннн у кіндлінгових щурів.

П о з н а ч к и: по вісі абсцис – Н - неспаннн, ПХС-I - поверхневий повільнохвильовий сон; ПХС-II – глибокий повільнохвильовий сон; ПС - парадоксальний сон. Решта позначок - та ж сама, що й на рис. 3.9.

- $P < 0,05$ у порівнянні до відповідного показника в групі контролю (метод ANOVA + Newmann-Keuls тест).

За цих умов також спостерігалась тенденція до зниження тривалості фази глибокого повільнохвильового сну (на 2,8%, $P > 0,05$). Застосування L-аргініну в більшій із досліджуваних доз (500,0 мг/кг, в/очер) викликало у кіндлінгових щурів зменшення тривалості фази неспаннн (на 2,5%, $P > 0,05$), зменшення тривалості поверхневої фази повільнохвильового сну на 3,7% ($P > 0,05$). Крім того спостерігалось незначне (на 1,8%, $P > 0,05$) подовження фази ПС при відсутності змін тривалості фази глибокого повільнохвильового сну (рис. 3.13).

L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликав у кіндлінгових щурів збільшення тривалості латентного періоду засинання (на 31,7%, $P < 0,05$), латентного періоду виникнення ПС – на 29,4%, ($P < 0,05$), а також збільшення числа циклів фази ПС – на 31,7%, ($P < 0,05$) (рис. 3.14).

Під впливом L-аргініну (200,0 та 500,0 мг/кг, в/очер) у кіндлінгових щурів реєструвалось скорочення тривалості латентного періоду засинання у порівнянні до відповідного показника в контролі (кіндлінгові щури без застосування препаратів) – на 2,4% та 4,4% відповідно ($P>0,05$).

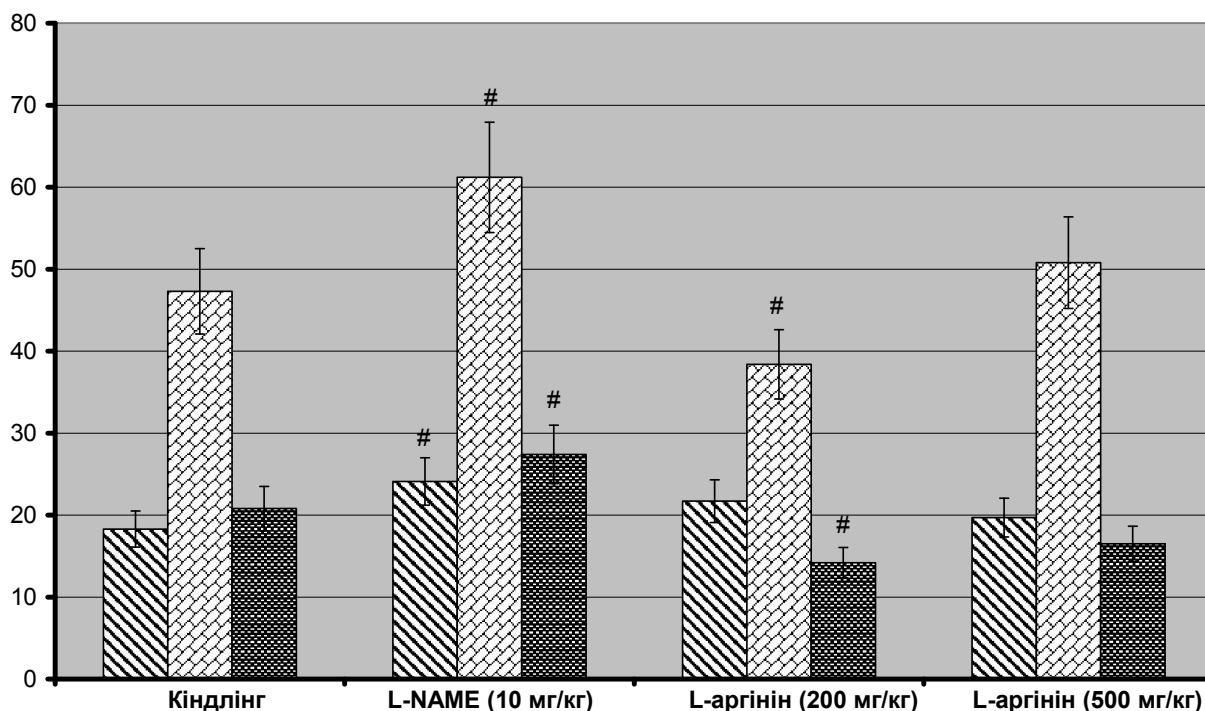


Рис. 3.14. Характеристики латентностей засинання, парадоксального сну та числа його циклів у кіндлінгових щурів із застосуванням L-NAME та L-аргініну. П о з н а ч к и: Перший стовпчик – латентний період засинання (хв); другий - латентний період парадоксального сну (хв), третій стовпчик – число циклів парадоксального сну. Решта - ті ж самі, що й на рис. 3.10. # - $P<0,05$ у порівнянні до відповідного показника в групі контролю (метод ANOVA + Newmann-Keuls тест).

L-аргінін в дозі 200,0 мг/кг, в/очер викликав зменшення латентного періоду виникнення ПС – на 18,2% у порівнянні до відповідного показника у кіндлінгових щурів ($P<0,05$). За цих умов також спостерігалось недостовірне збільшення тривалості латентного періоду засинання – на 15,6%, а також достовірне зменшення числа циклів ПС до $14,2 \pm 1,6$ на 31,7% у порівнянні до відповідного показника в групі кіндлінгових щурів, яким не застосовували препарати ($P<0,05$) (рис. 3.14).

L-аргінін в дозі 500,0 мг/кг, в/очер викликав незначне (на 1,4%, $P>0,05$) збільшення латентного періоду засинання експериментальних тварин, подовження періоду виникнення ПС на 3,5% ($P>0,05$), а також зменшення числа циклів фази ПС (на 4,3%, $P>0,05$) (рис. 3.14).

Таким чином, отримані дані свідчать, що пригнічення активності синтази оксиду азоту, яке досягається застосуванням L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер), викликає у кіндлінгових щурів збільшення латентного періоду виникнення сну (на 31,7%), латентного періоду виникнення парадоксальної фази сну (на 29,4%) та збільшує число циклів фази ПС (в 1,32 рази). L-аргінін в дозі 200,0 мг/кг, в/очер у кіндлінгових щурів викликає збільшення тривалості неспанья (на 18,2%), зменшує тривалість поверхневого повільнохвильового сну (на 22,1%) та подовжує тривалість парадоксального сну – в 1,76 разів, в той час як більша доза препарату не викликає достовірних змін з боку зазначених показників. L-аргінін в дозі 200,0 мг/кг, в/очер також викликає скорочення латентного періоду виникнення парадоксальної фази сну та зменшує число цього циклів відповідно на 18,9% та на 31,7%.

Наведені результати також свідчать про те, що вплив інгібітору синтази оксиду азоту L-NAME є більш різноманітним та виразним у інтактних щурів у порівнянні до його ефектів у кіндлінгових тварин, в той час як вплив L-аргініну, навпаки, є більш глибоким у кіндлінгових щурів і значно менш виразним – у інтактних експериментальних тварин. Цей факт може свідчити про те, що за умов розвинутого кіндлінгу відбувається виснаження системи синтезу ендогенного оксиду азоту і на такому фоні подальше зниження активності синтази оксиду азоту не може мати відчутних наслідків. Разом з тим, вплив L-аргініну, навпаки, стає більш відчутним, що можливо пояснити певною мірою десенситизаційної гіперчутливості механізмів, які є контрольованими з боку оксиду азоту.

Разом з тим, слід зазначити, що на тлі розвинених кіндлінгових проявів у експериментальних тварин більш виразна позитивна динаміка з боку досліджуваних показників спостерігалась при застосуванні L-аргініну в меншій

дозі (200,0 мг/кг, в/очер), в той час як введення препарату в більшій дозі (500,0 мг/кг, в/очер) не викликало ефекту. Цей факт можливо пояснити тим, що пізні прояви кіндлінгу є пов'язаними зі значним патогенетичним внеском з боку перекисної системи, що є взагалі характерним для формування хронічної епілептичної активності [58]. Через це додаткове генерування оксиду азоту в значних кількостях, яке слід очікувати при використанні значних доз L-аргініну, супроводжується додатковим формування перекисних сполук (пероксинітриту), які нівелюють протиепілептичні впливи і сприяють розвитку епілептиформної активності.

В цілому отримані результати свідчать про важливе патогенетичне значення залежних від оксиду азоту нейрональних механізмів контролю в патогенетичних порушеннях циклу сну-не сну при хронічній епілептизації мозку, модельованої шляхом відтворення коразолового кіндлінгу у щурів.

3.4. Особливості проявів післянападової депресії за умов модуляції продукції ендogenous оксиду азоту

Післянападова депресія уявляє собою механізм припинення судом і при формуванні кіндлінгового синдрому відмічається зростання в числі компонентів післянападової депресії, обумовлених активуванням ендogenous оплатної системи [97, 198]. Тому завданням окремої частини даного дослідження явилось визначення позно-тонічних реакцій, окремі прояви яких свідчать про опіатергічний чи нейролептичний механізм виникнення у щурів з кіндлінг-синдромом за умов впливу L-аргініну. Ці дослідження проводилися через 24 г з моменту завершення кіндлінгу.

Слід зазначити, що в нашому дослідженні ми в більшій мірі звертали увагу на застосування аргініну, в той час як L-NAME також викликає центральну антиноцицептивну дію, яка посилюється під впливом аргініну [134]. Автори роботи зазначають, що під впливом L-NAME виникає активація одного

й того ж шляху реалізації ефекту у відношенні до больових реакцій, які спостерігали у мишей після в/очер застосування оцетової кислоти а також після внутрішньоплантарного застосування каррагеніну чи простагландіну E2. Причому, на вказаних моделях інший інгібітор синтази оксиду азоту NG-монометил-L-аргінін (L-NMMA) не викликав антиноцицептивної дії та зменшував антиноцицептивний вплив L-NAME. Тому, зважаючи на вказані особливості нейротропної дії L-NAME ми не вважали доцільним використовувати препарат в якості «функціонального антагоніста» по відношенню до впливів аргініну на моделі больової чутливості у щурів.

Застосування L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) у інтактних щурів супроводжувалось зниженням числа тварин, які демонстрували відведення задніх кінцівок при піднятті щура за хвіст – до 15,0%, в той час як в групі інтактних тварин подібне положення кінцівок за аналогічних умов мало місце у 55,0% щурів (табл. 3.6). Також у щурів під впливом аргініну спостерігалось підвищення тонусу хвоста (у 20,0%), зниження здатності утримувати позу «місток» (до 70,0% зі 100,0% в групі інтактних щурів), здатності утримуватись на вертикальному стрижні (до 60,0% зі 100,0%) та здатності захоплення олівця передніми кінцівками (до 50,0% з 90,0%). За умов застосування L-аргініну виразність больових реакцій зменшувалась на 32,0% у порівнянні до відповідного показника у інтактних щурів ($P < 0,05$).

Характер проявів позно-тонічних та рухових рефлекторних порушень у кіндлінгових щурів можна було кваліфікувати як опіат-залежні (табл. 3.6). Так, на відміну від інтактних щурів, за умов формування кіндлінгу спостерігалось приведення передніх кінцівок (12,0%) за відсутності їх відведення, що було характерно для інтактних експериментальних тварин. У кіндлінгових щурів також реєструвались експлозивність (16,0%), екзофтальм (44,0%), порушення рефлексу перевертання та рогівкового рефлексу (8,0%). Задні кінцівки щурів перебували у положенні приведення за умов підняття експериментальних тварин за хвіст (56,0%) за повної відсутності відведення, яке мало місце у 15,0% інтактних експериментальних тварин. Тонус хвоста у кіндлінгових щурів

характеризувався як підвищений у 68,0% тварин, а больова чутливість була знижена у порівнянні до інтактних щурів в 2,1 разів ($P < 0,05$). Також на відміну від інтактних тварин, за умов сформованого кіндлінгу знижувалась здатність утримувати позі «місток», утримуватися на вертикальному стрижні та захоплювати передніми лапами олівець - відповідні реакції реєструвались у 20,0%, 28,0 та 28,0% експериментальних тварин, в той час як у інтактних щурів такі реакції спостерігались практично у всіх тварин (табл. 3.6).

За умов застосування L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) число кіндлінгових щурів, які були здатні утримувати передні кінцівки під тулубом (у приведеному стані) склало 59,0%, в той час як число щурів, які демонстрували експлозивність та екзофтальм складало відповідно 45,4% та 80,0%. Задні лапи в приведеному стані при піднятті щура за хвіст реєструвались у 81,8% експериментальних тварин, а підвищений тонус хвоста – у 95,4% щурів. Інтенсивність больових реакцій за цих умов знижувалась вдвічі у порівнянні до такої, яка реєструвалась у кіндлінгових щурів без застосування L-аргініну ($P < 0,05$).

Таблица 3.6.

Число щурів, які утримували позу «місток», утримувались на вертикальному стрижні та захоплювали передніми лапами олівець було мінімальним і складало відповідно 4,5%; 9,0 та 9,0% (табл. 3.6).

Введення L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер) кіндлінговим щурам супроводжувалось певними змінами структури післянападового депресивного синдрому. Зокрема, збільшувалось число щурів, які утримували передні кінцівки в положенні під тулубом при піднятті за хвіст тварини – до 55,0% (з 12,0% у кіндлінгових щурів без застосування аргініну). За цих умов число щурів із експлозивністю складало 35,0%, а з екзофтальмом – 65,5%, що також перевищувало відповідні показники у кіндлінгових щурів до застосування аргініну (16,0 та 44,0% відповідно). Практично у всіх тварин (95,5%) спостерігалось приведення задніх лап тварин, підвищений тонус хвоста реєструвався у 90,0%, а больова чутливість зменшувалась у порівнянні до відповідного показника, який реєструвався у кіндлінгових щурів до застосування аргініну на 16,7% ($P > 0,05$). Утримування пози «місток», здатність утримуватись на вертикальному стрижні та захват олівця передніми лапами спостерігались відповідно у 15,0%, 25,0% та 20,0% кіндлінгових щурів (табл. 3.6).

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що застосування L-аргініну у кіндлінгових щурів посилює опіат-залежний симптом аналгезії, яка визначалась в тесті заціплення хвоста корнцангом, а також посилює виразність проявів екзофтальму та експлозивності, приведення передні та відведення задніх кінцівок в тесті підняття щура за хвіст, а також підвищення тону хвоста. Вказані ефекти L-аргініну носили доза-залежний характер.

3.5. Особливості стану тіол-дисульфідної системи крові кіндлінгових щурів за умов модуляції продукції оксиду азоту

Посилене перекисне окиснення ліпідів є важливим патогенетичним механізмом формування патологічно підвищеної збудливості мозку, в реалізації якої суттєву роль відіграють механізми продукції оксиду азоту [36, 57, 206]. Показано, що тіол-дисульфід окислювально-відновлювальна система, яка є важливим компонентом антиокислювальної системи організму, приймає участь в механізмах неспецифічної резистентності, в тому числі при розвитку запальних процесів [34]. Виразність змін з боку цієї системи може бути критерієм глибини порушень, які мають місце в процесі формування епілептичного синдрому [36]. Однак, до останнього часу не досліджувалась роль оксиду азоту в забезпеченні тіол-дисульфідних антиокислювальних механізмів при експериментальному епілептичному синдромі.

Метою дійсного дослідження було визначення рівня тіолових та дисульфідних груп крові, в тому числі протеїнової та непротеїнової фракцій у щурів зі сформованим кіндлінг-синдромом, а також за умов застосування L-аргініну – попередника оксиду азоту і метилового ефіру N (G)-нітро-L-аргініну (L-NAME) – неспецифічного інгібітору синтази оксиду азоту.

В крові щурів групи контролю загальний вміст SH- та SS-груп склав відповідно $9071,2 \pm 144,2$ и $3326,2 \pm 98,7$ мкмоль/л. При цьому коефіцієнт SH/SS мав величину $2,73 \pm 0,08$. У щурів кіндлінгової групи загальний вміст тіолових груп був на 2,25% меншим, ніж в групі контролю ($P > 0,05$), в той час як вміст дисульфідних груп перевищував такий, який відмічався в групі контролю на 45,1% ($P < 0,05$) (рис. 3.15, А).

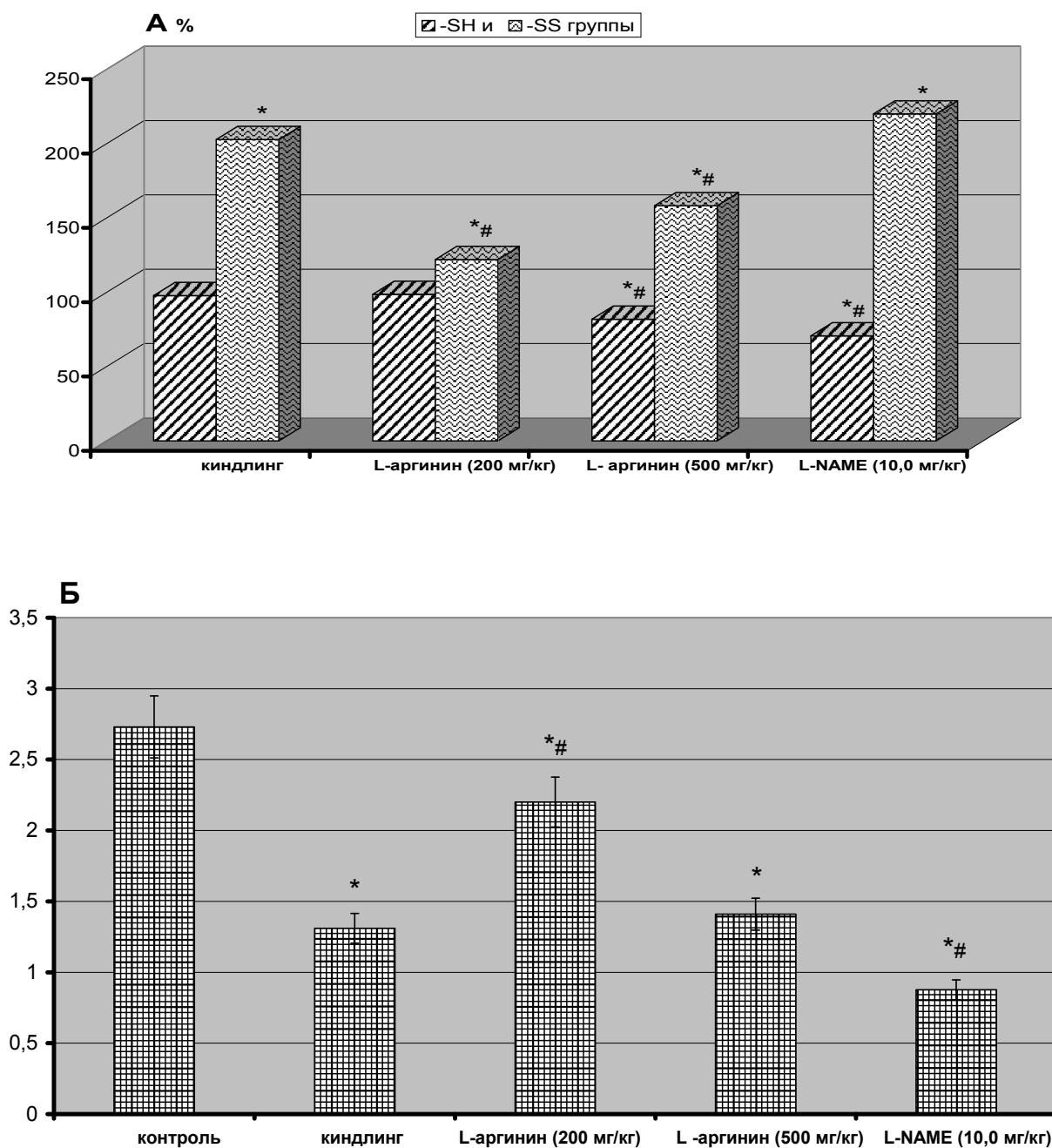


Рис. 3.15. Зміни загального вмісту тіолових та дисульфідних груп в крові кіндлінгових щурів за умов застосування препаратів, які модулюють продукцію оксиду азоту.

П о з н а ч к и: А - рівень тіолових і дисульфідних груп в % (вісь ординат) по відношенню до такого в групі контролю (100%). Б - коефіцієнт SH/SS (відносні одиниці).

* - $P < 0,05$ у порівнянні до показника в групі контролю; # - $P < 0,05$ - у порівнянні до показника в групі кіндлінгових щурів (ANOVA + Newmann-Keuls тест).

На фоні застосування L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг, в/очер рівень тіолових груп залишався меншим, ніж в групі контролю на 1,4% ($P>0,05$). Рівень дисульфідних груп перевищував відповідний показник в групі контролю на 22,0% ($P<0,05$) і при цьому був на 39,8% меншим у порівнянні до аналогічного показника в групі кіндлінгових щурів ($P<0,05$). Під впливом L-аргініну, який застосовували в більшій дозі (500,0 мг/кг, в/очер) спостерігалось зменшення вмісту тіолових груп як у порівнянні до групи контролю (на 18,1%, $P<0,05$), так і у порівнянні до групи кіндлінгових тварин (на 16,2%, $P<0,05$).

При цьому вміст дисульфідних груп перевищував відповідний показник в групі контролю на 58,2% ($P<0,05$) і був меншим, ніж у щурів з кіндлінг-синдромом на 22,0% ($P<0,05$). Найбільш низьким рівень загальних тіолових груп крові був у кіндлінгових щурів з використанням L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) - цей показник був меншим, ніж в групах контролю і у тварин з кіндлінгом відповідно на 29,3% та 27,7% ($P<0,05$). За подібних умов вміст дисульфідних груп був більшим, ніж в контролі в 2,2 рази, а також більшим, ніж у кіндлінгових щурів на 8,5% ($P>0,05$) (рис. 3.15, А).

Коефіцієнт SH/SS в групі кіндлінгових щурів був в 2,1 рази меншим, ніж у щурів групи контролю ($P<0,05$) (рис. 3.15, Б). В той же час, за умов застосування L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг, в/очер реєструвалось його достовірне збільшення у порівнянні до групи кіндлінгових тварин (в 1,68 рази, $P<0,05$) і при цьому він залишався на 19,4% меншим, ніж в групі контролю ($P<0,05$). За умов застосування більшої дози L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) досліджуваний показник був меншим від такого в групі контролю в 1,94 рази ($P<0,05$) і перевищував аналогічний показник у кіндлінгових щурів на 7,6% ($P>0,05$). Під впливом L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) виникало зменшення коефіцієнта SH/SS, який був меншим у порівнянні до контролю в 3,1 рази і меншим, ніж у кіндлінгових щурів в 1,5 рази ($P<0,05$) (рис. 3.15, Б).

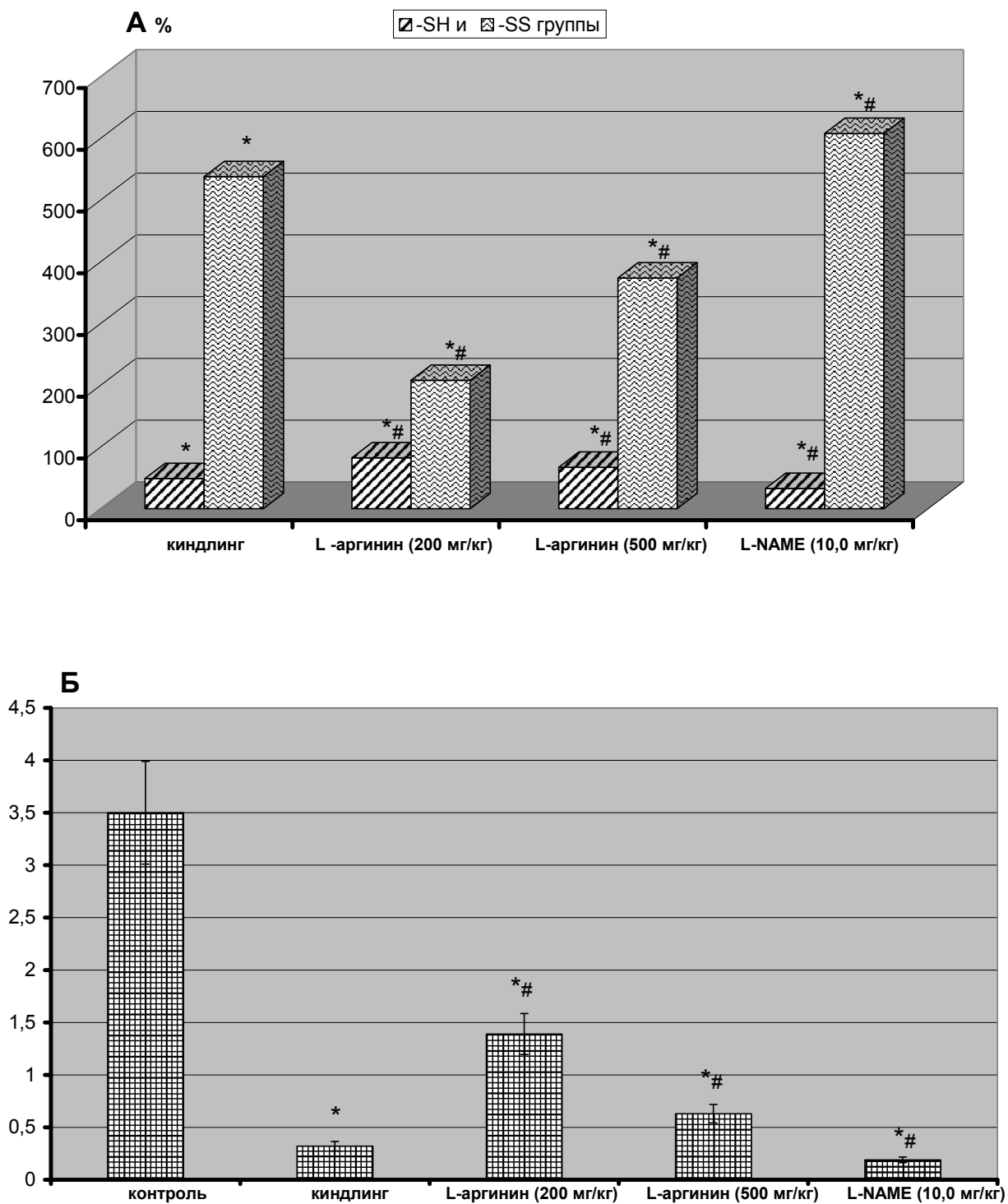


Рис. 3.16. Зміни вмісту тіолових та дисульфідних груп небілкової фракції крові кіндлінгових щурів за умов модуляції продукції оксиду азоту.

П о з н а ч к и: ті же, що й на рис.3.15.

* - $P < 0,05$ у порівнянні до показника в групі контролю; # - $P < 0,05$ - у порівнянні до показника в групі кіндлінгових щурів (ANOVA + Newmann-Keuls тест).

Вміст тіолів небілкової фракції крові щурів групи контролю склало $1350,0 \pm 42,4$ мкмоль/л, а дисульфідних сполук – $385,0 \pm 18,5$ мкмоль/л. Відповідно коефіцієнт SH/SS мав величину $3,50 \pm 0,22$. У експериментальних тварин з розвиненим кіндлінг-синдромом вміст тіолових груп був вдвічі меншим, ніж в групі контролю ($P < 0,05$), а рівень дисульфідних груп – більшим в 5,4 рази ($P < 0,05$) (рис. 3.16, А). Під впливом L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер) вміст тіолових груп збільшувався у порівнянні до такого, який мав місце у кіндлінгових щурів на 68,7% ($P < 0,05$), хоча і залишався меншим на 17,6% у порівнянні до такого в групі контролю ($P < 0,05$).

За вказаних умов вміст дисульфідних сполук знижався у порівнянні до такого у кіндлінгових тварин в 2,58 рази ($P < 0,05$) і при цьому залишався вищим, ніж в контролі в 2,1 рази ($P < 0,05$). За умов використання більшої дози L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) вміст тіолових груп у порівнянні до групи кіндлінгових щурів був вищим на 37,6% ($P < 0,05$) і у порівнянні до контролю був нижчим на 31,8% ($P < 0,05$). При цьому вміст дисульфідних груп у порівнянні до контролю залишався більш високим в 3,74 рази ($P < 0,05$) і був меншим, ніж у кіндлінгових щурів в 1,44 рази ($P < 0,05$). Застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) редукувало вміст тіолових груп до 32,8% від такого в групі контролю ($P < 0,05$), що було менше, ніж у щурів кіндлінгової групи в 1,49 рази ($P < 0,05$). При цьому рівень дисульфідних груп у порівнянні до контролю зростав 6,1 рази, що також було більше у порівнянні до показника в групі кіндлінгових щурів на 13,0% ($P < 0,05$) (рис. 3.16, А).

Коефіцієнт SH/SS небілкових груп у кіндлінгових щурів був в 10,94 рази більш низьким у порівнянні до такого у експериментальних тварин групи контролю ($P < 0,05$). За умов застосування L-аргініну (200,0 та 500,0 мг/кг, в/очер) спостерігалось деяке підвищення досліджуваного показника у порівнянні до такого, який визначався в групі кіндлінгових щурів – відповідно в 4,34 та в 1,97 рази ($P < 0,05$). При цьому наведені коефіцієнти залишались меншими від таких в групі контролю – в 2,52 та в 5,56 рази відповідно ($P < 0,05$). За умов застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) коефіцієнт SH/SS знижувався

в 1,68 рази у порівнянні до такого, який реєструвався в групі щурів з розвиненим кіндлінговим синдромом ($P < 0,05$) (рис. 3.16, Б).

Вміст тілових груп білкового походження (білкової фракції) крові у щурів групи контролю склав $7731,0 \pm 112,0$ мкмоль/мл, а дисульфідних груп – $2941,2 \pm 94,3$ мкмоль/л. При цьому коефіцієнт SH/SS мав величину $2,62 \pm 0,11$. Рівень білкових тілових груп змінювався незначно в групі щурів із розвиненим кіндлінговим синдромом: зокрема, реєструвалось їх збільшення на 6,3% ($P > 0,05$). При цьому вміст дисульфідних сполук збільшувався на 58,9% ($P < 0,05$) (рис. 3, А).

В групі щурів з розвиненим кіндлінговим синдромом, яким застосовували L-аргінін в дозі 200,0 мг/кг, в/очер вміст тілових груп перевищував відповідний показник, який реєструвався у щурів групи контролю на 1,4% ($P > 0,05$), а рівень дисульфідних груп – на 10,7% ($P > 0,05$). За подібних умов застосування L-аргініну рівень дисульфідних груп зменшувався у порівнянні до такого, який мав місце у кіндлінгових щурів на 30,3% ($P < 0,05$). Під впливом L-аргініну, який було використано в дозі 500,0 мг/кг, в/очер спостерігалось зниження рівня тілових білкових груп, рівень яких у порівнянні до такого в групі контролю був меншим на 15,6% ($P < 0,05$), а також меншим у порівнянні до такого, який мав місце в групі щурів з розвиненим кіндлінговим синдромом на 20,5% ($P < 0,05$). Слід підкреслити, що за вказаних умов вміст дисульфідних груп залишався більш високим у порівнянні до контролю (на 30,0%, $P < 0,05$), але одночасно відбувалось його зниження у порівнянні до такого в групі кіндлінгових щурів на 18,2% ($P < 0,05$).

Застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) супроводжувалось зниженням рівня тілових груп, рівень яких склав 77,3% від такого в групі контролю ($P < 0,05$) та одночасно був меншим, ніж в групі тварин з розвиненим кіндлінговим синдромом на 27,3% ($P < 0,05$). При цьому вміст дисульфідних груп збільшувався у порівнянні до вказаних груп відповідно на 74,4% та на 6,5% ($P > 0,05$) (рис. 3.17, А).

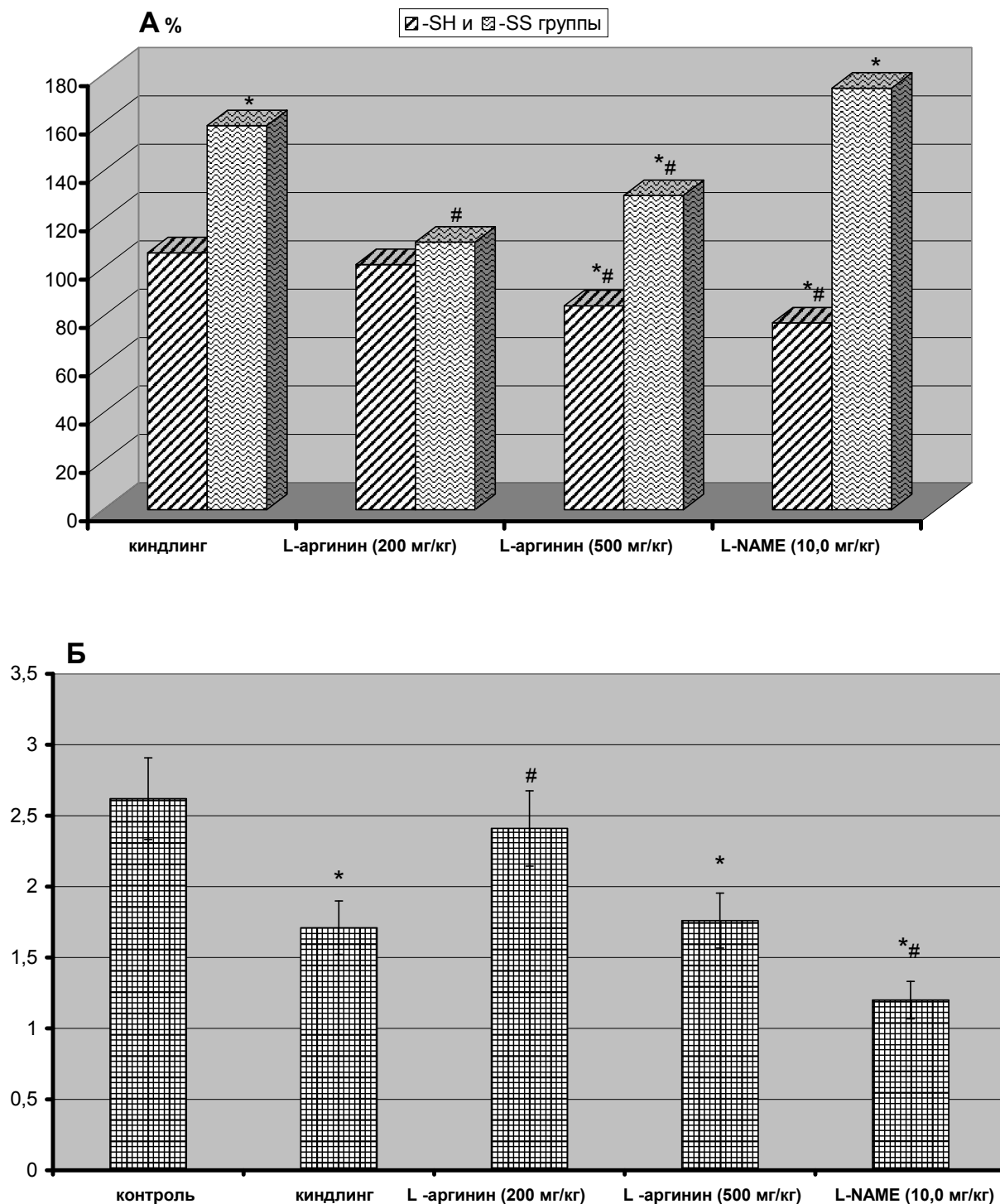


Рис. 3.17. Зміни вмісту тіолових та дисульфідних груп білкової фракції крові кіндлінгових щурів за умов модуляції продукції оксиду азоту.

П о з н а ч к и: ті же, що на рис.3.15.

* - $P < 0,05$ у порівнянні до показника в групі контролю; # - $P < 0,05$ - у порівнянні до показника в групі кіндлінгових щурів (ANOVA + Newman-Keuls тест).

Коефіцієнт SH/SS білкових груп у щурів зі сформованим кіндлінговим синдромом був в 1,53 рази більш низьким, ніж у тварин групи контролю ($P < 0,05$) (рис. 3.17, Б).

На тлі застосування меншої дози L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер) вказаний коефіцієнт збільшувався у порівнянні до такого, який реєструвався у кіндлінгових щурів на 40,9% ($P < 0,05$) і при цьому він був меншим, ніж у щурів групи контролю на 8,0% ($P > 0,05$). На фоні застосування більшої дози L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) коефіцієнт SH/SS незначно збільшувався у порівнянні до аналогічного показника, який мав місце у кіндлінгових тварин (на 2,9%, $P > 0,05$) та одночасно залишався меншим, ніж в групі контролю на 32,8% ($P < 0,05$). За умов застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) досліджуваний показник зменшувався у порівнянні до такого в групі тварин з розвиненим кіндлінговим синдромом на 29,8% ($P < 0,05$) (рис. 3.17,Б).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що у щурів із сформованим хронічним епілептичним синдромом спостерігається збільшення в крові рівня дисульфідних груп (на 45,1%). Під впливом застосування відносно меншої дози L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер) спостерігалось зменшення вмісту дисульфідних на 39,8% у порівнянні до вихідного значення. У відносно високій дозі L-аргінін (500,0 мг/кг, в/очер), а також L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликали зниження рівня загальних тіолових груп (на 18,1 та на 27,7% у порівнянні до контролю). Коефіцієнт SH/SS на тлі застосування L-NAME склав 0,88, в той час як у щурів із застосуванням L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг – 2,2.

В небілковій фракції крові кіндлінгових щурів спостерігалось двохкратне зменшення рівня вільних тіолів і більш, ніж п'ятикратне збільшення рівня дисульфідних груп. L-аргінін (200,0 мг/кг, в/очер) викликав збільшення вмісту тіолів на 68,7% у порівнянні до вихідного значення, а також зменшував рівень дисульфідів в 2,58 рази. В дозі 500,0 мг/кг, в/очер L-аргінін редукував рівень тіолових груп в 1,5 рази і дисульфідних груп в 1,44 рази. L-NAME викликав зниження рівня тіолових груп в 1,49 рази і підвищував вміст дисульфідних груп на 13,0% у порівнянні до вихідних показників у кіндлінгових щурів.

Таким чином, залежні від продукції оксиду азоту зміни з боку тіолдисульфідної системи крові біли в більшій мірі виразними в небілковій фракції. Відповідні динамічні зміни з боку функціональних показників тіолдисульфідної системи крові за умов модуляції стану системи продукції оксиду азоту можуть розглядатися в якості механізмів реалізації впливу L-NAME та L-аргініну на прояви хронічного кіндлінгового синдрому.

Таким чином, отримані результати свідчать про подвійний характер впливу препаратів, які модулюють ендogenous продукцію оксиду азоту на епілептиформні прояви в процесі відтворення фармакологічного кіндлінгу. Хронічна епілептична активність на етапі моделювання абсансної епілепсії має наслідком застосування препарату - інгібітору синтази оксиду азоту посилення судомних проявів в той час як на етапі відтворення генералізованих судомних проявів, навпаки, - наслідком є послаблення судомних реакцій. Протилежний характер впливу спостерігається і у відношенні ефектів аргініну, який на ранньому етапі усуває прояви абсансної епілепсії, в той час як на завершальній стадії формування кіндлінгу посилює судомні реакції.

Структура постсудомної депресії і до певної міри інтеріктальні порушення поведінки кіндлінгових щурів також змінювались під впливом модуляторів синтезу оксиду азоту. Слід зазначити, що вказані форми кіндлінг-викликаних порушень поведінки пов'язані з відсутністю власне судомних проявів і їх розвиток можливо пояснити активацією структур антиепілептичної системи мозку. Причому, в механізмах подібної активації важливими є процеси збудження ендogenous опіатної системи мозку, на що вказують результати проведених досліджень. Так, під впливом L-аргініну у кіндлінгових щурів посилює опіат-залежні прояви постсудомного депресивного синдрому. Зокрема, спостерігається посилення анальгезії, яка визначалась в тесті заціплення хвоста корнцангом, посилення проявів екзофтальму та експлозивності, приведення передні та відведення задніх кінцівок в тесті підняття щура за хвіст, а також підвищення тону хвоста. Крім того, L-аргінін (500,0 мг/кг, в/очер) у кіндлінгових щурів в інтеріктальному періоді збільшував показник

варіабельності плавання (на 19,0%), зменшував поріг уникнення із басейну - на 65,3% та на 119,7% при застосуванні в дозах 200,0 та 500,0 мг/кг, в/очер. В той же час L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликав збільшення порогу уникнення кіндлінгових щурів на 71,2%. Слід також зазначити, що характерне для міжнападового періоду збільшення агресивності кіндлінгових щурів гальмувалось під впливом L-аргініну (500,0 мг/кг в/очер), що проявлялось у збільшенні порогу виникнення бійок в парах щурів на електродній підлозі - на 29,0%. В той же час, L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) знижував поріг виникнення бійок на 23,3%.

На тлі розвиненого кіндлінг-синдрому застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) супроводжувалось збільшенням латентного періоду виникнення сну (на 31,7%), латентного періоду виникнення парадоксальної фази сну (на 29,4%) та збільшенням числа циклів фази ПС (в 1,32 рази). L-аргінін в дозі 200,0 мг/кг, в/очер у кіндлінгових щурів викликав збільшення тривалості неспання (на 18,2%), зменшував тривалість поверхневого повільнохвильового сну (на 22,1%) та подовжував тривалість парадоксального сну – в 1,76 разів, в той час як більша доза препарату не викликала достовірних змін з боку зазначених показників. L-аргінін в дозі 200,0 мг/кг, в/очер також викликав скорочення латентного періоду виникнення парадоксальної фази сну та зменшував число цього циклів відповідно на 18,9% та на 31,7%. Цей результат є можливим свідченням на користь загальної концепції ефективності більш низьких доз L-аргініну в міжнападковому періоді, коли, як і за умов розвитку абсансної форми епілепсії йдеться про активацію антиепілептичних механізмів мозку.

Дослідження стану тіол-дисульфідної системи крові кіндлінгових щурів також засвідчило більшу ефективність відносно менших доз L-аргініну у відношенні корекції кіндлінг-викликаних порушень та поглиблення порушень стану цієї системи за умов застосування більш високих доз препарату. Так, у щурів із сформованим кіндлінговим синдромом L-аргінін в дозі 500,0 мг/кг, в/очер, а також L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликали зниження рівня загальних тіолових груп (на 18,1 та на 27,7% у порівнянні до контролю). Під

впливом застосування відносно меншої дози L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер) спостерігалось зменшення вмісту дисульфідних на 39,8% у порівнянні до вихідного значення. Вказані ефекти препаратів були більш виразними в небілковій фракції крові.

Матеріали розділу було опубліковано та докладено:

1. Desyatsky V. V. Antiepileptic properties of L-arginine on the models of simple and complex partial seizures / V. V. Desyatsky, L. S. Godlevsky // *Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти.* – 2010. - № 1. - С. 9 – 11.

2. Десятский В. В. Тиол-дисульфидная система крови киндлинговых крыс в условиях модуляции продукции оксиду азота / В. В. Десятский // *Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти.* – 2010. – № 2. – С. 16 – 19.

3. Десятский В. В. Плавательное поведение и агрессивность киндлинговых крыс в условиях модуляции продукции оксиду азота / В. В. Десятский // *Світ медицини та біології.* - 2011. - № 1. - С. 14 – 18.

4. Десятський В. В. Зменшення протиепілептичної ефективності L-аргініну та L-гістидину у толерантних до дії діазепаму щурів / Л. С. Годлевський, В. В. Десятський, О. Г. Овчиннікова // *Загальна та патологічна фізіологія.* - 2010. - Т. 5, № 2. - С. 83 (V пленум наукового товариства патофізіологів України, присвячений 110-річчю з дня народження М. М. Горєва, м. Луганськ, 09-10 вересня 2010 р. : матеріали).

5. Десятський В. В. Вплив L-аргініну на прояви пеніцилін індукованого епілептичного синдрому у щурів / Є. В. Коболєв, В. В. Десятський // *Фізіол. журн.* - 2010. - Т. 56, № 2. - С. 37 (XVIII - й Міжнародний з'їзд Українського фізіологічного товариства, 20-22 травня 2010 р., Одеса : тези. доп.)

6. Десятський В. В. Особливості перебігу експериментальної резистивної форми епілептогенезу за умов використання пентоксифіліну та L-аргініну / В. В. Десятський, О. Г. Овчиннікова, Є. В. Коболєв // *Молодь медицині майбутнього : міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, 28-29 квітня 2011 р., Одеса : тези. доп.* – Одеса : ОНМедУ, 2011. – С. 48 – 49.

РОЗДІЛ 4

ЕФЕКТИ МОДУЛЯЦІЇ СИСТЕМИ ПРОДУКЦІЇ ЕНДОГЕННОГО АЗОТУ У ІНТАКТНИХ ЩУРІВ

Визначені ефекти модуляції стану системи продукції ендogenous оксиду азоту у кіндлінгових щурів можуть значною мірою залежати від вихідного стану перекисних механізмів. Зокрема, підвищення перекисного окиснення ліпідів пов'язане з відносно високим ризиком формування пероксинітритів за умови підвищення продукції оксиду азоту, що має своїм наслідком переважно проепілептичні впливи L-аргініну на моделі розвинених судом [211]. В той же час, потребує дослідження характер впливу L-NAME та L-аргініну за умови збереження відносно високої ефективності антиоксидантних механізмів мозку, коли „терапевтична широта” впливу L-аргініну не може бути обмежена високим рівнем прооксидантних змін. Важливий характер значення стану антиоксидантних механізмів мозку підкреслюється фактом антиоксидантного впливу L-аргініну за умови дослідження ролі оксиду азоту в формуванні ефектів антиепілептичних препаратів [98], а також інших препаратів – аскорбінової кислоти [226], греліну [218] та піридоксину [217], які здатні нормалізувати продукцію вільних радикалів.

Тому завданням дійсної частини досліджень було вивчення особливостей ЕЕГ та особливостей розвитку протиепілептичних ефектів бактеріального ліпополісахариду (ЛПС) на тлі модуляції продукції ендogenous оксиду азоту.

4.1. Вплив L-NAME та L-аргініну на ЕЕГ показники у інтактних щурів

Дослідження особливостей біоелектрогенезу структур мозку дозволяє визначитися з можливими механізмами здійснення впливу препаратів на діяльність окремих нейрональних систем, які є відповідальними за процеси синхронізації та десинхронізації біоелектричної активності. Тому завданням дійсної частини досліджень було вивчення особливостей електричної активності

кори головного мозку інтактних щурів за умов неспання та глибокого повільнохвильового сну. Ці стани циклу неспання – спання характеризуються також різним функціональним рівнем утворень антиепілептичної системи мозку, що дозволяє проаналізувати отримані результати відносно можливого механізму реалізації досліджуваного фактора на прояви епілептичного синдрому [13, 263].

4.1.1. П е р і о д н е с п а н н я. В дослідженні було проведено вивчення показників фонові біоелектричної активності щурів в утвореннях нової та стародавньої (гіпокампу) кори головного мозку в стані неспання з 9.00 по 12.00 год, тобто в світлий час доби.

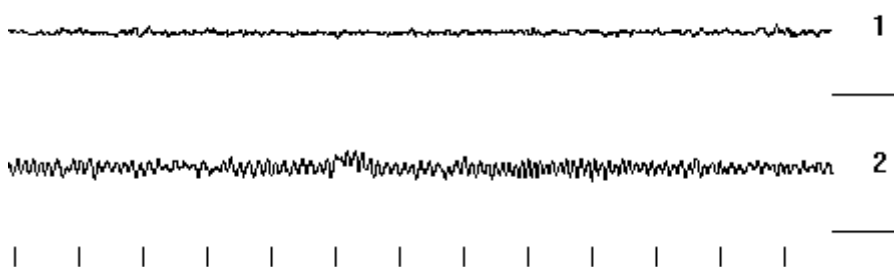


Рис. 4.1. ЕЕГ в стані неспання інтактного щура.

П о з н а ч к и : 1 - лобні відділи кори головного мозку, 2 - вентральний гіпокамп (ліва півкуля).

Калібровочний сигнал (відстань між горизонтальними рисками зправа) – 500 мкВ, відмітка часу (вертикальні риси внизу) - 1 секунда.

Електрична активність утворень кори головного мозку характеризувалась генеруванням швидких ритмів бета- та гама-діапазону амплітудою 20-50 мкВ, на тлі яких реєструвались поодинокі хвилі альфа- та тета-діапазонів (рис. 4.1, 1). В утвореннях гіпокампу переважала тета-активність амплітудою розрядів 40-80 мкВ з короткими періодами коливань бета- та гама-діапазонів (рис. 4.1, 2).

Загальна потужність біоелектричної активності у лобних відділах кори та вентральному гіпокампі (ліва півкуля) склали відповідно $123,7 \pm 9,7$ та $117,4 \pm 7,8$ мкВ² (рис. 4.2)

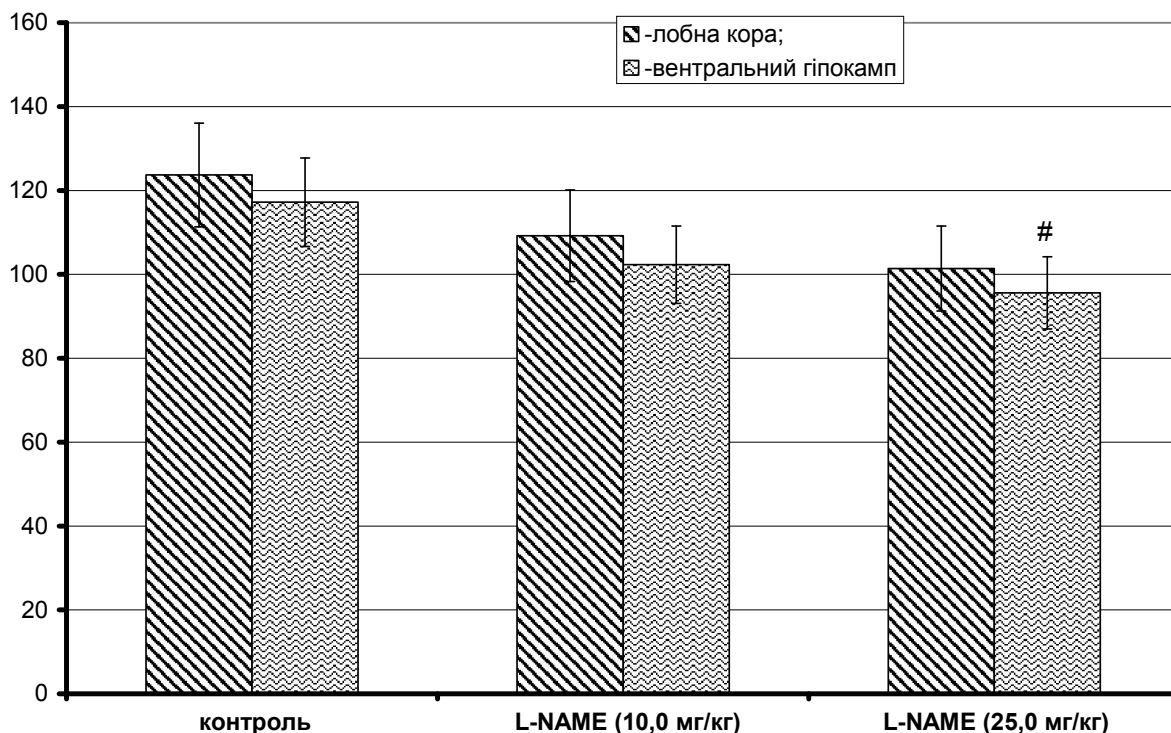


Рис. 4.2. Загальна потужність біоелектричної активності в досліджуваних утвореннях мозку (ліва півкуля) інтактних щурів за умов застосування L-NAME. П о з н а ч к и: по вісі ординат - потужність біоелектричної активності (μV^2), # - $P < 0,05$ у порівнянні до відповідного показника в групі контролю (ANOVA + Newmann-Keuls тест).

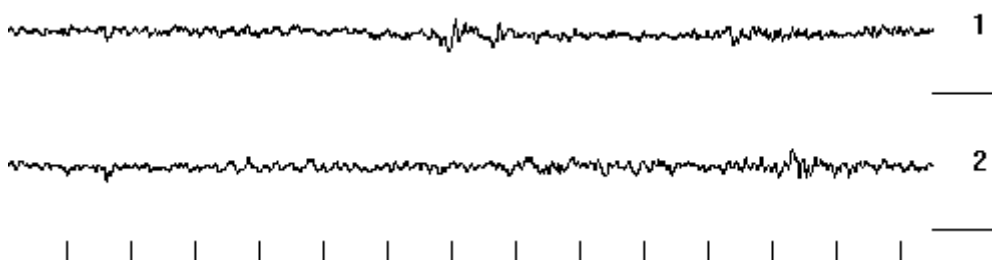


Рис. 4.3. ЕЕГ інтактного щура в стані неспання за умов застосування інгібітору синтази оксиду азоту.

П о з н а ч к и : 1 - лобні відділи кори головного мозку, 2 - вентральний гіпокамп (ліва півкуля).

Калібровочний сигнал (відстань між горизонтальними рисками справа) – 500 μV , відмітка часу (вертикальні риски внизу) - 1 с.

Застосування L-NAME (25,0 мг/кг, в/очер) супроводжувалось генеруванням швидкої активності бета- та гама-діапазонів з поодинокими та короткими груповими хвилями альфа-, тета-, а також дельта-діапазонів

амплітудою окремих хвиль 50 - 90 мкВ (рис. 4.3). Подібна активність реєструвалась як в новій корі головного мозку, так і в утвореннях гіпокампу.

На тлі введення L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) потужність електричної активності в лобних відділах кори головного мозку знижувалась на 11,7% ($P>0,05$), а в структурах вентрального гіпокампу - на 12,7% ($P>0,05$). Застосування препарату в більшій дозі (25,0 мг/кг, в/очер) супроводжувалось зменшенням загальної потужності біоелектрогенезу в корі лобних відділів та вентральному гіпокампі відповідно на 16,7 ($P>0,05$) та на 19,5% ($P>0,05$) (рис. 4.2).

Таким чином, наведені результати свідчать, що пригнічення активності синтази оксиду азоту застосуванням L-NAME супроводжується зниженням потужності загальної біоелектричної активності в структурах кори головного мозку інтактних щурів за умов неспання щурів. Вказаний ефект є більш виразним в утвореннях вентрального гіпокампу і за умов застосування високої дози препарату (25,0 мг/кг, в/очер) відмінності набувають рівня статистичної достовірності.

Дослідження спектральних характеристик ЕЕГ, яка має місце за умов застосування L-NAME в дозі 10,0 мг/кг, в/очер у щурів в світлий проміжок доби (від 9.00 до 12.00 год) під час фази неспання показало зниження потужності біоелектричної активності дельта-діапазону в структурах лобної кори головного мозку на 27,8% ($P<0,05$) у порівнянні до групи контролю (рис. 4.4). Також значно редукувалась потужність ЕЕГ активності тета-діапазону (на 15,3%) ($P<0,05$). В більшій дозі (25,0 мг/кг, в/очер) потужність дельта- та тета-піддіапазонів ЕЕГ редукувались відповідно на 22,3% та на 19,6% у порівнянні до контролю ($P<0,05$). Також спостерігалось зменшення потужності коливань альфа-діапазону – на 14,7% ($P<0,05$) (рис. 4.4).

Таким чином, L-NAME в дозах 10,0 та 25,0 мг/кг, в/очер) у інтактних тварин під час фази неспання викликає зменшення потужності коливань фоновій ЕЕГ кори головного мозку в дельта- та тета-діапазонах.

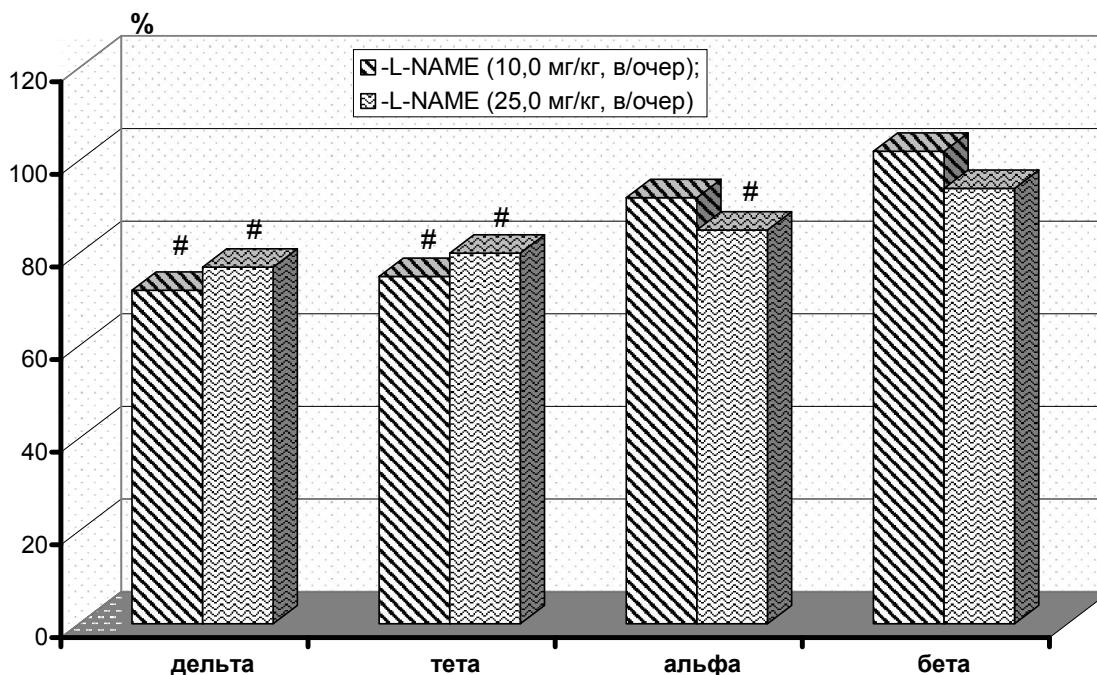


Рис. 4.4. Спектральна потужність ЕКоГ у щурів за умов застосування L-NAME. П о з н а ч к и: по вісі абсцис - частотні діапазони досліджуваних біоелектричних коливань. По вісі ординат – потужність в % від такої у відповідних частотних діапазонах групи контролю, які було прийнято за 100% # - $P < 0,05$ у порівнянні до групи контролю (ANOVA + Newmann-Keuls тест).

При цьому ефект пригнічення низькочастотного спектру коливань ЕЕГ не носив доза-залежного характеру.

В корі головного мозку інтактних щурів в стані неспання на тлі застосування L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) спостерігалось генерування коротких (до 1 с) ритмічних коливань дельта- та тета-діапазону амплітудою окремих потенціалів від 50 до 120 мкВ (рис. 4.5, 1). Крім того, реєструвались окремі хвилі альфа-діапазону. Вказані розряди спостерігались на тлі коротких періодів (2-5 с) активності бета- та гама-діапазонів. Подібна картина спостерігалась і в структурах вентрального гіпокампу, де коливання дельта діапазону були більш виразними і амплітуда окремих розрядів досягала 150 мкВ (Рис. 4.5, 2).

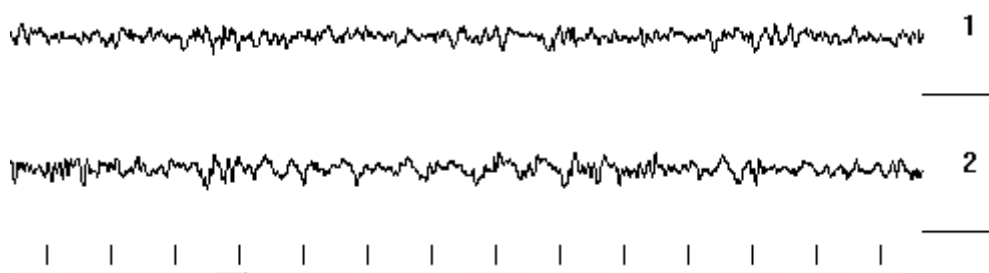


Рис. 4.5. Фонова ЕЕГ у інтактного щура за умов застосування L-аргініну в дозі 500,0 мг/кг, в/очер.

П о з н а ч к и : 1 - лобні відділи кори головного мозку, 2 - вентральний гіпокамп (ліва півкуля).

Калібровочний сигнал (відстань між горизонтальними рисками справа) – 500 мкВ, відмітка часу (вертикальні риси внизу) - 1 секунда.

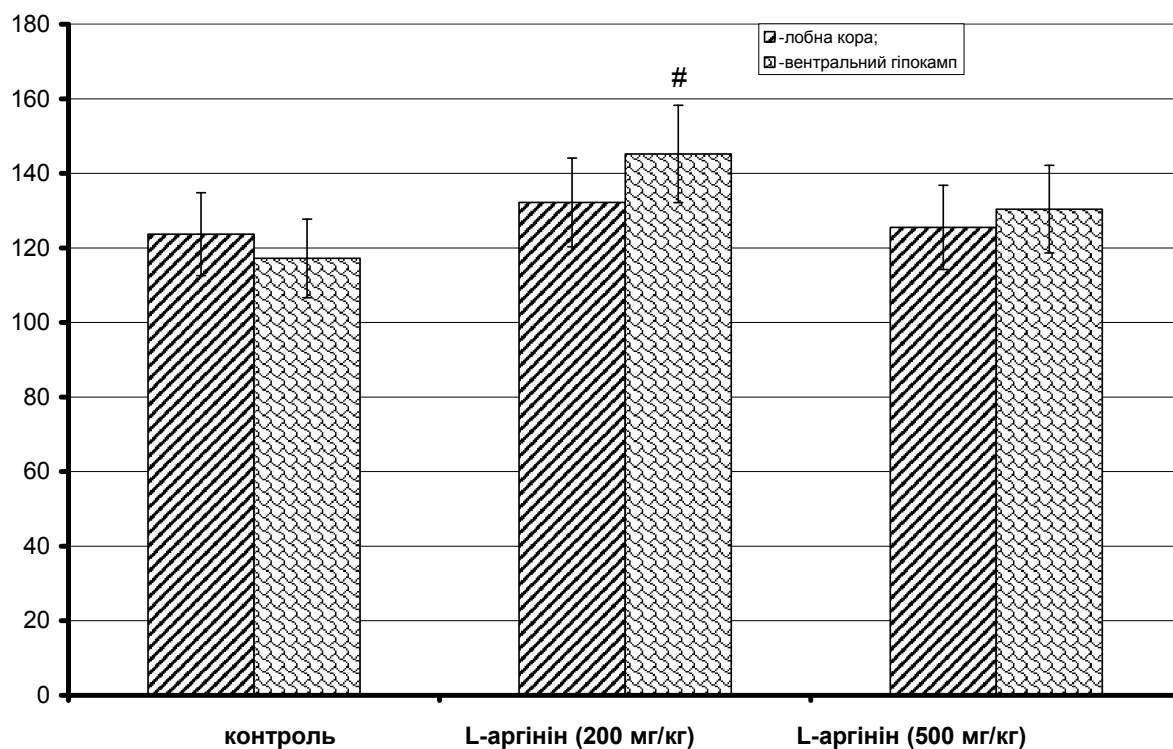


Рис. 4.6. Загальна потужність біоелектричної активності утворень мозку інтактних щурів за умов застосування L-аргініну

П о з н а ч к и: по вісі ординат - потужність біоелектричної активності (мкВ²), # - $P < 0,05$ у порівнянні до відповідного показника в групі контролю (ANOVA + Newmann-Keuls тест).

Загальна потужність біоелектричної активності за умов застосування L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг, в/очер зростала – в лобних відділах кори головного мозку та вентральному гіпокампі відповідно на 6,9% ($P > 0,05$) та на 23,9%

($P < 0,05$) (рис. 4.6). Більш висока доза препарату (500,0 мг/кг, в/очер) не викликала достовірних змін досліджуваного показника (рис. 4.6).

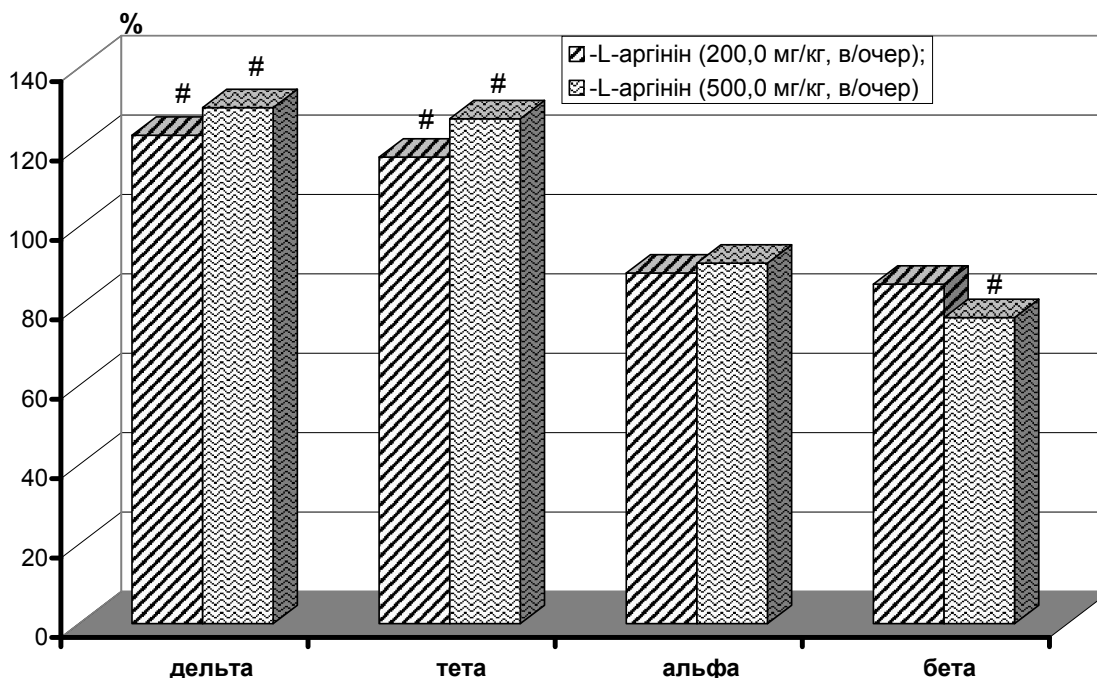


Рис. 4.7. Спектральна потужність ЕЕГ кори головного мозку у щурів за умов застосування L-аргініну

П о з н а ч к и: по вісі абсцис - частотні діапазони досліджуваних біоелектричних коливань. По вісі ординат – потужність в % від такої у відповідних частотних діапазонах групи контролю, які було прийнято за 100%
- $P < 0,05$ у порівнянні до групи контролю (ANOVA + Newmann-Keuls тест).

Застосування L-аргініну (200,0 та 500,0 мг/кг, в/очер), яке здійснювали в період неспання інтактних щурів, супроводжувалось збільшенням загальної потужності біоелектрогенезу дельта-діапазону, яке в утвореннях лобної кори відповідно зростало на 23,2 та 30,5% ($P < 0,05$) (рис. 4.7). Також достовірно у порівнянні до групи контролю збільшувалась потужність тета-діапазону біоелектричної активності – на 18,9% та 27,2% ($P < 0,05$). Також за цих умов спостерігалась тенденція до зменшення потужності коливань альфа-діапазону, яка зменшувалась під впливом L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг на 11,7% а в дозі 500,0 мг/кг – на 9,2% ($P > 0,05$). Потужність біоелектричних коливань бета-діапазону зменшувалась за умов застосування L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг на

14,5% ($P > 0,05$), в той час як під впливом препарату в дозі 500,0 мг/кг – на 22,9% ($P < 0,05$) (рис. 4.7).

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що застосування L-аргініну та стимуляція продукції оксиду азоту сприяє підвищенню потужності сумарної біоелектричної активності структур мозку інтактних щурів, що проявляється найбільш виразним чином в утвореннях вентрального гіпокампу за умов застосування дози препарату 500,0 мг/кг, в/очер. В структурах лобної кори мозку під впливом L-аргініну відбувається зміна спектральних характеристик потужності біоелектричної активності, що виявляється при застосуванні обох досліджуваних доз препарату. Так, відбувається доза-залежне збільшення потужності коливань дельта та тета-діапазонів на тлі зниження коливань бета-діапазону, причому останній ефект досягає рівня статистично достовірних відмінностей при застосуванні найбільш високої із досліджуваних доз препарату (500,0 мг/кг, в/очер).

4.1.2. П е р і о д г л и б о к о г о п о в і л ь н о х в и л ь о в о г о с н у .

Генерування хвиль дельта-діапазону пов'язане з розвитком гальмування гори головного мозку, яку можливо розглядати в якості активації місцевих гальмівних механізмів, що сприяють пригніченню епілептиформних проявів [31, 55]. Зважаючи на збільшення виразності коливань дельта-діапазону під час формування фази повільнохвильового сну, яка є особливо виразною у щурів, а також на визначену здатність L-NAME пригнічувати потужність коливань дельта-діапазону, в окремій серії спостережень визначали виразність ЕЕГ проявів повільнохвильового сну за умов застосування L-NAME та L-аргініну.

У щурів групи контролю (інтактні тварини) в період повільнохвильового сну в структурах лобної кори та вентрального гіпокампу реєструвались регулярні високоамплітудні (150-320 мкВ) хвилі дельта-діапазону (рис. 4.8). Також спостерігались періоди (0,5 – 4,0 с) ритмічних коливань тета- та альфа-діапазонів з нерегулярними короткими (0,5-2,5 с) періодами бета- та гама-активності (рис. 4.8).

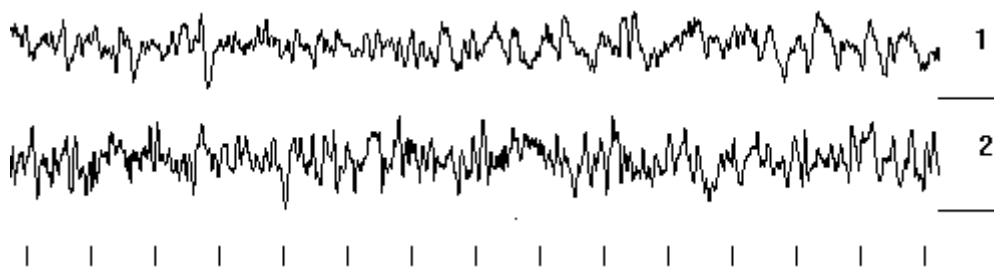


Рис. 4.8. Фаза повільнохвильового сну інтактного щура.

П о з н а ч к и : 1 - лобні відділи кори головного мозку, 2 - вентральний гіпокамп (ліва півкуля).

Калібровочний сигнал (відстань між горизонтальними рисками зправа) – 500 мкВ, відмітка часу (вертикальні риски внизу) - 1 секунда.

Загальна потужність біоелектричної активності в лобній корі та гіпокампі складала відповідно $(127,6 \pm 12,3)$ та $(164,6 \pm 14,7)$ мкВ². Причому, спектральна потужність коливань дельта-діапазону в лобній корі та вентральному гіпокампі складала відповідно 59,0 та 55,5% (табл. 4.1).

Таблиця 4.1.

ЕЕГ характеристики приведеної спектральної потужності інтактних щурів в фазу глибокого повільнохвильового сну ($M \pm s.e.m.$)

	Діапазони ритмів ЕЕГ (мкВ ²)			
	Дельта	Тета	Альфа	Бета та гама
Лобна кора	$75,3 \pm 8,2$	$19,2 \pm 2,7$	$18,3 \pm 1,5$	$14,8 \pm 1,9$
Вентральний гіпокамп	$91,4 \pm 10,5$	$28,7 \pm 3,8$	$20,3 \pm 2,5$	$24,2 \pm 2,7$

В фазу повільнохвильового сну, на тлі застосування L-NAME (25,0 мг/кг, в/очер) в ЕЕГ інтактних щурів реєструвались періоди нерегулярних та поодинокі хвилі дельта-діапазону амплітудою 100-200 мкВ (рис. 4.9). Також спостерігались періоди тета-активності (1,0-5,0 с), окремі хвилі та їх групи (0,5-1,5 с) альфа діапазону з періодами відносно високочастотної бета- та гама-активності (1,5-5,5 с) (рис. 4.9).

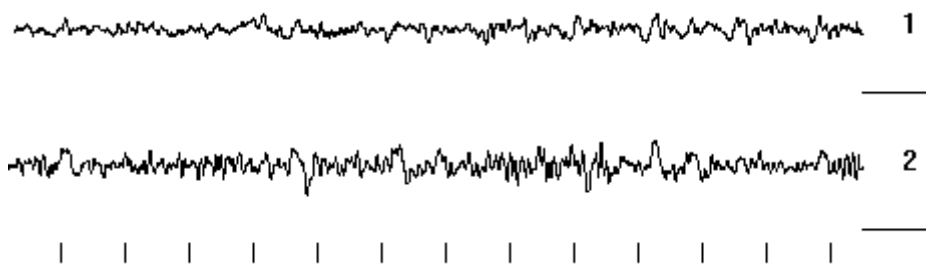


Рис. 4.9. Стадія глибокого повільнохвильового сну на тлі застосування інгібітору синтази оксиду азоту (редукція дельта активності)

П о з н а ч к и : 1 - лобні відділи кори головного мозку, 2 - вентральний гіпокамп (ліва півкуля).

Калібровочний сигнал (відстань між горизонтальними рисками зправа) – 500 мкВ, відмітка часу (вертикальні риси внизу) - 1 секунда.

Загальна потужність EEG активності в лобній корі та гіпокампі склала відповідно $89,9 \pm 7,8$ та $112,4 \pm 10,6$ мкВ², що було менше, ніж в групі контролю відповідно на 29,5% та на 31,7% ($P < 0,05$). Дослідження потужності ритмів окремих частотних діапазонів засвідчило, що відповідний показник дельта-активності складав в лобній корі та вентральному гіпокампі відповідно 50,3% та 49,7% від загальної потужності біоелектричної активності відповідних структур (табл. 4.2).

Таблиця 4.2.

EEG характеристики приведеної спектральної потужності інтактних щурів в фазу глибокого повільнохвильового сну за умов застосування L-NAME (25,0 мг/кг, в/очер) ($M \pm s.e.m.$)

	Діапазони ритмів EEG (мкВ ²)			
	Дельта	Тета	Альфа	Бета та гама
Лобна кора	$45,3 \pm 4,6$	$14,2 \pm 3,0$	$13,7 \pm 1,3$	$16,8 \pm 1,8$
Вентральний гіпокамп	$55,9 \pm 6,7$	$22,1 \pm 2,6$	$14,7 \pm 1,6$	$19,7 \pm 1,5$

Слід підкреслити, що потужність коливань дельта-частотного діапазону в лобній корі та у вентральному гіпокампі під впливом L-NAME знижувалась порівняно з відповідними показниками в групі контролю на 40,0% та на 38,8% ($P < 0,05$). В той же час, редукція потужності коливань тета-діапазону склала відповідно 26,0 та 23,0% ($P > 0,05$). Зниження потужності коливань альфа

діапазону склало у порівнянні до інтактних тварин 25,3 та 27,6% ($P>0,05$). Потужність коливань бета- та гама-діапазонів в лобній корі збільшувалась на 13,5%, а в вентральному гіпокампі – редукувалась на 18,6% ($P>0,05$).

В фазу повільнохвильового сну щурів, яким застосовували L-аргінін (500,0 мг/кг, в/очер) в структурах лобної кори та вентрального гіпокампу реєструвались високоамплітудні (270-450 мкВ) коливання дельта-діапазону з окремими хвилями тета- та альфа-активності (рис. 4.10).

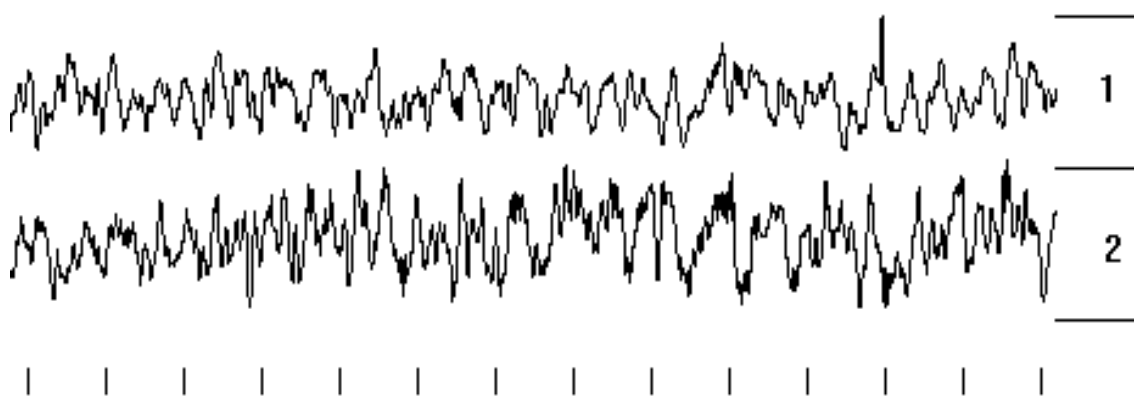


Рис. 4.10. Фаза повільнохвильового глибокого сну у інтактного щура із застосуванням донатору оксиду азоту

П о з н а ч к и : 1 - лобні відділи кори головного мозку, 2 - вентральний гіпокамп (ліва півкуля).

Калібровочний сигнал (відстань між горизонтальними рисками зправа) – 500 мкВ, відмітка часу (вертикальні риски внизу) - 1 секунда.

Загальна потужність біоелектричної активності в лобній корі та вентральному гіпокампі склала відповідно $(155,3 \pm 15,8)$ та $(172,5 \pm 18,4)$ мкВ², що перевищувало відповідні показники у інтактних щурів на 21,7% та на 4,8% ($P>0,05$).

Дослідження спектральної потужності біоелектричної активності засвідчило, що потужність коливань дельта-діапазону в лобній корі та вентральному гіпокампі склала відповідно 53,8 та 55,4% (табл. 4.3).

Таблиця 4.3.

ЕЕГ характеристики приведеної спектральної потужності інтактних щурів в фазу глибокого повільнохвильового сну за умов застосування L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) ($M \pm s.e.m.$)

	Діапазони ритмів ЕЕГ (μV^2)			
	Дельта	Тета	Альфа	Бета та гама
Лобна кора	$83,5 \pm 8,2$	$27,8 \pm 3,2$	$24,3 \pm 2,9$	$19,7 \pm 2,2$
Вентральний гіпокамп	$95,6 \pm 11,2$	$35,6 \pm 4,4$	$29,6 \pm 2,1$	$20,5 \pm 2,8$

Причому, потужність коливань дельта-діапазону перевищувала відповідні показники, які було зареєстровано у щурів групи контролю відповідно на 10,9% та на 1,1% ($P > 0,05$). Потужність тета-коливань в лобній корі та вентральному гіпокампі перевищувала показники групи контролю відповідно на 44,8% та на 24,0%, що, однак, не перевищувало відповідні показники в групі контролю ($P > 0,05$). Потужність тета-активності була вищою на 32,8% в лобній корі та на 2,5% у вентральному гіпокампі ($P > 0,05$), а активність бета- та гама-діапазонів – вищою в лобній корі на 33,1 та на 15,3% нижчою у вентральному гіпокампі ($P > 0,05$).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що пригнічення продукції ендогенного оксиду азоту супроводжується зменшенням загальної потужності біоелектрогенезу в корі головного мозку інтактних щурів та зміною його спектральних характеристик в період повільнохвильової фази сну. Так, під впливом L-NAME (25,0 мг/кг, в/очер) спостерігається зменшення потужності коливань дельта-діапазону в обох досліджуваних структурах у порівнянні до інтактних щурів. Під впливом введення L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) реєструвалось тенденція до збільшення потужності загального біоелектрогенезу в лобній корі та в меншій мірі - у вентральному гіпокампі. Під впливом препарату найбільш виразною була тенденція до підвищення потужності коливань тета-діапазону в структурах лобної кори головного мозку.

4.2. Роль оксиду азоту в реалізації протиепілептичних ефектів бактеріального ліпополісахариду

Встановлено, що застосування бактеріального ліпополісахариду (ЛПС) супроводжується модуляцією збудливості головного мозку, яка залежить від дози препарату, часу з моменту застосування, наявності та виразності гіпертермічного ефекту [51, 216]. Показано, що в механізмах дії ЛПС важливу роль відіграють процеси синтезу та вивільнення оксиду азоту [192]. Ці ефекти в основному стосуються раннього періоду дії ЛПС, для якого характерним є посилення епілептичної активності. Однак, залишаються недослідженими питання ролі системи оксиду азоту в механізмах реалізації протиепілептичного впливу ЛПС, який спостерігається на пізній фазі (через 12-14 год) його впливу на мозок.

Тому завдання дійсної частини дослідження було вивчення особливостей виникнення протиепілептичного впливу ЛПС за умов модуляції ендогенної продукції оксиду азоту шляхом застосування L-аргініну та L-NAME на моделі вогнищевої форми епілептичного синдрому.

4.2.1. Ефекти ЛПС, L-NAME та L-аргініну на пеніцилін-індуковані вогнища епілептичної активності. Дослідження електричної активності в зоні застосування розчину натрієвої солі бензилпеніциліну (10.000 МО/мл) довело, що в задіяних дозах викликалися спайкові інтеріктальні потенціали амплітудою від 0,5 до 2,5 мВ та частотою генерування від 10-15 до 40-50 в хв (табл. 4.4). Максимальна за частотою та амплітудою активність спостерігалась в вогнищах, утворених за допомогою каїнової кислоти в період з 20-ї по 45-у хв з моменту застосування епілептогену (табл. 4.4).

Під впливом ЛПС (12 г з моменту застосування) створення вогнищ епілептогенезу шляхом внутрішньогіпокампального введення розчину бензилпеніциліну натрію супроводжувалося виникненням перших спайкових розрядів, латентний період появи яких був на 23,3% більшим від такого в групі

контролю ($P < 0,05$). На висоті розвитку епілептичної активності її потужність була меншою ніж в контролі на 34,0% ($P < 0,05$), в той час як загальна тривалість існування епілептиформної активності перевищувала відповідний показник в групі контролю на 33,6% ($P < 0,05$). Застосування L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) викликало подовження латентності перших судомних розрядів – на 16,4% ($P > 0,05$), а також зменшення потужності епілептиформної активності – на 25,3% ($P < 0,05$) та подовження загальної тривалості існування епілептиформної активності (на 22,7%, $P > 0,05$) у порівнянні до відповідного показника в групі контролю (табл. 4.4).

Таблиця 4.4.

Показники епілептогенного збудження, викликаного введенням епілептогену в утворення вентрального гіпокампу ($M \pm m$)

	Параметри епілептогенезу		
	Латентний період появи розрядів (с)	Максимальна потужність епілептогенезу (у.о.)	Тривалість існування вогнищ (хв)
Група контролю. Натрієва сіль бензилпеніциліну (10.000 МО/мл) (n = 7)	142,5 ± 11,2	65,2 ± 7,4	157,6 ± 18,9
ЛПС (0,1 мг/кг) (n = 10)	175,7 ± 8,6#	43,0 ± 5,4#	210,6 ± 10,5#
L-аргінін (300 мг/кг) (n=10)	165,9 ± 9,1	48,7 ± 4,2#	193,4 ± 11,2
L-аргінін + ЛПС (n=8)	227,5 ± 14,8#*@	21,6 ± 1,9#@	314,7 ± 23,2#*@

Примітки:

1. #- $P < 0,05$ у порівнянні до групи контролю;
2. * - $P < 0,05$ – у порівнянні до групи із застосуванням ЛПС;
3. @ - $P < 0,05$ у порівнянні до групи тварин із застосуванням L-аргініну (ANOVA + Newman-Keuls тест).

На тлі комбінованого застосування ЛПС та L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) латентний період виникнення перших спайкових потенціалів збільшувався у порівнянні до контролю в 1,6 рази ($P < 0,05$). Крім того, цей показник перевищував такий, який було зареєстровано в групах з одним лише

застосуванням ЛПС або L-аргініну відповідно на 29,5 та на 37,1% ($P < 0,05$) (табл. 4.4). Також спостерігалось зменшення потужності епілептичної активності як у порівнянні до контролю (в 3,0 рази, $P < 0,05$), так і в порівнянні до роздільного застосування ЛПС та L-аргініну – в 2,0 ($P > 0,05$) та в 2,3 ($P < 0,05$) рази. Тривалість існування вогнищ епілептогенезу за умови сумісного введення ЛПС та L-аргініну збільшувалась у порівнянні до контролю в 2,0 рази ($P < 0,05$). Одночасно цей показник перевищував показники в групах с роздільним використанням ЛПС та L-аргініну відповідно в 1,5 та в 1,6 рази ($P < 0,05$) (табл. 4.4).

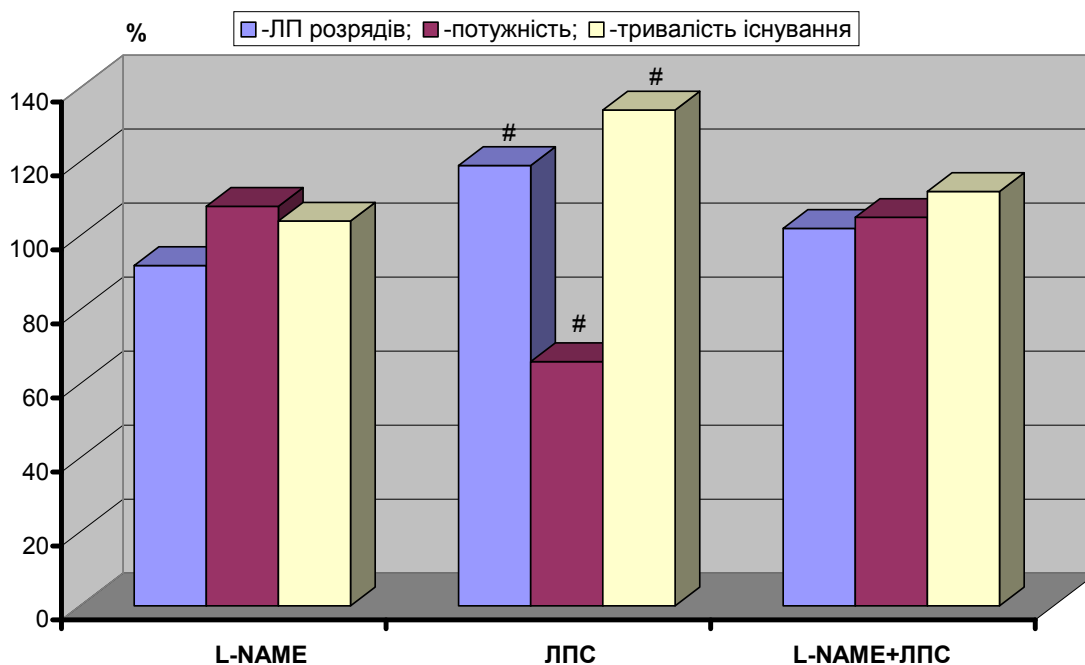


Рис. 4.11. Вплив пригнічення активності синтази оксиду азоту на виразність протиепілептичної дії ЛПС.

П о з н а ч к и: по вісі ординат - досліджувані показники у % по відношенню до таких в групі контролю (100%). По вісі абсцис - препарати, які було застосовано (L-NAME- 30,0 мг/кг в/очер; ЛПС- 0,1 мг/кг, в/очер).

- $P < 0,05$ у порівнянні до показника в групі контролю.

Застосування розчину L-NAME (30,0 мг/кг, в/очер) супроводжувалось незначним (на 8,3%) скороченням латентного періоду появи судомних потенціалів ($P > 0,05$) (рис. 4.11). При цьому потужність електрографічних

проявів також підвищувалась на 7,8%, а загальна тривалість існування епілептогенних вогнищ збільшувалась на 4,5% ($P > 0,05$). За умови застосування ЛПС (0,1 мг/кг, в/очер) спостерігались ефекти пригнічення епілептиформної пеніцилін-викликаної активності у вигляді збільшення латентності перших спайкових потенціалів - в 1,2 рази, зменшення потужності епілептогенного збудження - в 1,6 рази та подовження тривалості існування епілептиформної активності - в 1,3 рази ($P < 0,05$). Аналогічне застосування ЛПС на тлі попереднього введення L-NAME викликало збільшення латентного періоду перших судомних розрядів на 2,0% у порівнянні до відповідного показника в групі контролю ($P > 0,05$). За цих умов мало місце незначне (на 5,2%) збільшення потужності епілептогенного збудження та збільшення тривалості існування епілептичних вогнищ (на 11,9%) ($P > 0,05$) (рис. 4.11).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що здійснення протиепілептичного впливу ЛПС, який спостерігається через 12 г з моменту застосування препарату, може бути опосередкованим продукцією оксиду азоту.

4.2.2. Е ф е к т и Л П С, L – N A M E та L – а р г і н і н у на в о г н и щ а е п і л е п т и ч н о ї а к т и в н о с т і, і н д у к о в а н і б і к у к у л і н о м, к а ї н о в о ю к и с л о т о ю та с т р и х н і н о м. Встановлене значення продукції оксиду азоту в реалізації протиепілептичних впливів ЛПС на моделі бензилпеніцилін-індукованих вогнищ епілептогенезу потребувало визначення універсального характеру цього ефекту. Тому завданням окремої частини дослідження було вивчення динаміки вогнищ ЕпА, які було викликано в структурах вентрального гіпокампу застосуванням епілептогенів з різним механізмом нейротропної дії - бікукуліну, який порушує ГАМК-ергічне гальмування, агоніста рецепторів глутаматних рецепторів каїнової кислоти та азотнокислого стрихніну, який порушує гліцин-обумовлене гальмування нейронів.

За умови застосування L-NAME (50,0 мг/кг, в/очер) на тлі попереднього (за 12 г) введення ЛПС латентний період виникнення бікукулін-індукованих

судом зменшувався у порівнянні до контролю (внутрішньогіпокампульне застосування розчину бікукуліну та в/очер введення ЛПС) на 14,7% ($P > 0,05$) (рис. 4.12, А). Також спостерігалось незначне (на 9,4%, $P > 0,05$) підвищення максимальної потужності епілептичних вогнищ, а також збільшення тривалості їх існування - на 29,1% ($P < 0,05$).

Латентний період виникнення вогнищ епілептогенезу, які було індуковано застосуванням розчину каїнової кислоти на тлі попереднього застосування ЛПС та L-NAME (50,0 мг/кг, в/очер) зменшувався у порівнянні до відповідного контролю більше, ніж удвічі у порівнянні до щурів, яким каїнову кислоту застосовували після попереднього (за 12 г) введення ЛПС (на 54,6%, $P < 0,01$). Причому, максимальна потужність генерування епілептогенного збудження збільшувалась в 2,3 рази у порівнянні до контролю ($P < 0,001$) - у чотирьох із восьми щурів на висоті епілептогенного збудження реєструвались іктальні генералізовані клонімо-тонічні судоми. Також збільшувалась тривалість існування епілептогенних вогнищ - в 1,84 рази ($P < 0,01$). Формування епілептогенних вогнищ за допомогою внутрішньогіпокампульного застосування розчину стрихніну на тлі попереднього застосування L-NAME та ЛПС не супроводжувалось змінами досліджуваних показників вогнищового епілептогенезу у порівнянні до контролю ($P > 0,05$) (рис. 4.12, А).

Аналогічне відтворення епілептичних вогнищ за допомогою внутрішньогіпокампульного введення розчину бікукуліну, яке проводили за умов в/очер застосування L-аргініну, а також ЛПС (за 12 г) супроводжувалось виникненням спайкових розрядів, латентний період яких перевищував відповідний показник в контролі на 36,5% ($P < 0,01$) (рис. 4.12, Б).

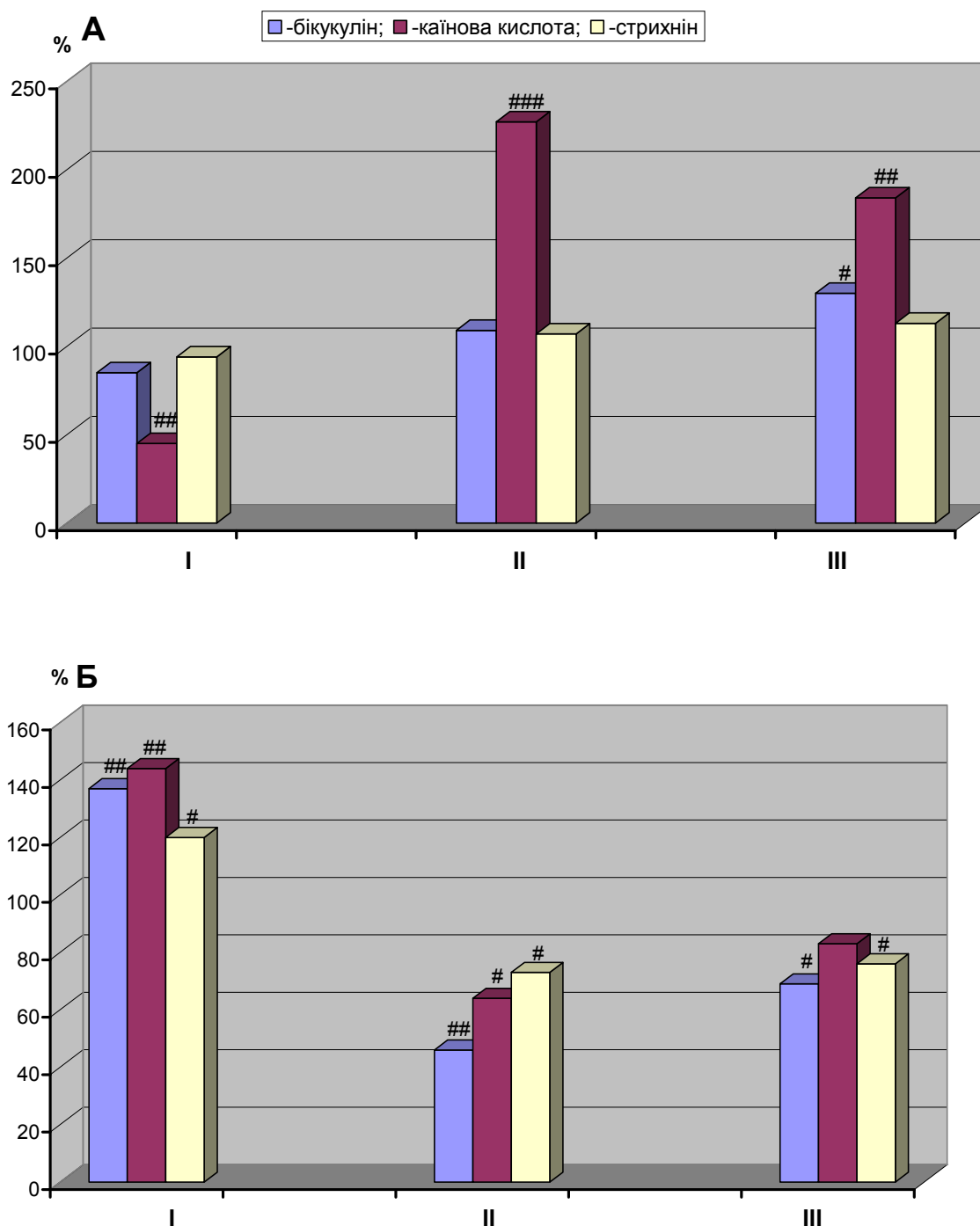


Рис. 4.12. Вплив ЛПС на чутливість вентрального гіпокампу щурів до впливу епілептогенів за умов застосування L-NAME (50,0 мг/кг, в/очер) (А) та L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) (Б).

Позначки: по вісі абсцис – I - латентний період виникнення судомних потенціалів; II - потужність епілептогенного збудження на висоті його розвитку; III - тривалість існування епілептичного вогнища.

1. # - $P < 0,05$;

2. ## - $P < 0,01$ у порівнянні до контролю (метод ANOVA + Newman-Keuls тест).

За цих умов зменшувався показник максимальної потужності вогнищевого пеніцилін - викликаного епілептогенезу – на 35,7% у порівнянні до контролю ($P < 0,01$), а також скорочувалась (на 31,3%) тривалість існування епілептичних вогнищ ($P < 0,05$).

Латентний період виникнення каїнат-індукованих вогнищ на тлі застосування ЛПС та L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) також подовжувався на 44,2% у порівнянні до контролю ($P < 0,01$) (рис. 4.12, Б). Потужність епілептогенного збудження на його максимумі склала 64,3% від такої в групі контролю ($P < 0,05$), а тривалість існування була на 16,7% меншою від контрольних значень ($P > 0,05$). Стрихнін-індуковані вогнища за умов застосування ЛПС та L-аргініну виникали з латентним періодом, який був на 20,3% більшим від такого в групі контролю ($P < 0,05$), а максимальна потужність вогнищ та їх тривалість існування були відповідно меншими, ніж в групі контролю на 26,8% та 24,4% ($P < 0,05$) (рис. 4.12, Б).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що викликане ЛПС пригнічення вогнищевих форм епілептогенезу, яке спостерігається у віддаленому періоді його дії, посилюється під впливом L-аргініну, який є попередником оксиду азоту, та послаблюється пригніченням синтази оксиду азоту, яке викликано L-NAME. Залежний від продукції оксиду азоту протиепілептичний вплив ЛПС спостерігається на вогнищевих моделях епілептогенезу, які викликані в утвореннях вентрального гіпокампу за допомогою епілептогенів з різним механізмом епілептогенної дії.

Застосування модуляторів синтезу оксиду азоту у інтактних щурів супроводжувалось змінами біоелектрогенезу утворень головного мозку. Виразність відповідних ефектів було досліджено в фазі неспання та повільнохвильового сну.

Так, введення L-NAME (25,0 мг/кг, в/очер) викликало зниження потужності загальної біоелектричної активності в структурах кори головного мозку інтактних щурів в фазі неспання (на 19,5%). Найбільш виразною була редукція потужності електрогенезу дельта-діапазону, яка зменшувалась в лобній

корі та вентральному гіпокампі відповідно на 22,3% та на 19,6% у порівнянні до інтактних щурів групи контролю ($P < 0,05$). Загальна потужність біоелектричної активності під впливом L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер) зростала – в лобних відділах кори головного мозку та вентральному гіпокампі відповідно на 6,9% ($P > 0,05$) та на 23,9% ($P < 0,05$). Найбільш виразним приріст потужності біоелектричних коливань відбувався в дельта-діапазоні та тета-діапазоні – відповідно на 23,2 та на 18,9% на тлі зниження потужності коливань бета-діапазону – на 22,9% в структурах лобної кори при застосуванні дози L-аргініну 500,0 мг/кг, в/очер.

В період повільнохвильового сну L-NAME викликав зниження загальної потужності біоелектричної активності лобної кори та вентрального гіпокампу на 29,5% та на 31,7% ($P < 0,05$). Причому, достовірно зменшувалась потужність активності дельта-діапазону - 40,0% та на 38,8% ($P < 0,05$). На тлі застосування L-аргініну (500 мг/кг, в/очер) загальна потужність біоелектричної активності мала тенденцію до збільшення у порівнянні до інтактних щурів на 21,7% та на 4,8% - відповідно в лобній корі та вентральному гіпокампі. Причому в найбільшій мірі (на 44,0%) збільшення потужності відбувалось в тета-частотному діапазоні в структурах лобної кори.

Отримані результати свідчать про модулюючий вплив вивільнення ендогенного оксиду азоту у відношенні до генерування певних біоелектричних ритмів. Зважаючи на відносно значну роль дельта-активності, а також реакції активації ЕЕГ в механізмах припинення епілептичної активності, отримані результати можуть свідчити про реалізацію модулюючого впливу на ЕпА модуляторів синтезу оксиду азоту опосередковано через структури мозку, які залучені до генерування відповідних біоелектричних феноменів.

В досліджах на інтактних щурах встановлено, що протисудомний ефект, який викликає бактеріальний ліпополісахарид (ЛПС) (0,1 мг/кг, в/очер, через 12-14 г з моменту його застосування), усувається під впливом введення L-NAME в дозі 50,0 мг/кг, в/очер. В той же час застосування L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) посилювало протисудомну дію ЛПС, що виявлялось пригніченням частоти та

амплітуди спайкових потенціалів, скороченням загальної тривалості існування вогнищ. Вказані ефекти спостерігались у відношенні до вогнищ епілептогенезу, які було викликано за допомогою введення в структури вентрального гіпокампу різних епілептогенів (бензилпеніцилін, каїнова кислота, бікукулін та стрихнін).

Матеріали розділу було опубліковано та докладено:

1. Десятський В. В. Роль оксиду азоту в механізмах здійснення гальмівного впливу бактеріального ліпополісахариду на вогнища епілептогенного збудження / В. В. Десятський // Досягнення біології та медицини. – 2010. – № 2 (16). – С. 10 – 14.

2. Десятський В. В. Вплив циназепаму та 3-гідрокси-БД на показники циклу сну-не сну у інтактних і резерпінізованих щурів / С. А. Андронаті, Л. С. Годлевський, Т. Л. Карасьова, В. В. Десятський, О. В. Онуфрієнко // Одеський медичний журнал. – 2010. – № 5(121). – С. 4 – 7.

3. Desyatsky V. V. Functional Relationships between Brain and Cerebellar Cortex during Absence and Clonic Seizures. / V. N. Zaporozhan, L. S. Godlevsky, G. N. Vostrov, E. V. Kobolev, V. V. Desyatsky, I. A. Kolker Gilles van Luijtelaa, Coenen A.R.M.L. // Functional Neurology, Rehabilitation, and Ergonomics. – 2011. – Vol. 1, Issue 1. – P. 39 – 52. – USA.

4. Desyatsky V. V. Modulation of the state of the antiepileptic cerebral system by the influence of a ketogenic diet under conditions of the resistant epileptic syndrome / L. S. Godlevskii, V. A. Polyasny, O. G. Ovchinnikova, V. V. Desyatsky, S. L. Tsevelev, O. V. Petelkaki // Neurophysiology. 2012. – Issue 6. – Volume 43. – P. 503 – 506.

5. Десятський В. В. Особливості судом, що викликані епілептогенами з різним механізмом нейротропної дії за умов застосування гістидину / О. Г. Овчиннікова, В. В. Десятський, Є. В. Коболєв // VIII читання ім. В. В. Підвисоцького 28 – 29 травня 2009, Одеса : зб. наукових праць. – Одеса, 2009. – С. 173 – 174.

6. Desyatsky V. V. Neurophysiological principles of brain action as a basis for the analysis of EEG signal / E. V. Kobolev, O. G. Ovchinnikova, V. V. Desyatsky, G.

N. Vostrov // *Medi Sur.* - 2010. – Vol. 8 (1) – P. 77. Suplemento “Resumenes Congreso Nacional de Neurologia” Habana, Cuba 16-18 March, 2010 : abstracts.

7. Десятський В. В. Особливості судом, що викликані епілептогенами з різним механізмом нейротропної дії за умов застосування інгібітору синтази оксиду азоту / В. В. Десятський // Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині : наук. конф., вересень, 2010 р., Одеса : тези. – Одеса, 2010. С. 26 – 27.

8. Десятський В.В. Особливості циклу неспання-спання за умов хронічної епілептизації мозку та застосування L-аргініну / В. В. Десятський, Л. С. Годлевський // XIII міжнародний конгрес, присвячений 100-річчю СФУЛТ, 30 вересня - 3 жовтня 2010, Львів : мат. конгресу. – Львів, 2010 – С. 665–666.

9. Десятський В. В. Особливості перебігу генералізованої епілептичної активності на тлі застосування L-аргініну та пентоксифілілну / В. В. Десятський // X читання ім. В. В. Підвисоцького, 26 – 27 травня 2011, Одеса : зб. наукових праць. – Одеса, 2011. – С. 110 – 112.

10. Десятський В. В. Посилення стану антиепілептичної системи мозку за умов розвитку резистентної до лікування форми епілептичного синдрому під впливом кетогенної дієти / Л. С. Годлевський, В. О. Полясний, О. Г. Овчіннікова, В. В. Десятський, С. Л. Цевелєв, О. В. Петелкакі // V Конгрес Українського товариства нейронаук, 6 – 10 червня 2011, Київ : мат. доп. – К., 2011. – С. 79 – 80.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Таким чином, отримані результати свідчать про подвійний характер впливу як L-аргініну - попередника оксиду азоту, так і L-NAME – неспецифічного інгібітору синтази оксиду азоту на прояви хронічного епілептичного синдрому, модельованого у щурів методом фармакологічного кіндлінгу. Зокрема, встановлено, що рання фаза кіндлінгового синдрому, яка за своїм патогенетичними механізмами віддзеркалює особливості виникнення та розвитку абсансної форми епілепсії, є чутливою до протиепілептичного впливу L-аргініну.

Причому, ефективним було використання відносно незначні дози препарату (200,0 мг/кг, в/очер), що може свідчити про незначну за своєю виразністю стимулюючу дію препарату щодо продукції оксиду азоту. Так, середньоефективна доза L-аргініну (ED_{50}), яка пригнічувала прояви абсансної епілепсії у половини експериментальних тварин склала $(141,4 \pm 26,0)$ мг/кг, що було значно менше, ніж в інших дослідженнях впливу L-аргініну на різних моделях ЕпА [115, 117, 129, 148, 182, 278].

Отриманий результат - антиепілептична ефективність підвищення продукції оксиду азоту у відношенні до абсансних проявів знаходиться у відповідності до результатів [154]. Автори встановили, що N^G -нітро-L-аргінін (NNA; інгібітор синтази оксиду азоту) в дозі 40 мг/кг суттєво зменшував протисудомну дію етосукциміду на моделі пентилентетразол-індукованих судом у мишей: ED_{50} препарату за цих умов збільшувалась з 108 до 158 мг/кг [154]. Застосування L-аргініну попереджало NNA (40 мг/кг) індуковану редукцію антиконвульсивної дії етосукциміду.

Таким чином, слід зазначити, що за умови відтворення абсансної форми епілептичного синдрому, яка характеризується збудженням та посиленням функціонального стану ГАМК-ергічних гальмівних механізмів нейронального

контролю [85], незначне посилення продукції оксиду азоту сприяє розвитку протиепілептичних гальмівних ефектів.

На тлі відтворення розвиненої форми епілептичного синдрому, який спостерігається в пізній фазі розвитку кіндлінгу, застосування L-аргініну, навпаки, викликає ефект посилення судомних проявів. Причому, проепілептогенні ефекти препарату спостерігались при застосуванні відносно високої його дози, а ED₅₀, яка провокувала судомні напади у половини експериментальних щурів, склала $350,5 \pm 18,7$ мг/кг.

Подібна протилежна за своїм характером дія препарату може пояснюватися протилежним станом ендогенних систем гальмівного контролю епілептогенного збудження, яке на стадії виникнення генералізованих судом характеризується практично повним колапсом [58, 85, 259]. Характерним для стадії розгорнутих кіндлінгових судом є посилення перекисного окиснення ліпідів, виснаження антиоксидантних механізмів мозку та крові щурів [6; 20; 21]. За таких умов посилення продукції оксиду азоту супроводжується формуванням пероксинітриту, тобто йдеться про посилення прооксидантних механізмів головного мозку, що має своїм наслідком посилення епілептичної активності [6].

Подібні, але протилежні до ефектів L-аргініну за змістом впливи спостерігали при застосуванні L-NAME на відповідних стадіях розвитку кіндлінгового синдрому. Так, на ранній стадії виникнення кіндлінг-синдрому, коли йшлося про відтворення абсансних проявів препарат індукував абсансні прояви, а також провокував і судомні генералізовані напади. Його середньоефективна доза склала $(13,7 \pm 3,3)$ мг/кг, в той час як в період виникнення генералізованих судомних реакцій (розвинений кіндлінг) L-NAME, навпаки спричинював ефект пригнічення судомних реакцій, його середньоефективна доза за цих умов склала $22,5 \pm 7,0$ мг/кг.

Подібні ефекти препарату можуть також свідчити про те, що відтворення кіндлінгу супроводжується відповідними фазовими коливаннями продукції ендогенного азоту, яка є посиленою в ранньому періоді відтворення синдрому і

її розвиток можна розглядати як наслідок індукції ендogenous антиепілептичних механізмів мозку. В той же час, на стадії розвиненого кіндлінгу вочевидь зберігається дещо посилена продукція ендogenous оксиду азоту, але на тлі загальної компрометації антиепілептичних механізмів мозку та посилення перекисного окиснення ліпідів подібний стан системи продукції оксиду азоту відіграє проепілептогенну роль.

Слід підкреслити, що проведені дослідження засвідчили, що відповідні зміни - виникнення та пригнічення проявів епілептичного синдрому спостерігались як у відношенні до поведінкових, так і електрографічних характеристик епілептиформних проявів. Останнє є свідченням того, що впливи препаратів на ЕпА мають центральне походження, тобто відбуваються на рівні контролю функціонального стану безпосередньо епілептизованих нейронів головного мозку.

Модель фармакологічного кіндлінгу дозволяє відтворювати міжнападкові поведінкові прояви, які мають стійкий характер, розвиваються за відсутності власне судомних реакцій у експериментальних тварин. Саме відсутність епілептиформних проявів в міжнападковому періоді дозволила дійти припущення, що в міжнападковому періоді має місце активація антиепілептичної системи мозку, надмірне збудження якої забезпечує порушення поведінки кіндлінгових щурів. Тому в дійсному дослідженні було вивчено особливості певних поведінкових порушень кіндлінгових щурів за умов модуляції стану продукції оксиду азоту.

Так, отримані в роботі результати засвідчили, що у щурів зі сформованим введеннями коразолу кіндлінгу спостерігалось зниження числа пасивно-адаптивних плавальних елементів до менш, ніж трьох, що мало місце у 22,2% кіндлінгових тварин. Під впливом L-аргініну в дозі 500,0 мг/кг, в/очер спостерігалось збільшення показника варіабельності плавання на 19,0%. В той же час на тлі застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) реєструвалось недостовірне зниження досліджуваного показника варіабельності плавальної поведінки щурів на 5,5%. При цьому обидва препарати в аналогічних дозах не

змінювали варіабельність плавання інтактних щурів. Викликане в результаті відтворення кіндлінгу збільшення порогу уникнення щурів із басейну зменшувалось під впливом L-аргініну (200,0 і 500,0 мг/кг, в/очер) відповідно на 65,3% і на 119,7% в той час як L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) збільшував поріг уникнення на 71,2%. Обидва препарати були ефективними у відношенні модуляції уникнення із басейну інтактних щурів - L-аргінін викликав зниження, а L-NAME- підвищення порогу уникнення відповідно на 22,4 та на 37,5%.

Слід зазначити, що на моделі фармакологічного кіндлінгу визначається зниження числа пасивно - адаптивних плавальних елементів, що пояснюється внутрішньостріарним підвищенням рівня ГАМК-ергічного контролю і збільшенням активності ацетилхолінергічних нейронів в інтеріктальному періоді [43]. В той же час, внутрішньостріарне застосування дофаміну супроводжувалось зростанням числа пасивно-адаптивних плавальних програм у кіндлінгових щурів, зниженням порогу уникнення тварин з басейну [43]. Можна вважати, що встановлена [224] взаємодія оксиду азоту і дофамінергічної системи, яка свідчить про підвищення реактивності дофамінергічних стріарних нейронів до кортико-стріарних збуджуючих впливів в результаті дії оксиду азоту забезпечує вказаний характер ефектів.

Отримані результати свідчать про те, що посилена під впливом кіндлінг-індукованих механізмів агресивна поведінка щурів може бути ефективно модульована за допомогою препаратів, які змінюють синтез та вивільнення оксиду азоту. Так, за цих умов під впливом L-аргініну (500,0 мг/кг в/очер) спостерігалось збільшення порогу розвитку бійок щурів (на 29,0%), який визначався в парах щурів на електродній підлозі. В той же час, застосування L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликав зниження порогу розвитку бійок на 23,3%. У інтактних тварин під впливом L-аргініну (500,0 мг/кг в/очер) зростання порогу агресивних реакцій склало 24,8%. Цей результат відповідає даним Demas G.E. et al., (1997) [112], які встановили збільшення агресивності у мишей на тлі застосування інгібітору нейрональної синтази оксиду азоту 7-нітроіндазолу.

Отриманий результат знаходиться у відповідності до даних [181], які свідчать про те, що втрата генів, які кодують нейрональну синтазу оксиду азоту супроводжується більш високою агресивністю мишей. Крім того, миші, які втратили відповідні гени мали більш високу чутливість по відношенню до больових подразників, що, відповідно до точки зору авторів, опосередковано сприяло також зниженню проявів агресивних форм поведінки тварин.

Слід підкреслити, що якщо наростання числа пасивно-адаптивних реакцій є наслідком активації дофамінергічної медіації в стріатумі, то агресивна поведінка, навпаки, має в своїй основі активацію дофамінергічної регуляції на рівні мезолімбічного відділу дофамінергічної системи мозку. Пояснити це протиріччя можливо на тій підставі, що хронічна форма епілептичного синдрому відрізняється тим, що в її патогенезу приймають участь механізми формування гіперчутливості та десенситизації різних рецепторних систем, що може суттєво позначитися на функціональних взаємовідносинах структур головного мозку [40]. Також не можна виключити участь і інших нейромедіаторних систем мозку в формуванні поведінкових синдромів у кіндлінгових тварин, які взаємодіють на рівні стріатуму як структури, що є відповідальною за генерування програм поведінки і у відношенні до яких оксид азоту може викликати моделюючу дію. Так, встановлено, що оксид азоту здатен викликати потенціювання ГАМК-ергічних механізмів головного мозку [195].

В механізмах постнападової депресії, можуть приймати участь опіатергічні механізми мозку [198]. Так, зокрема, формування електроподразнювального кіндлінгу за рахунок впливу електричним струмом на утворення вентрально-базальних відділів мигдалика щурів сприяє збільшенню опіат-обумовлених компонентів в структурі післянападової депресії по мірі формування кіндлінгу [97]. Подібна динаміка є характерною і для формування фармакологічного кіндлінгу [55].

Отримані в дійсному дослідженні результати свідчать про те, що застосування L-аргініну у кіндлінгових щурів посилює опіат-залежні прояви постсудомного депресивного синдрому. Зокрема, йдеться про посилення

аналгезії, яка визначалась в тесті заціплення хвоста корнцангом, посилення проявів екзофтальму та експлозивності, приведення передніх та відведення задніх кінцівок в тесті підняття щура за хвіст, а також підвищення тону хвоста. Вказані ефекти L-аргініну носили доза-залежний характер і можуть пояснюватися взаємодією оксиду азоту та ендогенної опіоїдної системи. Так, можлива участь оксиду азоту у розвитку ефектів морфіну показана в дослідженні Afify E.A. et al., (2001) (194). Так, автори встановили, що морфін-індукована каталепсія та гіпертермія у морфін-залежних щурів застосування N^G-нітро-L-аргініну (L-NA, 8 мг/кг, в/очер двічі на добу) потенціювало прояви морфін-індукованої каталепсії. Аналогічна доза інгібітору синтази оксиду азоту блокувала морфін-індуковану гіпертермію в діапазоні доз морфію 15-105 мг/кг і цей ефект повністю усувався під впливом L-аргініну. Таким чином, поведінкові реакції викликані активацією опіатних рецепторів розвивались за рахунок залучення оксид азоту-залежних механізмів.

Значення оксиду азоту у розвитку морфін та дельторфан-II-індукованих EEG судомомах у кролів встановлено в дослідженні Capasso A., Cavallo F. (2005) (80). Автори встановили, що центральне застосування морфіну та дельторфану-II (100 мкг/внутрішньошлуночково) викликає EEG судомні прояви, які були асоційовані з „обтрушуваннями мокрої собаки”, міоклонусами та судомною активністю. L-NAME (300 мкг/внутрішньошлуночково) не викликав EEG змін та поведінкових реакцій але при його застосуванні за 15 хв до введення морфіну чи дельторфану-II доза-залежним чином попереджав виникнення EEG іктальних епізодів судомної активності. Цей ефект L-NAME на морфій та дельторфан-II-індуковані судоми попереджались при застосуванні L-аргініну (300 мкг/внутрішньошлуночково). Таким чином, автори дійшли до висновку, що в реалізації центральних ефектів оксиду азоту можуть мати значення опіатні мью- та дельта-рецептори.

До реалізації ефектів оксиду азоту на м'язовий тонус та поведінкові реакції щурів може мати відношення активація серотонінергічних рецепторів 5-HT_{1A} типу. Встановлено, що цей тип рецепторів реалізує механізми каталепсії,

яку викликали системним застосуванням неселективного інгібітору синтази азоту N^G -нітро-L-аргініна (L-NOARG, 40-160 мг/кг, в/очер) [83]. Подібні ефекти спостерігались після внутрішньошлуночкового застосування L-NOARG (50-200 нмоль) чи L-NAME (100-200 нмоль). Також каталептичні прояви індукувались за умов внутрішньостріарного застосування інгібіторів оксиду азоту і попереджались застосуванням L-аргініну (300 мг/кг, в/очер).

Отримані результати свідчать про те, що на тлі формування у експериментальних тварин розвиненої фази кіндлінгового судомного синдрому у щурів виникають розлади циклу сну-неспаня, які проявляються у збільшенні тривалості фази поверхневого повільнохвильового сну (на 6,8% у порівнянні до контролю), зменшенні тривалості (в 1,97 рази) та збільшенні фрагментованості (в 1,72 рази) парадоксальної фази сну, а також в скороченні латентного періоду засинання (на 31,5%). Цей результат відповідає раніше встановленим особливостям циклу сну-неспаня, які спостерігались у щурів за умов формування фармакологічного кіндлінгу [58].

У інтактних щурів пригнічення активності синтази оксиду азоту застосуванням L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликає збільшення тривалості фази неспаня (на 16,2%), зменшує тривалість поверхневого повільнохвильового сну (на 7,3%), а також редукує тривалість ПС (в 1,83 рази). За цих умов також достовірно подовжуються латентні періоди засинання щурів, виникнення ПС (відповідно на 25,8% та на 38,7%), а також збільшується число циклів ПС в 2,1 рази. L-аргінін в найбільшій із застосованих доз (500,0 мг/кг, в/очер) викликав зменшення латентного періоду виникнення ПС (на 25,6%).

Пригнічення активності синтази оксиду азоту, яке досягалось застосуванням L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер), викликало у кіндлінгових щурів збільшення латентного періоду виникнення сну (на 31,7%), латентного періоду виникнення парадоксальної фази сну (на 29,4%) та збільшувало число циклів фази ПС (в 1,32 рази). L-аргінін в дозі 200,0 мг/кг, в/очер у кіндлінгових щурів викликав збільшення тривалості неспаня (на 18,2%), зменшував тривалість поверхневого повільнохвильового сну (на 22,1%) та подовжував тривалість

парадоксального сну – в 1,76 разів, в той час як більша доза препарату не викликала достовірних змін з боку зазначених показників. L-аргінін в дозі 200,0 мг/кг, в/очер також викликав скорочення латентного періоду виникнення парадоксальної фази сну та зменшував число цих циклів відповідно на 18,9% та на 31,7%.

Наведені результати вказують на те, що продукція оксиду азоту є необхідною для індукції як парадоксального, так і повільнохвильового сну. Цей факт є у відповідності до результатів, отриманих іншими авторами. Так, в дослідженні Ribeiro A.C. et al., (2000; 2005) (189, 190) встановлено роль оксиду азоту в розвитку змін з боку циклу сну після депривації сну. Автори показали, що депривація сну протягом 8 год викликала збільшення тривалості сну яке зберігалось протягом наступних 16 год. Депривація сну після введення кумулятивної дози L-NAME 100,0 мг/кг, в/очер супроводжувалось ефектом пригнічення „віддачі” повільнохвильового сну та його інтенсивності. Збільшення представленості ПС, викликане депривацією сну, також знижувалось після застосування L-NAME, що реєструвалось на протязі темного часу доби. Автори дійшли висновку про ключове значення оксиду азоту в виникненні та розвитку повільнохвильової фази сну, яка збігається з даними багатьох авторів щодо значення оксиду азоту як індуктора сну у експериментальних тварин [81, 94, 95, 142, 167, 244, 285].

Отримані в дійсному дослідженні результати також свідчать про те, що вплив інгібітора синтази оксиду азоту L-NAME є більш різноманітним та виразним у інтактних щурів у порівнянні до його ефектів у кіндлінгових тварин, в той час як вплив L-аргініну, навпаки, є більш глибоким у кіндлінгових щурів і значно менш виразним - у інтактних експериментальних тварин. Цей факт може свідчити про те, що за умов розвинутого кіндлінгу відбувається виснаження системи синтезу ендogenous оксиду азоту і на такому фоні подальше зниження активності синтази оксиду азоту не може мати відчутних наслідків. Разом з тим, вплив L-аргініну, навпаки, стає більш відчутним, що можливо пояснити певною

мірою десенситизаційної гіперчутливості механізмів, які є контрольованими з боку оксиду азоту.

Разом з тим, слід зазначити, що на тлі розвинених кіндлінгових проявів у експериментальних тварин більш виразна позитивна динаміка з боку досліджуваних показників спостерігалась при застосуванні L-аргініну в меншій дозі (200,0 мг/кг, в/очер), в той час як введення препарату в більшій дозі (500,0 мг/кг, в/очер) не викликало ефекту. Цей факт можливо пояснити тим, що пізні прояви кіндлінгу є пов'язаними зі значним патогенетичним внеском з боку перекисної системи, що є взагалі характерним для формування хронічної епілептичної активності [58]. Через це додаткове генерування оксиду азоту в значних кількостях, яке слід очікувати при використанні значних доз L-аргініну, супроводжується додатковим формуванням перекисних сполук (пероксинітриду), які нівелюють протиепілептичні впливи і сприяють розвитку епілептиформної активності.

В цілому отримані результати свідчать про важливе патогенетичне значення залежних від оксиду азоту нейрональних механізмів контролю в патогенетичних порушеннях циклу сну-неспання при хронічній епілептизації мозку, модельованої шляхом відтворення коразолового кіндлінгу у щурів. Подібна активуюча роль механізмів парадоксального сну відповідає відомій протисудомній ролі механізмів мозку, які є відповідальними за її розвиток [31]. Також слід підкреслити, що встановлене в дійсному дослідженні зростання виразності повільнохвильової фази сну також може бути пов'язаним зі зростанням протисудомного фону, так як дельта-активність, яка є добре виразною у щурів на всіх стадіях розвитку повільнохвильового сну, може відігравати гальмівну роль по відношенню до епілептогенного збудження структур кори головного мозку.

Одним із важливих механізмів виникнення та розвитку епілептогенного збудження є патологічне посилення перекисного окиснення ліпідів [4, 21]. Проведені дослідження засвідчили, що у щурів із сформованим хронічним епілептичним кіндлінговим синдромом спостерігається збільшення в крові рівня

дисульфідних груп на 45,1%. Під впливом застосування відносно меншої дози L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер) спостерігалось зменшення вмісту дисульфідних на 39,8% у порівнянні до вихідного значення. У відносно високій дозі L-аргінін (500,0 мг/кг, в/очер), а також L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликали зниження рівня загальних тіолових груп (на 18,1 та на 27,7% у порівнянні до контролю). Коефіцієнт SH/SS на тлі застосування L-NAME склав 0,88, в той час як у щурів із застосуванням L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг - 2,2.

Найбільш виразними вихідні зміни стану тіол-дисульфідної системи були в небілковій фракції крові, в якій у кіндлінгових щурів спостерігалось двохкратне зменшення рівня вільних тіолів і більш, ніж п'ятикратне збільшення рівня дисульфідних груп. L-аргінін (200,0 мг/кг, в/очер) викликав збільшення вмісту тіолів на 68,7% у порівнянні до вихідного значення, а також зменшував рівень дисульфідів в 2,58 рази. В дозі 500,0 мг/кг, в/очер L-аргінін редукував рівень тіолових груп в 1,5 рази і дисульфідних груп в 1,44 рази. L-NAME викликав зниження рівня тіолових груп в 1,49 рази і підвищував вміст дисульфідних груп на 13,0% у порівнянні до вихідних показників у кіндлінгових щурів.

Таким чином, залежні від продукції оксиду азоту зміни з боку тіол-дисульфідної системи крові були в більшій мірі виразними в небілковій фракції. Зниження вмісту тіолових груп свідчить про зменшення антиоксидантних захисних механізмів, що є одним із патогенетичних механізмів хронічного епілептичного синдрому. Цей результат відповідає раніше отриманим даним, що були отримані за умов відтворення фармакологічного та електроподразнювального кіндлінгу [58].

В дійсному дослідженні також встановлено взаємозв'язок активності системи продукції оксиду азоту та функціонального стану тіол-дисульфідної систем крові. Так, у кіндлінгових щурів в суцільній крові найбільш низьким коефіцієнт SH/SS був в групі із застосуванням L-NAME – 0,88, а найбільш високим – у щурів з введенням L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг. При цьому вказані зрушення були найбільш виразними в небілковій фракції крові, в якій

коефіцієнт SH/SS під впливом L-NAME знижувався в 1,68 рази у порівнянні до вихідного значення у кіндлінгових щурів і перевищував такий, який був зареєстрований за умов застосування кіндлінговим щурам L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг в 4,34 рази. В білковій фракції коефіцієнт SH/SS був найменшим за умов застосування L-NAME - в 1,42 рази у порівнянні до такого в групі кіндлінгових щурів, в той час як під впливом L-аргініну в дозі 200,0 мг/кг, в/очер цей показник зростав в 1,41 рази.

Представляють інтерес дані, які свідчать про те, що L-аргінін, дія якого полягає в активації продукції оксиду азоту, за умов моделювання кіндлінгу викликав позитивні ефекти у вигляді відновлення рівня тіолових груп і зниження дисульфідних груп при введенні препарату у меншій із досліджуваних доз (200,0 мг/кг, в/очер). В той же час, застосування більшої дози (500,0 мг/кг, в/очер) викликало подальше виснаження пула тіолових груп крові. Подібний ефект можливо пояснити відомою подвійною роллю оксиду азоту [66, 287]. Очевидно, що надмірна інтенсифікація продукції оксиду азоту на фоні відтворення викликаних кіндлінгом зрушень в сторону активації прооксидантних механізмів, може слугувати причиною додаткового формування перекисних сполук [265].

Застосування модуляторів синтезу оксиду азоту у інтактних щурів супроводжувалось змінами біоелектрогенезу утворень головного мозку. Виразність відповідних ефектів було досліджено в фазі неспанья та повільнохвильового сну.

Так, введення L-NAME (25,0 мг/кг, в/очер) викликало зниження потужності загальної біоелектричної активності в структурах кори головного мозку інтактних щурів в фазі неспанья (на 19,5%). Найбільш виразною була редукція потужності електрогенезу дельта-діапазону, яка зменшувалась в лобній корі та вентральному гіпокампі відповідно на 22,3% та на 19,6% у порівнянні до інтактних щурів групи контролю ($P < 0,05$). Загальна потужність біоелектричної активності під впливом L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер) зростала – в лобних відділах кори головного мозку та вентральному гіпокампі відповідно на 6,9%

($P > 0,05$) та на 23,9% ($P < 0,05$). Найбільш виразним приріст потужності біоелектричних коливань відбувався в дельта-діапазоні та тета-діапазоні – відповідно на 23,2 та на 18,9% на тлі зниження потужності коливань бета-діапазону – на 22,9% в структурах лобної кори при застосуванні дози L-аргініну 500,0 мг/кг, в/очер.

В період повільнохвильового сну L-NAME викликав зниження загальної потужності біоелектричної активності лобної кори та вентрального гіпокампу на 29,5% та на 31,7% ($P < 0,05$). Причому, достовірно зменшувалась потужність активності дельта-діапазону - 40,0% та на 38,8% ($P < 0,05$). На тлі застосування L-аргініну (500 мг/кг, в/очер) загальна потужність біоелектричної активності мала тенденцію до збільшення у порівнянні до інтактних щурів на 21,7% та на 4,8% - відповідно в лобній корі та вентральному гіпокампі. Причому в найбільшій мірі (на 44,0%) збільшення потужності відбувалось в тета-частотному діапазоні в структурах лобної кори.

Отримані результати свідчать про модулюючий вплив вивільнення ендогенного оксиду азоту у відношенні до генерування певних біоелектричних ритмів. Зважаючи на відносно значну роль дельта-активності, а також реакції активації ЕЕГ в механізмах припинення епілептичної активності, отримані результати можуть свідчити про реалізацію впливу на ЕпА модуляторів синтезу оксиду азоту опосередковано через структури мозку, які залучені до генерування відповідних біоелектричних феноменів.

Слід зазначити, що отримані результати щодо особливостей змін з боку загальної та спектральної потужності структур головного мозку за умов змін продукції оксиду азоту узгоджуються з результатами даних Dzolic E. et al., (1997). Автори встановили, що інгібітори синтази оксиду азоту 3-бром-7-нітроіндазолін (3-Br-7-NI) і S-метил-l-L-тіоцитрулін (S-Me-TC) індукували птоз і зменшували виразність повільнохвильового та парадоксального сну у щурів, в той час як 3-Br-7-NI та 7-NI редукували спектральну потужність ЕЕГ у всіх діапазонах, що свідчило про неспецифічну депресію нейрональної активності. Вказаний ефект 7-NI був найбільш виразним протягом світлого проміжку доби

та найбільша редукція спостерігалась в діапазоні тета-активності (7-9 Гц), що збігалось з редукцією рухової активності щурів. Крім того, інгібітори оксиду азоту, а саме L-NAME редукують потужність дельта-коливань [81, 94, 95, 142, 167, 244, 285].

В дослідях на інтактних щурах встановлено, що протисудомний ефект, який викликає бактеріальний ліпополісахарид (ЛПС) (0,1 мг/кг, в/очер, через 12-14 г з моменту його застосування), усувається під впливом введення L-NAME в дозі 50,0 мг/кг, в/очер. В той же час застосування L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) посилювало протисудомну дію ЛПС, що виявлялось пригніченням частоти та амплітуди спайкових потенціалів, скороченням загальної тривалості існування вогнищ. Вказані ефекти спостерігались у відношенні до вогнищ епілептогенезу, які було викликано за допомогою введення в структури вентрального гіпокампу різних епілептогенів (бензилпеніцилін, каїнова кислота, бікукулін та стрихнін).

Слід підкреслити, що в механізмах виникнення протисудомної дії ЛПС відзначають можливість активації ендогенної опіоїдної системи мозку [Смірнов І.В., 2008]. Зважаючи на встановлену в дійсній роботі можливість посилення впливів ендогенних опіатів під впливом оксиду азоту, можливо зазначити що взаємне потенціювання опіатної ендогенної системи та системи оксиду азоту знаходиться в основі опосередкування протиепілептичного впливу ЛПС.

Роль ендотеліального оксиду азоту розглядається як ключова при здійсненні антиепілептичних ефектів греліну - антагоніста каннабіноїдних рецепторів аскорбінової кислоти [287], а також антиепілептичних препаратів [146]. Разом з тим, надмірна продукція оксиду азоту, яка може досягатися застосуванням значних доз бактеріальних токсинів з виникненням гіперпіретичних ефектів супроводжується посиленням судомної готовності до дії пентиленететразолу.

Важливо зазначити, що опосередковані оксидом азоту протиепілептичні впливи ЛПС спостерігаються у відношенні до різних за своїм механізмом дії епілептогенів - як блокаторів ГАМК-ергічної системи гальмівного контролю (пеніцилін, бікукулін), так і агоністів рецепторів збуджуючих амінокислот

(каїнова кислота), а також стрихніну, який блокує гліцинергічне гальмування та викликає пряму деполяризацію мембрани. Подібний неспецифічний протиепілептичний вплив ЛПС може бути пов'язаний як із здатністю оксиду азоту викликати вивільнення ГАМК, так і з встановленою раніше здатністю ЛПС активувати ендогенну опіатну систему, яка здатна за рахунок збудження каппа-рецепторів гальмувати різні за своїм нейрпатохімічним генезом форми епілептичної активності [51].

Загальна концепція, яка може бути сформована в результаті проведених досліджень свідчить про те, що на тлі значних патогенних зрушень у ході розвитку епілептизації мозку (як хронічної, так і гострої), на тлі залучення у сферу патологічних кругів значних функціональних ресурсів мозку посилення продукції оксиду азоту в більшості випадків також є власне патогенетичним механізмом підтримки патологічного процесу. В цій ситуації додаткова стимуляція продукції оксиду азоту здатна посилювати прооксидантні процеси і провокувати епілептиформні прояви. За цих умов, однак, можливо отримати протиепілептичні впливи попередників оксиду азоту і основною умовою є їх застосування у поєднанні з антиоксидантами. Саме так можна пояснити той факт, що у значному числі публікацій автори вказують на протиепілептичні впливи L-NAME та проепілептичні - L-аргініну, а, з іншого боку, блокування продукції оксиду азоту, як правило, знижує ефективність дії протиепілептичних препаратів. Останнє свідчить про те, що препаратам, які було використано в подібних дослідженнях притаманні виразні антиоксидантні ефекти, зокрема можна вказати на вплив вітаміну С, який здійснює залежний від продукції оксиду азоту протиепілептичний ефект на моделі генералізованої пеніцилін-викликаного епілептичної активності [287].

Слід також зазначити, що в визначенні ролі оксиду азоту - компенсаторної чи пошкоджуючої важливу роль можуть відігравати механізми активації різних ізоформ синтаз оксиду азоту. Так, Вуун J.S. et al., (2009) відмічають, що оксид азоту може грати роль як нейротоксина, так і нейропротектора в залежності від його концентрації в перинейрональному середовищі. Автор тестували ефекти L-

NAME та аміногуанідину, який є селективним інгібітором індуцельної синтази оксиду азоту iNOS, на судоми, які провокували в СА3 полі гіпокампу каїноюю кислотою. За одну годину до внутрішньошлуночкового застосування каїнової кислоти застосовували L-NAME (50 мг/кг, в/очер) чи/та аміногуанідин (200 мг/кг, в/очер). Попереднє застосування L-NAME значно посилювало викликане каїноюю кислотою пошкодження та загибель СА3 нейронів, експресію iNOS та активувало мікроглію. Попереднє застосування аміногуанідину виразно пригнічувало як викликане каїноюю кислотою, так і посилене під впливом L-NAME-пошкодження гіпокампальних нейронів поля СА3 з одночасним зниженням експресії iNOS та активації мікроглії. Протективний ефект аміногуанідину спостерігався протягом до двох тижнів з моменту застосування препарату. Автори також встановили, що миші з порушенням генів відповідальних за синтез iNOS демонстрували резистентність до викликаних каїноюю кислотою пошкоджень нейронів. Таким чином, ізоформи синтази оксиду азоту відіграють різну роль в визначенні характеру впливу оксиду азоту на викликану збуджуючими амінокислотами дегенерацію гіпокампальних нейронів. Автори зазначили, що оксид азоту, який утворюється завдяки iNOS викликає загибель нейронів, в той час як оксид азоту, що утворюється завдяки eNOS та nNOS (відповідно ендотеліальна та нейрональна синтаза оксиду азоту) відіграє нейропротекторну роль.

Таким чином, наведені результати дозволяють диференційовано підійти до оцінки окремих фактів участі оксиду азоту в контролі патологічно посиленої збудливості утворень головного мозку, визначають залежність характеру впливу попередників оксиду азоту від форми епілептичного синдрому, рівня епілептогенного збудження та ступеню активації патогенних механізмів розвитку епілептичного синдрому.

ВИСНОВКИ

В роботі вирішено важливе наукове завдання – досліджено особливості патогенезу епілептичного синдрому, які є залежними від ендогенної продукції оксиду азоту. Встановлена залежність характеру впливу інгібітору синтази оксиду азоту L-NAME та попередника оксиду азоту L-аргініну на епілептиформні прояви від фази розвитку хронічної форми епілептичного синдрому.

1. Рання фаза кіндлінгового епілептичного синдрому, яка відтворює особливості абсансної форми епілепсії, пригнічується під впливом L-аргініну, ED₅₀ якого склала (141,4±26,0) мг/кг, в той час як при розвиненій формі кіндлінгу, що відтворює генералізовану судомну форму синдрому, посилюється під впливом L-аргініну, а його ED₅₀ склала (350,5±18,7) мг/кг. Визначено, що L-NAME на стадії генералізованих абсансних проявів сприяв виникненню генералізованих судом, в той час як на пізній стадії формування судомного синдрому, навпаки, пригнічував судомні прояви. Відповідно середньоефективні дози препарату склали (13,7±3,3) мг/кг та (22,5±7,0) мг/кг.

2. Під впливом L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) у кіндлінгових щурів збільшується показник варіабельності плавання (на 19,0 %) і зменшується поріг уникнення із басейну на 65,3 % і на 119,7 % при застосуванні препарату відповідно дозами 200,0 та 500,0 мг/кг, в/очер. L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликав збільшення порогу уникнення кіндлінгових щурів на 71,2 %.

3. Кіндлінг-викликане посилення агресивної поведінки щурів пригнічується під впливом L-аргініну (500,0 мг/кг в/очер), що виявляється збільшенням порогу виникнення бійок щурів на електродній підлозі - на 29,0 %. В той же час, L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) знижує поріг виникнення бійок на 23,3 %. L-аргінін у кіндлінгових щурів посилює опіат-залежні прояви постсудомного депресивного синдрому. Зокрема, спостерігається посилення анальгезії, посилення проявів екзофтальму та експлозивності.

4. Пригнічення активності синтази оксиду азоту введенням L-NAME (10,0 мг/кг, в/очер) викликає у кіндлінгових щурів збільшення латентного періоду виникнення сну (на 31,7 %), латентного періоду виникнення парадоксальної фази сну (на 29,4 %) та збільшує число його циклів (в 1,32 рази). L-аргінін (200,0 мг/кг, в/очер) викликає у кіндлінгових щурів збільшення тривалості неспання (на 18,2 %), зменшує тривалість поверхневого повільнохвильового сну (на 22,1 %) та продовжує тривалість парадоксального сну – в 1,76 рази. В фазу повільнохвильового сну L-NAME знижує загальну потужність біоелектричної активності лобної кори та вентрального гіпокампу на 29,5 % та на 31,7 %, зокрема потужність активності дельта-діапазону – відповідно на 40,0 % та на 38,8 %.

5. У щурів із сформованим кіндлінговим синдромом введення L-аргініну дозою 500,0 мг/кг, в/очер і L-NAME дозою 10,0 мг/кг, в/очер приводило до зниження рівня загальних тіолових груп (на 18,1 % та на 27,7 % порівняно до контролю). Під впливом застосування відносно меншої дози L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер) спостерігалось зменшення вмісту дисульфідних груп на 39,8 % порівняно до вихідного значення. Вищезазначені ефекти препаратів були більш виразними в небілковій фракції крові щурів зі сформованим кіндлінговим синдромом.

6. L-NAME (25,0 мг/кг, в/очер) викликає зниження потужності загальної біоелектричної активності в структурах кори головного мозку інтактних щурів в фазі неспання на 19,5 %. Редукція потужності електрогенезу дельта-діапазону в лобній корі та вентральному гіпокампі складала відповідно на 22,3 % та на 19,6 %. Загальна потужність біоелектричної активності під впливом L-аргініну (200,0 мг/кг, в/очер) зростала в вентральному гіпокампі на 23,9 %. Найбільш виразним приріст потужності біоелектричних коливань відбувався в дельта-діапазоні та тета-діапазоні – відповідно на 23,2 та на 18,9 % на тлі зниження потужності коливань бета-діапазону – на 22,9 % в структурах лобної кори при застосуванні дози L-аргініну 500,0 мг/кг, в/очер.

7. Викликане бактеріальним ліпополісахаридом пригнічення вогнищевих форм епілептогенезу посилюється під впливом L-аргініну та послаблюється пригніченням синтази оксиду азоту, яке викликано L-NAME. Залежний від продукції оксиду азоту протиепілептичний вплив ЛПС спостерігається на вогнищевих моделях епілептогенезу, які викликані епілептогенами з різним механізмом нейротропної дії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антистрессовое и ангиопротективное влияние оксида азота у крыс линии Крушинского – Молодкиной с аудиогенной эпилептиформной реакцией / О. Е. Фадюкова, В. С. Кузенков, В. П. Реутов [и др.] // Российский физиологический журнал. – 2005. – Т. 91, № 1. – С. 89–96.
2. Антиэпилептическая система / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский [и др.] // Успехи физиологических наук. – 1992. – Т. 23, № 3. – С. 38–59.
3. Афонина Г. Б. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ / Г. Б. Афонина, Л. А. Куюн. – К. : Изд – во НАН Украины. – 2000. – 285 с.
4. Болдырев А. А. Двойственная роль свободнорадикальных форм кислорода в ишемическом мозге / А. А. Болдырев // Нейрохимия. – 1995. – Т. 12, № 3. – С. 313–317.
5. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – М. : Высшая школа, 1991. – 400 с.
6. Биллер Х. Практическая неврология. Лечение / Х. Биллер ; пер. с англ. – М. : Мед. литература, 2005. – Т. 2. – 416 с.
7. Броди М. Течение и рациональная терапия эпилепсии / М. Броди // Международный неврологический журнал. – 2005. – № 4. – С. 72–83.
8. Ванин А. Ф. Оксид азота – регулятор клеточного метаболизма / А. Ф. Ванин // Соросовский образовательный журнал. – 2011. – Т. 7, № 11. – С. 7–12.
9. Власов П. Н. Современные аспекты эпилептологии : обозрение по материалам журнала «Epilepsia» за 2001г. / П. Н. Власов // Неврологический журнал. – 2002. – № 5. – С. 59–63.
10. Возможная роль оксида азота в патогенезе модельных судорожных состояний различной природы / В. Г. Башкатова, Г. Ю. Вицкова, В. Б. Наркевич [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – № 1. – С. 26–29.

11. Волошин М. Я. Электрофизиологические методы исследования головного мозга в эксперименте / М. Я. Волошин. – К. : Наукова думка. – 1987. – 192 с.
12. Годлевский Л. С. Влияние бактериального липополисахарида на пенициллининдуцированную судорожную активность у крыс / Л. С. Годлевский, Е. В. Коболев, И. В. Смирнов // Нейрофизиология. – 2008. – Т. 40, № 3. – С. 236–241.
13. Годлевский Л. С. Стимуляция мозга : механизмы прекращения судорожной активности / Л. С. Годлевский, Е. В. Коболев, И. В. Смирнов. – Одесса : Нептун – Технология, 2006. – 184 с.
14. Годлевський Л. С. Модуляція впливу бактеріального ліпополісахариду на перебіг епілептичного синдрому транскраніальним магнітним подразненням мозку й електричною стимуляцією мозочка / Л. С. Годлевський, І. В. Смірнов, Є. В. Коболев // Одеський медичний журнал. – 2008. – № 3. – С. 6–9.
15. Головченко Ю. И. Современные представления о физиологии и патологии эндотелия сосудов головного мозга / Ю. И. Головченко, М. А. Терещинская // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2008. – № 1 / 2. – С. 22–28.
16. Горбачев В. И. Роль оксида азота в патогенезе поражений центральной нервной системы / В. И. Горбачев, В. В. Ковалев // Журнал неврологии и психиатрии. – 2002. – № 7. – С. 9–16.
17. Гуляева Н. В. Роль свободнорадикальных процессов в развитии нейродегенеративных заболеваний (болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера) / Н. В. Гуляева, А. Н. Ерин // Нейрохимия. – 1995. – Т. 12, № 2. – С. 315–315.
18. Гусев Е. И. Эпилепсия / Е. И. Гусев, Г. С. Бурд. – М., 1994. – 63 с.(17)
19. Дзяк Л. А. Эпилепсия / Л. А. Дзяк, Л. Р. Зенков, А. Г. Кириченко. – К. : Книга – плюс, 2001. – 168 с.
20. Дубініна О. Ю. Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків / О. Ю. Дубініна // Медицинская химия. – 2001. – Т. 2. – С. 5–18.

21. Ерин А. Н. Свободнорадикальные механизмы в церебральных патологиях / А. Н. Ерин, Н. В. Гуляева, Е. В. Никушкин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1994. – № 10. – С. 343–348.
22. Зенков Л. Р. Алгоритмы выбора препаратов в лечении фокальной эпилепсии / Л. Р. Зенков // Русский медицинский журнал. – 2004. – № 5. – С. 270–275.
23. Зозуля Ю. А. Мультифункциональность и метаболизм оксида азота в центральной нервной системе / Ю. А. Зозуля, Л. Н. Сенько // Журнал АМН Украины. – 2000. – № 1. – С. 3–25.
24. Зозуля Ю. А. Роль оксида азота в епілептогенезі (огляд літератури) / Ю. А. Зозуля, О. А. Лапоногов, Л. Н. Сенько // Журнал АМН України. – 2007. – № 2. – С. 201–215.
25. Индукция NO – синтазы и глиального кислого фибриллярного белка в астроцитах височной коры крыс с аудиогенной эпилептической реакцией / С. Г. Калиниченко, Ю. В. Дудина, И. В. Дюйзен, П. А. Мотавкин // Морфология. – 2004. – № 3. – С. 68–73.
26. Исследование повреждения нейронов гиппокампа в инбредных линиях мышей в моделях эпилепсии с использованием каиновой кислоты и пилокарпина / Н. П. Шиханов, Н. М. Иванов, А. В. Ховряков [и др.] // Морфология. – 2004. – № 3. – С. 63–67.
27. Клеточномембранные аспекты патогенеза, лечения и профилактики хронических церебральных ишемий и нейродегенеративных процессов / В. А. Малахов, А. М. Белоус, И. Н. Пасюра, Г. И. Дорошенко. – Х. : Ранок, 1999. – 172 с.
28. Костюк П. Г. Физиология центральной нервной системы / П. Г. Костюк. – К. : Вища школа, 1977. – 319 с.
29. Крыжановский Г. Н. Влияние структур мозжечка на эпилептическую активность в головном мозге / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский // Успехи физиологических наук. – 1990. – Т. 21, № 3. – С. 38–58.

30. Крыжановский Г. Н. Детерминантные структуры в патологии нервной системы / Г. Н. Крыжановский. – М. : Медицина, 1980. – 358 с.
31. Крыжановский Г. Н. Нейроиммунопатология / Г. Н. Крыжановский, С. В. Магаева, С. В. Макаров. – М., 1997. – 270 с.
32. Крыжановский Г. Н. Патологические системы в патогенезе нервных и психических расстройств / Г. Н. Крыжановский // Одеський медичний журнал. – 2001. – № 1. – С.6–10.
33. Крыжановский Г. Н. Регуляция и дисрегуляция в живых системах / Г. Н. Крыжановский // Патогенез. – 2007. – Прил. 1. – С. 4–5.
34. Курицын С. Н. Взаимосвязь эндотелиальных факторов в условиях активации и блокады опиатных рецепторов при остром стрессе / С. Н. Курицын, Т. М. Командресова // Физиология человека и животных : от эксперимента к клинической практике : тез. докл. – Сыктывкар, 2006. – С. 28–30.
35. Лишневская В. Ю. Эндотелиальная функция и возраст / В. Ю. Лишневская // Врачебная практика. – 2003. – Т. 4. – С. 5–10.
36. Лук'янчук В. Д. Окисний гомеостаз мозку при ішемії і досвід експериментальної фармакотерапії / В. Д. Лук'янчук, Л. В. Савченкова, О. Ю. Бібік // Журнал АМН України. – 2001. – № 3. – С. 647–659.
37. Малая Л. Т. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечнососудистой системы / Л. Т. Малая, А. Н. Корж, Л. Б. Балковая. – Х. : Торсинг, 2000. – 432 с.
38. Мандриевская Н. М. Состояние тиол – дисульфидной и аскорбатной систем в раннем периоде реабилитации при гнойно – септических воспалениях / Н. М. Мандриевская // Медицинская реабилитация, курортология, физиотерапия. – 1997. – № 3. – С. 57–60.
39. Мещишен І. Ф. Механізм окиснювальної модифікації білків / І. Ф. Мещишен, В. П. Польовий // Буковинський медичний вісник. – 2001. – № 2. – С. 18–25.

40. Моделирование и механизмы подавления экспериментального эпилептического синдрома / Л. С. Годлевский, Е. В. Коболев, В. Ф. Мустяца, Г. А. Дроздова. – Одеса, 2010. – 352 с.
41. Мошарова И. В. Общие физиологические механизмы воздействия глутамата на центральную нервную систему / И. В. Мошарова, А. О. Сапецкий, Н. С. Косицын // Успехи физиологических наук. – 2004. – № 1. – С. 20–42.
42. Ноздрачев А. Д. Исследование функций головного мозга / А. Д. Ноздрачев, Е. Л. Поляков, А. В. Гнетов. – Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1987. – 160 с.
43. Одинак М. М. Эпилепсия : этиопатогенез, клиника, дифференциальная диагностика, медицинское лечение / М. М. Одинак, Д. Е. Дыскин. – СПб. : Политехника, 1997. – 233 с.
44. Панкин В. З. Окислительный стресс: биохимические и патофизиологические аспекты / В. З. Панкин, Н. К. Зенков. – М. : Наука, 2001. – 342 с.
45. Раевский К. С. Медиаторные аминокислоты / К. С. Раевский, В. П. Георгиев. – М., 1986. – 240 с.
46. Раевский К. С. Роль оксида азота в глутаматергической патологии мозга / К. С. Раевский, В. Г. Башкатова, А. Ф. Ванин // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 2000. – № 4. – С. 11–16.
47. Роль черной субстанции в противосудорожных и антиагрессивных эффектах диазепамы при фармакологическом киндлинге / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. М. Мазарати, Р. Ф. Макулькин // Нейрофизиология. – 1990. – Т. 22, № 4. – С. 482–485.
48. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В. К. Казимирко, В. И. Мальцев, В. Ю. Бутылин, Н. И. Горобец. – К. : Морион, 2004. – 160 с.
49. Сепетлиев Д. Статистические методы в научных медицинских исследованиях / Д. Сепетлиев. – М. : Медицина, 1968. – 419с.
50. Серков Ф. Н. Нейрофизиология таламуса / Ф. Н. Серков, В. Н. Казаков. – К. : Наук. думка, 1980. – 260 с.

51. Смірнов І. В. Вплив бактеріального ліпополісахариду на генералізовані клоніко-тонічні та клонічні судоми у щурів / І. В. Смірнов // Досягнення біології та медицини. – 2008. – № 1. – С. 26–30.
52. Соколовский В. В. Тиолдисульфидное соотношение крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма : учеб. пособие / В. В. Соколовский. – СПб, 1996. – 33 с.
53. Степаничев М. Ю. Цитокины как нейромодуляторы в центральной нервной системе / М. Ю. Степаничев // Нейрохимия. – 2005. – Т. 22, № 1. – С. 5–11.
54. Судороги, вызываемые введением N-метил-0,1-аспартата, сопровождаются усилением генерации оксида азота и процессов перекисного окисления липидов в мозге крыс / В. Д. Микоян, А. Ф. Ванин, К. С. Раевский [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1998. – № 1. – С. 13–16.
55. Тодорів І. В. Лімбічна епілепсія – клініка, патогенез, лікування / І. В. Тодорів, М. І. Пітик. – Івано–Франківськ, 2007. – 163 с.
56. Уровень оксида азота повышается в мозге мышей линии DBA/2 при аудиогенных судорогах: возможная роль метаботропных глутаматных рецепторов / В. Г. Башкатова, Б. Мелдрум, А. Чапман [и др.] // Нейрохимия. – 2001. – Т. 18, № 4. – С. 258–261.
57. Флеров М. А. Процессы свободнорадикального окисления липидов внейронах и нейроглии коры больших полушарий при судорогах / М. А. Флеров, Т. И. Толстухина, И. А. Герасимова // Бюлетень експериментальної біології та медицини. – 2004. – № 10. – С. 385–387.
58. Шандра А. А. Киндлинг и эпилептическая активность / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. И. Брусенцов. – Одесса : Астропринт, 1999. – 272 с.
59. Шандра А. А. Киндлинг как модель формирования нарушений поведения / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. М. Мазарати // Успехи физиологических наук. – 1990. – Т. 21, № 4. – С. 50–68.
60. Шандра А. А. Патологические механизмы развития спонтанной судорожной активности / А. А. Шандра, Н. В. Копьёва // Вісник психіатрії та психофармакотерапії. – 2008. – № 2. – С. 7–17.

61. Шандра О. А. Фармакологічний кіндлінг як модель дослідження функціонування мозку за умов норми та патології / О. А.Шандра // Одеський медичний журнал. – 1998. – № 2. – С. 13–26.
62. Эпилепсия и функциональные состояния мозга / Р. Г. Биниауришвили, А. М. Вейн, Б. З. Гафуров, А. Р. Рахимджанов. – М. : Медицина, 1985. – 239 с.
63. A neuron–pharmacological evaluation of felbamate as a novel anticonvulsant / H. S.White, H. H. Wolf, E. A. Swinyard [et al.] // *Epilepsia*. – 1992. – Vol. 33, № 3. – P. 564–572.
64. Activity – dependent regulation of energy metabolism by astrocytes : an update / L. Pellerin, A. K. Bouzier – Sore, A. Aubert [et al.] // *Glia*. – 2007. – Vol. 55, № 12. – P. 1251–1262.
65. Adamec R. E. Partial kindling and emotional bias in the cat : lasting aftereffects of partial kindling of the ventral hippocampus. II. Physiological changes / R. E. Adamec, C. Stark–Adamec // *Behavioral and Neural Biology*. – 1983. – Vol. 38, № 2. – P. 223–239.
66. Adibhatla R. M. Lipid oxidation and peroxidation in CNS Health and disease : From molecular mechanisms to therapeutic opportunities / R. M. Adibhatla, J. F. Hatcher // *Antioxidants and Redox Signaling*. – 2010. – Vol. 12, № 1. – P. 125–169.
67. Ahlemeyer B. Inhibition of glutathione depletion by retinoic acid and tocopherol protects cultured neurons from staurosporine- induced oxidative stress and apoptosis / B. Ahlemeyer, J. Krieglstein // *Neurochemistry International*. – 2000. – Vol. 36, № 1. – P.1–5.
68. Akula K. K. Nitric oxide signaling pathway in the anti–convulsant effect of adenosine against pentylenetetrazol–induced seizure threshold in mice / K. K. Akula, A. Dhir, S. K. Kulkarni // *European Journal of Pharmacology*. –2008. – Vol. 587, № 1/3. – P. 129–134.
69. Almeida A. Nitric oxide mediates glutamate-induced mitochondrial depolarization in rat cortical neurons / A. Almeida, J. P. Bolaños, J. M. Medina // *Brain Res*. – 1999. – Vol. 816. – P. 580–586.

70. Almeida A. Nitric oxide switches on glycolysis through the AMP protein kinase and 6-phosphofructo 2-kinase pathway / A. Almeida, S. Moncada, J. P. Bolaños // *Nature Cell Biology*. – 2004. – Vol. 6. – P. 45–51.
71. Alterations in cytochrome c oxidase activity and energy metabolites in response to kainic acid-induced status epilepticus / D. Milatovic, M. Zivin, R. C. Gupta, W. D. Dettbarn // *Brain Research*. – 2001. – Vol. 912, № 1. – P. 67–78.
72. Amygdala lesions and CER learning : long term effect of kindling. / D. C. McIntyre, A. Molino // *Physiology & Behavior*. – 1972. – Vol. 8, № 6. – P. 1055–8.
73. Analysis of risk factors for stroke in a cohort of men born in 1913 / L. Welin, K. Svärdsudd, L. Wilhelmsen [et al.] // *The New England Journal of Medicine*. – 1987. – Vol. 317, № 9. – P. 521–526.
74. Anticonvulsant and proconvulsant roles of nitric oxide in experimental epilepsy models / E. A. Del-Bel, P. R. Oliveiral, J. A. C. Oliveiral [et al.] // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. – 1997. – Vol. 30, № 8. – P. 971–979.
75. Anticonvulsant effects of 7-nitroindazole in rodents with reflex epilepsy may result from L-arginine accumulation or a reduction in nitric oxide or L-citrulline formation / S. E. Smith, C. M. Man, Yip PK [et al.] // *British Journal of Pharmacology*. – 1996. – Vol. 119, № 1. – P. 165–173.
76. Anxiolytic effect of nitric oxide synthase inhibitors microinjected into the dorsal central grey / F. S. Guimaraes, J. C. de Aguiar, E. A. Del Bel, G. Ballejo // *NeuroReport*. – 1994. – Vol. 5. – P. 1929–1932.
77. Astrocytesecreted GDNF and glutathione antioxidant system protect neurons against 6OHDA cytotoxicity / J. K. Sandhu, M. Gardaneh, R. Iwasiow [et al.] // *Neurobiology of Disease*. – 2009. – Vol. 33. – P. 405–414.
78. Astroglia in dementia and Alzheimer's disease / J. J. Rodriguez, M. Olabarria, A. Chvatal, A. Verkhratsky // *Cell Death & Differentiation*. – 2009. – Vol. 16. – P. 378–385.

79. Atamna H. Mechanisms of mitochondrial dysfunction and energy deficiency in Alzheimer's disease / H. Atamna, W. H. Frey // *Mitochondrion*. – 2007. – Vol. 7. – P. 297–310.
80. Avanzini G. Prospects for novel antiepileptic drugs / G. Avanzini, S. Franceschetti // *Current Opinion in Investigational Drugs*. – 2003. – Vol. 4, № 7. – P. 805–814.
81. Ayers N. A. The inhibitory effects of N^{ω} -nitro-L-arginine methyl ester on nitric oxide synthase activity vary among brain regions in vivo but not in vitro / N. A. Ayers, L. Kapás, J. M. Krueger // *Neurochemical Research*. – 1997. – Vol. 22. – P. 81–86.
82. Ayyildiz M. The involvement of nitric oxide in the anticonvulsant effects of alpha-tocopherol on penicillin-induced epileptiform activity in rats / M. Ayyildiz, M. Yildirim, E. Agar // *Epilepsy Research*. – (Netherlands), 2007. – Vol. 73, № 2. – P. 166–172.
83. Bal-Price A. Stimulation of the NADPH oxidase in activated rat microglia removes nitric oxide but induces peroxynitrite production / A. Bal-Price, A. Matthias, G. C. Brown // *Journal of Neurochemistry*. – 2002. – Vol. 80. – P. 73–80.
84. Beal M. F. Oxidatively modified proteins in aging and disease / M. F. Beal // *Free Radical Biology & Medicine*. – 2002. – Vol. 32. – P. 797–803.
85. Behavioral alterations associated with generalized spike and wave discharges in the EEG of the cat / D. Taylor-Courval, P. Gloor // *Experimental Neurology*. – 1984. – Vol. 83, № 1. – P. 167–86.
86. Blough N. V. Reactions of superoxide with nitric oxide to form peroxynitrite in alkaline aqueous solution / N. V. Blough, O. C. Zafiriou // *Inorganic Chemistry*. – 1985. – Vol. 24. – P. 3502–3504.
87. Boast C. A. Bilateral kindled amygdala foci and inhibitory avoidance behavior in rats: a functional lesion effect / C. A. Boast, D. C. McIntyre // *Physiology & Behavior*. – 1977. – Vol. 18, № 1. – P. 25–8.

88. Bolaños J. P. Persistent mitochondrial damage by nitric oxide and its derivatives: neuropathological implications / J. P. Bolaños, S. J. R. Heales // *Frontiers in Neuroenergetics*. – 2010 – Vol. 33 – P. 456–459.
89. Borutaite V. Reversal of nitric oxide–, peroxynitrite– and S–nitrosothiol–induced inhibition of mitochondrial respiration or complex I activity by light and thiols / V. Borutaite, A. Budriunaite, G. C. Brown // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2000. – Vol. 1459. – P. 405–412.
90. Braugher J. M. Central nervous system trauma and stroke. I. Biochemical considerations for oxygen radical formation and lipid peroxidation / J. M. Braugher, E. D. Hall // *Free Radical Biology & Medicine*. – 1989. – Vol. 6, № 3. – P. 289–301.
91. Bromocriptine reduces lipid peroxidation and enhances spatial learning and hippocampal neuron survival in a rodent model of focal brain trauma / A. E. Kline, J. L. Massucci, X. Ma [et al.] // *Journal of Neurotrauma*. – 2004. – Vol. 21, № 12. – P. 1712–1722.
92. Brown G. C. Nanomolar concentrations of nitric oxide reversibly inhibit synaptosomal respiration by competing with oxygen at cytochrome oxidase / G. C. Brown, C. E. Cooper // *FEBS Lett*. – 1994. – Vol. 356. – P. 295–298.
93. Brown G. C. Nitric oxide and mitochondria / G. C. Brown // *Frontiers in Bioscience*. – 2007. – Vol. 12. – P. 1024–1033.
94. Burlet S. Nitric oxide and sleep in the rat: a puzzling relationship / S. Burlet, L. Leger, R. Cespuglio // *Neuroscience*. – 1999. – Vol. 92. – P. 627–639.
95. Burlet S. Voltametric detection of nitric oxide (NO) in the rat brain: its variations throughout the sleep–wake cycle / S. Burlet, R. Cespuglio // *Neuroscience Letters*. – 1997. – Vol. 226. – P. 131–135.
96. Cai Q. Molecular motors and synaptic assembly / Q. Cai, Z. H. Sheng // *Neuroscientist Ryan Gosling* . – 2009. – Vol. 15. – P. 78–89.
97. Caldecott – Hazard S. Limbic postictal events : anatomical substrates and opioid receptor involvement // S. Caldecott – Hazard , J. Jr. Engel // *Progress in Neuro* –

- Psychopharmacology & Biological Psychiatry. – 1987. – Vol. 11, № 4. – P. 389–418.
98. Cantoni O. Peroxynitrite damages U937 cell DNA via the intermediate formation of mitochondrial oxidants / O. Cantoni, A. Guidarelli // International Union of Biochemistry and Molecular LIFE . – 2008. – Vol. 60. – P. 753–756.
99. Capasso A. L-NAME prevents EEG and behavioral alterations induced by Morphine and Deltorphin II in the rabbit / A. Capasso, F. Cavallo // Biomedical Research. – 2005. – Vol. 16, № 1. – P. 56–58.
100. Castro L. Aconitase is readily inactivated by peroxynitrite, but not by its precursor, nitric oxide / L. Castro, M. Rodríguez, R. Radi // The Journal of Biological Chemistry . – 1994. – Vol. 269. – P. 29409–29415.
101. Catalepsy induced by intra-striatal administration of nitric oxide synthase inhibitors in rats / E. A. Del Bel, C. A. da Silva, F. S. Guimarães, M. Bermúdez–Echeverry // European Journal of Pharmacology. – 2004. – Vol. 485, Iss.1/3. – P.175–181.
102. Changes in nitric oxide synthesis and epileptic activity in the contralateral hippocampus of rats following intrahippocampal kainate injection / H. Yasuda, M. Fujii, H. Fujisawa [et al.] // Epilepsia. – 2001. – Vol. 42, № 1. – P. 13–20.
103. Chemical kindling : implications for antiepileptic drugs – sensitive and resistant epilepsy models / A. A. Shandra, A. M. Mazarati, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov / Epilepsia. – 1996. – Vol. 37, № 3. – P. 269–74.
104. Cieslik K. Up-regulation of endothelial nitric-oxide synthase promoter by the phosphatidylinositol 3–kinase gamma. Janus kinase 2/MEK-1-dependent pathway / K. Cieslik, C. S. Abrams, K. K. Wu // The Journal of Biological Chemistry . – 2001. – Vol. 276, № 2. – P. 1211–1219.
105. Competitive reactions of peroxynitrite with 2′–deoxyguanosine and 7,8–dihydro-8–oxo-2′–deoxyguanosine (8-oxodG) : relevance to the formation of 8–oxodG in DNA exposed to peroxynitrite / R. M. Uppu, R. Cueto, G. L. Squadrito [et al.] // Free Radical Biology & Medicine. – 1996. – Vol. 21. – P. 407–411.

106. Consequences of nitric oxide generation in epileptic–seizure rodent models as studied by in vivo EPR / K. Kaneko, K. Itoh, L. J. Berliner [et al.] *Magnetic Resonance in Medicine*. – 2002. – Vol. 48, № 6. – P. 1051–1056.
107. Cooper C. E. Nitric oxide and cytochrome oxidase : substrate, inhibitor or effector? / C. E. Cooper // *Trends in Biochemical Sciences*. – 2002. – Vol. 27. – P. 489–492.
108. Costa L. G. Cell signalling and neurotoxic events / L. G. Costa ; L. W. Chang (Ed.) // *Dekker Marcel. Principles of Neurotoxicology*. – N. Y., 2000. – P. 475–493.
109. Cystatin B deficiency sensitizes neurons to oxidative stress in progressive myoclonus epilepsy, EPM1 / M. K. Lehtinen, S. Tegelberg, H. Schipper [et al.] // *The Journal of Neuroscience*. – 2009. – Vol. 29, № 18. – P. 5910–5915.
110. Cytochrome c oxidase regulates endogenous nitric oxide availability in respiring cells : a possible explanation for hypoxic vasodilation / M. Palacios-Callender, V. Hollis, M. Mitchison [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2007. – Vol. 104. – P. 18508–18513.
111. Dichter M. E. merging insights into mechanisms of epilepsy : implications for new antiepileptic drug development / M. A. Dichter // *Epilepsia*. – 1994. – Vol. 35. – Suppl. 4. – P. 51–57.
112. Dringen R. Synthesis of the antioxidant glutathione in neurons : supply by astrocytes of CysGly as precursor for neuronal glutathione / R. Dringen, B. Pfeiffer, B. Hamprecht // *The Journal of Neuroscience*. – 1999. – Vol. 19. – P. 562–569.
113. Drug–environment interaction: context dependency of cocaine–induced behavioral sensitization / R. M. Post, A. Lockfeld, K. M. Squillace, N. R. Contel // *Life Sciences*. – 1981. – Vol. 28, № 7. – P. 755–760.
114. Duarte I. D. L–NAME causes antinociception by stimulation of the arginine–NO–cGMP pathway / I. D. Duarte, S H Ferreira // *Mediators of inflammation*. – 2000. – Vol. 9. – № 1. – P. 25–30.

115. Ebadi M. Peroxynitrite and mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of Parkinson's disease / M. Ebadi, S. K. Sharma // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2003. – Vol. 5. – P. 319–335.
116. Effect of sulfhydryl oxidation on ionic and gating currents associated with L-type calcium channels in isolated guinea-pig ventricular myocytes / P. Bolaños, A. Lacampagne, A. Duittoz [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 1995. – Vol. 30, № 5. – P. 799–806.
117. Effects of compounds acting on GABA(B) receptors in the pentylenetetrazole kindling model of epilepsy in mice / G. De Sarro, E. N. Palma, R. Costa Marra [et al.] // *Neuropharmacology*. – 2000. – Vol. 39, № 11. – P. 2147–2161.
118. Endogenous nitric oxide is a key promoting factor for initiation of seizure-like events in hippocampal and entorhinal cortex slices / R. Kovács, A. Rabanus, J. Otáhal [et al.] // *The Journal of Neuroscience*. – 2009. – Vol. 29, № 26. – P. 8565–8577.
119. Endogenous nitric oxide is a key promoting factor for initiation of seizure-like events in hippocampal and entorhinal cortex slices / R. Kovács, A. Rabanus, J. Otáhal [et al.] // *The Journal of Neuroscience*. – 2009. – Vol. 29, № 26. – P. 8565–8577.
120. Endogenous NO regulates superoxide production at low oxygen concentrations by modifying the redox state of cytochrome c oxidase / M. Palacios-Callender, M. Quintero, V. S. Hollis [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2004. – Vol. 101, № 20. – P. 7630–5.
121. Endogenous NO regulates superoxide production at low oxygen concentrations by modifying the redox state of cytochrome c oxidase / M. Palacios-Callender, M. Quintero, V. S. Hollis [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2004. – Vol. 101. – P. 7630–7635.
122. 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, № 2. – P. 102–108.

123. Endothelium–derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide / L. J. Ignarro, G. M. Buga, K. S. Wood [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1987. – Vol. 84. – P. 9265–9269.
124. Engel J. Jr. ILAE classification of epilepsy syndromes / J. Jr. Engel // *Epilepsy Research*. – 2006. – Vol. 70. – Suppl. 1. – S. 5–10.
125. Enhanced oxidative stress in iNOS–deficient mice after traumatic brain injury : support for a neuroprotective role of iNOS / H. Bayir, V. E. Kagan, G. G. Borisenko [et al.] // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2005. – Vol. 25, № 6. – P. 673–684.
126. Epilepsy and neuroprotection : an illustrated review / A. Arzimanoglou, E. Hirsch, A. Nehlig [et al.] // *Epileptic Disorders*. – 2002. – Vol. 4, № 3. – P. 173–182.
127. Estrogen ameliorates trauma-hemorrhage-induced lung injury via endothelial nitric oxide synthase–dependent activation of protein kinase / W. H. Kan, J. T. Hsu, M. G. Schwacha [et al.] // *Annals of Surgery*. – 2008. – Vol. 248, № 2. – P. 294–302.
128. Fellin T. Communication between neurons and astrocytes : relevance to the modulation of synaptic and network activity / T. Fellin // *Journal of Neurochemistry*. – 2009. – Vol. 108. – P. 533–544.
129. Ferraro G. Nitric oxide and brain hyperexcitability / G. Ferraro, P. Sardo // *In Vivo*. – 2004. – Vol. 18, № 3. – P. 357–366.
130. Fukui H. The mitochondrial impairment, oxidative stress and neurodegeneration connection : reality or just an attractive hypothesis? / H. Fukui, C. T. Moraes // *Trends in Neurosciences*. – 2008. – Vol. 31. – P. 251–256.
131. Gahm C. Nitric oxide synthase expression after human brain contusion / C. Gahm, S. Holmin, T. Mathiesen // *Neurosurgery*. – 2002. – Vol. 50, № 6. – P. 1319–1326.
132. Garthwaite J. Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission / J. Garthwaite // *European Journal of Neuroscience*. – 2008. – Vol. 27. – P. 2783–2802.

133. Garthwaite J. Endotheliumderived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests a role as intercellular messenger in the brain / J. Garthwaite, S. L. Charles, R. Chess–Williams // *Nature*. – 1988. – Vol. 336. – P. 385–387.
134. Garthwaite J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signaling in the nervous system / J. Garthwaite // *Trends in Neurosciences*. – 1991. – Vol. 14. – P. 60–67.
135. Gegg M. E. Co-culture of neurones with glutathione deficient astrocytes leads to increased neuronal susceptibility to nitric oxide and increased glutamatecysteine ligase activity / M. E.Gegg, J. B.Clark, S. J.Heales // *Brain Research*. – 2005. – Vol. 1036. – P. 1–6.
136. Gegg M. E. Co – culture of neurones with glutathione deficient astrocytes leads to increased neuronal susceptibility to nitric oxide and increased glutamate – cysteine ligase activity / M. E. Gegg , J. B. Clark, S. J. Heales // *Brain Research*. – 2005. – Vol. 1036, № 1/2. – P. 1–6.
137. Glutathione protects astrocytes from peroxynitrite-mediated mitochondrial damage: implications for neuronal/ astrocytic trafficking and neurodegeneration / J. E. Barker, J. P. Bolaños, J. M. Land [et al.] // *Developmental Neuroscience*. – 1996. – Vol. 18. – P. 391–396.
138. Godlevskii L. S. The Effects of L – Dopa and Transcranial Magnetic Stimulation on Behavioral Reactions in Kindled Rats / L. S. Godlevskii, E. V. Kobolev // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2005. – Vol. 35, № 3. – P. 313–317.
139. Greenacre S. A. Tyrosine nitration : localisation, quantification, consequences for protein function and signal transduction / S. A. Greenacre, H. Ischiropoulos // *Free Radical Research*. – 2001. – Vol. 34, № 6. – P. 541–581.
140. Hagino N. Estrogen in cognetive behaviors–clinical application of estrogen for dementia of Alzheimer type / N. Hagino // *Acta Biologica Hungarica*. – 1994. – Vol. 45, № 2/4. – P. 233–247.
141. Hall E. D. Neuroprotection and acute spinal cord injury : a reappraisal / E. D. Hall, J. E. Springer // *NeuroRx Research*. – 2004. – Vol. 1, № 1. – P. 80–100.

142. Hars B. Endogenous nitric oxide in the rat pons promotes sleep / B. Hars // Brain Research. – 1999. – Vol. 816. – P. 209–219.
143. Herberg L. J. Nitric oxide synthesis, epileptic seizures and kindling / L. J. Herberg, A. Grottick, I. C. Rose // Psychopharmacology. – 1995. – Vol. 119, № 1. – P. 115–123.
144. Hertz L. Energy metabolism in astrocytes : high rate of oxidative metabolism and spatiotemporal dependence on glycolysis / glycogenolysis / L. Hertz, L. Peng, G. A. Dienel // Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. – 2007. – Vol. 27. – P. 219–249.
145. Homayoun H. Anticonvulsant effects of cyclosporin A on pentylenetetrazole-induced seizure and kindling : modulation by nitricoxidergic system / H. Homayoun, S. Khavandgar, A. R. Dephour // Brain Research. – 2002. – Vol. 939, № 1/2. – P. 1–10.
146. In the rat maximal dentate activation model of partial complex epilepsy, the anticonvulsant activity of levetiracetam is modulated by nitric oxide–active drugs / P. Sardo, S. D'Agostino, V. Rizzo [et al.] // Journal of neural transmission. – 2009. – Vol. 116, № 7. – P. 831–839.
147. In vivo effects by estrone sulfate on the central nervous system–senile dementia (Alzheimer's type) / H. Honjo, Y. Ogino, K. Naitoh [et al.] // Journal of Steroid Biochemistry. – 1989. – Vol. 34, № 1/6. – P. 521–525.
148. Increased nitric oxide caused by the ketogenic diet reduces the onset time of kainic acid–induced seizures in ICR mice / H. S. Noh, D. W. Kim, G. J. Cho [et al.] // Brain Research. – 2006. – Vol. 1075, № 1. – P. 193–200.
149. Induction of mitochondrial oxidative stress in astrocytes by nitric oxide precedes disruption of energy metabolism / J. Jacobson, M. R. Duchon, J. Hothersall [et al.] // Journal of Neurochemistry. – 2005. – Vol. 95. – P. 388–395.
150. Inflammation mediates varying effects in neurogenesis : relevance to the pathogenesis of brain injury and neurodegenerative disorders / N. P. Whitney, T. M. Eidem, H. Peng [et al.] // Journal of neurochemistry. – 2009.– Vol. 108.– P. 1343–1359.

151. Inhibition of mitochondrial electron transport by peroxynitrite / R. Radi, M. Rodriguez, L. Castro, R. Telleri // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 1994. – Vol. 308, № 1. – P. 89–95.
152. Inhibition of Neuronal Nitric Oxide Synthase Increases Aggressive Behavior in Mice / G. E. Demas, M. J. L. Eliasson, T. M. Dawson [et al.] // *Molecular Medicine*. – 1997. – Vol. 3, № 9. – P. 610–616.
153. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase increases aggressive behavior in mice / G. E. Demas, M. J. Eliasson, T. M. Dawson [et al.] // *Molecular medicine reports*. – 1997. – Vol. 3, № 9. – P. 610–616.
154. Inhibition of nitric oxide synthase dramatically potentiates seizures induced by kainic acid and pilocarpine in rats / R. Maggio, F. Fumagalli, E. Donati [et al.] // *Brain research reviews*. – 1995. – Vol. 679. – P. 184–187.
155. Inoue S. Oxidative DNA damage induced by simultaneous generation of nitric oxide and superoxide / S. Inoue, S. Kawanishi // *FEBS Letters*. – 1995. – Vol. 371. – P. 86–88.
156. Interleukin–4 gene expression in high and low IgE responder mice / A. Mori, K. Yamamoto, M. Suko [et al.] // *International Archives of Allergy & Applied Immunology*. – 1990. – Vol. 92, № 1. – P. 100–102.
157. Interrelationships between astrocyte function, oxidative stress and antioxidant status within the central nervous system / S. Peuchen, J. P. Bolaños, S. J. Heales [et al.] // *Progress in Neurobiology*. – 1997. – Vol. 52, № 4. – P. 261–281.
158. Interrelationships between astrocyte function, oxidative stress and antioxidant status within the central nervous system / S. Peuchen, J. P. Bolaños, S. J. R. Heales [et al.] // *Progress in neurobiology*. – 1997. – Vol. 52. – P. 261–281.
159. Involvement of nitric oxide in pentylenetetrazole–induced kindling in rats / D. Han, K. Yamada, K. Senzaki [et al.] // *Journal of neurochemistry*. – 2000. – Vol. 74, № 2. – P. 792–798.
160. Involvement of nitric oxide pathway in the acute anticonvulsant effect of melatonin in mice / N. Yahyavi–Firouz–Abadi, P. Tahsili–Fahadan, K. Riazi [et al.] // *Epilepsy Research*. – 2006. – Vol. 68, № 2. – P. 103–113.

161. Involvement of nitric oxide pathway in the acute anticonvulsant effect of melatonin in mice / N. Yahavi–Firouz–Abadi, P. Tahsili–Fahadan, K. Riazi [et al.] // *Epilepsy research*. – 2006. – Vol. 68, № 2. – P. 103–113.
162. Itoh K. Paradoxical facilitation of pentylenetetrazole–induced convulsion susceptibility in mice lacking neuronal nitric oxide synthase / K. Itoh, M. Watanabe // *Neuroscience*. – 2009. – Vol. 159, № 2. – P. 735–743.
163. Kainic acid–induced neuronal death is attenuated by aminoguanidine but aggravated by L–NAME in mouse hippocampus / J. S. Byun, S. H. Lee, S. H. Jeon [et al.] // *The Korean journal of physiology & pharmacology*. – 2009. – Vol. 13, № 4. – P. 265–271.
164. Kapás L. Inhibition of nitric oxide synthesis inhibits rat sleep / L. Kapás, J. Fang, J. M. Krueger // *Brain research reviews*. – 1994. – Vol. 664. – P. 189–196.
165. Kapás L. Nitric oxide donors SIN–1 and SNAP promote non–rapid eye movement sleep in rats / L. Kapás, J. M. Krueger // *Brain research bulletin*. – 1996. – Vol. 41. – P. 293–298.
166. Kaputlu I. L–name inhibits pentylenetetrazol and strychnine–induced seizures in mice / I. Kaputlu, T. Uzbay // *Brain research reviews*. – 1997. – Vol. 753. – P. 98–101.
167. Krueger J. M. Humoral regulation of physiological sleep : cytokines and GHRH / J. M. Krueger, F. Jr. Obál, J. Fang // *Journal of sleep research*. – 1999. – Suppl. 1. – P. 53–59.
168. Kuhn D. M. Inactivation of brain tryptophan hydroxylase by nitric oxide / D. M. Kuhn, R. Jr. Arthur // *Journal of neurochemistry*. – 1996. – Vol. 67. – P. 1072–1077.
169. Kuhn D. M. Molecular mechanism of the inactivation of tryptophan hydroxylase by nitric oxide : attack on critical sulfhydryls that spare the enzyme iron center / D. M. Kuhn, R. Jr. Arthur // *Journal of neurosciences in rural practice*. – 1997. – Vol. 17. – P. 7245–7251.

170. Landino L. M. Protein thiol modification by peroxynitrite anion and nitric oxide donors / L. M. Landino // *Methods in enzymology*. – 2008. – Vol. 440. – P. 95–109.
171. Lapin I. P. Antagonism of kynurenic acid to anxiogens in mice / I. P. Lapin // *Life Sciences*. – 1998. – Vol. 63, № 15. – P. 231–236.
172. L-arginine induces dopamine release from the striatum in vivo / A. Strasser, R. M. McCarron, H. Ishii [et al.] // *Neuroreport*. – 1994. – Vol. 5. – P. 2298–2300.
173. Liaudet L. Role of peroxynitrite in the redox regulation of cell signal transduction pathways / L. Liaudet, G. Vassalli, P. Pacher // *Methods in enzymology*. – 2009. – Vol. 14. – P. 4809–4814.
174. Lim C. H. Kinetic analysis of intracellular concentrations of reactive nitrogen species / C. H. Lim, P. C. Dedon, W. M. Deen // *Chemical research in toxicology*. – 2008. – Vol. 21. – P. 2134–2147.
175. Lithium plus pilocarpine– induced status epilepticus – biochemical changes / V. Erakovic, G. Zupan, J. Varljen [et al.] // *Neuroscience research communications*. – 2000. – Vol. 36. – P. 157–166.
176. Lonart G. Inhibitory effects of nitric oxide on the uptake of [3H]dopamine and [3H]glutamate by striatal synaptosomes / G. Lonart, K. M. Johnson // *Journal of neurochemistry*. – 1994. – Vol. 63. – P. 2108–2117.
177. Lonart G. Nitric oxide induces calcium–dependent [3H]dopamine release from striatal slices / G. Lonart, K. L. Cassels, K. M. Johnson // *Journal of neuroscience research*. – 1993. – Vol. 35. – P. 192–198.
178. Lorrain D. S. Nitric oxide increases dopamine and serotonin release in the medial preoptic area / D. S. Lorrain, E. M. Hull // *Neuroreport*. – 1993. – Vol. 5. – P. 87–89.
179. Magnetic resonance and biochemical studies during pentylenetetrazole–kindling development: the relationship between nitric oxide, neuronal nitric oxide synthase and seizures / K. Itoh, M. Watanabe, K. Yoshikawa // *Neuroscience*. – 2004. – Vol. 129, № 3. – P. 757–66.

180. Magnetic resonance and biochemical studies during pentylenetetrazole-kindling development : the relationship between nitric oxide, neuronal nitric oxide synthase and seizures / K. Itoh, M. watanabe, K. Yoshikawa [et al.] // *Neuroscience*. – 2004. – Vol. 129, № 3. – P. 757–766.
181. Mander P. Activation of microglial NADPH oxidase is synergistic with glial iNOS expression in inducing neuronal death : a dual-key mechanism of inflammatory neurodegeneration / P. Mander, G. C. Brown // *Journal of neuroinflammation*. – 2005. – Vol. 2. – P. 2–20.
182. Marangoz C. Evidence that sodium nitroprusside possesses anticonvulsant effects mediated through nitric oxide / C. Marangoz, M. Ayyildiz, E. Ađar // *Neuroreport*. – 1994. – Vol. 5, № 18. – P. 2454–2456.
183. Matsumura N. Activities of 7-nitroindazole and 1-(2-(trifluoromethylphenyl)-imidazole independent of neuronal nitric-oxide synthase inhibition / N. Matsumura, K. Kikuchi-Utsumi, T. J. Nakaki // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2008. – Vol. 325, № 2. – P. 357–362.
184. McGeer P. L. Glial reactions in Parkinson's disease / P. L. McGeer, E. G. McGeer // *Movement disorders*. – 2008. – Vol. 23. – P. 474–483.
185. Measurement of mitochondrial respiratory thresholds and the control of respiration by nitric oxide / P. S. Brookes, S. Shiva, R. P. Patel, V. M. Darley-Usmar // *Methods in Enzymology*. – 2002. – Vol. 359. – P. 305–19
186. Mechanism of nitric oxide action on inhibitory GABAergic signaling within the nucleus tractus solitarii / S. Wang, A. G. Teschemacher, J. F. R. Paton, S. Kasparov // *FASEB journal*. – 2006. – Vol. 20. – P. 1537–1539.
187. Mechanisms of cell signaling by nitric oxide and peroxynitrite : from mitochondria to MAP kinases / A. L. Levonen, R. P. Patel, P. Brookes [et al.] // *Antioxidants & redox signaling*. – 2001. – Vol. 3. – P. 215–229.
188. Meffert M. K. Nitric oxide stimulates Ca(2+)-independent synaptic vesicle release / M. K. Meffert, B. A. Premack, H. Schulman // *Neuron*. – 1994. – Vol. 12. – P. 1235–1244.

189. Metabolic impairment induces oxidative stress, compromises inflammatory responses, and inactivates a key mitochondrial enzyme in microglia / L. C. H. Park, H. Zhang, K. F. R. Sheu [et al.] // *Journal of neurochemistry*. – 1999. – Vol. 72. – P. 1948–1958.
190. Mitochondria : regulators of signal transduction by reactive oxygen and nitrogen species / P. S. Brookes, A. L. Levonen, S. Shiva [et al.] // *Free radical biology & medicine*. – 2002. – Vol. 33. – P. 755–764.
191. 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 radical biology & medicine*. – 2007. – Vol. 42. – P. 1075–1088.
192. Modulation of cortical nitric oxide synthase, glutamate, and redox state by nifedipine and taurine in PTZ–kindled mice / H. S. El–Abhar, H. M. El Gawad // *Epilepsia*. – 2003. – Vol. 44, № 3. – P. 276–281.
193. Moncada S. Does nitric oxide modulate mitochondrial energy generation and apoptosis? / S. Moncada, J. D. Erusalimsky // *Nature clinical practice. Neurology*. – 2002. – Vol. 3. – P. 214–220.
194. Moncada S. Nitric oxide, cell bioenergetics and neurodegeneration / S. Moncada, J. P. Bolanos // *Journal of neurochemistry*. – 2006. – Vol. 97. – P. 1676–1689.
195. Monti J. M. Microinjection of the nitric oxide synthase inhibitor L–NAME into the lateral basal forebrain alters the sleep/wake cycle of the rat / J. M. Monti, H. Jantos // *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. – 2004. – Vol. 28, № 2. – P. 239–247.
196. Mülsch A. Nitrogen monoxide transport mechanisms / A. Mülsch // *Arzneimittelforschung*. – 1994. – Vol. 44, № 3A. – P. 408–411.
197. Murashima Y. L. Antiepileptic effects of allopurinol on EL mice are associated with changes in SOD isoenzyme activities / Y. L. Murashima, K. Kasamo, J. Suzuki // *Epilepsy Research*. – 1998. – Vol. 32, № 1/2. – P. 254–265.

198. Myslobodsky M. Convulsant – specific architecture of the postictal behavior syndrome in the rat / M. Myslobodsky, O. Kofman, M. Mintz // *Epilepsia*. – 1981. – Vol. 22, № 5. – P. 559–568.
199. Nair A. Astrocytes in multiple sclerosis : a product of their environment / A. Nair, T. J. Frederick, S. D. Miller // *Cellular and molecular life sciences*. – 2008. – Vol. 65. – P. 2702–2720.
200. Nehlig A. Cellular pathways of energy metabolism in the brain: is glucose used by neurons or astrocytes? / A. Nehlig, J. A. Coles // *Glia*. – 2007. – Vol. 55. – P. 1238–1250.
201. N^G-Nitro-L-arginine impairs the anticonvulsive action of ethosuximide against pentylenetetrazol / S. J. Czuczwar, P. Tutka, P. Klonowski, Z. Kleinrok // *European journal of pharmacology*. – 1999. – Vol. 366, № 2/3. – P. 137–142.
202. Nitric oxide (NO) is an endogenous anticonvulsant but not a mediator of the increase in cerebral blood flow accompanying bicuculline-induced seizure in rats / Q. Wang, M. A. Theard, D. A. Pelligrino [et al.] // *Brain Research*. – 1994. – Vol. 658. – P. 192–198.
203. Nitric oxide amplifies the excitatory to inhibitory neurotransmitter imbalance accelerating oxygen seizures / I. T. Demchenko, C. A. Psantadosi // *Undersea & hyperbaric medicine*. – 2006. – Vol. 33, № 3. – P. 169–174.
204. Nitric oxide and GABAA receptor function in the rat cerebral cortex and cerebellar granule cells / M. Robello, C. Amico, G. Bucossi [et al.] // *Neuroscience*. – 1996. – Vol. 74. – P. 99–105.
205. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet // *Physiological Reviews*. – 2007. – Vol. 87, № 1. – P. 315–424.
206. Nitric oxide in cell survival : a janus molecule / V. Calabrese, C. Cornelius, E. Rizzarelli [et al.] // *Antioxidants & redox signaling*. – 2009. – Vol. 11. – P. 2717–2739.
207. Nitric oxide modulates synaptic vesicle docking fusion reactions / M. K. Meffert, N. C. Calakos, R. H. Scheller, H. Schulman // *Neuron*. – 1996. – Vol. 16. – P. 1229–1236.

208. Nitric oxide modulates the release of serotonin in the rat hypothalamus / S. T. Kaehler, N. Singewald, C. Sinner, A. Philippu // *Brain research reviews*. – 1999. – Vol. 835. – P. 346–349.
209. Nitric oxide produced by activated astrocytes rapidly and reversibly inhibits cellular respiration / G. C. Brown, J. P. Bolaños, S. J. R. Heales, J. B. Clark // *Neuroscience letters*. – 1995. – Vol. 193. – P. 201–204.
210. Nitric oxide sensitivity of the aconitases / P. R. Gardner, G. Costantino, C. Szabo, A. L. Salzman // *World journal of biological chemistry*. – 1997. – Vol. 272. – P. 25071–25076.
211. Nitric oxide synthase inhibition : a new principle in the treatment of migraine attacks / L. H. Lassen, M. Ashina, I. Christiansen [et al.] // *Cephalgia*. – 1998. – Vol. 18. – P. 27–32.
212. Nitric oxide synthase inhibitors have antidepressant-like properties in mice. 1. Acute treatments are active in the forced swim test / A. J. Harkin, K. H. Bruce, B. Craft, I. A. Paul // *European journal of pharmacology*. – 1999. – Vol. 372. – P. 207–213.
213. Nitric oxide transforms serotonin into an inactive form and this affects neuromodulation / P. Fossier, B. Blanchard, C. Ducrocq [et al.] // *Neuroscience*. – 1999. – Vol. 93. – P. 597–603.
214. Nitric oxide-dependent human acrosomal loss induced by PPCM (SAMMA) and by nitric oxide donors occurs by independent pathways : basis for synthesis of an improved contraceptive microbicide / R. A. Anderson, K. A. Feathergill, C. J. Chany [et al.] // *Journal of andrology*. – 2009. – Vol. 30, № 2. – P. 168–182.
215. Nitric oxide-induced blockade of NMDA receptors / O. Manzoni, L. Prezeau, P. Marin [et al.] // *Neuron*. – 1992. – Vol. 8. – P. 653–662.
216. Nitric oxide-mediated inhibition of the mitochondrial respiratory chain in cultured astrocytes / J. P. Bolaños, S. Peuchen, S. J. Heales [et al.] // *Journal of Neurochemistry*. – 1994. – Vol. 63, № 3. – P. 910–6.

217. Nitric oxide-mediated mitochondrial damage : a potential neuroprotective role for glutathione/ J. P. Bolaños, S. J. R. Heales, S. Peuchen [et al.] // *Free radical biology & medicine*. – 1996. – Vol. 21. – P. 995–1001.
218. Nrf2 activation in astrocytes protects against neurodegeneration in mouse models of familial amyotrophic lateral sclerosis / M. R. Vargas, D. A. Johnson, D. W. Sirkis [et al.] // *Journal of neurosciences in rural practice*. – 2008. – Vol. 28. – P. 13574–13581.
219. Observations in a preliminary open trial of estradiol therapy for senile dementia–Alzheimer's type / H. Fillit, H. Weinreb, I. Cholst [et al.] // *Psychoneuroendocrinology*. – 1986. – Vol. 11, № 3. – P. 337–345.
220. Opioid actions by nitric oxide signalling / N. Toda, S. Kishioka, Y. Hatano [et al.] // *Anesthesiology*. – 2009. – Vol. 110. – P. 166–181.
221. Osonoe K. Antiepileptic effects of inhibitors of nitric oxide synthase examined in pentylenetetrazol- induced seizures in rats / K. Osonoe, N. Mori, K. M. Suzuki & Osonoe // *Brain Research*. – 1994. – Vol. 663. – P. 338–340.
222. Pacher P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet // *Physiological Reviews*. – 2007. – Vol. 87. – P. 315–424.
223. Paganini–Hill A. Estrogen deficiency and risk of Alzheimer's disease in women / A. Paganini–Hill, V. W. Henderson // *American Journal of Epidemiology*. – 1994. – Vol. 140, № 3. – P. 256–261.
224. Palmer R. M. J. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor / R. M. J. Palmer, A. G. Ferrige, S. Moncada // *Nature*. – 1987. – Vol. 327. – P. 524–526.
225. Parihar A. Nitric oxide irreversibly inhibits cytochrome oxidase at low oxygen concentrations: evidence for inverse oxygen concentration-dependent peroxynitrite formation / A. Parihar, P. Vaccaro, P. Ghafourifar // *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*. – 2008. – Vol. 60. – P. 64–67.

226. Patel R. P. Using peroxy-nitrite as oxidant with low-density lipoprotein / R. P. Patel, V. M. Darley-Usmar // *Methods in Enzymology*. – 1996. – Vol. 269. – P. 375–384.
227. Paxinos G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson // Sydney : Academic Press Inc., 1998. – 456 p.
228. Pelligrino D. A. Nitric oxide and the brain / D. A. Pelligrino, V. L. Baugham, H. M. Koenig // *International anesthesiology clinics. Topics in neuroanesthesia*. – Boston : Mass, 1996. – Vol. 34. – P. 113–132.
229. Penix L. P. Dementia : new theories, new treatments / L. P. Penix // *Ethnicity & disease*. – 2003. – Vol. 13, № 3. – Suppl 3. – P. 54–55.
230. Pentylenetetrazol-induced seizures and kindling : changes in free fatty acids, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activity / V. Erakovic, G. Zupan, J. Varljen, A. Simonic // *Neurochemistry International*. – 2003. – Vol. 42. – P. 173–178.
231. Perea G. Tripartite synapses : astrocytes process and control synaptic information / G. Perea, M. Navarrete, A. Araque // *Trends in Neurosciences*. – 2009. – Vol. 32. – P. 421–431.
232. Persistent mitochondrial damage by nitric oxide and its derivatives: neuropathological implications // J. P. Bolaños, S. J. Heales // *Frontiers in Neuroenergetics*. – 2010. – Vol. 21. – P. 576–681.
233. Physical interaction between the serotonin transporter and neuronal nitric oxide synthase underlies reciprocal modulation of their activity / B. Chanrion, C. Mannoury la Cour, F. Bertaso [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2007. – Vol. 104. – P. 8119–8124.
234. Pleiotropic contributions of nitric oxide to aggressive behavior / R. J. Nelson, B. C. Trainor, S. Chiavegatto, G. E. Demas // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 2006. – Vol. 30, № 3. – P. 346–355.
235. Pogun S. Nitric oxide inhibits [3H]dopamine uptake / S. Pogun, M. H. Baumann, M. J. Kuhar // *Brain Research*. – 1994. – Vol. 641. – P. 83–91.

236. Pogun S. Nitric oxide inhibits 3H–glutamate transport in synaptosomes / S. Pogun, V. Dawson, M. J. Kuhar // *Synapse*. – 1994. – Vol. 18. – P. 21–26.
237. Pogun S. Regulation of neurotransmitter reuptake by nitric oxide / S. Pogun, M. J. Kuhar // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 1994. – Vol. 738. – P. 305–315.
238. Radi R. Nitric oxide, oxidants, and protein tyrosine nitration / R. Radi // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2004. – Vol. 101. – P. 4003–4008.
239. Rajasekaran K. Increased neuronal nitric oxide synthase (nNOS) activity triggers picrotoxin–induced seizures in rats and evidence for participation of nNOS mechanism in the action of antiepileptic drugs / K. Rajasekaran, R. Jayakumar, K. Venkatachalam // *Brain Research*. – 2003. – Vol. 979, № 1/2. – P. 85–97.
240. Reduced glutathione is highly expressed in white matter and neurons in the unperturbed mouse brain– implications for oxidative stress associated with neurodegeneration / V. M. Miller, D. A. Lawrence, T. K. Mondal, R. F. Seegal // *Brain Research*. – 2009. – Vol. 1276. – P. 22–30.
241. Reduced L–arginine transport and nitric oxide synthesis in human umbilical vein endothelial cells from intrauterine growth restriction pregnancies is not further altered by hypoxia / P. Casanello, B. Krause, E. Torres [et al.] // *Placenta (England)*. – 2009. – Vol. 30, № 7. – P. 625–633.
242. Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide. Implications for neurodegenerative diseases / M. W. Cleeter, J. M. Cooper, V. M. Darley–Usmar [et al.] // *FEBS Letters*. – 1994. – Vol. 345, № 1. – P. 50–4.
243. Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide. Implications for neurodegenerative diseases / M. W. J. Cleeter, J. M. Cooper, V. M. Darley–Usmar [et al.] // *FEBS Letters*. – 1994. – Vol. 345. – P. 50–54.

244. Ribeiro A. C. Day- and nighttime injection of a nitric oxide synthase inhibitor elicits opposite sleep responses in rats / A. C. Ribeiro, L. Kapas // *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.* – 2005. – Vol. 289, № 2. – P. 521–531.
245. Ribeiro A. C. Systemic injection of a nitric oxide synthase inhibitor suppresses sleep responses to sleep deprivation in rats / A. C. Ribeiro, J. G. Gilligan, L. Kapás // *Integrative and Translational Physiology : Integrative Aspects of Energy Homeostasis and Metabolic Diseases.* – 2000. – Vol. 278, № 4. – P. 1048–1056.
246. Rimcazole, a sigma receptor ligand, and the anticonvulsive action of conventional antiepileptic drugs / K. K. Borowicz, P. M. Wilczyński, Z. Kleinrok, S. J. Czuczwar // *Journal of Neural Transmission.* – 1998. – Vol. 105, № 6/7. – P. 601–12.
247. Role of neuronal nitric oxide synthase in the regulation of the neuroendocrine stress response in rodents : insights from mutant mice/ G. F. Orlando, G. Wolf, M. Engelmann // *Amino Acids.* – 2008. – Vol. 35, № 1. – P. 17–27.
248. Role of nitric oxide in catalepsy and hyperthermia in morphine-dependent rats / E. A. Afify, T. T. Daabees, B. H. Gabra, M. S. Abou Zeit-Har // *Pharmacological Research.* – 2001. – Vol. 44, Issue 6. – P. 533–539.
249. Role of nitric oxide in pentylenetetrazol-induced seizures : age-dependent effects in the immature rat / A. P. Vasconcelos, F. Gizard, C. Marescaux, A. Nehlig // *Epilepsia.* – 2000. – Vol. 41, № 4. – P. 363–371.
250. Role of Nitric Oxide in the Enhancement of Pentylenetetrazole- Induced Seizures Caused by *Shigella dysenteriae* / J. Balter-Seri, Y. Yuhas, A. Weizman [et al.] // *Infection and immunity.* – 1999. – Vol. 67, № 12. – P. 6364–6368.
251. Saransaari P. Modulation of GABA release by second messenger substances and NO in mouse brain stem slices under normal and ischemic conditions / P. Saransaari, S. S. Oja // *Neurochemical Research.* – 2006. – Vol. 31, № 11. – P. 1317–1325.

252. Schweizer M. Nitric oxide potently and reversibly deenergizes mitochondria at low oxygen tension / M. Schweizer, C. Richter // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1994. – Vol. 204. – P. 169–175.
253. Segovia G. Effects of a nitric oxide donor on glutamate and GABA release in striatum and hippocampus of the conscious rat / G. Segovia, A. Porras, F. Mora // *Neuroreport*. – 1994. – Vol. 5. – P. 1937–1940.
254. Segovia G. Endogenous glutamate increases extracellular concentrations of dopamine, GABA, and taurine through NMDA and AMPA/kainate receptors in striatum of the freely moving rat : a microdialysis study / G. Segovia, A. Del Arco, F. Mora // *Journal of Neurochemistry*. – 1997. – Vol. 69. – P. 1476–1483.
255. Segovia G. Role of glutamate receptors and glutamate transporters in the regulation of the glutamate–glutamine cycle in the awake rat / G. Segovia, A. Del Arco, F. Mora // *Neurochemical Research*. – 1999. – Vol. 24. – P. 779– 783.
256. Seizure susceptibility alteration through 5-HT₃ receptor : Modulation by nitric oxide / T. Gholipour, M. Ghasemi, K. Riazi [et al.] // *Seizure*. – 2010. – Vol. 19, № 1. – P. 17–22.
257. Serotonergic mediation of the antidepressant-like effects of nitric oxide synthase inhibitors / A. Harkin, T. J. Connor, M. Walsh [et al.] // *Neuropharmacology*. – 2003. – Vol. 44. – P. 616–623.
258. Sex differences in modulating blood brain barrier permeability by NO in pentylentetrazol–induced epileptic seizures / A. S. Diler, G. Uzum, D. K. Akung [et al.] // *Life Sciences*. – 2007. – Vol. 80, № 14. – P. 1274–1281.
259. Shandra A. A. Pentylentetrazol–induced kindling as a model of absence and convulsive forms of epilepsy / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky // *Advances in Behavioral Biology*. – 2005. – Vol. 55, Theme 1. – Part 1. – P. 49–59
260. Shandra A. A. Epileptic and antiepileptic systems interrelation as the systemic indicator of the complexity of epileptic activity manifestation during kindling / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov ; Ed. Feng Ru Tang // *Pan–Brain Abnormal Neural Network in Epilepsy. Research Signpost*. – Kerala, 2009. – P. 99–120.

261. Sharpe M. A. Relations of nitric oxide with mitochondrial cytochrome c : a novel mechanism for the formation of nitroxyl anion and peroxyxynitrite / M. A. Sharpe, C. E. Cooper // *Biochemical Journal*. – 1998. – Vol. 332. – P. 9–19.
262. Shouse M. N. Physiological basis : how NREM sleep components can promote and REM sleep components can suppress seizure discharge propagation / M. N. Shouse, P. R. Farber, R. J. Staba // *Clinical Neurophysiology*. – 2000. – Vol. 111, № 2. – P. 1388–2457.
263. Shouse M. N. Sleep and arousal mechanisms in experimental epilepsy : epileptic components of NREM and antiepileptic components of REM sleep / M. N. Shouse, J. C. Scordato, P. R. Farber // *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*. – 2004. – Vol. 10, № 2. – P. 117–121.
264. Sleep and epilepsy : A key role for nitric oxide? / H. Faradji, C. Rousset, G. Debilly [et al.] // *Epilepsia*. – 2001. – Vol. 41, № 7. – P. 794– 801.
265. Sudha K. Oxidative stress and antioxidants in epilepsy/ K. Sudha, A.V. Rao, A. Rao// *Clinica Chimica Acta*. – 2001. – Vol. 303, № 1/2. – P. 19–24.
266. Synthesis of nitric oxide in CNS glial cells / S. Murphy, M. L. Simmons, L. Agulló [et al.] // *Trends in Neurosciences*. – 1993. – Vol. 16. – P. 323–328.
267. Taylor C. T. Nitric oxide, cytochrome c oxidase, and the cellular response to hypoxia / C. T. Taylor, S. Moncada // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2010. – Vol. 30. – P. 643–647.
268. The bioenergetic and antioxidant status of neurons is controlled by continuous degradation of a key glycolytic enzyme by APC/C–Cdh1 / A. Herrero–Mendez, A. Almeida, E. Fernandez [et al.] // *Nature Cell Biology*. – 2009. – Vol. 11. – P. 747–752.
269. The effect of l–arginine and l–NAME on pentylenetetrazole induced seizures in ovariectomized rats, an in vivo study / M. Hosseini, H. R. Sadeghnia, S. Salehabadi [et al.] // *Seizure*. – 2009. – Vol. 18, № 10. – P. 695–698.
270. The influence of anticonvulsant and antioxidant drugs on nitric oxide level and lipid peroxidation in the rat brain during pentylenetetrazole–induced epileptiform model seizures / V. Bashkatova, V. Narkevich, G. Vitskova, A. Vanin // *Progress*

- in Neuro–Psychopharmacology and Biological Psychiatry.– 2003. – Vol. 27, № 3. – P. 487–492.
271. The kindling model of epilepsy : a review / J. O. McNamara, M. C. Byrne, R. M. Dasheiff, J. G. Fitz // *Progress in Neurobiology*. – 1980. – Vol. 15, № 2. – P. 139–159.
272. The neuronal excitability time–dependently changes after lipopolysaccharide administration in mice : possible role of cyclooxygenase–2 induction / E. S. Akarsu, S. Ozdayi, E. Algan, F. Ulupinar // *Epilepsy Research*. – 2006. – Vol. 71, № 2/3. – P. 181–187.
273. The pathogenic mechanism of homocysteine –induced endothelial nitric oxide synthase dysfunction and the antagonistic effects by folic acid / J. G. Zhang, L. Z. Wang, X. Q. Han [et al.] // *Fen Zi Xi Bao Sheng Wu Xue Bao (China)*. – 2007. – Vol. 40, № 1. – P. 17–23.
274. The role of interleukins in the seizures development / E. L. J. M. Van Luijtelaaar, A. M. L. Coenen, A. Shandra [et al.] // *Proceedings of XIVth Conference on Polish League Against Epilepsy*. – 2000. – P. 112–113.
275. The role of nitric oxide in convulsions induced by lindane in rats / D. Hrcic, A. Rasic–Markovic, D. Djuric [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2011. – Vol. 49, № 4. – P. 947–954.
276. The role of nitric oxide in the anticonvulsant effects of pyridoxine on penicillin–induced epileptiform activity in rats / M. Bosnak, M. Ayyildiz, M. Yildirim [et al.] // *Epilepsy Research*. – 2007. – Vol. 76, № 1. – P. 49–59.
277. The role of nitric oxide in the inhibitory effect of ghrelin against penicillin–induced epileptiform activity in rat / A. Aslan, M. Yildirim, M. Ayyildiz [et al.] // *Neuropeptides*. – 2009. – Vol. 43, № 4. – P. 295–302.
278. The role of nitric oxide on the convulsive behavior and oxidative stress induced by methylmalonate : an electroencephalographic and neurochemical study / L. F. Royes, M. R. Figuera, A. F. Furian [et al.] // *Epilepsy Research*. – 2007. – Vol. 73, № 3. – P. 228–37.

279. The role of superoxide dismutase and alpha-tocopherol in the development of seizures and kindling induced by pentylenetetrazol – influence of the radical scavenger alpha-phenyl-N-tert-butyl nitron / C. Rauca, I. Wiswedel, R. Zerbe [et al.] // *Brain Research*. – 2004. – Vol. 1009, № 1/2. – P. 203–212.
280. Vigilance and EEG power in rats : effects of potent inhibitors of the neuronal nitric oxide synthase / E. Dzolic, R. van Leeuwen, R. de Vries, M. R. Dzolic // *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. – 1997. – Vol. 356, Issue 1 P. 56–61.
281. Vrijmoed-de Vries M. C. Differential effects of striatal injections of dopaminergic, cholinergic and GABAergic drugs upon swimming behavior of rats / M. C. Vrijmoed-de Vries, A. R. Cools // *Brain Research*. – 1986. – Vol. 364, № 1. – P. 77–90.
282. Wegener G. Endogenous nitric oxide decreases hippocampal levels of serotonin and dopamine in vivo / G. Wegener, V. Volke, R. Rosenberg // *British Journal of Pharmacology*. – 2000. – Vol. 130. – P. 575–580.
283. Wegener G. Nitric Oxide Synthase Inhibitors as Antidepressants / G. Wegener, V. Volke // *Pharmaceuticals*. – 2010. – Vol. 3. – P. 273–299.
284. West A. R. Striatal nitric oxide signaling regulates the neuronal activity of midbrain dopamine neurons in vivo / A. R. West, A. G. Anthony // *Journal of Neurophysiology*. – 2000. – Vol. 83. – P. 1796–1808.
285. Williams J. A. Nitric oxide production in rat thalamus changes with behavioral state, local depolarization, and brainstem stimulation / J. A. Williams, S. R. Vincent, P. B. Reiner // *The Journal of Neuroscience*. – 1997. – Vol. 17. – P. 420–427.
286. Wojtal K. Is nitric oxide involved in the anticonvulsant action of antiepileptic drugs? / K. Wojtal, A. Gniatkowska-Nowarowska, S. J. Kruczwar // *Polish Journal of Pharmacology*. – 2003. – Vol. 55, № 4. – P. 535–542.
287. 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 : European Journal of Epilepsy. – 2010.
– Vol. 19, № 2. – P. 102–108.