

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

КОПЙОВА Надія Вікторівна

УДК 612.017.1:612.8.062;612.821.7+616.853

**ДИСЕРТАЦІЯ**

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ХРОНІЧНОЇ СУДОМНОЇ АКТИВНОСТІ  
В УМОВАХ МОДЕЛІ ЕПІЛЕПТИЧНОГО СИНДРОМУ, ІНДУКОВАНОГО  
ЗА ДОПОМОГОЮ ПІЛОКАРПІНУ  
(експериментальне дослідження)

14.03.04 – патологічна фізіологія

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ Н.В.Копйова

Науковий керівник: Шандра Олексій Антонович, заслужений діяч науки і  
техніки України, доктор медичних наук, професор

Одеса – 2018

## АНОТАЦІЯ

*Копйова Н. В.* Патолофізіологічні механізми хронічної судомної активності в умовах моделі епілептичного синдрому, викликаного за допомогою пілокарпіну. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія» (22 – Охорона здоров'я). - Одеський національний медичний університет МОЗ України, Одеса, 2018.

Дисертація присвячена дослідженню патолофізіологічних механізмів розвитку відтермінованих спонтанних судом за умов пілокарпін-індукованої хронічної моделі епілептичної активності в щурів, а також оцінки динаміки зміни поведінки тварин для розробки прогностичних критеріїв розвитку спонтанних судом.

Після введення пілокарпіну (380 мг/кг, в/очер) у щурів розвивається комплекс поведінкових і електрографічних порушень, що є характерними для епілептичного статусу, який характеризується високою летальністю, стадійністю і розвитком відтермінованих спонтанних судом. В середньому через 70-90 хв після введення пілокарпіну у щурів відзначаються гострі судоми, внаслідок яких гине 16,0 % тварин. Через 20-25 діб після введення пілокарпіну у 83,3 % тварин розвиваються спонтанні судоми, тривалість яких становить 40-48 діб, з максимальною їх представленістю протягом 40 діб з моменту ініціації. Характеристики спонтанних судом різнилися від незначних за виразністю міофасціальних здригань і оральних автоматизмів (20,0 %), міоклонічних скорочень м'язів передніх і задніх кінцівок з переважанням м'язової активності м'язів передніх кінцівок (5,7 %), до дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів передніх кінцівок (74,3 %).

Виявлено пряму залежність збільшення кількості епізодів спонтанної судомної активності від тривалості та інтенсивності гострої стадії судомних реакцій в умовах моделі пілокарпін-індукованого епілептичного синдрому. Спонтанні судоми не розвивалися в разі припинення ЕС через 15 хв після його

початку. Доведено, що в разі індукції спонтанних судом пілокарпіном їх тривалість підлягає циклічному характеру з періодичністю в 5-8 діб. При щоденному підрахунку кількості спонтанних судом протягом 40 діб спостереження з моменту, коли в щурів відзначалися пілокарпін-індуковані спонтанні судоми, ми відзначали в середньому від 5 до 8 циклів спонтанних судом у піддослідних тварин.

На підставі аналізу даних електроенцефалографічної (ЕЕГ) реєстрації у тварин зі спонтанними судомами вперше показано, що у 65,7 % щурів вентральний гіпокамп був першим утворенням мозку при ініціації спонтанних судом, в якому посилювалася електрографічна активність. У 22,9 % випадків гіпокамп і кора мозку синхронно починали генерувати надмірну електричну активність. У 11,4 % щурів ЕЕГ-судомна активність починалася з фронтальних відділів кори. Зареєстрований нами характер ЕЕГ змін при спонтанних судомах у щурів характеризувався чергуванням в ЕЕГ під час спонтанних судом епізодів зі спайковими потенціалами і епізодів з низкоамплитудною активністю. Маніфестація спонтанних судом виникала внаслідок вираженого ( $p < 0,05$ ) переважання амплітуди хвиль  $\alpha$ - та  $\delta$ -діапазонів в гіпокампі.

Отримані дані, з урахуванням функціональної активності стосовно регуляції реактивності мозку та належності щодо епілептичної та антиепілептичної системи вентрального гіпокампу, верхніх горбиків чотиригорбикового тіла та фронтального відділу кори мозку в механізмах розвитку спонтанних судом, свідчать про опосередкування процесу розповсюдження судомної активності у мозку цими структурами. Тому що виражене скорочення тривалості гострих генералізованих пілокарпін-викликаних судом зазначається у разі попередньої деструкції вентрального гіпокампу, фронтальних відділів кори або стимуляції верхніх горбиків чотиригорбикового тіла. При цьому спонтанні пілокарпін-індуковані судоми у щурів не розвиваються. У разі стимуляції вентрального гіпокампу, фронтальних відділів кори або деструкції верхніх горбиків чотиригорбикового тіла були отримані зворотні результати.

З урахуванням того, що при пілокарпін-викликаному хронічному судомному синдромі відтворюються деякі поведінкові, патоморфологічні, електрографічні порушення, а також спонтанні судоми, ми досліджували ефективність протисудомних препаратів з різним механізмом реалізації антиепілептичного ефекту - діазепаму, фенобарбіталу, вальпроєвої кислоти, дифенілгідантоїну і карбамазепіну - в умовах розвитку спонтанних відтермінованих судом.

Виявлено, що антиепілептичну дію відносно спонтанних судом надавали діазепам, фенобарбітал та вальпроєва кислота дозами  $9,64 \pm 0,98$  мг/кг,  $15,53 \pm 1,54$  мг/кг,  $284,50 \pm 27,30$  мг/кг, відповідно. Протисудомні ефекти цих препаратів корелювали з нормалізацією моторної активності тварин у тесті «відкрите поле» ( $p < 0,05$ ) та емоційної поведінки ( $p < 0,05$ ). Разом з тим дифенілгідантоїн і карбамазепін не впливали на виникнення судом. Зважаючи на механізм реалізації протисудомної дії діазепаму, фенобарбіталу і вальпроєвої кислоти, ймовірно, що до патогенетичних механізмів пілокарпін-індукованих спонтанних судом залучені процеси компрометації ГАМК-ергічного гальмування.

Отримані дані щодо протисудомної дії діазепаму, фенобарбіталу та вальпроєвої кислоти є перспективними для розробки патогенетично обґрунтованих методів лікування хронічних форм епілепсії, що характеризуються розвитком відтермінованих спонтанних судом.

Розвитку спонтанних судом передують редукція спонтанної моторної активності та дослідницької поведінки, підсилення виразності емоційної поведінки, а також когнітивні дисфункції. Після введення пілокарпіну у тварин спостерігається розвиток порушень різних типів поведінки. Порушення рухової активності і компонентів стереотипної поведінки в тесті «відкрите поле» характеризується поступовим, протягом 20-25 днів після введення конвульсантів, зниженням показників горизонтальної та вертикальної рухової активності, редукцією дослідницької поведінки, а також посиленням виразності стереотипної поведінки - епізодів грумінгу та кількості дефекацій.

Найбільша виразність змін рухової активності і компонентів стереотипної поведінки в тесті «відкрите поле» відзначається протягом перших 10 днів після введення пілокарпіну.

Нами були вивчені особливості змін емоційної поведінки в динаміці розвитку спонтанних судом при їх індукції пілокарпіном. Для визначення переважання агресивного або захисного типів поведінки були з'ясовані особливості емоційної поведінки щурів при відтворенні конфліктних ситуацій. Показано, що в умовах пілокарпін-викликаного хронічного епілептогенеза у щурів, у яких розвиваються спонтанні судоми, зростає опір при спробі взяття їх в руки і повністю зникає дослідницька активність в тесті з 8-променевим радіальним лабіринтом.

Так, через 1 день з моменту введення пілокарпіну щури демонстрували посилення орієнтовно-дослідницької поведінки, але через 25 днів така поведінка в лабіринті практично була відсутня. При цьому виразність дослідницького типу поведінки в контрольних спостереженнях, а також у щурів з введенням пілокарпіну, у яких спонтанні судоми не розвивалися, була досить високою в цих модельних умовах. Найбільш виражені зміни дослідницького і емоційного видів поведінки спостерігалися вже через 10 днів після введення пілокарпіну. В цей час у тварин не змінюється поріг больових реакцій, що свідчить про специфічність зареєстрованих змін поведінки.

Встановлено, що у тих щурів, у яких згодом розвивалися спонтанні судоми, когнітивні порушення проявлялися погіршенням формування харчового умовного рефлексу, неможливістю його збереження, а також його більш швидким згасанням - відсутність опору при гальмуванні умовного рефлексу при відсутності умовного підкріплення. Виявлені мнестичні дисфункції були характерними тільки у щурів з пілокарпін-викликаними спонтанними судомними реакціями. У щурів без судомних проявів подібні когнітивні порушення були відсутні. Розвиток когнітивних дисфункцій є однією з характерних особливостей пілокарпін-індукованих спонтанних судом, причому вираженість їх порушення прогресувала в міру збільшення

часу після введення конвульсантів, досягаючи максимуму під час розвитку безпосередніх спонтанних судомних реакцій.

При цьому показано, що розвиток спонтанних судом супроводжувався подальшим формуванням когнітивних дисфункцій. Беручи до уваги нейропатоморфологічні зміни підкіркових структур мозку і кори мозку тварин, в умовах пілокарпін-викликаного хронічного судомного синдрому, тривалі порушення короткочасної і довготривалої пам'яті щурів в наших модельних умовах є наслідком індукованої конвульсантами загибелі нейронів структур лімбічної системи, які мають значення в забезпеченні мнестичних функцій.

Розвиток спонтанних судом, спричинив формування у щурів порушень поведінкових реакцій, що пов'язано зі змінами у гіпокампі та фронтальній корі, про це свідчить позитивний ефект застосування антиконвульсантів, точкою прикладення яких є гіпокамп. Кореляція поведінки та розвитку спонтанних судом обумовлена тим, що поведінка пов'язана з підкірковими структурами залученими в епілептичну систему, тому тонкі здвиги поведінки можуть служити прогностичними критеріями тяжкості і тривалості спонтанних судом. Патофізіологічні механізми порушень деяких типів поведінки і формування спонтанних судомних реакцій, є односпрямованими і схожими.

Отримані результати щодо зміни поведінки протягом латентного періода після введення конвульсивної дози пілокарпіну є єдиною клінічною ознакою, яка передуює розвитку спонтанних судом, оскільки подібні поведінкові зміни були відсутні у щурів, у яких не відзначали розвиток пілокарпін-викликаних відтермінованих спонтанних судом. Виявлені когнітивні порушення в умовах розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом свідчать про адекватність використаної моделі відповідному клінічному стану, що дозволяє рекомендувати її використання при фундаментальних дослідженнях, присвячених з'ясуванню патофізіологічних механізмів розвитку спонтанної судомної активності і розробки методів її комплексної патогенетичної корекції.

Результати дисертаційної роботи мають важливе значення для розширення існуючих уявлень про механізми формування відтермінованих спонтанних судом в умовах їх індукції пілокарпіном.

*Ключові слова:* пілокарпін, спонтанні судоми, хронічна судомна активність, рухова, емоційна поведінка, патофізіологічні механізми.

*Список публікацій здобувача за темою дисертації*

1. Шандра О. А., Копйова Н. В. Патофизиологические механизмы развития спонтанной судорожной активности. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2008. № 2 (14). С. 7–17. *Внесок дисертанта: участь в розробці загальної концепції теми та схеми проведення наукової роботи*

2. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Особенности эмоциональной поведінки щурів в динаміці розвитку пілокарпін-спричинених спонтанних судом. *Український медичний альманах*. 2009. Т. 12, № 1. С. 28–33. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, аналіз та статистична обробка результатів, оформлення статті до друку.*

3. Копйова Н. В. Спонтанна судомна активність за умов пілокарпін-індукованого епілептичного статусу: характеристика моделі. *Досягнення біології та медицини*. 2009. № 1 (13). С. 17–23.

4. Копйова Н. В. Динаміка формування когнитивних дисфункцій як одна з характеристик моделі спонтанних судом за умов пілокарпін-спричиненої хронічної епілепсії. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2009. Т. 9, Вип. 2 (26). С. 62-66. (Питання експериментального використання лабораторних тварин у медицині, біології, ветеринарії: статті Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Полтава, 2009 р.)

5. Копйова Н. В. Дослідження рухової та емоційної поведінки щурів за умов пілокарпін-індукованої моделі спонтанних судом. *Український медичний альманах*. 2009. Т. 12, № 2, додаток. С. 102–104.

6. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Патофизиологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-

вызванного эпилептического статуса. *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2009. № 3 (17). С. 135-145. *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення статті до друку.*

7. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Дослідження ролі серединних ядер таламусу в механізмах розвитку спонтанних судом. *Перспективи медицини і біології*. 2010. Т. 2, № 2. С. 28-30. *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення статті до друку*

8. Вастьянов Р. С., Копьева Н. В. Различные эффекты некоторых противосудорожных препаратов в условиях пилокарпин-вызванных спонтанных судорог. *Український медичний альманах*. 2010. Т. 13, № 4. С. 24–26. (Актуальні питання соматоневрології: матеріали наук.-практ. конф., м. Луганськ, 28-29 жовтня 2010 р.). *Внесок дисертанта: участь в розробці загальної концепції наукової роботи, оформлення статті до друку.*

9. Kopyyova N. V. Roles of the Frontal Cortex and Subcortical Structures in the Mechanisms Underlying the Development of Pilocarpine-Induced Seizures in Rats. *Neurophysiology*. 2014. Vol. 46, N 3. P. 281-283.

10. Копйова Н. В., Ляшенко С. Л., Топал М. М. Дослідження патогенетичних механізмів спонтанних судом за умов пілокарпін-спричиненої моделі хронічного судомного синдрому. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015. Vol. 5, N 8. P. 159-176. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, участь в оцінці результатів, оформлення статті до друку.*

11. Копйова Н. В. Особенности модели спонтанных, хронических судом, индуцированных пилокарпином. *Бюлетень VI читань ім. В.В. Подвисоцького, присвячених до 150-річчя з дня народження*, м. Одеса, 31 трав.- 1 черв. 2007 р. Одеса, 2007. С. 79–80.

12. Дизрегуляторные механизмы хронической эпилептической активности / Шандра А. А., Денисенко О. В., Копьева Н. В., Кащенко О. А.



*Патогенез*. 2007. Приложение 1. С. 26. (Тезисы Объединенного пленума Российского и Московского научных обществ патофизиологов, посвященный 85-летию академика Крыжановского Г. Н., г. Москва, 13–14 ноября 2007 г.).  
*Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, участь у систематизації та оформленні тез до друку.*

13. Роль эпилептогенных систем в развитии хронической эпилептической активности / Шандра А. А., Копйова Н. В., Вастьянов Р. С., Кащенко О. А. *Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти*. 2008. Т. 4, № 1 (додаток). С. 71. (Матеріали IV конф. Україн. товариства нейронаук, присв. 100-літтю з дня народж. ак. НАН України П.М. Серкова, м. Донецьк, 10–12 червня 2008 р.). *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку.*

14. Шандра А. А., Копьёва Н. В. Электрографическая характеристика самопроизвольных отсроченных судорог у крыс в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса. *Патологія*. 2008. Т. 5, № 2. С. 84. (Матеріали V націон. конгресу патофізіологів України «Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів», м. Запоріжжя, 17–19 вересня 2008 р.). *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку.*

15. Vastyanov R., Kopyova N., Shandra A. Antiepileptic effect of high-frequency stimulation and bilateral anterior thalamic nucleus lesions on pilocarpine-induced status epilepticus and spontaneous seizures. *Abstracts from the 8<sup>th</sup> Eur. Congr. on Epileptology*. Berlin, 21–25 September 2008. P. 193–194. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів.*

16. Копьёва Н. В. Патофизиологические механизмы отсроченных пилокарпин-вызванных спонтанных судорог. *Актуальные проблемы клинической неврологии: материалы всерос. юбил. науч.-практ. конф., посв. 85-*

летию проф. Лобзина В. С., г. Санкт-Петербург, 29-30 сент. 2009 г. СПб., 2009. С. 212–213.

17. Копйова Н. В. Дослідження механізмів розвитку спонтанної судомної активності за умов пілокарпін-індукованих судом. *Фізіологічний журнал*. 2010. Т. 56, № 2. С. 38–39. (Матеріали XVIII з'їзду Українського фізіологічного товариства з міжнар. участю, м. Одеса, 20–22 трав. 2010 р.)

18. Копйова Н. В. Модель пілокарпін-індукованих спонтанних відстрочених судом в якості методики вивчення патофізіологічних механізмів хронічного епілептогенезу. *Сучасні проблеми атеросклерозу – від гіпотез до фактів*: тези доповідей VII Південноукраїнської наук.-практ. конф., м. Одеса, 11 квітня 2012 р. Одеса., 2012. С. 119.

19. Копйова Н. В. Характеристика пілокарпін-спричинених відтермінованих спонтанних судом у щурів. *Бюллетень XI чтений им. В.В. Подвысоцкого*, г. Одесса, 24-25 мая 2012 г. Одесса, 2012. С. 74–75.

20. Копйова Н. В., Топал М. М. Дослідження електричної активності мозку щурів за умов пілокарпін-індукованого хронічного судомного синдрому. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини*: тези наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присв. 100-річчю з дня народження К. Д. Двужильної, м. Одеса 2013 р. Одеса, 2013. С. 45. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення результатів, виступ з доповіддю на конференції..*

21. Копйова Н. В. Провідна роль вентрального гіпокампу в регуляції збудливості мозку в умовах пілокарпін-індукованих спонтанних судом. *Фізіологічний журнал*. 2014. Т. 60, № 3 (додаток). С. 40. (Тези доповідей XIX з'їзду Українського фізіолог. тов. ім. П.Г. Костюка з міжнар. участю, присв. 90-річчю від дня народження ак. П.Г. Костюка, м. Київ, 26-29 трав. 2014 р.)

22. Копйова Н. В. З'ясування патофізіологічної ролі фронтальної кори мозку та підкіркових утворень в механізмах розвитку спонтанних пілокарпін-індукованих судом. *Тези доповідей VI міжн. конгр. укр. товариства*

*нейронаук, присв. 90-річчю академіка НАН України та НАМН України П. Г. Костюка, м. Київ, 4-8 червня 2014 р. К., 2014. С. 76.*

## **SUMMARY**

*Корюва Н. В.* Pathophysiological mechanisms of chronic seizure activity in a model of epileptic syndrome, caused by using pilocarpine. - Qualification scientific work on the rights of manuscript.

Thesis for a scientific degree of Candidate of medical sciences (Doctor of philosophy) in speciality 14.03.04 «Pathological physiology» (22 – Health Care). - Odessa National Medical University Ministry of Public Health of Ukraine, Odessa, 2018.

The thesis is devoted to the study of pathophysiological mechanisms of delayed spontaneous seizures development under the conditions of pilocarpine induced chronic model of epileptic activity in rats, and to the assessment of the dynamics of behavioral changes in animals to develop prognostic criteria for spontaneous seizures development.

Upon administration of pilocarpine (380 mg/kg, i/peritoneum), a complex of behavioral and electrographic disorders specific to epileptic status characterized by high lethality, staging and development of delayed spontaneous seizures is developed in rats. On average, 70-90 minutes after administration of pilocarpine, acute seizures are observed in rats resulting in death of 16,0 % of animals. 20-25 days after administration of pilocarpine, spontaneous seizures with a duration of 40-48 days are developed in 70,0 % of animals, with their maximum representation 40 days after initiation. The characteristics of the spontaneous seizures varied from insignificant expressiveness of myofascial shudders and oral automatisms (20,0 %), myoclonic contractions of the muscles of the anterior and hind limbs, with a predominance of muscle activity of the anterior limbs muscles (5,7 %), to the small-amplitude myoclonic contractions of the muscles of the anterior limbs (74,3 %).

It was found the direct dependence of the increase in episodes of spontaneous seizure activity and the duration and intensity of the acute stage of seizure reactions

under the conditions of pilocarpine-induced epileptic syndrome model. Spontaneous seizures did not develop in the event EC was terminated 15 minutes after its start. It is proved that in the case of induction of spontaneous seizures by pilocarpine, their duration is cyclic with a periodicity of 5-8 days. With daily counting of spontaneous seizures during 40 days of observation, when pilocarpine-induced spontaneous seizures were observed in rats, we recorded on average 5 to 8 cycles of spontaneous seizures in the experimental animals.

Based on the analysis of the data of the electroencephalography (EEG) in animals with spontaneous seizures, it was demonstrated for the first time that in 65,7 % of rats, ventral hippocampus was the first brain formation, in which electrographic activity intensified, when spontaneous seizures are initiated. In 23,0 % of cases, the hippocampus and cerebral cortex synchronously began to generate excessive electrical activity. In 11 % of rats, the EEG-seizure activity began with the frontal cortex areas. The recorded EEG nature of changes during spontaneous seizures in rats was characterized by alternation of the episodes with spike potentials and those with low-amplitude activity in the EEG during spontaneous seizures. The manifestation of spontaneous seizures arose as a result of the expressed ( $p < 0,05$ ) predominance of the  $\alpha$ - and  $\delta$ -range wave amplitude in the hippocampus.

Taking into account functional activity as to the regulation of brain reactivity and the presence of epileptic and antiepileptic system with ventral hippocampus, upper humps of corpora quadrigemina and frontal cortex of the brain in the mechanisms of spontaneous seizures development, the data resulting from the study evidence the mediation of the process of seizure activity spread in the brain by subcortical formations and frontal section of the cerebral cortex. As the pronounced reduction in the duration of acute generalized pilocarpine-induced seizures is observed in the case of prior destruction of ventral hippocampus, frontal cortex or stimulation of the upper humps of corpora quadrigemina. In this case, spontaneous pilocarpine-induced seizures in rats do not develop. In the case of stimulation of the ventral hippocampus, frontal cortex or the destruction of the upper humps of corpora quadrigemina, the opposite results were received.

Taking into account that during pilocarpine-induced chronic seizure syndrome some behavioral, pathomorphological, electrographic disorders are reproduced as well as spontaneous seizures, we studied the efficiency of anticonvulsants with different mechanism of antiepileptic effect realization - Diazepam, Phenobarbital, valproic acid, Diphenylhydantoin and Carbamazepine – in the conditions of delayed spontaneous seizures.

It was found that Diazepam, Phenobarbital and valproic acid with doses  $9,64 \pm 0,98$  mg/kg,  $15,53 \pm 1,54$  mg/kg,  $284,50 \pm 27,30$  mg/kg, respectively, had antiepileptic effect against spontaneous seizures. The anticonvulsant effects of these drugs correlated with the normalization of motor activity of animals in the "open field" test ( $p < 0,05$ ) and emotional behavior ( $p < 0,05$ ). However, Diphenylhydantoin and Carbamazepine did not affect the onset of seizures. Due to the mechanism of anti-vascular effect of Diazepam, Phenobarbital and valproic acid, it is likely that the compromising processes of GABA-ergic inhibition are involved in pathogenetic mechanisms of pilocarpine-induced spontaneous seizures.

The data received on anticonvulsant effect of Diazepam, Phenobarbital and valproic acid are promising for the development of pathogenically justified therapeutic methods for the treatment of chronic forms of epilepsy characterized by the development of delayed spontaneous seizures.

The reduction of spontaneous motor activity and research behavior, enhancement of the expressiveness of emotional behavior as well as cognitive dysfunction precede the development of spontaneous seizures. After administration of pilocarpine, various behavioral disorders are observed in animals. The disorders of motor activity and components of stereotyped behavior in the "open field" test are characterized by gradual, within 20-25 days after the administration of convulsants, reduction in the indicators of horizontal and vertical motor activity, reduction of research behavior, as well as increased expressiveness of stereotypical behavior—grooming episodes and number of defecations. The greatest expressiveness of changes in motor activity and components of stereotyped behavior in the "open field" test is observed within the first 10 days after administration of pilocarpine.

We studied the peculiarities of changes in emotional behavior in the dynamics of pilocarpine-induced spontaneous seizures development. To determine the predominance of aggressive or protective types of behavior, the peculiarities of emotional behavior of rats when reconstructing conflict situations were clarified. It has been shown that in the conditions of pilocarpine-induced chronic epileptogenesis in rats, in whom spontaneous seizures develop, the resistance increases when you attempt to take them into hands, and the research activity completely disappears in the test with an 8-beam radial labyrinth.

Thus, 1 day after the administration of pilocarpine, the rats demonstrated an increase in orientating research behavior, but in 25 days, such behavior in the labyrinth were not almost observed. At the same time, the expressiveness of the research behavior in control observations, as well as in the rats with administered pilocarpine, in which spontaneous seizures did not develop, was quite high in these model conditions. The most pronounced changes in research and emotional behaviors were observed 10 days after the administration of pilocarpine. At this time, the threshold of pain reactions was not altered in animals, this is the evidence of the specificity of the recorded behavioral changes.

It was found that cognitive disorders were manifested by the deterioration of the formation of food conditioned reflex, impossibility of its preservation, as well as its more rapid extinction - no resistance in the conditioned reflex inhibition in the absence of conditional reinforcement in those rats, in whom then spontaneous seizures developed. The revealed mnemonic dysfunctions were characteristic only in rats with pilocarpine-induced spontaneous seizure reactions. In rats without seizure manifestations, no such cognitive disorders were observed. The development of cognitive dysfunctions is one of the characteristic features of pilocarpine-induced spontaneous seizures, moreover, the severity of their disorders progressed as the time after administration of convulsants increased, reaching the maximum during the development of direct spontaneous seizures reactions.

Therewith, it was demonstrated that the development of spontaneous seizures was accompanied by further formation of cognitive dysfunctions. Taking into

account the neuropathomorphological changes of subcortical cerebral structures and cerebral cortex of animals in the conditions of pilocarpine-induced chronic seizure syndrome, long-term disorders of short-term and long-term memory of rats in our model conditions are a consequence of convulsant-induced death of neurons in the structures of the limbic system, which are important in the provision of mnemonic functions.

The development of spontaneous seizures caused the formation of behavioral reaction disorders in rats that is associated with changes in the hippocampus and frontal cortex, as evidenced by the positive effect of anticonvulsants administration, which application point is hippocampus. The correlation between behavior and spontaneous seizures development is due to the fact that the behavior related to subcortical structures involved in the epileptic system, therefore, subtle behavioral changes may serve as prognostic criteria for severity and duration of spontaneous seizures. Pathophysiological mechanisms of disorders of certain behavior types and the formation of spontaneous seizure reactions are unidirectional and similar.

The results received in the study concerning behavioral changes during latent period after administration of the convulsive dose of pilocarpine are the only clinical signs preceding the development of spontaneous seizures, since such behavioral changes were not present in rats, in whom the development of pilocarpine-induced delayed spontaneous seizures.

The revealed cognitive disorders in the conditions of development of pilocarpine-induced spontaneous seizures evidence that the model used corresponds with clinical condition, and this allows recommending its use in fundamental studies devoted to the identification of pathophysiological mechanisms of spontaneous seizure activity development and the development of methods for its complex pathogenetic correction.

The results of the thesis are important to extend the existing conceptualization of the mechanisms of formation of delayed spontaneous seizures under the conditions of their pilocarpine induction.

*Key words:* pilocarpine, spontaneous seizures, chronic vascular activity, motion, emotional behavior, pathophysiological mechanisms.



## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ .....	19
ВСТУП .....	20
РОЗДІЛ 1 ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ СПОНТАННИХ ВІДТЕРМІНОВАНИХ ПІЛОКАРПІН–ВИКЛИКАНИХ СУДОМ (огляд літератури) .....	28
1. 1. Базисні системні механізми хронічного епілептогенезу.....	28
1. 2. Значення холінергічних механізмів у модуляції епілептичної активності.....	31
1. 3. Спонтанна судомна активність в умовах моделей хронічної епілепсії: характеристика та механізми	36
1. 4. Порушення поведінки у щурів під час спонтанних судом .....	46
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	50
2. 1. Експериментальні тварини .....	50
2. 2. Особливості введення пілокарпіну .....	51
2. 3. Реєстрація спонтанних судом у щурів .....	52
2. 4. Введення антиепілептичних препаратів .....	52
2. 5. Операційна підготовка тварин: вживлення електродів для реєстрації електричної активності. Реєстрація біоелектричної активності мозку і внутрішньомозкове введення .....	53
2. 6. Поведінкові тести .....	54
2. 7. Дослідження процесів формування умовних рефлексів .....	56
2. 8. Електрична стимуляція і руйнування структур мозку .....	58
2. 9. Препарати, застосованні в роботі .....	59

	2. 10. Статистична обробка результатів досліджень ....	59
РОЗДІЛ 3	Особливості розвитку спонтанної судомної активності в умовах пілокарпін-викликаного епілептичного статусу .....	60
РОЗДІЛ 4	Дослідження патофізіологічних механізмів розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом .....	82
	4. 1. Визначення структур мозку, відповідальних за поширення епілептичної активності після введення пілокарпіну .....	82
	4. 2. Тестування ефектів деяких протиепілептичних препаратів в умовах пілокарпін-індукованих спонтанних судом. ....	96
РОЗДІЛ 5	Особливості моторної, емоційної поведінки, больової чутливості і когнітивних дисфункцій щурів в динаміці формування пілокарпін-викликаних спонтанних судом .....	112
	5. 1. Дослідження поведінки в тесті «відкрите поле»	114
	5. 2. Дослідження емоційної поведінки . ....	122
	5. 3. Дослідження емоційної поведінки в тесті 8-променевого радіального лабіринту .....	124
	5. 4. Дослідження больової чутливості. ....	128
	5. 5. Дослідження здатності щурів із пілокарпін-індукованим хронічним судомним синдромом щодо умовно-рефлекторної активності .....	130
	АНАЛІЗ І ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	142
	ВИСНОВКИ .....	161
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	163
	ДОДАТКИ.....	193

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ,  
ТЕРМІНІВ

АЕС	- антиепілептична система
ВК	- вальпроєва кислота
ГППЗ	- генератор патологічно підсиленого збудження
ЕЕГ	- електроенцефалограма
ЕпА	- епілептична активність
ЕС	- епілептичний статус
ДСП	- дельта-сон індуючий пептид
ДО	- детермінантний осередок
ДС	- детермінантна структура
КБЗ	- карбамазепін
КК	- каїнова кислота
КП	- коркове представництво
КРГ	- кортикотропін-релізинг гормон
МЕС	- мікроелектростимуляція
ПТЗ	- пентиленететразол
ПТФ	- пентоксіфілін
ПС	- патологічна система
СС	- спонтанні судоми

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Епілепсія характеризується хронічним перебігом і виникненням повторних судом [1-15]. Дане захворювання представляє собою велику групу клінічних станів, яким піддаються люди різного віку [16-25]. За даними, оприлюдненими на 11-му Європейському Конгресі з Епілептології в Стокгольмі (2015 р.), різними формами епілепсії та її ускладненнями страждають близько 1,7-2,4 % населення Землі [18]. Згідно з результатами популяційних досліджень, що були проведені в розвинутих країнах, частота виникнення епілепсії коливається у межах 0,28-0,53 на 1 тис. населення [26]. У країнах, що розвиваються, дані про розповсюдженість цього захворювання дуже різняться, наприклад, 3,6 на 1 тис. – в Індії, до 4,0 на 1 тис. – в сільських районах Нігерії [14, 27-32]. В країнах СНД цей показник становить 0,96-1,0 на 1 тис. населення [19].

Частота нових випадків захворювання на рік у світовому масштабі становить у середньому 0,04 %, однак відмічаються коливання у дитячому віці – 0,9 на 1 тис. на рік, у середньому – 0,2, в осіб віком від 60 років – 0,6 [33-35]. Середня захворюваність складає 0,4 на 1 тис. населення [36]. На жаль, чітких статистичних даних про захворюваність та розповсюдженість епілепсії в Україні серед дорослого населення немає [37-40]. Відомо лише, що дітей з епілептичною хворобою в Україні - майже 26 тисяч [41-43].

Одним з проявів судомного синдрому є розвиток спонтанних судом [44-51], які є максимальним ступенем епілептизації мозку [52, 53] та охоплення надмірним збудженням ділянок скроневої, піріформної та/або перірінальної кори головного мозку [54-57]. Часто реєстрація відтермінованих спонтанних судом (СС) є початковим симптомом епілепсії. В експериментальних умовах відтерміновані спонтанні судоми спостерігаються на моделях електричного та хімічного кіндлінга, а також епілептичного статусу (ЕС) [51, 58-63].

Актуальним є вивчення електрофізіологічних явищ, що відбуваються в мозку тварин під час латентної фази хронічної епілептичної активності (ЕпА) після припинення гострих судомних нападів і до моменту ініціації спонтанних

судом [64-67]. Розуміння цих процесів наблизить нас до вивчення патофізіологічних механізмів відтермінованих судом і дозволить розробити експериментально обґрунтовані методи патогенетичної корекції хронічної епілепсії.

При дослідженні патофізіологічних механізмів хронічної епілепсії важливо обрати адекватну модель епілептогенезу [68]. Враховуючи дані літератури, а також одні з останніх розробок співробітників кафедри, для відтворення відтермінованих спонтанних судом була обрана модель епілепсії з введенням агоністу мускаринових холінергічних рецепторів пілокарпіну (ПЛ) [69, 70]. В умовах даної моделі можливо відтворювати парціальні форми епілептичного синдрому з подальшою вторинною генералізацією, формуванням ЕС і розвитком спонтанних судом, що дозволяє вважати її адекватною для дослідження патофізіологічних механізмів розвитку та припинення ЕпА [71-74].

Отже, пілокарпін-індукована модель хронічного епілептичного синдрому характеризується, крім виникнення гострих судом, ще й стадією відтермінованих спонтанних судом, які розвиваються в середньому через 20-40 діб з моменту індукції [69, 70, 75-78]. При цьому деякі дослідники відзначають кореляцію латентного періоду розвитку спонтанних судом з дозою пілокарпіна [79], тривалістю стадії гострих судом [70] і загальною тривалістю ЕС, а також зі ступенем загибелі пірамідних нейронів гіпокампу [80]. Так, на думку Klitgaard H. [70], тривалість гострих судом в умовах пілокарпін-викликаної моделі ЕС протягом як мінімум 30 хв зумовлює виникнення в майбутньому спонтанної ЕпА.

Переважному ураженню в цих умовах піддаються утворення гіпокампу, що, заперечується деякими вченими. Неясними є структури мозку, відповідальні за ініціацію даного типу хронічних судом. Цілком можливо припустити при цьому, що виникнення спонтанних судом і їх підтримання реалізуються внаслідок стимуляції декількох утворень мозку. Невивченими є дані, що характеризують судомні реакції тварин під час спонтанних судом. Не досліджені поведінкові реакції тварин, наприклад, їх спонтанна локомоторна

активність в тесті «відкритого поля», емоційна, харчова та інші види поведінки, та їх зв'язок з розвитком СС. До числа можливих патогенетичних механізмів спонтанних судом слід віднести недостатню активність нейрофізіологічного і нейрохімічного протисудомного захисту мозку, який має в тому числі й нейропептидну природу [81-90].

Враховуючи все викладене вище, актуальним є дослідження патофізіологічних механізмів відтермінованих спонтанних судом в умовах пілокарпін-викликаної хронічної моделі ЕпА у щурів і розробка її експериментальної корекції.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертація виконана в рамках науково-дослідної роботи кафедри фізіології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) МОЗ України “Нейропатофізіологічний аналіз механізмів розвитку скроневої епілептичної активності та розробка методів її корекції” (№ держреєстрації 0111U003345). Дисертант є співвиконавцем цієї теми.

### **Мета та завдання дослідження.**

*Мета* роботи - визначити патофізіологічні механізми та структурні субстрати розвитку відтермінованих спонтанних судом в умовах моделі пілокарпін-викликаної хронічної епілептичної активності у щурів, та участь поведінкових феноменів в формуванні патологічного процесу у цих тварин.

Відповідно до поставленої мети сформульовано такі завдання дослідження.

1. З'ясувати особливості відтворення пілокарпін-викликаних відтермінованих спонтанних судом у щурів, стадії та тривалість спонтанних судом.

2. Ідентифікувати електрографічні зміни активності в структурах головного мозку під час хронічної стадії пілокарпін-викликаного судомного синдрому.

3. Визначити структури мозку, що впливають на розвиток та поширення епілептичної активності в умовах хронічного епілептичного синдрому.

4. З'ясувати вплив протиепілептичних препаратів з різними механізмами реалізації дії на розвиток спонтанних судом

5. Визначити зв'язок змін рухової активності, емоційного стану та процесів навчання щурів з параметрами хронічної стадії пілокарпін-викликаного судомного синдрому за допомогою тесту «відкрите поле».

*Об'єкт дослідження* - патофізіологічні механізми розвитку хронічної епілепсії.

*Предмет дослідження* - патофізіологічні механізми відтермінованих спонтанних судом, відтворених за допомогою пілокарпіну, у щурів.

*Методи дослідження* - патофізіологічні, електрофізіологічні, фізіологічні, фармакологічні, статистичні.

#### **Наукова новизна одержаних результатів.**

Вперше показано, що у щурів після введення пілокарпіну відзначаються стадійні судомні, поведінкові та ЕЕГ-зміни, внаслідок яких через 20-25 днів розвиваються відтерміновані спонтанні судоми. Їх розвитку передують гострі судоми, вираженість, а також поведінкові і електрографічні характеристики, яких відрізняються від аналогічних параметрів спонтанних судом.

Вперше встановлено, що тривалість періоду, протягом якого у щурів спостерігаються спонтанні судоми, складає 40-48 днів. Виявлено пряму залежність збільшення числа епізодів спонтанної судомної активності (ССА) від тривалості та інтенсивності гострої стадії судомних реакцій в умовах моделі пілокарпін-індукованого епілептичного синдрому.

На підставі аналізу даних ЕЕГ-реєстрації у тварин зі спонтанними судомами вперше показано, що у 65,7 % щурів вентральний гіпокамп був першим утворенням мозку, в якому посилювалася електрографічна активність, при ініціації відтермінованих спонтанних судом.

Вперше показано різний характер і особливості розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом при локальній деструкції та електричної стимуляції серединних ядер таламуса і фронтальних відділів кори. При їх

стимуляції характер пілокарпін-викликаних спонтанних судом не відрізнявся від такого без модуляції активності ядер таламусу і неокортексу. При деструкції зазначених підкіркових і кіркових утворень розвиток відтермінованих спонтанних судом не було зареєстровано.

Вперше показано, що діазепам, фенобарбітал і вальпроєва кислота мають антиепілептичну дію за умов пілокарпін-викликаних спонтанних судом. Дифенілгідантоїн і карбамазепін не впливають на розвиток відтермінованих спонтанних судом, індукованих пілокарпіном. При цьому протисудомні ефекти діазепаму, фенобарбіталу та вальпроєвої кислоти у відношенні попередження розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом корелювали з нормалізацією під їх впливом моторної активності тварин у тесті «відкрите поле» та емоційної поведінки. Дифенілгідантоїн і карбамазепін не роблять впливу на пілокарпін - опосередковані порушення моторної активності щурів в тесті «відкрите поле» та емоційної поведінки.

Вперше показано, що у щурів протягом 20-25 днів після введення пілокарпіну зменшується вираженість активної дослідницької поведінки в тесті «відкрите поле», зростає опір спробам взяття в руки і повністю зникає дослідницька активність в тесті з 8-радіальним лабіринтом. Найбільш виражені зміни дослідницької і емоційної поведінки спостерігалися вже через 10 днів після введення пілокарпіну. В цей час у тварин не змінюється поріг больових реакцій.

Вперше показано, що розвиток спонтанних судом супроводжується зміною емоційної поведінки, спрямованої в бік посилення тривоги і страху. Вперше встановлено, що у тих щурів, у яких згодом розвивалися спонтанні судами, когнітивні порушення проявлялися погіршенням формування харчового умовного рефлексу, неможливістю його збереження, а також його більш швидким згасанням. При цьому показано, що розвиток спонтанних судом супроводжувався подальшим формуванням когнітивних дисфункцій.



### **Практичне значення отриманих результатів.**

Результати дисертаційної роботи мають важливе значення для розширення існуючих уявлень про механізми формування відтермінованих спонтанних судом в умовах їх індукції пілокарпіном.

Отримані результати щодо зміни поведінки протягом латентного періоду після введення пілокарпіну є єдиною клінічною ознакою, яка передуює розвитку спонтанних судом, оскільки подібні поведінкові зміни були відсутні у щурів, у яких не відзначали розвиток пілокарпін-викликаних відтермінованих спонтанних судом. Виявлені когнітивні порушення в умовах розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом свідчать про адекватність використаної моделі відповідному клінічному стану, що дозволяє рекомендувати її використання при фундаментальних дослідженнях, присвячених з'ясуванню патофізіологічних механізмів розвитку спонтанної судомної активності і розробки методів її комплексної патогенетичної корекції.

Отримані дані щодо протисудомної дії діазепаму, фенобарбіталу та вальпроєвої кислоти є перспективними для розробки патогенетично обґрунтованих методів профілактики та лікування хронічних форм епілепсії, що характеризуються розвитком спонтанних судом.

Отримані результати впроваджені в навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Івано-Франківського національного медичного університету, Запорізького державного медичного університету, кафедрах фізіології, загальної та клінічної патологічної фізіології та неврології Одеського національного медичного університету.

### **Особистий внесок здобувача**

Дисертація є самостійною науковою працею автора. Дисертантом особисто обрано напрям, об'єм і методи дослідження, проведено патентно-інформаційний пошук по темі дослідження, сформульовано мету і завдання дослідження. Автором особисто виконано весь обсяг експериментальних

досліджень та статистичну обробку отриманих результатів. Аналіз результатів, отриманих при відтворенні та дослідженні механізмів розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом, здійснено при участі професора, д. мед. н., Вастьянова Р.С., за що автор висловлює щирю подяку. Дисертантом самостійно проведено підготовку наукових праць до публікації, зроблено аналіз та узагальнення отриманих результатів, сформульовані висновки дисертації.

### **Апробація результатів дисертації.**

Основні матеріали і положення дисертаційної роботи представлені на: міжнародній науково-практичній конференції VI, і XI читаннях ім. В.В. Подвисоцького (Одеса, 2007, 2012), Об'єднаному пленумі Російського і Московського наукових товариств патофізіологів «Дизрегуляционная патология», присв. 85-річчю з дня народження академіка Г. М. Крижановського (Москва, 2007), IV конференції Українського товариства нейронаук, присв. 100-літтю з дня народження академіка НАН України П.М. Серкова (Донецьк, 2008), V національному Конгресі патофізіологів України з міжнародною участю “Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів” (Запоріжжя, 2008), 8 Європейському Конгресі з епілептології (Берлін, 2008), всеросійській Ювілейній науково-практичній конференції «Актуальные проблемы клинической неврологии», присвяченій 85-річчю з дня народження професора В. С. Лобзіна (Санкт-Петербург, 2009), науково-практичній конференції «Актуальні питання соматоневрології» (Луганськ, 2010), XVIII-му (Одеса, 2010) та XIX (Київ, 2014) з'їздах Українського фізіологічного товариства, VII Південноукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні проблеми атеросклерозу - від гіпотез до фактів» (Одеса, 2012), науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 100-річчю з дня народження К. Д. Двужильної «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини» (Одеса, 2013), VI Конгресі Українського товариства нейронаук, присв. 90-річчю академіка НАН України П. Г. Костюка (Київ, 2014).

**Публікації за темою дисертації.**

За матеріалами дисертації опубліковано 22 наукових праць: 9 статей у фахових наукових журналах, рекомендованих МОН України (з них 1 оглядова, 1 – у журналі, включеному до міжнародних наукометричних баз), 1 стаття в іноземному періодичному науковому журналі, 12 тез доповідей на міжнародних конференціях, з'їздах та конгресах.

## РОЗДІЛ 1

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ СПОНТАННИХ ВІДТЕРМІНОВАНИХ  
ПІЛОКАРПІН–ВИКЛИКАНИХ СУДОМ

## Огляд літератури

## 1.1 Базисні системні механізми хронічного епілептогенезу

Дослідження механізмів виникнення і розвитку нейропатологічних синдромів, які характеризуються гіперактивністю систем, дозволило Крижановському Г. М. і співавт. показати, що в основі їх розвитку лежить формування, під впливом патологічної детермінанти, патологічної системи (ПС), яка є новою патодінамичною організацією, що виникає з первинно і вторинно змінених утворень ЦНС, що надає дезадаптивного або прямого патогенного впливу на організм [91, 92].

ПС формується власне самою ушкодженою нервовою системою. Цей процес належить до типових патологічних процесів в нервовій системі, має універсальний характер і формується при різних нервових розладах. Сформувавшись, ПС може розвиватися прогредиєнтно і бути патофізіологічним підґрунтям нейропатологічних синдромів. Клінічний прояв функціонування ПС визначається тим, на базі якої фізіологічної системи вона сформована, а також від локалізації її детермінантної структури (ДС) і залежних частин ПС, які реалізують вплив детермінанти [93-95].

Відомо, що на моделі електростимуляційного та хімічного кіндлінгу також чітко простежується формування ДС, генеруючих зростаючі за амплітудою і частотою епілептиформні післярозряди, що залучають у спільну патологічну структурну організацію структури моторної кори іпсилатеральної півкулі мозку [96, 97]. Все це в цілому обумовлює збільшення інтенсивності поведінкових судом [98].

В лабораторії кафедри фізіології університету на моделі хімічного кіндлінга було встановлено, що гіпокамп відіграє роль патологічної

детермінанти у розвитку ЕС при кіндлінзі [99]. При цьому, також, як і на моделі епілептичного комплексу, найбільша потужність ЕпА відзначалася в ДС і менша - у вторинних, залежних ланках ЕпА [97]. З цим висновком узгоджуються результати досліджень [100], в яких у щурів з електростимуляційним кіндлінгом мигдалика показано, що розвиток повторних судомних післярозрядів в структурах гіпокампу обумовлює залучення мигдалика до генерацію вторинних післярозрядів, що призводить до прогресивного зростання тривалості ЕпА. Таким чином, за мірою повторення кіндлінгових стимуляцій відзначалося зростання потужності ЕпА і залучення в орбіту ЕС додаткових структур з формуванням вторинних і дзеркальних осередків в утвореннях обох півкуль [101].

Подібний висновок впливає також з спостережень про те, що швидкість поширення судомних післярозрядів корелює з появою поведінкових судом. При розвитку нападів інтенсивністю 5 балів судомна активність швидко охоплює базальні ганглії, таламус, неокортекс, в той час як під час судомних проявів виразністю в 1 бал епілептиформні післярозряди реєструються лише в мигдалику, який підлягає електричній стимуляції. За умов хімічного кіндлінгу також показано, що у тварин з розвинутим кіндлінгом початок ЕпА значно частіше носив дифузний характер. ЕпА в цих умовах з'являлася практично одночасно в різних структурах, в той час як протягом перших судомних нападів зазначався фокальний початок ЕпА в гіпокампі [97].

Після завершення розвитку повторних кіндлінгових випадків інтенсивністю 5 балів деструкція ДО, тобто структури підданої кіндлінговим стимуляціям, не впливає суттєво на генерацію ЕпА у вторинних структурах і судомні напади тієї ж інтенсивності можуть бути індуковані за допомогою електростимуляції будь-який з структур, що має виражені морфологічні зв'язки зі стимулюєчою структурою [102, 103]. Ці дані узгоджуються з результатами досліджень на моделі комплексу вогнищ з дослідження ефектів «виключення ДС».

Значущим є той факт, що, як показали результати ЕЕГ-досліджень у кішок і мавп, характер поширення судомної активності при кіндлінзі

однаковий у тварин різних видів [104]. Очевидно, що сформована при кіндлінгі мигдалини первинна патологічна детермінанта в цій структурі, генеруючи гіперсинхронну активність, змінює активність багатьох пов'язаних з нею проекційних нейронних мереж, сприяє їх «второванню» і обумовлює формування вторинних ДС, які індукують судомну активність в інших, пов'язаних з ДС структурах ЦНС. Зміцнення внутрішньосистемних зв'язків і стабілізація внаслідок цього епілептичної системи (ЕпС) є механізмом хронізації діяльності самої системи, і обумовлених її активністю клінічних проявів. Отже, розвиток ЕпС здійснюється за рахунок залучення в неї нових структур ЦНС і виникнення вторинних детермінант [91]. Особливості клінічних проявів ЕпС обумовлені багато в чому локалізацією та характером активності первинної ДС, а також вторинних вогнищ, які залучаються до формування ЕпС. Різна локалізація первинних ДС і формування різних ЕпС, мабуть, є патогенетичною основою різноманітних клінічних форм епілепсії.

Попередніми роботами співробітників кафедри та інших дослідників було доведено важливість збереження загального інтегративного контролю мозку (із збереженим механізмом негативного зворотнього зв'язку) у контролі реактивності мозку та принциповій можливості пригнічення активності патологічної детермінанти, яка в цьому випадку не в змозі забезпечити поширення процесів надмірного збудження по ланцюгам нервової системи та підсилити функціональну активність ПС [81]. В разі наявності контрольного пула нейронів зі стаціонарною кількістю ГАМК такий інтегративний контроль за функціонуванням ЦНС, проявом чого є функціонування ендогенної антиепілептичної системи (АЕС) [81], вважається достатнім щодо запобігання утворення ПС навіть при наявності детермінантного осередка збудження [91].

Таким чином, патогенетичні механізми хронічного судомного синдрому є складними, системними, інколи – із присутніми спадковими чинниками [105, 106], із пов'язаними між собою та зламаними механізмами взаємного контролю, негативним та позитивним «зворотнім зв'язком», активність яких протягом різних періодів хронічного судомного синдрому є різною [107, 108], від чого залежать поведінкові прояви цієї форми епілептогенезу, а також що

має стати мішенню для фармакотерапевтичних впливів для пригнічення активності просудомних системних механізмів мозку [109, 110].

## 1.2 Значення холінергічних механізмів у модуляції епілептичної активності

В останні роки все більш численними стають експериментальні та лабораторно-клінічні дослідження з залученням холінергічних механізмів в епілептогенезі [46, 70-79, 111-122]. Це пов'язано переважно з деякою клініко-експериментальною аналогією між холінергічними моделями і деякими нозологічними формами епілепсії у людей [75, 77, 123-125]. Показано, що в результаті введення тваринам агоністів мускаринових рецепторів у них розвиваються епілептиформні прояви, аналогічні таким при скроневої епілепсії у людей, включаючи, наприклад, латентну фазу, а також повторні спонтанні клонічні судоми [69, 77, 89].

Слід зазначити істотний інтерес в нейробиологічному відношенні, який викликає у фахівців функціональна роль ацетилхоліну (АЦХ) в регуляції функціональної активності ЦНС. Відомо, що АЦХ, його аналоги та інгібітори ацетилхолінестерази надають виражені просудомні ефекти при внутрішньомозковій мікроін'єкції [126-134] або при системному введенні [135, 136]. Показано також, що внутріамігдалярне [120, 137] і внутрігіпокампальне [117, 138] введення агоністів мускаринових холінергічних рецепторів викликає у щурів поведінкові і ЕЕГ-кореляти лімбічних судом, що супроводжуються поширеними ділянками ураження мозку, аналогічні такому при введеннях каїнової [139-141] і фолієвої кислоти [142, 143], а також, що особливо важливо, при дослідженні мозку пацієнтів, які померли від епілепсії [144]. Наведені дані дозволяють припускати, що порушення функціонування холінергічної системи в ЦНС може сприяти формуванню епілептиформної активності в лімбічних структурах. З іншого боку, численні дані свідчать про залучення холінергічних механізмів в регуляцію мнестичних процесів [145], а також у патофізіологічні механізми хвороб Альцгеймера [146] і Гентингтона

[147]. Показани також зміни під їх впливом настрою і в цілому поведінки людини [148-150].

Однак, всі питання про тісну взаємодію холінергічної системи і епілептогенеза були остаточно зняті після того, як вдалося встановити три основні чинники: по-перше, розвиток хронічної ЕпА після внутрішньомозкових введень АЦХ, його аналогів та інгібіторів ацетилхолінестерази [69, 75, 76, 113, 148, 151]. По-друге, атропін гальмував розвиток електростимуляційного амігдалярного кіндлінга у щурів [152] і, по-третє, підвищення концентрації АЦХ в ЦСР пацієнтів після судом [153]. Отже, на підставі наведених фактів можна зробити висновок, що системне і внутріамігдалярне введення тваринам холіноміметиків, поряд з бікукуллін-, пентілентетразол-, пікротоксін-, і електрошоковими моделями судом [154, 155], а також генетичними моделями епілепсії [68, 154], може мати застосування в якості різних адекватних моделей хронічного епілептогенеза і бути корисним для дослідження патофізіологічних механізмів скроневої епілепсії [117, 120, 125, 135, 138, 156-160].

Однією з найбільш часто використовуваних холінергічних моделей хронічної ЕпА стали судоми, викликані агонистом М-холінорецепторів (переважно, підтипів  $M_1$ - $M_5$ ) ПЛ, виділеним з листя звичайних південноамериканських кущів і з успіхом використовувалися раніше при лікуванні гострої глаукоми у людей. Показано, що, як системне, так і внутрішньошлуночкове введення ПЛ у великих дозах (300-400 мг/кг -  $ED_{50}$  284мг/кг) щурам і мишам, викликає поведінкові і електрографічні судомні прояви у тварин обох видів [117, 135]. Суттєвою проблемою цієї моделі є висока летальність тварин, яка становить від 28,0 % [161] до 85,0 % у щурів лінії Sprague-Dowley [125]. Велика частина тварин гине протягом 1-24 год після введення ПЛ протягом триваючого ЕС.

Пілокарпін при системному введенні викликає послідовні поведінкові і електрографічні зміни, які можуть бути розділені на три періоди [69, 76, 77, 89, 114, 161]:

- 1) гострий період ЕС, який може тривати до 24 год;



2) латентний період з прогресивною нормалізацією ЕЕГ і поведінки, який триває в межах від 4 до 25 днів;

3) хронічний період зі спонтанними повторюваними судомами 3-5 разів на тиждень (вони нагадують комплексні парціальні судоми у людей).

Електрографічний аналіз судомної активності, індукованої за допомогою ПЛ у щурів, показав, що перші прояви ЕпА з'являлися в гіпокампі раніше, ніж в мигдалині і неокортексі [69, 76]. На противагу цим даним Clifford D. Et al [125] повідомили, що ЕпА у щурів після введення як ПЛ, так і поєднання літію -ПЛ, починалася в вентральних відділах переднього мозку, зокрема, в вентральному відділі блідої кулі та/або *n. accumbens*. Показано, що важливою структурою мозку, відповідальною за ініціацію ЕпА при введенні ПЛ, є енторинальна кора, оскільки саме її афференти в поле  $CA_1$  гіпокампу здійснюють надійний гальмівний контроль збуджуваних колатералей Шаффера поля  $CA_3$  [162].

Таким чином, аналіз наведених даних дозволяє дійти висновку, що модель ПЛ-індукованих судом у щурів, представляє собою модель парціальних судом з подальшою вторинною генералізацією, ЕС, розвитком спонтанних судом, є досить адекватною для дослідження патофізіологічних механізмів розвитку та припинення ЕпА.

Вирішальним моментом ЕС, що викликається ПЛ, є його зв'язування з рецепторами постсинаптичних мембран. Джерелом епілептогенеза при цьому стає гіперзбудливість зубчастої звивини гіпокампа. Однак, починаючи з моменту, коли цей тест був запропонований, і з його допомогою були перевірені всі відомі протисудомні засоби, власне механізм ініціації судом ПЛ залишається неясним. Дійсно, за розвиток ЕС відповідають  $M_1$  холінорецептори, вони ж беруть участь в довгострокових ефектах - прояві наступних спонтанних судом. Остаточо їх участь доведено дослідями з нокаутом гена  $M_1$  - рецепторів на мишах, у яких не вдається викликати ПЛ-викликаний ЕС [163].

Мускаринові холінорецептори забезпечують широкий спектр фізіологічних функцій. Це підтверджується в нових роботах, в умовах

новітньої техніки блокади генів білків-рецепторів [164]. У мишей з блокадою гена  $M_1$ -рецептора був відсутній основний ефект *in vivo* - гідроліз фосфоінозитидів в гіпокампі і корі, у мишей з нокаутом рецепторів  $M_2$ -  $M_5$  він зберігався. У великій дозі (300 мг/кг) ПЛ викликав судоми і летальність у мишей з т.зв. «Диким типом рецепторів» і при блокаді  $M_2$ - $M_5$  рецепторів, але у мишей з блокадою  $M_1$ -рецепторів судомний ефект був відсутній. Це дозволило підтвердити, що тільки  $M_1$  підтип рецепторів відповідальний за судоми і ПЛ-викликаний ЕС.

Пілокарпінова модель ЕС пов'язана з активністю калієвих каналів клітинних мембран. Більшість епілептогенних ефектів ПЛ є наслідком зниження активності трьох процесів: а) провідності вольт-залежних калієвих каналів, б) стимуляції іонами  $Ca^{2+}$  калієвої провідності і в) вольт-незалежного калієвого потенціалу спокою [165]. Відомо, що калієві канали відіграють ключову роль у регуляції збудливості нейронів, в той же час судомна активність сама по собі порушує експресію білків Kv4.2 цих каналів [166]. Таким чином, як це показано і для інших випадків епілептогенеза, порушення процесу реполяризації нейронів через калієві канали та калієві струми стає причиною виникнення стану ЕС. Калієві канали А-типу розташовані на гранулярних клітинах зубчастої звивини, на тілах і дендритах пірамідних клітин. Вони регулюють частоту спайков в розрядах клітин. Після блокування їх активності калієві канали А-типу не здатні виконувати свої функції реполяризації клітин, зменшувати частоту розрядів, а, отже, локалізувати гіперзбудливість. Внаслідок цього гіперзбудливість поширюється, і посилення міжнейронної активності призводить до розвитку судом, часто з летальним результатом [167]. Ще одним доказом їх важливої ролі є факт, що через 24 год після формування ЕС число калієвих каналів в мембранах клітин зростає, що є захисною відповіддю нейронів на ПЛ-викликаний ЕС [166].

Відомості, отримані в дослідах з введенням нейротоксинів, уточнили наслідки реорганізації специфічних нейрохімічних міжнейронних зв'язків гіпокампу. Септальний вхід в гіпокамп є холінергічним [168], тому Potter P.E. зі співавт. [169], вводячи холінотоксін 192 IgG - saporin (300 нГ) в септум,

допомогли руйнування септогіппокампальних зв'язків і довели, що порушується зв'язок  $M_1$ -мускаринових рецепторів з G-білками [169]

У щурів після введення ПЛ аксональні колатералі поля  $CA_1$  гіпокампу входять в strata pyramidale і radiatum, забезпечуючи таким чином морфологічний субстрат для подальшого спонтанного і поворотного збудження [170]. У даних умовах багаторазово посилюються проекції з субікулума в поле  $CA_1$  гіпокампу [171]. Отже, як вважають автори, не можна виключати полісинаптичний механізм поширення збудження внаслідок застосування ПЛ, що включає в себе ініціацію збудження в медіальній частині енторінальної кори і його подальше поширення по аберрантним коллатералям між самою енторінальною корою, субікулумом і полем  $CA_1$  гіпокампу [162, 170-172].

Таким чином, проміжним висновком може з'явитися те, що ПЛ модель хронічних судом має виражену стадійність. Початкові її стадії (т.зв. гостра фаза) є експериментальною моделлю скроневої епілепсії, найважливішим патофізіологічним механізмом якої є гіперстимуляція гіпокампу з подальшим надмірним поширенням епілептиформної активності. Додатково до цього, ПЛ безпосередньо гальмує активність ГАМК-ергічної системи гіпокампу, знижуючи до мінімуму вивільнення ГАМК [139, 173, 174]. Це особливо цікаво, враховуючи те, що в умовах блокування активності ГАМК<sub>A</sub>-системи, відзначається гіперзбудливість різних ділянок мозку [175]. Практично у всіх експериментальних моделях скроневої епілепсії гіперзбудливість зрізів гіпокампу є наслідком блокади ГАМК<sub>A</sub>-обумовленого гальмування [175-178], що було також підтверджено на зрізах гіпокампу мозку людей на аутопсії [179].

Меншу увагу було приділено дослідженню хронічної стадії ПЛ-викликаного ЕС, стадії, яка характеризується виникненням спонтанних багаторазових судом. На це звертають увагу багато авторів, відзначаючи недостатню протисудомну ефективність новітніх протисудомних препаратів [52, 180-182]. Нам видається, що хронічна стадія ПЛ-викликаного ЕС є важливою в аспекті дослідження її патофізіологічних механізмів, що зможе дати відповідь про морфологічні субстрати подальшого поширення ЕпА в

мозку, можливості тестувати ефекти протисудомних препаратів в даному часовому відрізку судомного синдрому, що зможе вплинути на розробку нових експериментальних схем корекції даного патологічного стану. На додаток до сказаного, слід зазначити важливість дослідження морфологічних, поведінкових і електрографічних корелятив даної стадії ПЛ-викликаного ЕС [180, 183].

### 1.3 Спонтанна судомна активність в умовах моделей хронічної епілепсії: характеристика та механізми

Найбільший інтерес з клінічної та фундаментальної точок зору являє собою саме хронічний (або відтермінований) період ПЛ-викликаного ЕС. Так, за даними Turski L. Et al. [69, 76, 113], перші спонтанні судоми у щурів і мишей, які вижили після ЕС, зазвичай з'являлися протягом 5-10 днів після ЕС. Вони відповідали інтенсивності 4-5 балів кіндлінгових судом і тривали протягом декількох тижнів. Автори зробили висновок, що ПЛ модель хронічних спонтанних судом дуже зручна для дослідження патофізіологічних механізмів, зробивши особливий акцент саме на спонтанності виникаючих судом, і, що більш важливо, розробки терапевтичних аспектів лікування скроневої епілепсії [113].

Однією з найбільш часто використовуваних моделей хронічної епілепсії є група, так званих, постстатусних моделей, що є експериментальною моделлю ідентичною однією з найбільш частих форм вогнищевої епілепсії - скроневої епілепсії у пацієнтів [184-187].

Першою була розроблена модель епілептичного статусу (ЕС), викликаного за допомогою системного або внутрішньомозкового введення каїновою кислоти [139] потім системного введення агоніста мускаринових рецепторів пілокарпіну [69, 76, 113] або шляхом різних типів електричної стимуляції мозкових структур [184, 188-190]. Важливою перевагою електростимуляційних моделей ЕС є те, що стимуляція може бути припинена відразу ж після виникнення ЕС і таким чином його виразність

експериментатор може ефективно контролювати. В умовах системного введення фармакологічних агентів подібне не представляється можливим, так як речовина залишається в організмі тварини після розвитку ЕС. З зазначеними відмінностями двох груп моделей ЕС, мабуть, пов'язано істотно більш виражене й більш поширене пошкодження структур мозку в умовах хімічно-викликаних моделей ЕС. В умовах зазначених моделей відзначаються такі характерні нейроморфологічні зміни як гіпокампальний склероз, синаптична реорганізація, спрутінг моховитих волокон, а також одне з найбільш характерних проявів епілепсії - спонтанні повторні судоми. Поява та подальший розвиток спонтанних електрографічних і поведінкових судом описано в умовах моделі, викликаній каїновою кислотою [191, 192], пілокарпіном [77] і електричною стимуляцією [193].

У щурів, які вижили після перенесеного ЕС без застосування антистатусних препаратів, ймовірність розвитку спонтанних судом становить 100 % [77]. Зменшення тривалості ЕС 90 хвилинами від його початку супроводжується такою ж частотою розвитку спонтанної судомної активності (ССА) [194]. Показано, що зменшення тривалості і тяжкості ЕС шляхом застосування великих доз антистатусних препаратів, як правило, супроводжувалося зменшенням числа тварин з ССА [195].

Разом з тим, одного разу сформована ССА зберігається протягом усього періоду життя тварини [194]. Подальші дослідження підтвердили важливу роль тривалості пілокарпін-індукованого ЕС на подальший розвиток ССА. Так, [70] показали, що в умовах тривалості ЕС протягом 7,5 хв ССА не розвивається. Якщо ж ЕС триває протягом 30 і 120 хв ССА в подальшому розвивалася в обох групах тварин, проте, їх виразність була різною і залежала також від тривалості часового інтервалу після ЕС. Так через 3 тижні після пілокарпін-індукованого ЕС в групі з тривалістю ЕС 30 хв кількість тварин зі ССА становило 50,0 %, а в групі з тривалістю ЕС 120 хв тільки 25,0 %. Цієї очевидної невідповідності не було вже через 9 тижнів після ЕС, коли відзначалося зростання числа тварин з ССА в обох групах тварин (63,0 % і 75,0 % відповідно).

Ці дані дозволяють висловити припущення про те, що для формування ССА потрібно більш 3 тижнів після перенесеного пілокарпін-ідукованого ЕС. Разом з тим вже через 3 тижні після ЕС тривалістю 30 хв відзначалася некротична загибель нейронів в гіпокампі, збільшення бічних шлуночків. Ці нейропатологічні зміни супроводжувалися значним збільшенням числа популяційних спайків і зниженням гальмування при нанесенні парних стимулів гіпокампальних зрізів, що відображаються розвитком нейрональної гіперзбудливості [70]. В цілому, ці результати дозволяють припустити, що виразність клінічних проявів ССА передують нейропатологічні зміни і порушення гіпокампальної збудливості.

Спільною особливістю, характерною для постатусних моделей, є значна варіабельність стадії хронічної спонтанної судомної активності. Так, в умовах пілокарпін-викликаної моделі перші спонтанні судоми розвивалися протягом від 3 до 30 днів після введення пілокарпіну і середня тривалість латентного періоду становила  $9,8 \pm 7,4$  днів [77]. При цьому не виявлено взаємозв'язку між тривалістю латентного періоду і розвитком перших спонтанних судом і їх числом протягом періоду хронічних судом [196]. Так в одній групі тварин відзначався відносно короткий латентний період тривалістю від 3 до 5 днів і частота судом варіювала від 124 до 727 протягом 135 днів спостереження. В іншій групі тварин латентний період був більш тривалим і становив від 28 до 30 днів і супроводжувався судомами частотою від 45 до 584 протягом 135 днів [196]. При цьому поява перших спонтанних судом характеризувалася появою судомної активності в гіпокампі без розвитку відповідних змін активності в корі головного мозку [77]. Поведінково такі судомні напади характеризувалися розвитком «завмирання» (втратою рухомості) і незначними міофасціальними здригуваннями, миготінням очей і відповідали судомам інтенсивністю 1-2 бали, які спостерігалися в умовах амігдалярного кіндлінга. Протягом наступних днів відзначалася тенденція до збільшення тривалості судомної активності та її поширення в структури неокортексу і за своїми поведінковими і електрографічними характеристиками такі лімбічні судоми певною мірою відповідали еволюції кіндлінгових судом [114]. Gorter et al.

[197] також показали, що середня тривалість латентного періоду у щурів з прогресуючим розвитком ССА коротше, ніж у тварин без прогресування (7 і 13 днів відповідно). Разом з тим у деяких тварин з більш тривалим ЕС і відносно нетривалим латентним періодом не відзначалося прогресування розвитку ССА [198, 199].

За допомогою тривалого відеомоніторингу тварин показано, що найчастіше реєструвалися реакції інтенсивністю від 3 до 5 балів. Проте, часто зустрічалися і олігосимптоматичні судоми тяжкістю 1 і 2 бали, які вважають релевантними комплексним парціальним судомам у пацієнтів, для яких нехарактерна генералізація, навіть в умовах відміни антиепілептичних препаратів [200]. Частота спонтанних судом протягом періоду хронічних судом характеризувалася відносною варіабельністю у різних тварин. Так у деяких тварин пілокарпін-викликані спонтанні судоми характеризувалися низькою частотою, у той час як у більшості інших тварин відзначали розвиток характерних кластерів - груп судомних нападів частотою більш ніж 3 випадка в день і інтенсивністю від 3 до 5 балів.

За даними лабораторії Cavalheiro, у тварин з початково низькою частотою спонтанних судомних нападів на протязі перших 15 днів їх формування, характерним було достовірне зростання частоти випадків протягом наступних 105 днів. У той час як у групі з вихідною відносно високою частотою ССА значне зростання частоти судом відзначалося тільки протягом 15-60 днів, без істотної зміни частоти в наступні дні спостереження (до 135 днів) [196]. Разом з тим визначити порівнянність і значення цих особливостей частоти спонтанних судомних нападів для клінічних спостережень представляється досить складним. Це пов'язано насамперед з тим, що через методологічні обмеження, обумовленні етичними та іншими міркуваннями, більшість даних, що характеризують особливості перебігу епілепсії у пацієнтів без лікування отримані за допомогою ретроспективного аналізу. Так Elwes et al. [201, 202] наводить дані аналізу перебігу епілепсії без лікування у 183 пацієнтів, що свідчать про те, що після другого нападу судом відзначалося скорочення інтервалу між наступними нападами, що вказують на

посилення епілептизації на ранніх стадіях процесу. Подібні дані приводять Gilad et al. [203], які показали, що найбільш високий темп появи повторних епілептичних випадків відзначався протягом першого року з 36 місяців спостереження у пацієнтів без лікування.

Наведені дані певною мірою узгоджуються з результатами експериментальних досліджень, які вперше показали прогресивний розвиток, свого роду «дозрівання» процесу епілептизації в умовах моделі, викликаній тривалою (90 хв) електричною стимуляцією поля СА<sub>3</sub> гіпокампу [204]. Таким чином, результати наведених експериментальних досліджень свідчать про неможливість передбачення особливостей патерну спонтанних судом які з'являються у даної тварини, базуючись на даних про частоту спонтанних судом протягом раннього, початкового періоду їх розвитку, так як у тварин з початково низькою частотою ССА в наступні дні тривалого спостереження (75-120 днів) відзначалася висока частота ССА [196]. Разом з тим, механізми, що обумовлюють прогресування епілептизації на ранніх стадіях процесу, залишаються не з'ясованими. Можливо механізми, подібні з процесом кіндлінга, обумовлюють розвиток спонтанних судом в умовах моделі, індукованої пілокарпіном та їх подальшу інтенсифікацію. Таку можливість розвитку процесу відзначив ще Говерс в його знаменитому вислові «...судоми можуть народити судоми» (seizures may beget seizures), тобто у разі одного разу виникнення випадку мозок стає схильним до розвитку подальших нападів. Подібне прогресування частоти ССА було показано в умовах ЕС, викликаного стимуляцією інших структур мозку [198], однак розвиток кластерних, групових судом, характерних для каїнат або пілокарпін-викликаних моделей при цьому не відзначалося [205, 206].

Інший можливий механізм, який зумовлює прогресування судом - це відновлення мозку після неврологічного інсульту, викликаного епілептичним статусом. Можливо латентний період представляє час, протягом якого здійснюються синаптична реорганізація та спрутінг, а судоми, можливо, є наслідком тривалої синаптичної реорганізації [79, 114, 194].



Як відомо, найбільш характерною відмінністю скронево-часткової епілепсії є загибель нейронів хілуса гіпокампу в умовах відсутності відповідного зменшення числа гранулярних клітин в зубчастій звивині - так званий мезіальний або медіальний склероз ("endfolium sclerosis") [207-209]. Виражена загибель нейронів хілуса гіпокампу і подальша синаптична реорганізація послужили підставою для припущення про те, що основним джерелом епілептогенеза є зубчаста звивина, яка служить одним з основних входів, «воріт» в гіпокамп [189, 210, 211].

Іншою характерною особливістю скронево-часткової епілепсії є спрутінг моховитих волокон, що є одним з «кандидатів» на роль ключового фактора у прогресуванні спонтанних судом [110]. Підтвердженням цієї гіпотези є дані про те, що розростаючи моховиті волокна формують поворотні збуджуючі колатералі на гранулярних клітинах у внутрішньому молекулярному шарі [212, 213]. Разом з тим [214] в умовах пілокарпін-індукованої моделі не виявили залежності між тривалістю латентного періоду, ступенем вираженості спрутінга моховитих волокон і частотою спонтанних судом протягом хронічного періоду. На підставі цих даних автори приходять до висновку, що спрутінг моховитих волокон є епіфеноменом, який не грає ключову роль в епілептогенезі.

З цим висновком узгоджуються дані [198], отримані на моделі ЕС, викликаного тривалою електростимуляцією гіпокампу. Автори показали, що в групі тварин (~30,0 %) з відсутністю прогресування спонтанної судомної активності ступінь спрутінга моховитих волокон (СМВ) була схожа з такою у групі тварин, у яких відзначалося виражене зростання частоти спонтанних судом до 20-25 судом в тиждень на 4-5 тиждень після ЕС. Більш істотним чинником прогресування ССА та її мірою є інтенсивність загибелі нейронів гіпокампу [198]. Досліджуючи кількість нейронів, що містять парвальбумін і соматостатин у хілусі гіпокампу автори показали, що у тварин з прогресуючими спонтанними судомами (67,0 %) відзначається білатеральна виражена загибель таких нейронів. У той час як у тварин без прогресування судом (33,0 %) спостерігалася унілатеральна локалізація загибелі нейронів. Парвальбумін і

соматостатин-імунореактивні нейрони являють різновид гальмівних ГАМК-ергічних нейронів, які відіграють важливу роль у гальмуванні активності пірамідних і гранулярних нейронів гіпокампу [215, 216].

Той факт, що у тварин з непрогресуючою судомною активністю відзначалося відносно більше число інтернейронів в гранулярному шарі зубчастої звивини, ніж у тварин з прогресуючими судомами, сприяє розумінню відновлення порушеного балансу процесів збудження-гальмування в бік переважання останнього. Формування нових входів на тілах збережених інтернейронів внаслідок спруутінга моховитих волокон сприятиме відновленню механізмів спочатку порушеного гальмівного контролю. Ступінь порушення гематоенцефалічного бар'єра також корелювала з прогресуванням спонтанних судом [199].

Аналіз особливостей розвитку ССА протягом циклу день\ніч показав істотне зростання частоти ССА протягом дня (з 7.00 до 19.00 год) порівняно з нічним часом (19.00-7.00 ) [196, 198]. Ці дані узгоджуються з результатами [217] про те, що судомний поріг протягом сну істотно знижується, що призводить до більш частого розвитку судомних нападів.

В умовах кіндлінгової моделі також спостерігається розвиток спонтанних судомних нападів, що є одним з найбільш істотних проявів епілепсії в клініці. Pinel et al. [218] були першими хто описав розвиток ССА у кіндлінгових щурів і їх основні прояви. Автори показали, що однією з найважливіших умов розвитку ССА є триваючі електричні стимуляції після завершення формування кіндлінга. Pinel, Rovner [219] показали розвиток спонтанних судом у 16 з 18 щурів після 293 стимуляцій мигдалини протягом 132 днів. Такі надлишкові стимуляції приводили на початку до зростання виразності тяжкості судом (більше 5 балів), що свідчать про залучення стовбурових структур мозку (автори позначили їх інтенсивність у 6-8 балів). Через кілька тижнів або місяців з моменту формування таких додаткових стадій, обумовлених прогресуванням кіндлінгових судом, відзначалася поява ССА. Їх розвиток описано в умовах електростимуляційного кіндлінга мигдалини, лобової або потиличної кори, перфорантного шляху або

енторінальної кори [220]. Показано [221], що ССА розвивалася у 11 з 27 щурів після 90-100 стимуляцій перфорантного шляху або *bulbus olfactorius*. Виявлено розвиток ССА у 11 з 22 щурів після більш, ніж 200 електростимуляції мигдалини [222]. Більш низький відсоток тварин зі спонтанними судомами після тривалого кіндлінга відзначений в роботі [223]. Найчастіше число тварин з наявністю ССА не перевищувало 50,0 % і залежало від локалізації кіндлінгової структури і можливо, свідчить про роль генетичної схильності у розвитку ССА. Остання розвивалася в умовах кіндлінгової моделі у котів, собак і мавп [224-226]. При цьому важливою особливістю ССА є непередбачуваність локалізації «джерела» ССА і ступінь їх виразності [219, 220]. Прикладом останнього може бути повна відсутність проявів епілептиформної активності в неокортексі протягом нападів спонтанних судом в умовах моделі кіндлінга неокортексту [219]. Непередбачуваність початку електрографічних проявів і ступеня виразності клінічних проявів спонтанних судом в умовах кіндлінгової моделі є схожою з такою їх характеристикою в умовах постстатусних моделей. Іншою загальною характеристикою обох моделей, ССА є наявність своєрідного латентного періоду який передуює розвитку ССА з тією лише особливістю, що в умовах моделі кіндлінга досліднику точно відома локалізація початку процесу епілептизації (місце розташування стимулюючих електродів) і більша його тривалість дозволяє здійснювати різні методичні впливи. Разом з тим, на відміну від постстатусних моделей ССА в умовах моделі кіндлінга не супроводжується значним ушкодженням мозкових структур [220]. Ці дані, можливо, свідчать про те, що значні структурні порушення мозку не є обов'язковим елементом попереднім розвитку ССА.

Однак, тривалий, «надлишковий» («over-kindling») з розвитком до 150 індукованих генералізованих судом, приводив до значного зниження (близько 50,0 %) щільності нейронів у хілусі і полі  $CA_1$  гіпокампу [227], що за своїм характером відповідає гіпокамपालному склерозу, що спостерігається у більшості пацієнтів з скроневою епілепсією [228].

Давня суперечка про те, чи є гіпокампальний склероз причиною або наслідком СЧЕ в даний час продовжується [229]. Крім того, загибель нейронів в гіпокампі, особливо в його хілусі обговорюється в якості важливого фактора, що обумовлює прогресуючий характер СЧЕ [184, 198]. У лабораторії Löscher показано, що в умовах триваючих кіндлінгових ЕС мигдалини (після досягнення випадків інтенсивністю 5 балів) у 50,0 % щурів реєструвалися спонтанні повторювані судоми, які починалися часто у вигляді фокальних випадків з подальшою вторинною генералізацією [230]. При цьому не було виявлено нейродегенеративних змін в гіпокампі, мигдалині, парагіпокампальній області або таламусі. Виявлене значне білатеральне зменшення нейрональної щільності в хілусі зубчастої звивини у кіндлінгових тварин, однак така редукція щільності клітин суттєво не відрізнялася в групах тварин з наявністю або без ССА [222]. Підрахунок числа хілусних нейронів і визначення обсягу хілуса показали, що кіндлінг-індукована редукція денситометричних показників у хілусі обумовлено значним збільшенням його обсягу внаслідок реактивного гліозу, і можливого накопичення рідини [222].

Останнім часом дискутується питання, чи є втрата нейронів у хілусі обов'язковою умовою розвитку ССА в умовах моделей скроневої епілепсії [184, 231]. Так Pitkanen A. et al. [184] показали, що у більшості щурів з розвитком ССА внаслідок ЕС викликаного тривалої стимуляцією мигдалини, відзначаються значні пошкодження нейронів хілуса і в той же час, у тварин з дуже великою кількістю спонтанних судомних нападів виявлялося нормальне число клітин в хілусі, це свідчить про відсутність взаємозв'язку між розвитком і кількістю спонтанних судом і виразністю загибелі нейронів хілуса, які узгоджуються з висновками [222]. Висловлено припущення, що селективна загибель нейронів хілуса без подібної втрати гранулярних клітин зубчастої звивини, яка спостерігається у пацієнтів з СЧЕ і моделях СЧЕ [184, 231], призводить до гіперзбудливості гранулярних клітин, яка ініціює судомні розряди протягом розвитку епілепсії [116, 179, 209]. Разом з тим, той факт що у пацієнтів може розвиватися СЧЕ при відсутності будь-яких ушкоджень гіпокампу [232, 233], також наведені вище дані експериментальних досліджень,

є важливими аргументами проти виняткової ролі загибелі нейронів хілуса в механізмах розвитку СЧЕ. [234] показали, що в гіпокампальних зрізах, виділених з мозку тварин з розвитком спонтанних судом (більше 100 викликаних судом) відзначається повна втрата гальмування зубчастої звивини в умовах спареної стимуляції. Ці дані дозволили авторам висловити припущення про те, що розвиток ССА обумовлен повним порушенням гальмівного контролю, виконуваного нейронами зубчастої звивини. Крім того, автори показали порушення кінетики ГПСП в гранулярних нейронах зубчастої звивини, що свідчить про зниження гальмівних ГАМК-ергічних механізмів у тварин зі ССА. В умовах моделі класичного кіндлінга у тварин відзначається зниження гальмування тільки в нейронах поля  $CA_1$ , достатнє для розвитку, індукованих електростимуляції судом, але не ССА. Для розвитку ССА необхідною умовою є істотне зниження гальмування в нейронах зубчастої фасції [234, 235] Мабуть, в умовах постстатусних моделей розвиток ССА обумовлен підвищенням збудливості нейронів зубчастої фасції, викликаним підвищенням активності NMDA рецепторів [235].

Таким чином, наведені дані свідчать про істотні відмінності нейрофізіологічних і нейроморфологічних механізмів розвитку ССА в умовах двох основних моделей хронічної епілепсії-кіндлінга і постстатусних моделей.

Разом з тим, як і будь яка експериментальна модель, кіндлінгова модель епілепсії не позбавлена ряду недоліків. До їх числа можна, по перше віднести те, що в типових умовах процедуру кіндлінгових стимуляцій починають здійснювати в мозку нормальних, інтактних тварин, що істотно відрізняється від епілептогенеза в клініці, який часто індуцирован пошкодженням мозку (травма, епілептичний статус, інсульт). По друге, в умовах кіндлінга судоми у формі судомних післеразрядів з'являються протягом епілептогенеза, тобто в процесі розвитку кіндлінга, що не відповідає концепції епілептогенеза, відповідно до якої судоми є наслідком, результатом процесу епілептогенеза. У третє, у кіндлінгових тварин спонтанні судоми з'являються в результаті численних електростимуляцій після завершення формування кіндлінга і навіть в цих умовах вони розвиваються лише у частини тварин і отже, спонтанна

судомна активність не є типовим компонентом епілептичного синдрому в умовах моделі кіндлінга. Крім того, висновок про антиепілептичні дії протисудомних препаратів базується на їх здатності затримувати розвиток кіндлінга в умовах їх введення до проведення тестуючої електростимуляції. Однак, в цьому випадку, препарати редуциують тривалість генерації судомних післярозрядів, які необхідні для розвитку кіндлінга. В цілому, наведені дані свідчать про необхідність пошуку інших, більш адекватних моделей епілептогенеза для дослідження особливостей і механізмів розвитку спонтанної судомної активності - одного з головних проявів епілепсії в клініці.

#### 1.4 Порухення поведінки у щурів під час спонтанних судом

З фундаментальної точки зору модель відтермінованих спонтанних судом (СС) цікава тим, що у людей з хронічною епілепсією часто відзначаються порушення поведінки - епізоди підвищеної збудливості, агресивності, депресивні стани та ін. [236]. Іноді подібного роду порушення поведінки, які практично ніколи не діагностуються фахівцями, є єдиними попередниками гострих судомних станів, що підкреслює важливість вивчення зазначеного розділу в епілептології.

Що стосується можливих механізмів, відповідальних за розвиток когнітивних дисфункцій, звертають на себе увагу дослідження, в яких за умов ПЛ-викликаних СС були виявлені виражені гістопатологічні зміни і нейродегенеративні порушення у структурах лімбічної системи, задіяних у формування емоційної поведінки, а також беруть безпосередню участь у здійсненні процесів навчання і пам'яті - гіпокампі, мигдалині, піріформній корі [289, 290]. Таким чином, тривалі порушення процесів навчання, часової і просторової, короткочасної і довготривалої пам'яті є наслідок загибелі нейронів зазначених вище лімбічних структур. Аналогічні дані були отримані при інтраопераційному морфологічному дослідженні мозку людей, хворих скронево-часткової епілепсією [291].

Інтерес фахівців викликає питання, зникають або залишаються емоційні порушення у пацієнтів після припинення судомних реакцій? Різні погляди існують на вирішення питання щодо необхідності адекватної терапії емоційних розладів у пацієнтів при скронево-часткової епілепсії [236, 237]. Ми вивчили особливості змін емоційної поведінки в динаміці розвитку СС при їх індукції пілокарпіном. Для визначення переважання агресивного або захисного типів дослідницької поведінки були з'ясовані особливості емоційної поведінки щурів при відтворенні конфліктних ситуацій. Показано, що в умовах ПЛ-викликаного хронічного епілептогенеза у щурів, у яких розвиваються СС, зростає опір тварин при спробі взяття їх в руки, а також зростає вираженість дослідницької поведінки в тесті радіального піднятого лабіринту. Виявлено, що розвиток спонтанних судом характеризується певною динамікою емоційної поведінки, спрямованої на посилення почуття страху [238]. Останній висновок співвідноситься з аналогічним у кіндлінгових щурів [239, 240].

З точки зору концепції причинно-наслідкових відносин в патології [241] логічно зауважити також внесок патоморфологічних, гістопатологічних, патобіохімічних і нейродегенеративних порушень нейронів і гліальних елементів підкіркових утворень - переважно лімбічної системи - і кори мозку у формування хронічної стадії ПЛ-викликаного ЕС. У цьому випадку розвиток СС і їх подальше прогресування сприятимуть подальшому розвитку порушення дослідницьких типів поведінки. При цьому розробка комплексних методів корекції порушень поведінки буде являти собою патогенетичний базис для купірування відтермінованих СС, що відповідає уявленням Крижановського Г.М. [91, 92, 97].

Говорячи про комплексні механізми розвитку та припинення хронічного епілептогенезу в цілому, зауважимо, що для безпосереднього розвитку судом і, особливо, СС необхідний певний мінімальний рівень організації мозку, іменованій «easy wiring» [111] Для розуміння патофізіологічних механізмів хронічної стадії ПЛ-викликаних СС і для розробки способів їх припинення слід виявити більш складний характер міжструктурні взаємодії утворень головного мозку, об'єднаних в спеціальну нейрональну мережу. Спроби

відновити/нормалізувати порушення поведінки тварин при СС припускають вплив на функціонуючі поки елементи спеціальної нейрональної мережі з метою збільшення кількості нормально працюючих нейронів, синапсів, нейромедіаторів, синтезу нових білкових субстанцій та ін [242]. Розробка подібного підходу буде являти собою стимуляцію ендогенних захисних комплексних механізмів мозку, що володіють протисудомною активністю.

Таким чином, нейропатологічні механізми первинно-генералізованої епілепсії досліджені сьогодні відносно добре і базуються на уявленнях про порушення в таламо-кортикальній системі як її патогенетичної основі [67]. У той же час структурно-функціональна основа однією з найбільш частих форм парціальної епілепсії, залишається неясною. Предметом дискусії є питання щодо ступеня очаговості нейрофізіологічних порушень, які обумовлюють генерацію ССА. Прихильники первинно-осередкового характеру розвитку ССА припускають наявність ключового патологічного субстрату, детермінуючого генерацію ССА. До їх числа можна віднести спрутінг мшистих волокон і синаптичну реорганізацію зубчастої звивини [178], порушення функції гальмівних інтернейронів гіпокампу, встановлення специфічних структур мозку, з яких починається генерація ССА (наприклад, поле СА<sub>3</sub> гіпокамп, зубчаста фасція). Інша частина гіпотез розглядає ССА як результат дифузних змін в різних структурах лімбічної системи, які обумовлюють багатоочаговий або дифузний початок генерації ЕпА при «осередкової» СЧЕ [243].

Вище були наведені сучасні дані, що відображають механізми розвитку ССА в умовах найбільш широко використовуваних у всіх лабораторіях світу експериментальних моделей СЧЕ - кіндлінга, а також постстатусних моделей. Незважаючи на істотні відмінності в способах відтворення зазначених моделей і механізми розвитку судомної активності наведені дані свідчать про те, що основою формування ССА є утворення під впливом детермінантної структури ЕпС. Залучення в орбіту впливів ЕпС інших структур мозку обумовлює прогресуючий характер розвитку патологічного процесу, а також резистентність ЕпС до лікувальних впливів.



З'ясування процесів, що відбуваються у всіх складових частинах ЕпС вимагає не тільки детального знання цих частин, але й розуміння міжрівневих взаємодій в системі. Подальше дослідження механізмів розвитку ССА, що виникає у відсутності епілептогенних впливів, дозволяє отримати дані дуже важливі не тільки для з'ясування епілептогенезу, але і для вирішення ряду проблем загальної патології нервової системи, а також розробки нових підходів до терапії хронічної форми епілептичного синдрому.

За матеріалами даного розділу були опубліковані наступні роботи:

1. Шандра О. А., Копйова Н. В. Патофизиологические механизмы развития спонтанной судорожной активности. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2008. № 2 (14). С. 7–17. *Внесок дисертанта: участь в розробці загальної концепції теми та схеми проведення наукової роботи.*
2. Шандра А. А., Денисенко О. В., Копьёва Н. В., Кащенко О. А. Дизрегуляторные механизмы хронической эпилептической активности. *Патогенез*. 2007. Приложение 1. С. 26. (Тезисы Объединенного пленума Российского и Московского научных обществ патофизиологов, посвященный 85-летию академика Крыжановского Г. Н., г. Москва, 13–14 ноября 2007 г.). *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, участь у систематизації та оформленні тез до друку.*
3. Шандра А. А., Копйова Н. В., Вастьянов Р. С., Кащенко О. А. Роль эпилептогенных систем в развитии хронической эпилептической активности. *Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти*. 2008. Т. 4, № 1 (додаток). С. 71. (Матеріали IV конф. Україн. товариства нейронаук, присв. 100-літтю з дня народж. ак. НАН України П.М. Серкова, м. Донецьк, 10–12 червня 2008 р.). *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку.*

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дисертаційні дослідження виконані у трьох, пов'язаних між собою та запланованих згідно зі зформульованою метою роботи, блоках експериментів: у першій частині мають бути з'ясовані особливості відтворення пілокарпін-викликаних відтермінованих спонтанних судом у щурів, стадії та тривалість СС, у другій частині – визначена патогенетична важливість окремих підкіркових утворень і структур кори великих півкуль при формуванні відтермінованих судом, та з'ясовані механізми розвитку спонтанних судом в умовах даної моделі шляхом аналізу ефектів антиепілептичних препаратів з різними механізмами реалізації протисудомної дії, в третій частині – простежені особливості поведінки тварин в умовах даної моделі, в їх зв'язку з об'єктивними змінами досліджених підкіркових утворень і структур кори мозку.

#### 2.1 Експериментальні тварини

У дослідженнях, присвячених механізмам виникнення, розвитку та припинення хронічної епілептиформної активності переважним об'єктом дослідження є мозок щура [244, 245]. Виходячи зі сказаного і з огляду мети та завдань дослідження, у цій роботі в якості експериментальних тварин були обрані щури-самці лінії Вістар.

Робота з експериментальними тваринами проведена відповідно до вимог, викладених у вітчизняних та міжнародних рекомендаціях, нормах і вимогах щодо використання лабораторних тварин в експериментальних дослідженнях (Конвенція Ради Європи, 1986; Закон України от 21.02.2006, №3447 - IV). Поводження з експериментальними тваринами під час спостережень та після дослідів відповідали вимогам, викладених в «Листі комісії з проблеми етики стосунків до тварин» [246]. Дана робота проводилася згідно норм біоетики

(протокол Комісії з біоетики ОНМедУ МОЗ України № 94-А від 29.01.2016 р.).

Дослідження проводилися в умовах хронічного експеримента на 470 дорослих (6 місячних) білих щурах-самцях лінії Вістар масою від 180 до 250 г, які відповідно за серіями досліджень були ранжировані на групи: відтворення пілокарпін-викликаних відтермінованих спонтанних судом ( $n=50$ ); деструкція та стимуляція медіодорзального і серединного ядер таламуса ( $n=83$ ); деструкції та стимуляції окремих підкіркових утворень та фронтальних відділів кори мозку ( $n=126$ ); аналіз ефектів антиепілептичних препаратів з різними механізмами реалізації протисудомної дії ( $n=108$ ); дослідження поведінки в тесті «відкрите поле» ( $n=54$ ); визначення змін процесів навчання у щурів під час хронічної стадії пілокарпін-викликаного судомного синдрому ( $n=49$ ).

Щурів утримували в стандартних умовах з природною 12-годинною зміною світа і темряви, зі свободним доступом до води та їжі, вологістю 60 % і температурою  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ . За 3 доби до початку дослідів тварин містили в пластикових експериментальних боксах з метою більш швидкої адаптації і починали привчати до рук дослідників [247].

## 2.2 Особливості введення пілокарпіну

Пілокарпін готували в 0,9 % розчині натрію хлориду ( $\text{pH}=7,4$ ) безпосередньо перед початком досліджень і вводили внутрішньоочеревинно (в/очер) в дозі 380 мг/кг. За 30 хв до цього тваринам з метою запобігання розвитку периферичних холіноміметичних ефектів пілокарпіна, пов'язаних з гіперстимуляцією холінергічної системи (бронхоспазм і посилене слизеутворення в бронхах) вводили М-скополамін (1,0 мг/кг; підшкірно; «Sigma-Aldrich», Німеччина).

Тваринам контрольної групи вводили еквівалентний об'єм 0,9 % фізіологічного розчину натрію хлориду. За станом і поведінкою тварин, за судомною активністю, моторною функцією, емоційним та іншими типами

поведінки після введення пілокарпіну спостерігали візуально до виникнення відтермінованих судом [77] і протягом 49 днів після їх розвитку. Інтенсивність судом оцінювали за 6-бальною шкалою, яка описана в дослідженнях Racine R. J. [248]. Згідно з цією шкалою судоми оцінювали наступним чином: 0 балів – відсутність судомної реакції; 1 бал - міоклонічні здригання голови або тулуба; 2 бали - клонічні судоми м'язів тулуба і кінцівок; 3 бали - підйом на задні кінцівки («поза кенгуру»), повторні клонуси м'язів передніх кінцівок; 4 бали - генералізовані клоніко-тонічні судоми з падінням тварин на бок, вегетативні розлади і постприступної депресії; 5 балів - смертельні судоми або повторні генералізовані клоніко-тонічні випадки [97].

За станом і поведінкою тварин, за судомною активністю, моторною функцією, емоційним та іншими типами поведінки спостерігали через 1, 5, 10, 15, 20, 25 і 45 днів з моменту введення пілокарпіну, враховуючи те, що на 45 день спонтанні судоми були вже сформовані. Спостереження здійснювали протягом 49 днів з моменту виникнення спонтанних судом.

### 2.3 Реєстрація спонтанних судом у щурів

Після ін'єкції конвульсанта щурів поміщали в індивідуальні прозорі пластмасові камери (10x25x30 см) і спостерігали в першу добу протягом 2 год. Надалі за поведінкою і судомною активністю щурів спостерігали візуально, з понеділка по п'ятницю, по 30 хв протягом кожної год, протягом 6 год, з 10.00 до 16.00.

Поведінку тварин до 10.00 і після 16.00 реєстрували за допомогою відеокамери ' JVC ' з подальшим аналізом та оцінкою поведінки кожного щура. Подальші дослідження здійснювали тільки на тих тваринах, у яких розвивалися відтерміновані спонтанні судоми.

### 2.4 Введення антиепілептичних препаратів

В окремих серіях досліджень для пригнічення ССА щурам в/очер вводили діазепам («Sigma-Aldrich», Німеччина), в дозах 5; 7,5; 10 і 15 мг/кг,

фенобарбітал («Sigma-Aldrich», Німеччина) в дозах 1,0; 5,0; 10; 15 і 20 мг/кг, вальпроєву кислоту («Sigma-Aldrich», Німеччина) в дозах 100, 150, 200 і 250 мг/кг, дифенілгідантоїн («Sigma», США) в дозах 50, 75, 100 і 150 мг/кг і карбамазепін («Sigma», США) в дозах 5,0; 10; 15 і 20 мг/кг. Антиепілептичні препарати вводили через 2 год після розвитку ЕС, 2 рази з інтервалом 12 год тим щурам, які вижили фазу гострих судом та пілокарпін-індукованому ЕС.

2.5 Операційна підготовка тварин: вживлення електродів для реєстрації електричної активності. Реєстрація біоелектричної активності мозку і внутрішньомозкове введення

Імплантацію електродів і канюль робили за методикою, описаної в літературі [244, 247]. Для реєстрації біоелектричної активності структур головного мозку використовували ніхромову або константанову проволочку в лаковій ізоляції з діаметром кінчика 0,10-0,15 мм. Для імплантації електродів тварину наркотизували за допомогою внутрішньоочеревинних ін'єкцій кетаміну (2,0 мг/кг; «Sigma-Aldrich», Німеччина) або нембутала (30-35 мг/кг; «Sigma-Aldrich», Німеччина) і фіксували в стереотаксичному апараті Ковача (Угорщина)

Після фіксації голови тварини, здійснювали інфільтрацію м'яких тканин голови і області зовнішнього слухового прохода 0,5 % розчином новокаїна («Sigma-Aldrich», Німеччина). Стереотаксичне вживлення електродів і канюль через висвердлені за допомогою бор-машини БЕБ-06М трепанаційні отвори проводили відповідно з атласом [249] за наступними координатами: фронтальна кора великих півкуль - AP=2,4; L=0,8; H=1,2; тім'яна кора великих півкуль - AP=0,8; L=1,5; H=1,4; потилична кора великих півкуль - AP=-4,6; L=1,3; H=1,4; вентральний гіпокамп - AP=-4,8; L=4,5; H=7,0; вентромедіальний таламус - AP=-3,8; L=0,7; H=6,3; верхні горбики чотиригорбикового тіла - AP=-6,3; L=2,0; H=4,5. Реєстрацію електричної активності, внутрішньомозкові введення препаратів і дослідження

поведінкових реакцій здійснювали через 7-10 днів після стереотаксичної операції та через 10-12 днів після введення пілокарпіну.

Час реєстрації ЕЕГ був однаковим для всіх тварин - з 10.00 до 16.00. Для оцінки ЕЕГ використовувалася частота опитування 256 імп/с за допомогою аналого-цифрового перетворювача (National Instruments, USA). Частотний діапазон сигналів склав 0,5-40 Гц. 16-секундні епохи запису ЕЕГ піддавали аналізу Фур'є ("Labview-5,0", США). Ділянки ЕЕГ, які містили артефакти виключали. Визначали показники загальної і спектральної потужності ЕЕГ ( $\mu V^2$ ), досліджувані показники представляли як відносні величини (контроль – 100 %). Частотні діапазони класифікували в такий спосіб: 0,5-4, 4-8, 8-12, 12-25, 25-40 Гц ( $\delta$ -,  $\theta$ -,  $\alpha$ -,  $\beta$ - та  $\gamma$ - хвилі, відповідно). Програма представляла також усереднені показники потужності протягом всього запису ЕЕГ по кожному з реєструвальних каналів, що використовувалося нами для on-line оцінки часу початку, піку і стихання спонтанних судом.

## 2.6 Поведінкові тести

Спонтанну рухову активність тварин досліджували в тесті «відкритого поля» за методикою, описаною [250, 251]. Для цього щура висаджували в скляний циліндр, з якого його плавно поміщали в центр «відкритого поля». Спонтанну рухову активність тварин досліджували протягом 2 хв. Визначали число перетнутих квадратів «відкритого поля», число вертикальних стійок, а також число заглядань в отвори в підлозі «відкритого поля».

Вивчення стереотипної поведінки проводилося шляхом визначення числа тварин, у яких спостерігалися стереотипні обнюхування, облизування або гризіння [252].

Виразність агресивно-оборонної поведінки оцінювали за характером поведінкової відповіді тварин на спробу взяття в руку і виражали в балах за шкалою, [253] (рис. 2.1): 0 балів - при спробі взяття в руку, а також при захопленні рукою тварина не чинить опіру; 1 бал - при спробі взяття в руку щур вокалізує, ухиляється, втікає, однак, при захопленні рукою не ховається; 2

бали - при спробі взяття в руку тварина вокалізує, тікає, при захопленні ховається, намагається вирватися; 3 бали - при вигляді руки експериментатора тварина приймає оборонну позу - піднімається на задні лапи і відбивається передніми; 4 бали - при спробі взяття в руку щур виривається і кусається; 5 балів - щури накидалися або намагалися накидатися на руки експериментатора; 6 балів - щур приймає оборонну позу на задніх лапах, робить спроби атакувати руку експериментатора.

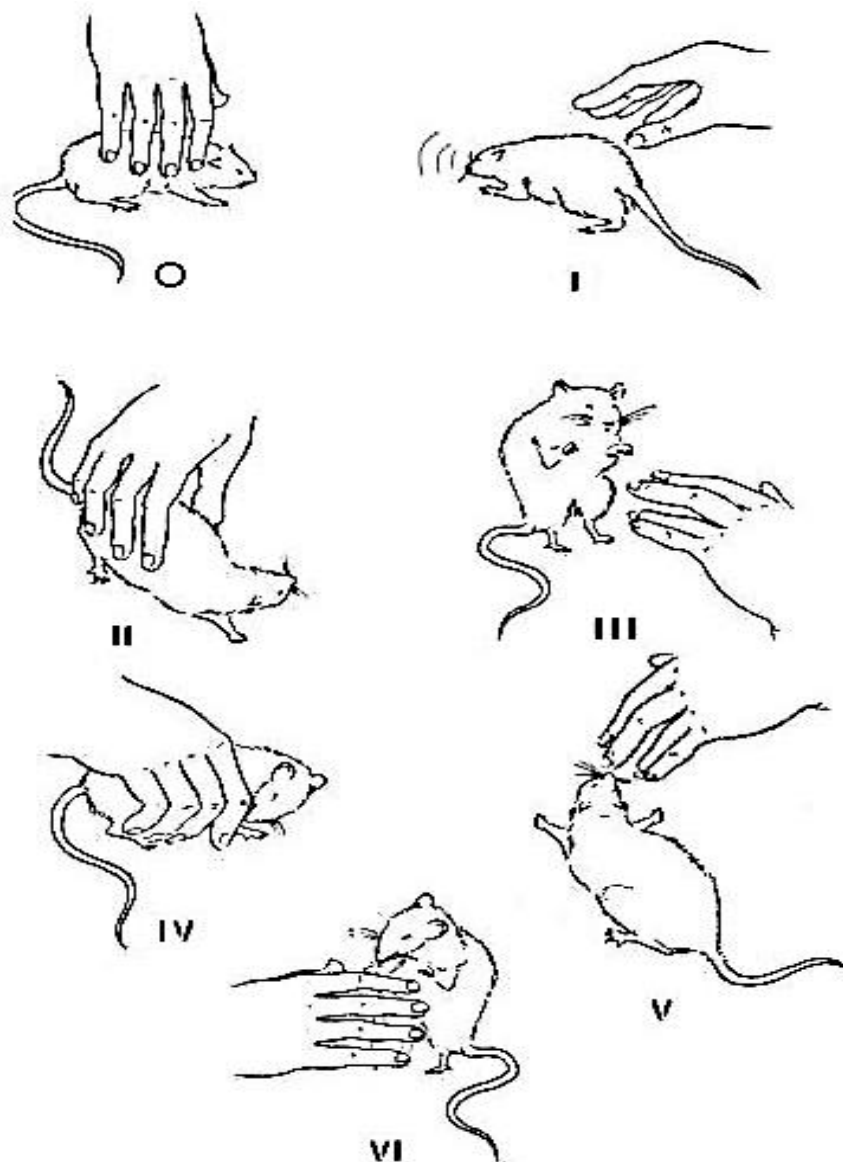


Рис. 2.1 Агресивно-оборонні реакції поведінки у щурів при спробі взяття в руку

Примітка: 0 балів - при спробі взяття в руку, а також при захопленні рукою тварина не чинить опіру; I -VI - агресивно-оборонні реакції поведінки виразністю 1-6 балів, відповідно.

Максимальну виразність агресивно-оборонної поведінки (в абсолютних одиницях) відзначали у тих щурів, яким з першої спроби вдавалося уникнути руки експериментатора

Для визначення порогу больової чутливості щурів поміщали в центрі спеціальної платформи (40x20 см) з металевою підлогою, через яку подавали постійний електричний струм з тривалістю імпульсів 0,5 мс. Мінімальна сила струму становила 0,05 мА, починаючи з якої її збільшували до 0,80 мА - струм такої величини викликає ушкодження кінцівок. Поріг больової чутливості визначали при мінімальній силі струму, яка викликає індивідуальну больову реакцію у вигляді підстрибування або уникнення з платформи трьома кінцівками (у тому числі двома задніми кінцівками). Кожного щура тестували одноразово [240].

## 2. 7 Дослідження процесів формування умовних рефлексів

У спеціальних серіях досліджень визначали особливості формування умовного (харчового) рефлексу, збереження сформованого раніше умовного рефлексу і згасання умовного рефлексу.

8-променевий радіальний лабіринт складається з восьмикутної платформи (довжина кожної сторони 20 см), від якої відходять промені - доріжки довжиною 60 см і шириною 8 см, закінчуються закритими ділянками (рис 2.2).

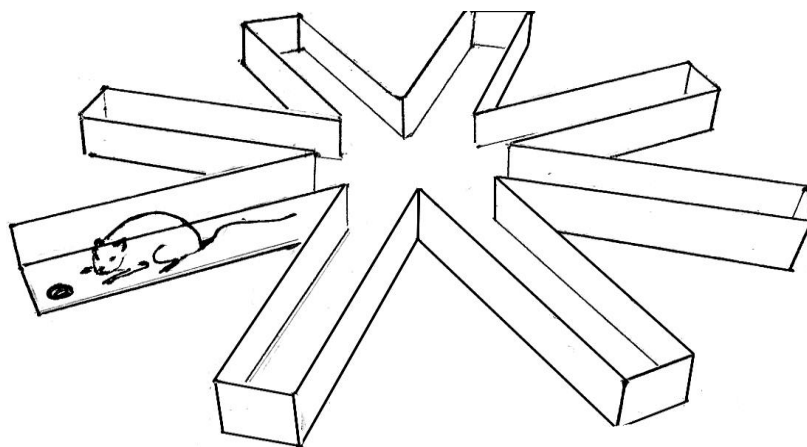


Рис. 2.2 Схематичне відображення 8-променевого радіального лабіринту



Променевий радіальний лабіринт розташовували на висоті 1 м від поверхні підлоги [247]. Визначали час, протягом якого щури найдовше перебували в одному з променів лабіринту (у % порівняно із загальним часом перебування у всіх променях лабіринту), а також кількість спроб входу в один із променів лабіринту [254].

Окремо визначали кількість входів в закриті ділянки променів лабіринту, приймаючи цей показник як визначальний у неспецифічній руховій активності тварин в даних умовах [255]. Вхід тварин в промені лабіринту вважали здійсненим, якщо всі чотири лапи щура переступили межу променя. При вистрибуванні щурів з лабіринту їх відразу ж повертали в ту ділянку лабіринту, в якій вони перебували перед цим.

Для формування харчового умовного рефлексу щури знаходилися в стані харчової депривації, для чого їжа була доступна протягом 1 год щодня. Тварин при харчовій депривації зі збереженим водним режимом доводили до стану, при якому маса тіла становила в середньому 85,0 % від початкової.

Потім тварин поміщали в 8-променевий радіальний лабіринт. Спочатку тварин поміщали в центрі платформи і дозволяли досліджувати весь лабіринт протягом 15 хв, після чого пропонували денний раціон їжі. На наступний день в годівниці поміщали харчові кульки (200 мг), дослід повторювали. Харчові кульки поміщали тільки в один «рукав» («промінь») лабіринту, які були пронумеровані з 1 по 8 за годинною стрілкою.

Під час тренувань тварини привчалися, використовуючи зовнішні візуальні орієнтири, знаходити їжу в годівниці, розташованій в кінці одного з «променів». Ми реєстрували послідовність відвіданих «променів» лабіринту, кількість спроб входу в кожен «промінь» до того моменту, як щур заходив в рукав-відгалуження, в кінці якого розташовувалася їжа. Входом щура в «промінь» вважали той, коли всі 4 лапи тварини знаходилися в рукаві. Протягом одного дня досліду кожній тварині дозволяли зробити 12 спроб знайти їжу в «промені» 8-променевого радіального лабіринту, після чого дослідження припиняли, а також після 6 послідовних вдалих спроб

знаходження їжі або в тому випадку якщо щур не знаходив їжу протягом 10 хв [247].

Сеанси навчання починали на 2 добу з моменту введення пілокарпіну. Щодня проводили по 2-3 сеанса, з інтервалами між ними в 2 години. Через 30 хвилин після закінчення досліджень щурам давали їжу.

У серіях дослідів для визначення збереження раніше сформованих умовних рефлексів використовували тренуваних тварин зі сформованими навичками знаходження їжі в одному з рукавів лабіринту.

В окремих дослідах в аналогічних умовах з використанням 8-променевого радіального лабіринту досліджували опір згасання раніше сформованого умовного рефлексу. З цією метою харчові кульки були відсутні в «променях» лабіринту.

## 2.8 Електрична стимуляція і руйнування структур мозку

В окремих серіях дослідів з метою з'ясування структур, відповідальних за виникнення відтермінованих спонтанних судом, здійснювали стимуляцію постійним струмом наступних параметрів - частота 60 Гц, сила струму 20-40 мкА, тривалість прямокутного імпульса 0,25 с, тривалість стимуляції - 1с та селективну деструкцію введенням іботенової кислоти (5,0-10,0 мкг; «Sigma-Aldrich», Німеччина) фронтальної кори великих півкуль, вентрального гіпокампу, верхніх горбиків чотиригорбикового тіла та серединних (mediodorsal thalamic nucleus AP=-3,8; L=0,5; H=6,2; reunions thalamic nucleus AP=-1,3; L=0,5; H=6,7) ядер таламусу під кетаміною анестезією за координатами стереотаксичного атласу. Локалізацію розташування електродів та місця деструкції верифікували на серійних зрізах замороженого мозку.

У контрольних групах у зазначені структури мозку стереотаксично вводили 2,0 мкл фізіологічного розчину, а також імплантували електроди без нанесення електричної стимуляції.

## 2.9 Препарати, застосованні в роботі

В роботі використовували наступні препарати: пілокарпін («Sigma-Aldrich», Німеччина), М-скополамін, іботенова кислота («Sigma-Aldrich», Німеччина), натрієва соль бензилпеніциліну, хлориду натрію-ізотонічний розчин, новокаїн, нембутал, кетамін, («Sigma-Aldrich», Німеччина), карбамазепін («Sigma », США), діазепам («Sigma-Aldrich», Німеччина), вальпроєва кислота, фенобарбітал («Sigma-Aldrich», Німеччина) і дифенілгідантоїн («Sigma », США).

## 2.10 Статистична обробка результатів дослідження

Всі отримані результати обробляли за допомогою загальноприйнятих в медико-біологічних дослідженнях параметричних і непараметричних методів статистичного аналізу [247, 256]. Для визначення вірогідності інтервальних значень використовували параметричний критерій ANOVA, який супроводжувався в разі відповідності критерію вірогідності тестом Neuman-Keuls.

У випадку нерівномірності розподілу ознак вірогідність визначали з використанням непараметричного тесту Мана-Уїтні. Для визначення достовірності ординальних (середня інтенсивність судом) і номінальних значень (число тварин без судом) використовували непараметричний критерій Kruscall-Wallis.

Для розрахунку ED<sub>50</sub> застосовували метод пробіт-аналізу.

Статистичну обробку виконували на персональному комп'ютері за допомогою програми статистичного аналізу "Primer Biostatistics". Мінімальну статистичну вірогідність визначали при  $p < 0,05$ .

## РОЗДІЛ 3

## ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ СПОНТАННОЇ СУДОМНОЇ АКТИВНОСТІ В УМОВАХ ПІЛОКАРПІН-ВИКЛИКАНОГО ЕПІЛЕПТИЧНОГО СТАТУСУ

Епілепсія характеризується виникненням спонтанних судом, що значно лімітує кількість експериментальних моделей, в умовах яких можна відтворити хронічну судомну активність. Для проведення експериментальних досліджень, з метою вивчення патофізіологічних механізмів хронічного епілептогенеза та удосконалення методів його патогенетичного лікування, загально визнаними вважаються модель кіндлінга і пост-статусні моделі. З використанням названих моделей можна досліджувати патофізіологічні механізми відтермінованих судом, зміни збудливості нейронів підкіркових структур і кори великих півкуль, а також особливостей взаємодії структур мозку.

Для проведення експериментальних досліджень нами була обрана модель пілокарпін-викликаних відтермінованих спонтанних судом [69, 76, 113, 117, 135]. Спочатку ми вирішили ретельно дослідити обрану модель з точки зору з'ясування відповідності всіх аспектів розвитку відтермінованих спонтанних судом, причому, особливу увагу приділяли терміновим особливостям моделі, оскільки саме в цьому, в часі розвитку спонтанних відтермінованих судом порівняно з первинним введенням пілокарпіну, розбігалися думки та результати значної частини досліджень.

Зважаючи на викладене вище, завданням першої частини виконаних нами досліджень стало відтворення моделі спонтанних судом у відтермінованому періоді пілокарпін-викликаного ЕС, а також дослідження термінових і електрофізіологічних особливостей моделі хронічної епілепсії. В якості можливих критеріїв, що визначають розвиток спонтанних судомних випадків, були взяті тривалість ЕС, інтенсивність судом протягом ЕС, кількість і типи епілептичних випадків протягом ЕС, а також інші.

Початкову серію експериментальних досліджень проводили на 50 щурах. Протягом перших 2-5 хв (рис 3.1) після в/очер введення пілокарпіну

гідрохлориду (380 мг/кг) у 92,0 % всіх тварин (у 46 щурів з 50) відзначалися лише вегетативні порушення у вигляді гіперсалівації, підвищеного занепокоєння, посилення грумінга, обнюхування, посилення рухової активності, почастищення дихання, посилення дефекації. 8 % (4 щура з 50) демонстрували чергування епізодів рухового прискорення, завмирання, підсилення уринації та дефекації, у цих щурів не відзначалося проявів гіперсалівації, підвищеного занепокоєння, посилення грумінга, обнюхування та ін.

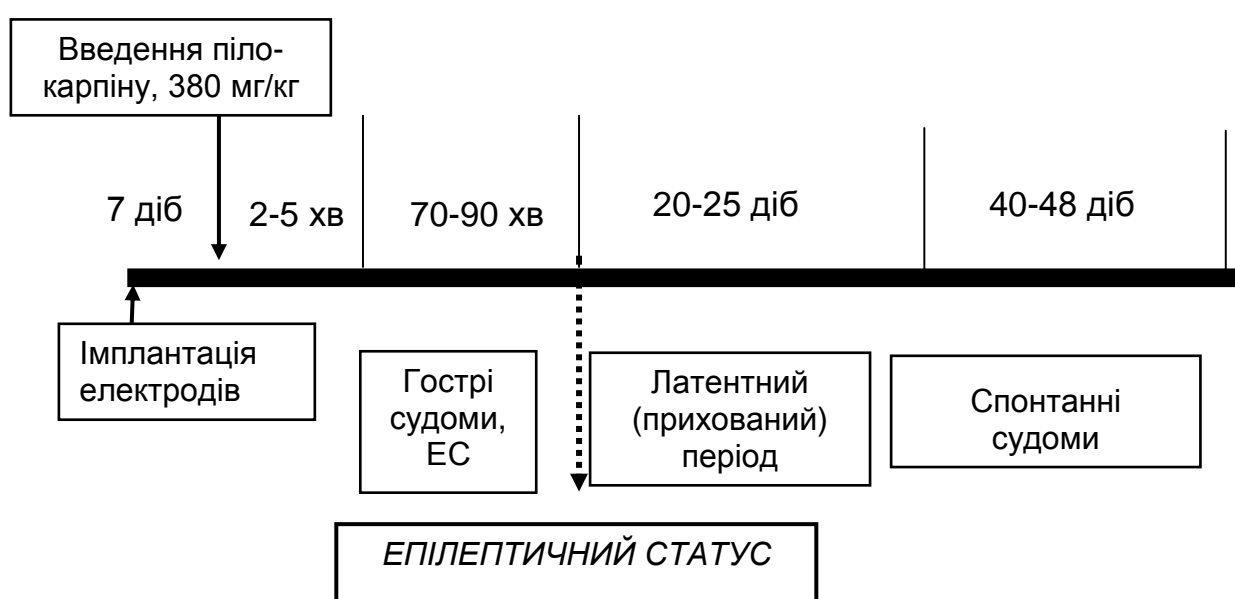


Рис. 3. 1 Схема експерименту

У 100 % щурів дослідної групи в середньому через  $21,4 \pm 3,3$  хв після введення пілокарпіну (рис. 3.1) розвивалися судоми, які спочатку носили характер міоклонічних здригувань і тремору м'язів морди, голови і передніх кінцівок. Протягом наступних 15-20 хв у всіх тварин ці судоми трансформувалися в клонічні скорочення м'язів тулуба, передніх і задніх кінцівок (щури демонстрували судоми інтенсивністю 2 та 3 бали), після чого у всіх щурів розвивалися генералізовані клоніко-тонічні напади, з падінням тварин на бік, втратою свідомості.

Після 1-6 генералізованих нападів у 84,0 % (42 щура із 50) розвивався ЕС (8 щурів загинули), тривалість якого становила в середньому  $81,2 \pm 7,9$  хв (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Середня тривалість пілокарпін-викликаного епілептичного статусу у щурів із пілокарпін-викликаними судомами

Тривалість епілептичного статусу	Кількість щурів з відповідною тривалістю епілептичного статусу
До 15 хвилин	1 (2,0 %)
Від 16 до 30 хвилин	2 (4,0 %)
Від 31 до 60 хвилин	17/1* (34,0 %)
Від 61 до 120 хвилин	30/7* (60,0 %)

Примітка. \* - зафіксовано загибель тварин.

У 1 щура з 50 (2,0 %) тривалість пілокарпін-викликаного ЕС дорівнювала 13,7 хв. У 2 тварин з 50 (4,0 %) його тривалість не перевищувала 30 хв і склала в середньому  $23,6 \pm 3,2$  хв. У 17 щурів (34,0 %) пілокарпін-викликаний ЕС тривав протягом від 31 до 60 хв, у 30 тварин (60,0 %) - понад 61 хв. Протягом ЕС загинули 8 (16,0 %) тварин, причому 7 з цих щурів загинули внаслідок пролонгованого ЕС, тривалість якого перебільшувала 100 хв.

У 37 щурів з 50 (74,0 %) упродовж епілептичного статусу спостерігалися повторні судомні напади, які характеризувалися переважними клоніко-тонічними нападами, що відповідало 5 балам за загальноприйнятою шкалою оцінки важкості судомних реакцій (до їх числа входять і загиблі тварини; табл. 3.2).

В 11 щурів з 50 (22,0 %) відзначалися здригання м'язів морди і рота, тремтіння, вібрис, що відповідало 1 балу. Судомні прояви у 2 з 50 (4,0 %) тварин відзначалися у вигляді клонічних скорочень м'язів передніх і задніх кінцівок і підйомом щурів на задні лапи, що відповідало 3 балам (табл. 3.2). У

наступних дослідах із 50 взятих спочатку щурів під наглядом залишалися 42 щура.

Таблиця 3.2

Середня інтенсивність судом у щурів із пілокарпін-викликаним епілептичним статусом

Інтенсивність судом у балах	Кількість щурів із пілокарпін-викликаними судомними проявами відповідної інтенсивності
1 бал	11 (22,0 %)
3 бали	2 (4,0 %)
5 балів	37/8* (74,0 %)

Примітка. \* - зафіксовано загибель тварин.

У 39 щурів з 42 (92,9 %), які вижили після ЕС, протягом наступних після нього 20-25 діб (рис. 3.1) реєструвалися інтенсивні дослідницькі реакції, посилення грумінга, незначне збільшення горизонтальної рухової активності. У 3 тварин (7,1 %) відзначали гіподинамію, зменшення рухів і загальмованість.

На 26-у добу після ЕС у 35 щурів з 42 (83,3 %) розвинулися спонтанні судомні реакції, які спочатку мали вигляд незначних міофасціальних здригувань і сіпань голови. У 7 тварин з 42 (16,7 %) спонтанна судомна активність (ССА) була відсутньою протягом усього часу спостереження (49 діб після ЕС) - до 74 дня з моменту початку досліду. Отже, пілокарпін-викликані спонтанні судомні реакції були зареєстровані у 35 тварин.

Спонтанні судоми проявлялися у вигляді незначних за вираженістю, дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів передніх кінцівок, які реєструвалися у 26 щурів з 35 (74,3 %). З числа цих 26 тварин у 21 щура реєструвалися міоклонуси передніх лап, у 5 щурів - монолатеральні міоклонічні скорочення (табл. 3.3).

Характеристика спонтанних судом у щурів із пілокарпін-викликаними судомами

Характеристика судомних реакцій	Кількість щурів із відповідними спонтанними пілокарпін-викликаними судомами
Міофасціальні здригання і автоматизми	7 (20,0 %)
Міоклонічні скорочення м'язів передніх кінцівок	26 (74,3 %)
Міоклонічні скорочення м'язів передніх та задніх кінцівок	2 (5,7 %)

У 2 щурів з 35 (5,7 %) спонтанні судоми відзначалися у вигляді міоклонічних скорочень м'язів передніх і задніх кінцівок з переважанням м'язової активності у м'язах передніх кінцівок. У 7 з 35 щурів (20,0 %) протягом усього періоду спостереження реєструвалися незначні за виразністю міофасціальні здригання і оральні автоматизми.

Спонтанні судоми у піддослідних тварин, описані вище, відзначалися протягом 40 діб з моменту їх появи (що дорівнює 66-й добі з початку експериментальних спостережень; рис. 3.1). В подальшому, протягом 8 діб (з 67 до 74 доби з початку досліду) ми реєстрували зменшення інтенсивності судомних реакцій, зменшення їх частоти. На 49-й добі з моменту ініціації спонтанних судом (цей термін дорівнює 75-й добі досліду, з моменту введення пілокарпіну гідрохлориду), спонтанні судоми були відсутні у всіх тварин.

В подальшому метою наших спостережень було визначення впливу тривалості пілокарпін-викликаного ЕС у кожного щура окремо на ймовірність розвитку спонтанних судом.

У 8,6 % (3 щура з 35) в наших спостереженнях середня тривалість ЕС була в межах від 16 до 30 хв і становила  $22,7 \pm 3,2$  хв. У 34,3 % щурів досліджуваний показник перевищував 30 хв, але був менше 60 хв та



дорівнював  $47,2 \pm 5,3$  хв. У 57,1 % щурів тривалість ЕС перевищувала 1 год та дорівнювала в середньому  $98,6 \pm 10,1$  хв (табл.3.4).

Таблиця 3.4

Залежність розвитку спонтанної судомної активності в щурів із пілокарпін-викликаними судомами від тривалості пілокарпін-викликаного епілептичного статусу

Тривалість епілептичного статусу	Кількість щурів із спонтанними пілокарпін-викликаними судомами
До 15 хв	-
16-30 хв	3 (8,6 %)
31-60 хв	12 (34,3 %)
61-120 хв	20 (57,1 %)

У цих групах тварин, які були виділені нами відповідно по тривалості ЕС - до 30 хв, до 1 і 2 год, відповідно, - відзначалося прогресивне збільшення кількості тварин зі ССА від 8,6 % до 34,3 % і 57,1 %. При статистичній обробці отриманих результатів коефіцієнт рангової кореляції Спірмена дорівнює 0.77, що показує високу ступінь кореляції досліджуваних явищ.

Протягом першого дня спостереження, з моменту виникнення ССА, 12 епізодів СС, спостерігали в одного щура з 35. Тривалість ЕС у нього була рівна 107 хв. По 10 і 11 епізодів ССА були зареєстровані у 8 і 4 щурів з 35, відповідно. Тривалість ЕС у цих тварин склала  $76,1 \pm 6,9$  і  $83,0 \pm 7,4$  хв, відповідно. У 7 з 35 щурів були зареєстровані 9 епізодів ССА, причому середня тривалість ЕС у них склала  $70,7 \pm 7,1$  хв. У 4 і 5 щурів з 35, відповідно, було 6 і 7 епізодів ССА – середня тривалість ЕС у них була рівна  $49,3 \pm 3,9$  і  $54,1 \pm 4,4$  хв, відповідно. У 3 щурів з 35 ми відзначено 5 епізодів, пілокарпін-викликаний ЕС у них тривав протягом  $42,5 \pm 4,3$  хв. І ще у 2 тварин з 35 із середньою тривалістю ЕС протягом  $25,1 \pm 2,7$  хв були зареєстровані 3 епізода ССА. У 1 щура був зареєстрован 1 СС, ЕС в якого тривал протягом 21,5 хв (табл. 3.5).

Особливості розвитку спонтанних судом залежно від тривалості пілокарпін-викликаного епілептичного статусу

Тривалість пілокарпін-викликаного епілептичного статусу, $M \pm m$ , хв	Число щурів зі спонтаними судомами	Число епізодів спонтанних судом протягом 1 доби
21,5	1	1
25,1 $\pm$ 2,7	2	3
42,5 $\pm$ 4,3	3	5
49,3 $\pm$ 3,9	4	6
54,1 $\pm$ 4,4	5	7
70,7 $\pm$ 7,1	7	9
76,1 $\pm$ 6,9	8	10
83,0 $\pm$ 7,4	4	11
107	1	12
<b>ЗАГАЛОМ:</b>	<b>35</b>	<b>64</b>

Таким чином, в ході цих спостережень ми дійшли висновку про пряму залежність між тривалістю судом, їх інтенсивністю під час гострої стадії ЕС у кожного щура та ймовірністю розвитку спонтанних судомних реакцій. Аналіз кореляції між тривалістю та інтенсивністю ЕС і частотою розвитку ССА виявив відсутність розвитку спонтанних судом в разі припинення ЕС через 15 хв після його початку. Коефіцієнт рангової кореляції Спірмена в цих спостереженнях склав 0,68, що свідчить про помірно виражений зв'язок досліджуваних явищ.

Доведено, що в разі індукції спонтанних судом пілокарпіном їх тривалість підлягає циклічному характеру з періодичністю в 5-8 діб [205]. При

щоденному підрахунку кількості спонтанних судом протягом 40 діб спостереження, коли в щурів відзначалися пілокарпін-індуковані спонтанні судоми, ми відзначали в середньому від 5 до 8 циклів спонтанних судом у піддослідних тварин.

Протягом реєстрації в щурів спонтанних судом (що відзначалося в щурів з 40-ї по 48-у доби, що в свою чергу було еквівалентно 66-74 добам досліду з початку введення конвульсанту) щоденно підраховували загальну їх кількість. Загальна кількість епізодів спонтанних судом протягом 1-ї доби їх реєстрації дорівнювала 63 (рис. 3.2). Потім величина досліджуваного показника зростає до 77. Загальна кількість епізодів спонтанних судом на 3-й добі їх реєстрації дорівнювала 94, на 4-й добі – 87, на 5-й добі – 80, на 6-й добі – 84, на 7-й добі – 77 епізодів ССА в групі піддослідних щурів із спонтанними судомами.

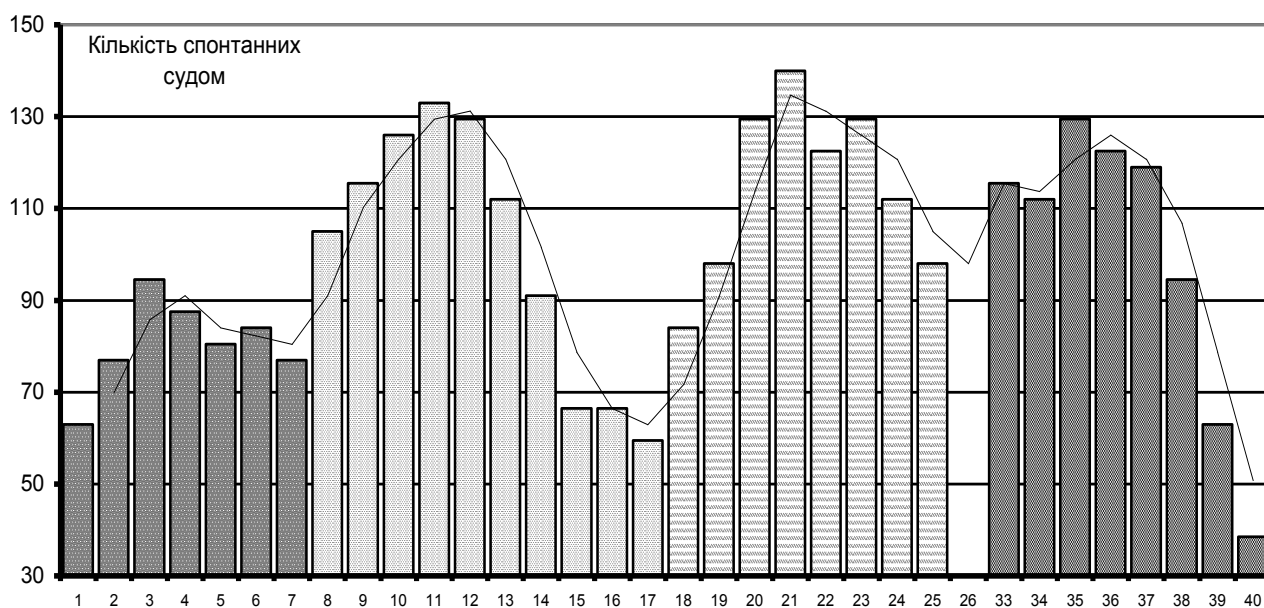


Рис. 3.2 Кумулятивна кількість спонтанних судом в групі щурів з пілокарпін-викликаною спонтанною судомною активністю протягом 40-денного періоду спостереження.

За віссю абсцис - доби спостереження з моменту реєстрації ССА.

Примітка: лінією (трендом) і різним забарвленням стовпчиків позначені приблизні добові цикли розвитку епізодів спонтанних судом.

На 8-у добу досліду (реєстрації спонтанних судом) досліджуваний показник дорівнює 105, на 9-й – 115, на 10-й – 126, та на 11-й добі досліду він сягає максимальної позначки в 132 епізодів спонтанних судом (рис. 3.2).

Із наведеної діаграми можна простежити, що загальна кількість епізодів ССА, зазвичай, не перевищувала усередненого показника в 140 (на 21-у добу досліду) і дорівнювала мінімальній відзначці в 38 на 40-й добі з моменту реєстрації першого епізоду спонтанних судом. Таким чином, простежується періодичність в динаміці загальної кількості спонтанних судом протягом досліду з усередненою тривалістю періоду в 7-10 діб (рис. 3.2).

В подальшому, протягом наступних 8 діб у 3 щурів ми ще реєстрували спонтанні судоми, але їх інтенсивність була незначною, а тривалість – мінімальною. Проте, загальна тривалість періоду генерування спонтанних судом із урахуванням цих 3 щурів дорівнювала 48 діб. А вже наступної, 49-ї доби (починаючи з реєстрації спонтанних судом у першій тварини) щури протягом усієї доби вільно пересувалися по кліті та поверхні «відкритого поля» без проявів тривожності, завмирання, скорочень м'язів будь-якої частини тіла та інших проявів судомної активності. Наші підрахунки виявили, що припинення демонстрації спонтанних судом на 40-й добі співпало з 75-й добою досліду з моменту введення конвульсанту (рис. 3.1).

Завданням наступної частини дисертаційних досліджень була реєстрація електричної активності окремих утворень мозку і ділянок кори протягом генерації спонтанних судом.

Під час латентного періоду, спостережуваного після ЕС, тобто через 22 доби після введення конвульсанту, на ЕЕГ у 23 щурів з 35 (65,7 %) реєструвалася активність, яка характеризувалася низькоамплітудними асинхронно виникаючими спайковими потенціалами з амплітудою, що не перевищує 1,8 мВ в правій і лівій лобовій корі і 2,5-3,0 мВ - у правому та лівому гіпокампі (рис. 3.3, А).

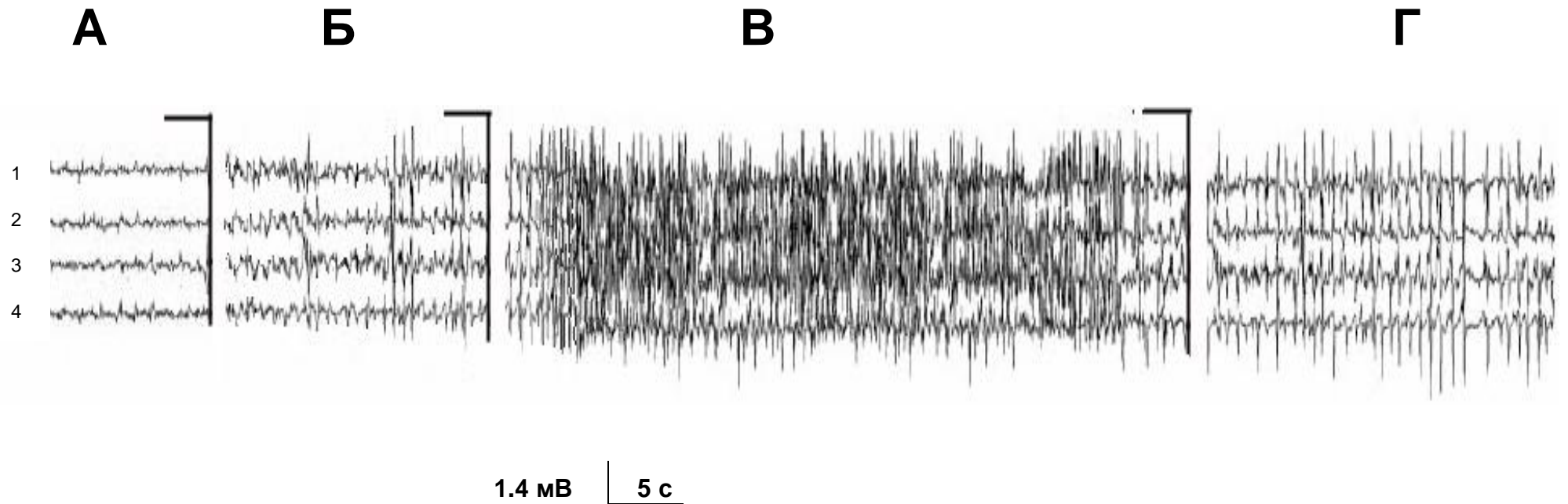


Рис. 3.3 ЕЕГ щурів при пілокарпін-викликаних спонтанних судомах

Фрагмент А - фоновая активність, через 22 доби після введення пілокарпіну

Фрагмент Б - через 9 хвилин після А.

Фрагмент В - через 11 хвилин після А.

Фрагмент Г - через 12 хвилин після А.

1 - права лобова кора, 2 - ліва лобова кора, 3 - правий вентральний гіпокамп, 4 - лівий вентральний гіпокамп.

Відмітка часу - 5 с, калібрування сигналу - 1,4 мВ

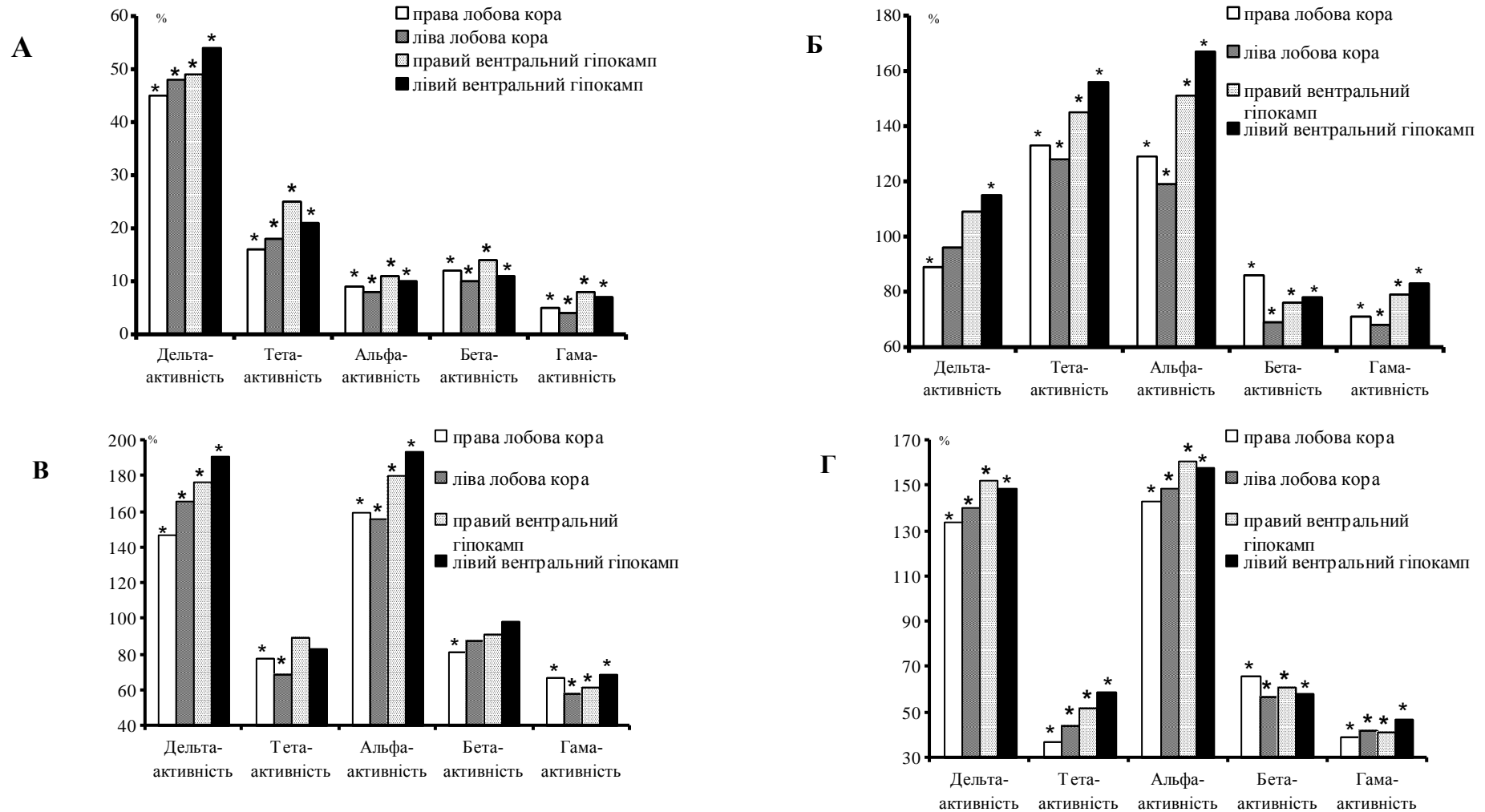


Рис. 3.4 Потужність ЕЕГ-хвиль в мозку щурів в умовах пілокарпін-викликаних спонтанних судом.

Примітки: А-Г відповідають інтервалам часу реєстрації ЕЕГ, як це вказано на рис. 3.3 \* -  $p < 0,05$  – порівняно з вихідними даними

При ампліудно-частотному аналізі хвиль діапазонів ЕЕГ в цей інтервал часу виявлено переважання активності хвиль дельта діапазону, які були найбільш виражені в гіпокампі (рис. 3.4, А). Але при цьому потужність всіх частотних ритмів була суттєво менше, ніж за умов фонові реєстрації ( $p < 0,05$ ). Так, активність ЕЕГ-ритмів тета-діапазону в досліджуваних структурах мозку становила в середньому  $17,7 \pm 2,5$  %, альфа-діапазону -  $9,6 \pm 1,1$  %, бета-діапазону -  $11,6 \pm 1,6$  % та гама-діапазону -  $6,2 \pm 0,8$  % при порівнянні з вихідним фоном, що мало суттєві розбіжності при статистичному обрахуванні ( $p < 0,05$ ).

За 2 хв до спонтанних судом, у всіх досліджуваних структурах на ЕЕГ цих щурів відзначалася переважно синхронізована високоампліудна активність з частотою потенціалів до 7-9 на хв (рис. 3.3, Б.).

Ампліудно-частотний аналіз ЕЕГ-активності в цей час виявив у щурів суттєве зростання потужності хвиль переважно альфа-, тета- та дельта-діапазонів (рис. 3.4, Б). Суттєво більшою виявилася потужність, яка генерувалася лівим та правим гіпокампом, при порівнянні з такими показниками в правій та лівій лобовій корі. В найбільшому ступені – на 67,0 % та на 56,0 % - збільшувалася потужність альфа- та тета хвиль, які генерувалися лівим гіпокампом, що значно перевищувало відповідні вихідні значення ( $p < 0,05$ ). В корі мозку потужність хвиль тета- та альфа- діапазонів також суттєво зростали при порівнянні з їх вихідними значеннями ( $p < 0,05$ ).

Під час виникнення ССА в ЕЕГ 23 щурів з 35 реєструвалися спайкові потенціали, які генерувалися з частотою до 11-13 за хв в обох гіпокампах. У неокортексі частота потенціалів складала 8-9 за хв. Амплітуда потенціалів в лобовій корі і гіпокампі становила 1,2-1,6 мВ. Тривалість ССА становила в середньому 50-70 с і характеризувалася появою в ЕЕГ високочастотної спайкової активності, яка спостерігалася в гіпокампі та з розрядами в неокортексі одночасно (рис. 3.3, В).

Максимальне зростання потужності хвиль дельта- та альфа-діапазонів при ЕЕГ-реєстрації, в цьому випадку були також в лівому гіпокампі (на 91,0 % та на 94,0 % більше, відповідно, порівняно з такими вихідними значеннями

( $p < 0,05$ ). Достаньо високими є дані потужності коркових нейронів лівої та правої лобової кори – в середньому  $161,7 \pm 17,1$  % та  $159,8 \pm 16,7$  % ( $p < 0,05$ ). В цей інтервал часу маніфестація пілокарпін-індукованих судом супроводжується вираженим пригніченням активності тета-, бета- та гама-діапазонів ( $p < 0,05$ ) в усіх досліджуваних структурах в усіх перелічених діапазонах активності порівняно з вихідними значеннями (рис.3.4, В).

Протягом наступної хвилини активність на ЕЕГ, пов'язана з розвитком ССА, трансформувалася у гострі спайкові потенціали частотою 9-11 за хв і амплітудою до 1,6-1,7 мВ (рис. 3.3, Г), що поведінково відповідало дрібноамплітудним скороченням м'язів морди, голови і передніх кінцівок (2 бали за прийнятою шкалою оцінки тяжкості судом).

При частотно-амплітудному аналізі ЕЕГ протягом цього періоду пілокарпін-індукованих спонтанних судом було виявлено переважання дельта- та альфа-діапазонів потужності в гіпокампі та корі мозку, що мало статистичні розбіжності при порівнянні з вихідними значеннями ( $p < 0,05$ ). Потужність хвиль тета-, бета- та гама-діапазонів була мінімальною та дорівнювала в середньому від 37,0 % до 59,0 % (в тета-діапазоні), від 57,0 % до 66,0 % (в бета-діапазоні) та від 39,0 % до 47,0 % (в гама-діапазоні), що було суттєво менше, ніж до введення пілокарпіну ( $p < 0,05$ ; рис. 3.4, Г).

У 8 щурів з 35 (22,9 %) ЕЕГ-картина була іншою: після фонові активності (рис. 3.5, А), що відзначалася протягом 26 діб після введення пілокарпіну і трансформувалася у епілептиформну активність (рис. 3.5, Б) , остання на ЕЕГ у всіх досліджуваних утвореннях мозку різко припинялася і змінювалася низькоамплітудною повільною активністю, ідентичною такій, яка реєструвалася до ініціації ССА з переважанням повільно-хвильових комплексів, найбільша амплітуда яких (20-30 мкВ) відзначалася в неокортексі (рис. 3.5, В). При реєстрації ЕЕГ-активності не вдалося виявити переважання активності нейронів гіпокампу, і кори мозку, досліджувані структури синхронно починали генерувати надмірну електричну активність, що передувала розвитку СС



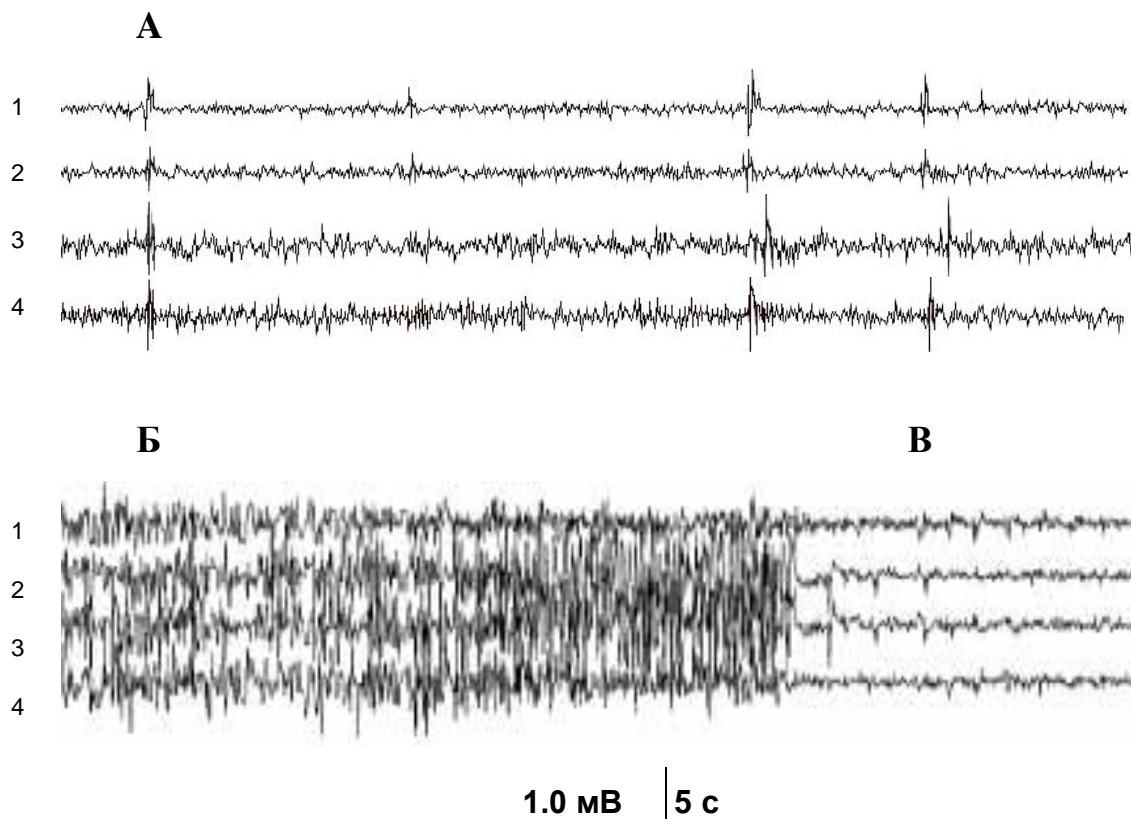


Рис. 3.5 ЕЕГ щурів в умовах пілокарпін-викликаної судомної активності.

Фрагмент А - фонова активність, через 26 діб після введення пілокарпину.

Фрагмент Б - через 6 хв після А

Фрагмент В - через 8 хв після А

1- права лобова кора, 2 - ліва лобова кора, 3 - правий вентральний гіпокамп, 4 - лівий вентральний гіпокамп.

Відмітка часу - 5 с, калібрування сигналу - 1,0 мВ

При аналізі амплітудно-частотних характеристик цієї ЕЕГ-реєстрації виявлено, що за умов фонові активності виявилось переважання потужності альфа- (в середньому на 47,0-49,0 % більше, ніж вихідні дані), тета- (в середньому на 26,0-29,0 % більше, ніж вихідні дані) та дельта- (в середньому на 17,0-29,0 % більше, ніж вихідні дані) діапазонів, яка генерувалася нейронами гіпокампу (в усіх випадках  $p < 0,05$ ; рис. 3.6, А).

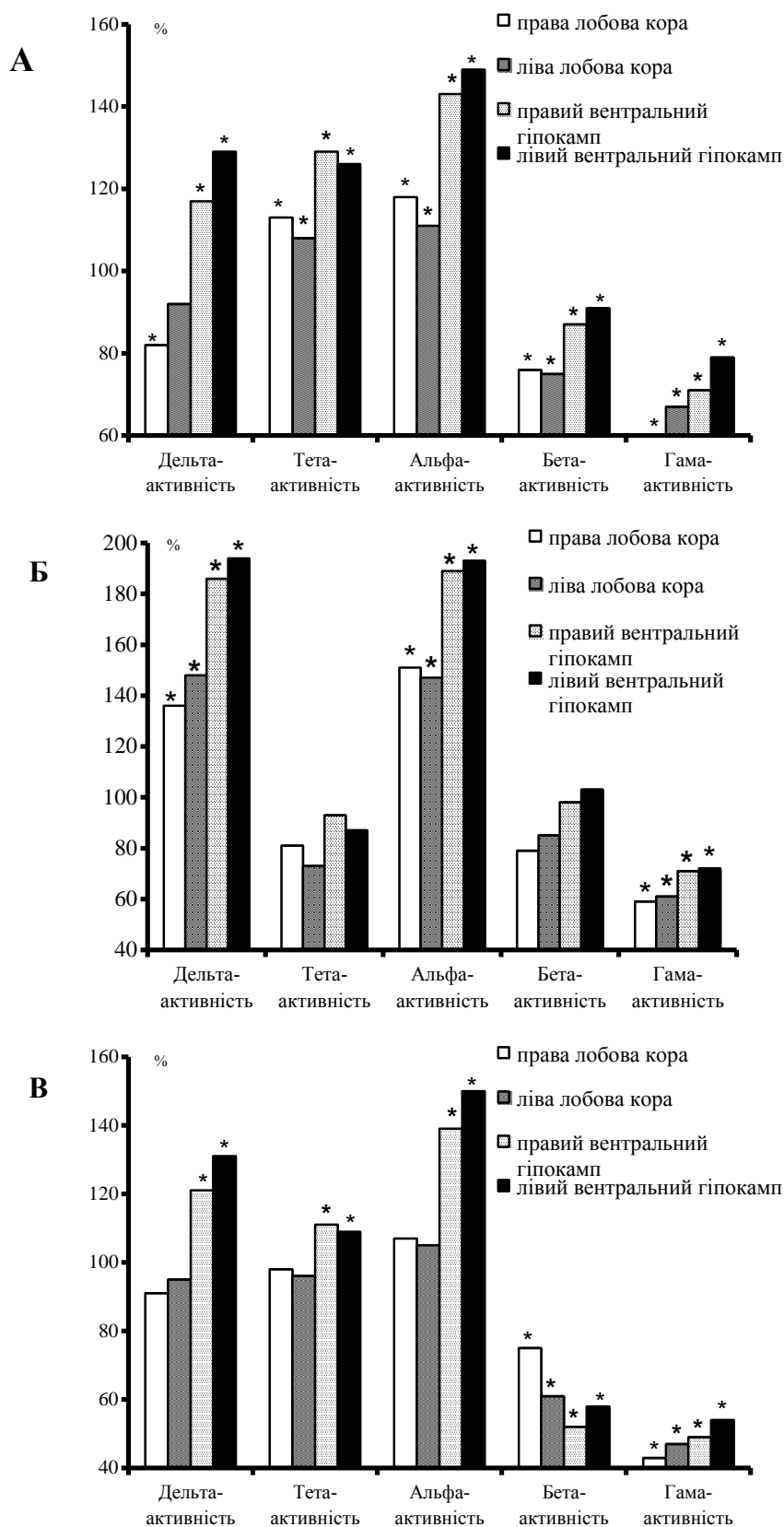


Рис. 3.6 Потужність ЕЕГ-хвиль в мозку щурів в умовах пілокарпін - викликаних спонтанних судом.

Примітки: А-В відповідають інтервалам часу реєстрації ЕЕГ, як це вказано на рис. 3.5 \* -  $p < 0,05$  –порівняно з вихідними даними.

При цьому потужність хвиль альфа-діапазону, що їх генерували нейрони гіпокампу, на 29,0 % перебільшували відповідну усереднену потужність альфа-діапазону, що їх генерували кортикальні нейрони ( $p < 0,05$ ). Потужність хвиль дельта-діапазону, що їх генерували нейрони гіпокампу, виявилася на 43,0 % більше, ніж усереднена потужність хвиль дельта-діапазону, що їх генерували кортикальні нейрони ( $p < 0,05$ ).

В разі співставлення потужностей генерації хвиль тета-діапазонів нейронами гіпокампу та кори мозку розбіжності виявилися статистично невірогідними ( $p > 0,05$ ; рис. 3.6, А).

В подальшому амплітудно-частотний аналіз виявив ще більше переважання хвиль альфа- та дельта-діапазонів за мірою розвитку відтермінованих пілокарпін-індукованих судом.

Потужність хвиль альфа-діапазону та дельта-діапазону, що їх генерували нейрони гіпокампу, виявилася на 37,0 % та на 29,0 % більше, ніж відповідна усереднена потужність хвиль альфа- та дельта-діапазону, що їх генерували кортикальні нейрони ( $p < 0,05$ ; рис. 3.6, Б).

Подібний характер переважання потужності альфа- та дельта активностей нейронів гіпокампу порівняно з відповідним показниками у кортикальних нейронів був нами встановлений при частотно-амплітудному аналізі ЕЕГ щурів на момент демонстрації щурами відтермінованих пілокарпінових судом (рис. 3.6, В).

У 4 щурів з 35 (11,4 %) ЕЕГ активність, що передувала розвитку СС, характеризувалася раннім залученням до генерування епілептиформної активності кори мозку (рис. 3.7). Повільні спайк-хвильові комплекси і наступні за ними загострені спайкові потенціали раніше генеруються нейронами лівої кори мозку.

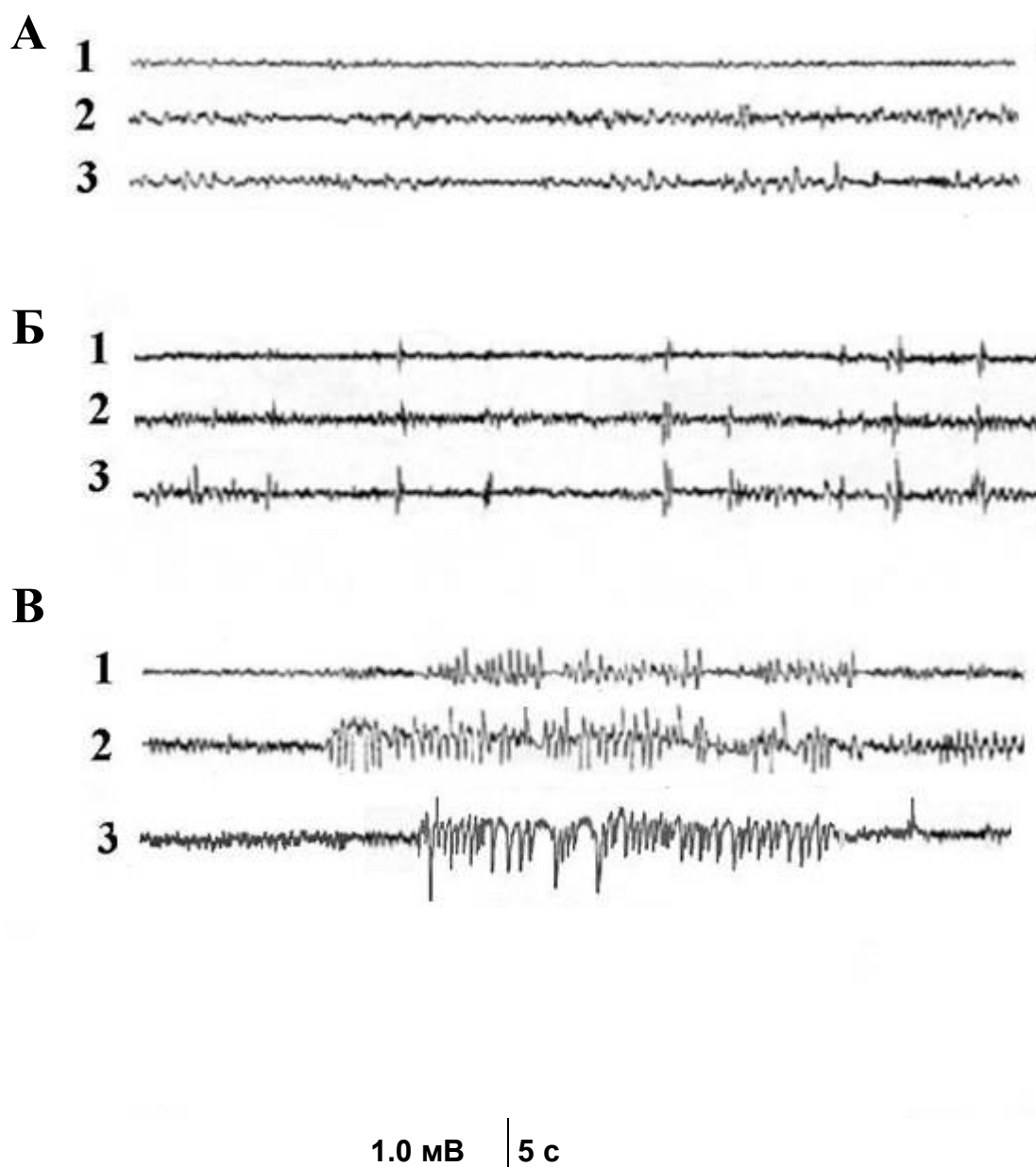


Рис. 3.7. Фрагмент ЕЕГ щурів в умовах пілокарпін-викликаної судомної активності.

Фрагмент А - фонова активність, через 24 дні після введення пілокарпіну.

Фрагмент Б - через 3 год після А

Фрагмент В - через 3,5 год після А

1- відповідно, 2 - права лобова кора, 3 - ліва лобова кора, 4 - лівий вентральний гіпокамп.

Відмітка часу - 5 сек, калібрування сигналу – 1.0 мВ

При аналізі амплітудно-частотних характеристик цієї ЕЕГ-реєстрації виявлено, що за умов фонові активності виявилось переважання потужності альфа-активності (в середньому на 29,0-43,0 % більше, ніж вихідні дані), яка генерувалася кортикальними нейронами ( $p < 0,05$ ; рис. 3.8, А). Потужність хвиль дельта- та тета-діапазонів також була більшою порівняно з відповідними потужностями генерації активності нейронами гіпокампу, проте, статистичної значимості ця перевага не набула ( $p > 0,05$ ).

Встановлено, що потужність хвиль альфа-діапазону, що їх генерували кортикальні нейрони, на 27,0 % перебільшували відповідну усереднену потужність альфа-діапазону, що їх генерували нейрони гіпокампу ( $p < 0,05$ ). Потужність хвиль тета-діапазону, що їх генерували кортикальні нейрони, виявилася на 37,0 % більше, ніж усереднена потужність хвиль дельта-діапазону, що їх генерували нейрони гіпокампу ( $p < 0,05$ ).

В разі співставлення потужностей генерації хвиль тета-діапазонів нейронами кори мозку та гіпокампу розбіжності виявилися статистично невірогідними ( $p > 0,05$ ; рис. 3.8, А).

В подальшому амплітудно-частотний аналіз виявив ще більше переважання активності альфа- (в середньому на 76,0-87,0 % більше, ніж вихідні дані) та дельта- (в середньому на 66,0-79,0 % більше, ніж вихідні дані) діапазонів, яка генерувалася кортикальними нейронами, за мірою розвитку відтермінованих пілокарпін-індукованих судом.

Так, потужність хвиль альфа-діапазону та дельта-діапазону, що їх генерували нейрони кори мозку, виявилася на 29,0 % та на 25,0 % більше, ніж відповідна усереднена потужність хвиль альфа- та дельта-діапазону, що їх генерували нейрони гіпокампу ( $p < 0,05$ ; рис. 3.8, Б).

Подібний характер вірогідного переважання потужності альфа- та дельта активностей нейронів кори мозку порівняно з відповідним показниками у нейронів гіпокампу був нами встановлений при частотно-амплітудному аналізі ЕЕГ при її подальшій реєстрації на момент демонстрації щурами відтермінованих пілокарпін-індукованих судом (рис. 3.8, В).

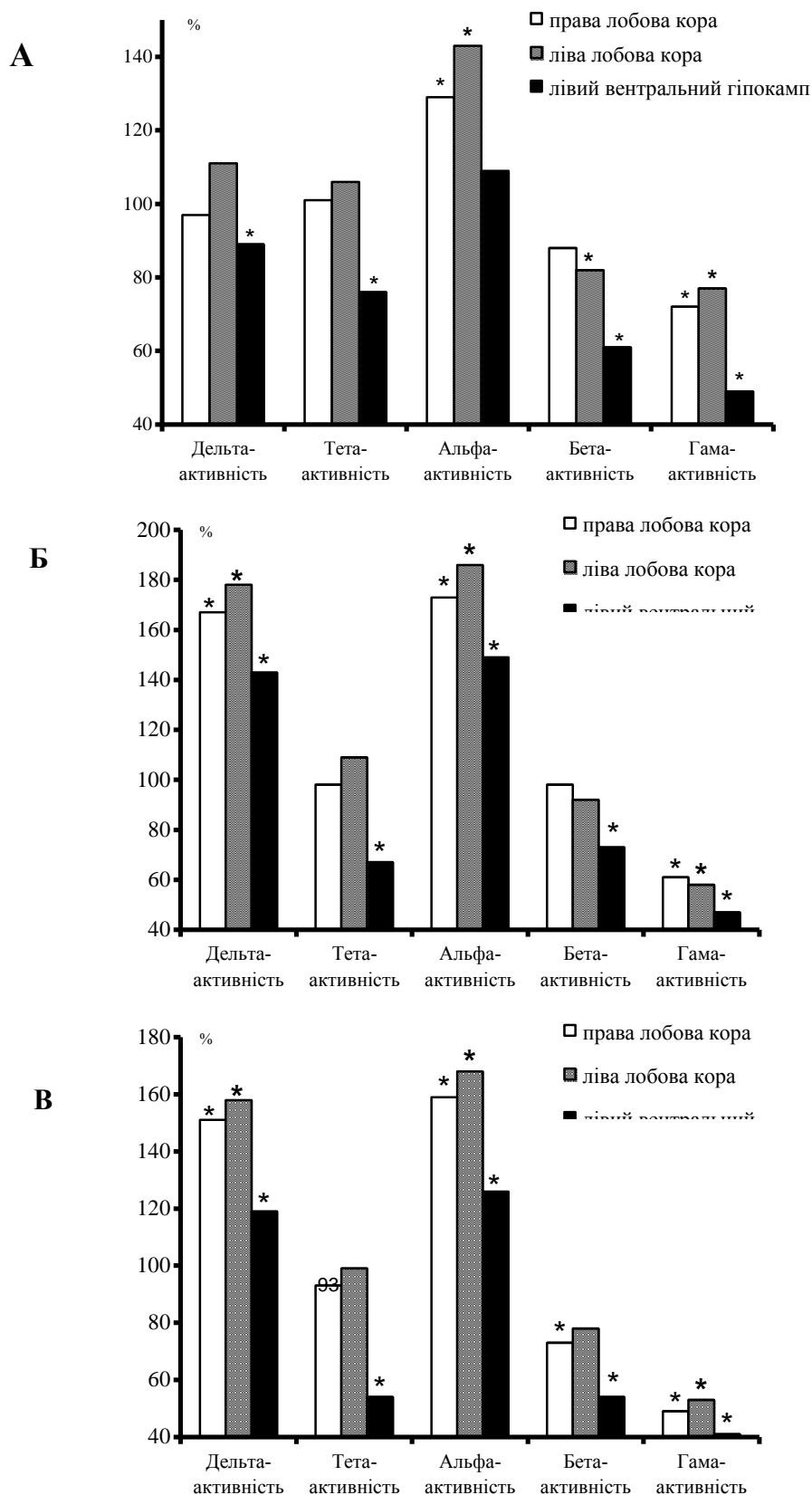


Рис. 3.8 Потужність ЕЕГ-хвиль в мозку щурів в умовах пілокарпін-викликаних спонтанних судом.

Примітки: А-В відповідають інтервалам часу реєстрації ЕЕГ, як це вказано на рис. 3.7 \* -  $p < 0,05$  – порівняно з вихідними даними.

**Висновки розділу.** У щурів після введення пілокарпіну (380 мг/кг, в/очер) розвивається комплекс поведінкових і електрографічних порушень, характерних для ЕС, який характеризується летальністю, стадійністю і розвитком спонтанних судом. В середньому через 70-90 хв після введення пілокарпіну у щурів відзначаються гострі судоми, внаслідок яких гине 16,0 % тварин, а через 20-25 днів у 70,0 % тварин розвиваються спонтанні судомні реакції.

Характеристики спонтанних судом розрізнялися від незначних по виразності міофасціальних здригувань і оральних автоматизмів (у 20,0 %) до міоклонічних скорочень м'язів передніх і задніх кінцівок з переважанням м'язової активності м'язів передніх кінцівок (у 5,7 %).

Тривалість періоду, протягом якого у щурів після введення пілокарпіну розвиваються спонтанні судоми, складає в середньому 40-48 діб з максимальною їх представленістю протягом 40 діб з моменту ініціації. Простежується періодичність в динаміці загального кумулятивного числа спонтанних судом під час спостереження з середньою тривалістю періоду в 7-10 діб. Проведений аналіз виявив пряму залежність частоти розвитку спонтанних судом у щурів від тривалості гострих пілокарпін-викликаних судом і їх інтенсивності під час гострої стадії ЕС

Дослідження ЕЕГ-активності мозку щурів під час спонтанних судом дозволило зробити висновок, що у 65,7 % щурів вентральний гіпокамп є першою структурою мозку, в якій посилюється активність при ініціації спонтанних відтермінованих судом. У 11,4 % щурів ЕЕГ активність, що передувала розвитку спонтанних судом, характеризувалася більш раннім залученням до генерування епілептиформної активності кори мозку. У 22,9 % випадків підкіркові структури, переважно гіпокамп, і кора мозку синхронно починали генерувати надлишкову електричну активність, що передувала розвитку спонтанних судом.

Ініціація ЕЕГ-активності в мозку частини щурів структурами лобової кори під час ССА свідчить про необхідність подальшого дослідження

механізмів залучення даних утворень в опосередкування хронічного пілокарпін-викликаного судомного синдрому, а також про складності, неоднозначності трактування та системності комплексу змін що розвивається у мозку щурів в отсроченому періоді пілокарпінового ЕС.

За матеріалами даного розділу були опубліковані наступні роботи:

1. Шандра О. А., Копйова Н. В. Патологические механизмы развития спонтанной судорожной активности. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2008. № 2 (14). С. 7–17. *Внесок дисертанта: участь в розробці загальної концепції теми та схеми проведення наукової роботи.*

2. Копйова Н. В. Спонтанна судомна активність за умов пілокарпін-індукованого епілептичного статусу: характеристика моделі. *Досягнення біології та медицини*. 2009. № 1 (13). С. 17–23.

3. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Патологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса. *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2009. № 3 (17). С. 135-145. *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення статті до друку.*

4. Копйова Н. В., Ляшенко С. Л., Топал М. М. Дослідження патогенетичних механізмів спонтанних судом за умов пілокарпін-спричиненої моделі хронічного судомного синдрому. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015. Vol. 5, N 8. P. 159-176. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, участь в оцінці результатів, оформлення статті до друку.*

5. Копйова Н. В. Особливості моделі спонтанних, хронічних судом, індукованих пілокарпіном. *Бюлетень VI читань ім. В.В. Подвисоцького, присвячених до 150-річчя з дня народження*, м. Одеса, 31 трав.- 1 черв. 2007 р. Одеса, 2007. С. 79–80.

6. Шандра А. А., Копьёва Н. В. Электрографическая характеристика самопроизвольных отсроченных судорог у крыс в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса. *Патологія*. 2008. Т. 5, № 2.



С. 84. (Матеріали V націон. конгресу патофізіологів України «Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів», м. Запоріжжя, 17–19 вересня 2008 р.). *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку.*

7. Копйова Н. В. Характеристика пілокарпін-спричинених відтермінованих спонтанних судом у щурів. *Бюллетень XI чтений им. В.В. Подвысоцкого*, г. Одесса, 24-25 мая 2012 г. Одесса, 2012. С. 74–75.

8. Копйова Н. В., Топал М. М. Дослідження електричної активності мозку щурів за умов пілокарпін-індукованого хронічного судомного синдрому. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини: тези наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присв. 100-річчю з дня народження К. Д. Двужильної*, м. Одеса 2013 р. Одеса, 2013. С. 45. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення результатів, виступ з доповіддю на конференції.*

## РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ПАТОФІЗІОЛОГІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ РОЗВИТКУ  
ПІЛОКАРПІН-ВИКЛИКАНИХ СПОНТАННИХ СУДОМ

У даному розділі роботи ми виклали результати дослідження механізмів впливу серединних ядер таламуса (медіодорзальне і з'єднувальне) і фронтальних відділів кори мозку на розвиток відтермінованих спонтанних судомних реакцій. Серединні ядерні утворення таламуса виконують релейну функцію, тобто саме через них надмірне збудження охоплює кору мозку, переважно її префронтальні ділянки - таким є механізм виникнення і підтримки епілептиформної активності у людей при скронево-часткової епілепсії [228]. Відомо, що рекрутіруючі таламо-кортикальні впливи модулюють вогнищеві та генералізовані судомні реакції [59]. Відомо, нарешті, що проєкції специфічних і неспецифічних ядер таламуса закінчуються в IV і I шарах лобової кори, відповідно, що, на думку авторів, має припускати опосередкування фронтальною корою епілептиформних реакцій.

Цікавими є дані досліджень [257], які довели, що після руйнування медіодорзальної частини таламуса у щурів порушувалася орієнтація в просторі і просторова пам'ять в умовах гострих судом, викликаних пілокарпіном і літієм.

Для дослідження ролі серединних ядер таламуса (*nn mediodorsal* і *reuniens*) і фронтальних ділянок кори в патофізіологічних механізмах пілокарпін-індукованих спонтанних судом ми здійснювали хімічну деструкцію та електричну стимуляцію зазначених утворень мозку в модельних умовах.

#### 4.1 Визначення структур мозку, відповідальних за поширення епілептичної активності після введення пілокарпіну

На початку досліджень було вивчено роль медіодорзального і серединного ядер таламуса, а також фронтального відділу кори в

патофізіологічних механізмах розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Протягом перших 2-5 хв після введення пілокарпіну у щурів контрольної групи (n=11) (введення щурам пілокарпіна без попереднього руйнування або стимуляції досліджуваних ядерних утворень таламуса) відзначалися вегетативні порушення у вигляді гіперсаливації, підвищеного занепокоєння, посилення грумінга, посиленого обнюхування, посилення моторної активності, почастішання дихання, більш частих епізодів дефекації. В середньому через 12-15 хвилин після введення конвульсантів у тварин розвивалися міоклонічні скорочення м'язів морди, голови і передніх кінцівок. Протягом наступних 7-15 хвилин ці епілептиформні прояви трансформувалися в клонічні скорочення м'язів, тулуба передніх і задніх кінцівок, після чого у всіх тварин розвинулися генералізовані клоніко-тонічні напади. Тривалість гострої стадії пілокарпін-викликаного ЕС у щурів контрольної групи склала в середньому  $73,4 \pm 6,8$  хв (рис. 4.1).

У 5 з 8 (62,5 %) щурів контрольної групи, які вижили після гострої стадії пілокарпін-викликаного ЕС протягом наступних 20-25 днів розвинулися спонтанні судомні реакції, які проявлялися у вигляді малоамплітудних міоклонічних скорочень м'язів передніх кінцівок. Тварини контрольної групи демонстрували в середньому по 8 епізодів спонтанних судом в день (табл. 4.1).

У щурів з деструкцією медіодорзального ядра таламуса середня тривалість гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС склала  $18,1 \pm 3,2$  хв, що було в 4 рази коротше відповідних показників у щурів контрольної групи ( $p < 0,01$ ; рис. 4.1). Ми не спостерігали розвитку спонтанних судом у жодного з тварин даної групи, що також суттєво відрізнялося в порівнянні з аналогічними контрольними даними ( $p < 0,001$ ; табл. 4.1).

Введення пілокарпіна щурам після електричної стимуляції медіодорзального ядра таламуса сприяло розвитку у тварин змін поведінки, які були аналогічні виявленим у щурів контрольної групи. Середня тривалість стадії гострих судом у цих тварин склала  $62,9 \pm 6,3$  хв, що було на 14,0 %

менше у порівнянні з аналогічними контрольними результатами ( $p > 0,05$ ; рис. 4.1).

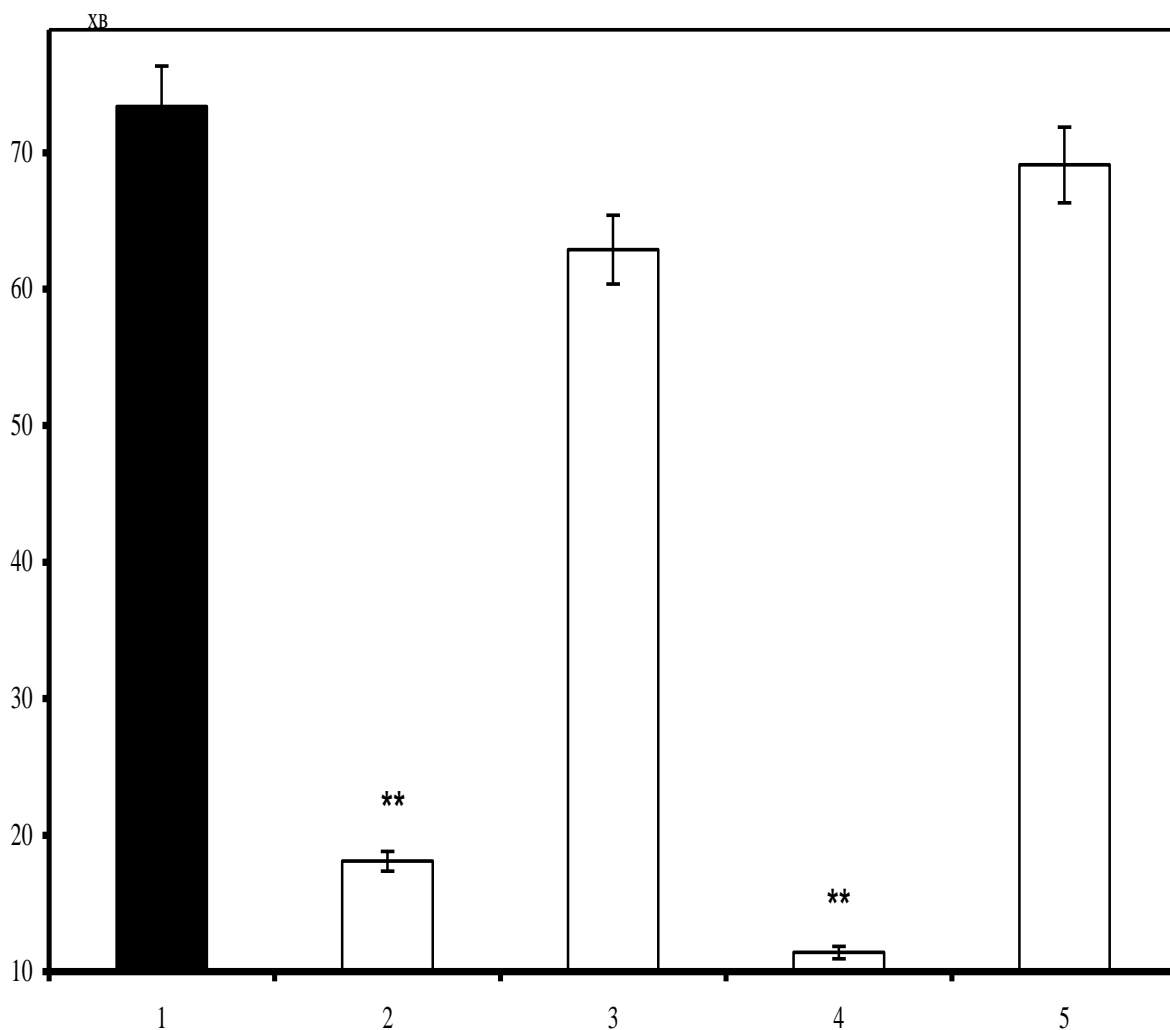


Рис. 4.1 Тривалість гострої стадії пілокарпін-викликаного епілептичного статусу у щурів внаслідок деструкції та стимуляції медіодорзального і серединного ядер таламуса

Позначення: за віссю ординат – тривалість гострої стадії пілокарпін-викликаного епілептичного статусу (хв).

За віссю абсцис – 1 - контроль (введення пілокарпіну), 2 - деструкція медіодорзального ядра і введення пілокарпіну, 3 - стимуляція медіодорзального ядра і введення пілокарпіну, 4 - деструкція серединного ядра і введення пілокарпіну, 5 - стимуляція серединного ядра і введення пілокарпіну.

Примітки: \*\* -  $p < 0,01$  – вірогідні розбіжності досліджуваного показника порівняно з таким у щурів при контрольних спостереженнях

Таблиця 4.1

Характеристика пілокарпін-індукованих спонтанних судомних реакцій при локальній деструкції та стимуляції медіодорзального і серединного ядер таламуса

Групи тварин	Число щурів зі спонтанними судомами	Число епізодів спонтанних судом протягом доби
1. Контроль, введення пілокарпіна, n=11	5 (62,5 %)	8
2. Деструкція медіодорзального ядра + введення пілокарпіна, n=18	0#	-
3. Стимуляція медіодорзального ядра + введення пілокарпіна, n=18	9 (69,2 %)	8
4. Деструкція серединного ядра + введення пілокарпіна, n=18	0#	-
5. Стимуляція серединного ядра + введення пілокарпіна, n=18	9 (75,0 %)	6

Примітки: # -  $p < 0,001$  - достовірні відмінності досліджуваних показників у порівнянні з аналогічними даними у щурів контрольної групи, а також у щурів з стимуляцією серединних ядер таламуса (статистичний критерій Krsucall - Wallis).

Спонтанні судоми після введення пілокарпіну розвинулися у 69,2 % ( 9 з 13) тварин, які вижили після гострих генералізованих судом, що також суттєво не відрізнялося в порівнянні з аналогічними контрольними показниками. Відтерміновані спонтанні судомні реакції характеризувалися в середньому наявністю 8 епізодів дрібноамплітудних клонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок протягом доби.

Попередня локальна деструкція серединного ядра таламуса іботеновою кислотою сприяла скороченню середньої тривалості гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС в 6,4 рази до  $11,4 \pm 2,6$  хв, що істотно відрізнялося щодо аналогічних показників у щурів контрольної групи ( $p < 0,01$ ; рис. 4.1). У цих умовах спонтанні судоми не розвиваються у жодного з тварин, які вижили після гострої стадії пілокарпін-викликаного ЕС ( $p < 0,001$ ; табл. 4.1).

Введення пілокарпіна щурам з стимуляцією серединного ядра таламуса індукувало зміни поведінки, аналогічні таким у контрольних спостереженнях. Середня тривалість стадії гострих судом у цих тварин склала  $69,1 \pm 6,9$  хв, що було на 6,0 % менше у порівнянні з аналогічними контрольними результатами ( $p > 0,05$ ; рис. 4.1). Спонтанні судоми після введення пілокарпіну розвинулися у 75,0 % (9 з 12) тварин, які вижили після гострих генералізованих судом, що не відрізнялося порівняно з відповідними контрольними показниками. Спонтанні судоми характеризувалися в середньому наявністю 6 епізодів дрібноамплітудних клонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок (табл. 4.1).

Надалі ми досліджували ЕЕГ зміни у щурів з модуляцією активності серединних ядер таламуса в умовах відтворення пілокарпін-викликаних спонтанних судом. Фонова активність у досліджувальних щурів, зареєстрована до стимуляції медіодорзального ядра таламуса, виявила переважання повільно-хвильової активності в досліджуваних структурах - утвореннях гіпокампу, таламуса, фронтальних відділах кори (рис. 4.2). Частота генерації електричних потенціалів (в середньому, 3-5 в хв) була приблизно однаковою в гіпокампі і в таламусі. Амплітуда коркових потенціалів не перевищувала 120 мкВ з частотою їх генерації 1-2 на хвилину.

Реєстрація ЕЕГ щурів з пілокарпін-викликаними спонтанними судомами через 90 хв після електричної стимуляції медіодорзального ядра таламуса показала посилення генерації електричних спайк-хвильових потенціалів в гіпокампі (з частотою в 5-6 в хв) і таламусі (з частотою 8-9 в хв) (рис. 4.3).

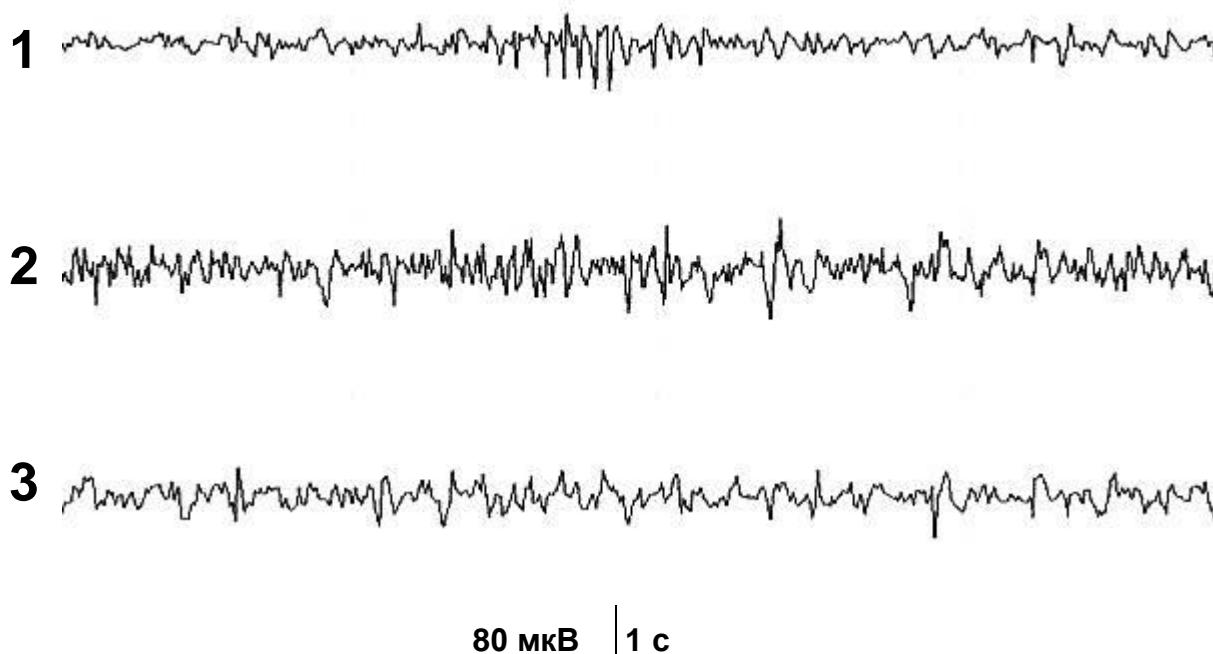


Рис. 4. 2 Фрагмент ЕЕГ щурів в умовах пілокарпін-викликаних спонтанних судом. Фонова активність.

1- лівий вентральний гіпокамп, 2 - лівий таламус, 3 - ліва лобова кора.  
Відмітка часу - 1 с, калібрування сигналу - 80 мкВ.

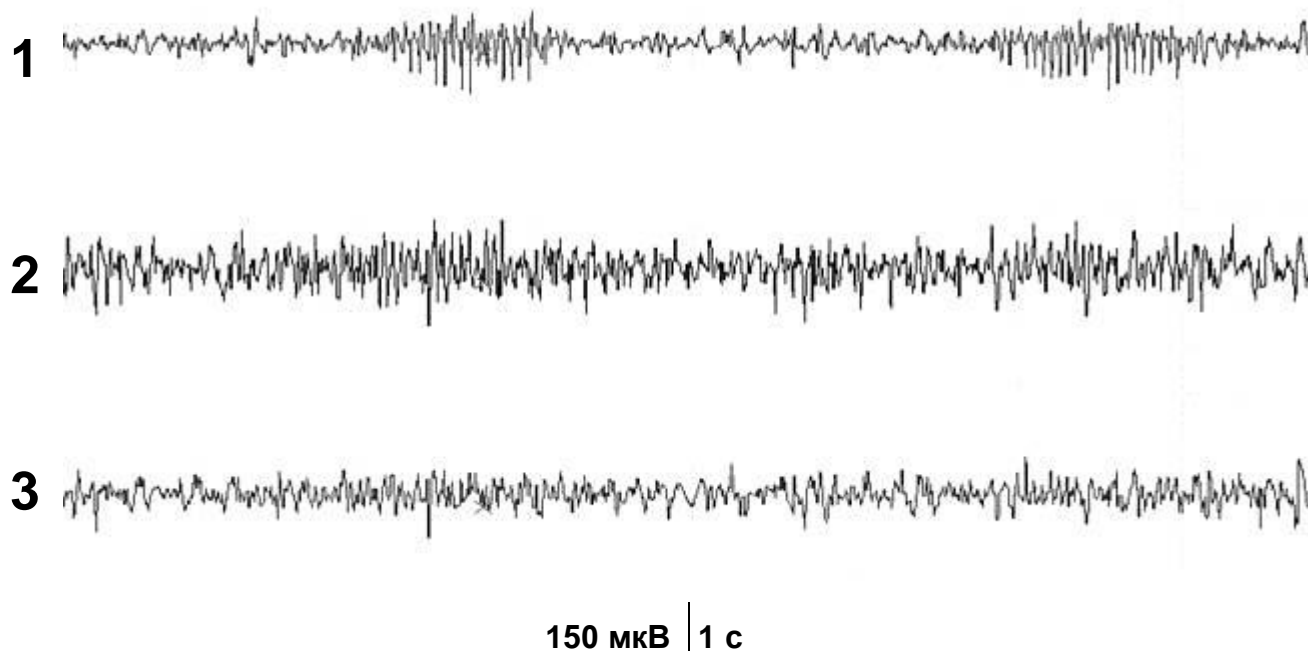


Рис. 4. 3 Фрагмент ЕЕГ щурів в умовах пілокарпін-викликаних спонтанних судом. 90 сек після електричної стимуляції медіодорзального ядра таламуса

1- лівий вентральний гіпокамп, 2 - лівий таламус, 3 - ліва лобова кора.  
Відмітка часу - 1 с, калібрування сигналу - 150 мкВ.

Амплітуда спайк-хвильових комплексів в гіпокампі і таламусе склала 0,6-0,7 мВ і в 2,3-2,5 рази перевищувала такий показник ЕЕГ-активності в лобових ділянках кори (рис. 4.3).

Через 3 хвилини після електричної стимуляції медіодорзального ядра таламуса у щурів з пілокарпін-викликаними спонтанними судомою спостерігається посилення електричної активності на ЕЕГ, що чітко видно в утвореннях гіпокампу і таламуса (рис. 4.4).

В гіпокампі реєструється так званий «пачковий» тип спайк-хвильових потенціалів, які представлені у вигляді згрупованих спайк-хвильових розрядів, що відзначаються з частотою один раз в 40-45 секунд. Максимальна амплітуда таких згрупованих розрядів складає 0,7 мВ, частота - 7-9 на хвилину. У перерві між ними в гіпокампі реєструється повільно-хвильова активність з максимальною амплітудою потенціалів в 130-180 мкВ і частотою 1-2 на хвилину.

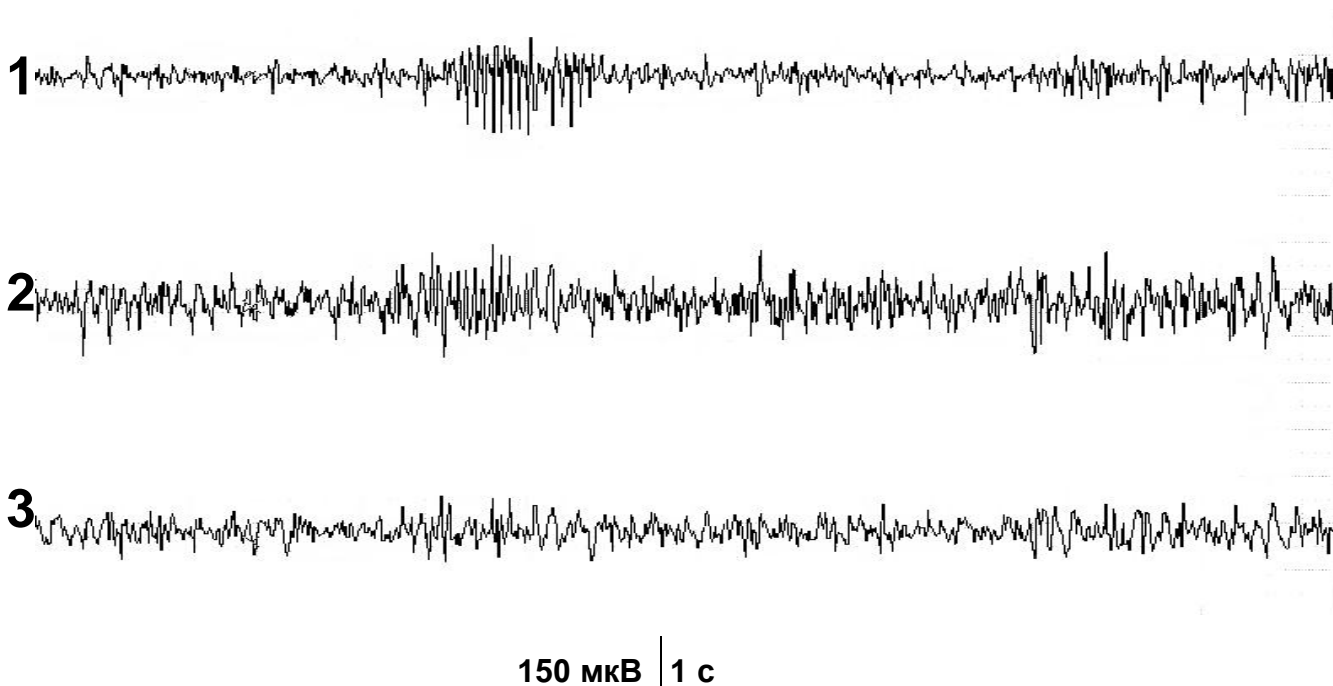


Рис. 4.4 Фрагмент ЕЕГ щурів в умовах пілокарпін-викликаних спонтанних судом через 3 хв після електричної стимуляції медіодорзального ядра таламуса

1- лівий вентральний гіпокамп, 2 - лівий таламус, 3 - ліва лобова кора.

Відмітка часу - 1 с, калібрування сигналу - 150 мкВ.



В цей же інтервал часу в таламусі відзначається переважно спайк - хвильова електрографічна активність в амплітудой в  $-0,7-0,75$  мВ і частотою 8-9 на хвилину. У лобових відділах кори реєструється переважно повільно - хвильова активність з амплітудой розрядів в 200-240 мкВ і частотою - 3-5 в хвилину (рис. 4.4).

Аналогічний характер ЕЕГ був зареєстрований у щурів зі СС після електричної стимуляції серединного ядра таламуса. (рис. 4.5). Фрагмент ЕЕГ, представлений нижче, показує згруповані спайк-хвильові комплекси в гіпокампі і переважно спайкові потенціали в таламусі, амплітуда яких становить  $0,6-0,8$  мВ, а частота в середньому - 6-9 на хвилину.

Активність лобової кори у щурів після електричної стимуляції з'єднувального ядра таламуса аналогічна такій у щурів після електричної стимуляції медіодорзального ядра таламуса - амплітуда повільно -хвильових комплексів дорівнює 250-300 мкВ, частота - 3-5 в хв (Рис. 4.5).

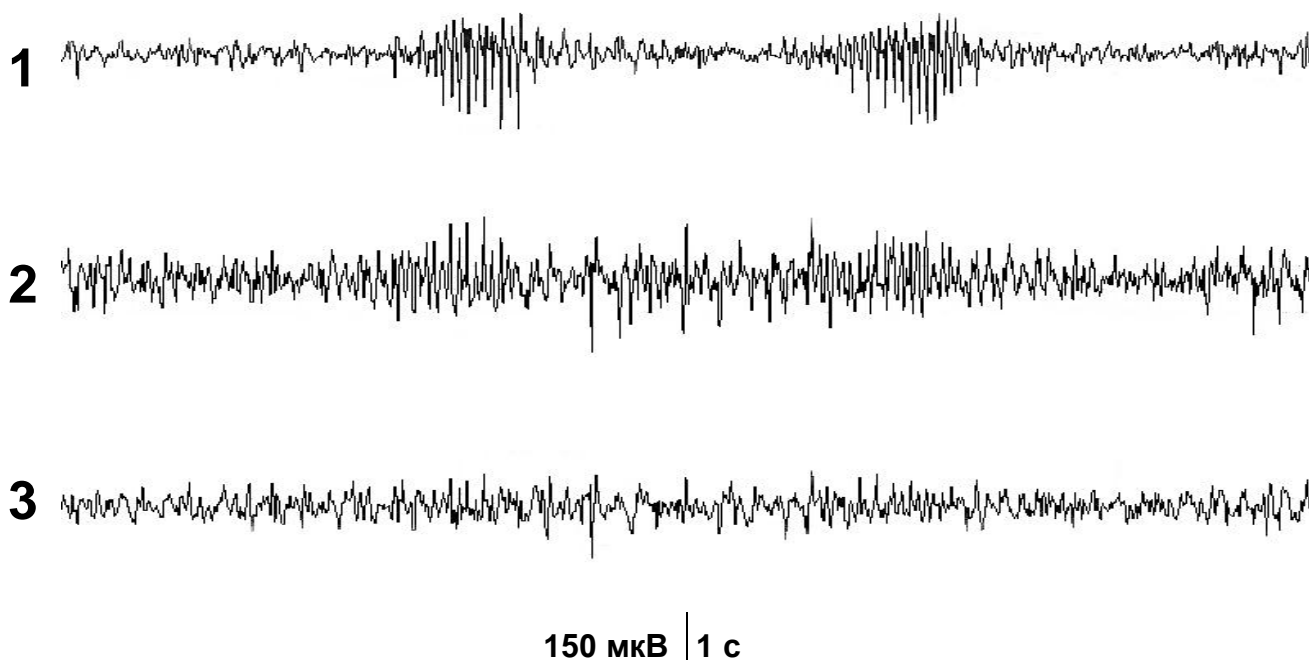


Рис. 4.5 Фрагмент ЕЕГ щурів в умовах пілокарпін-викликаних спонтанних судом через 3 хв після електричної стимуляції з'єднувального ядра таламуса

1- лівий вентральний гіпокамп, 2 - лівий таламу, 3 - ліва лобова кора.

Відмітка часу - 1 с, калібрування сигналу - 150 мкв.

Через 8 хвилин після електричної стимуляції з'єднувального ядра таламуса у щурів зі СС електрографічна активність різко знижується, що представлено на рис. 4.6. На ЕЕГ в гіпокампі і таламусі відзначаються поодинокі спайкові потенціали амплітудою до 500 мкВ. Рідкісні одиничні спайкові потенціали амплітудою до 600 мкВ. реєструються також і в лобовій корі.

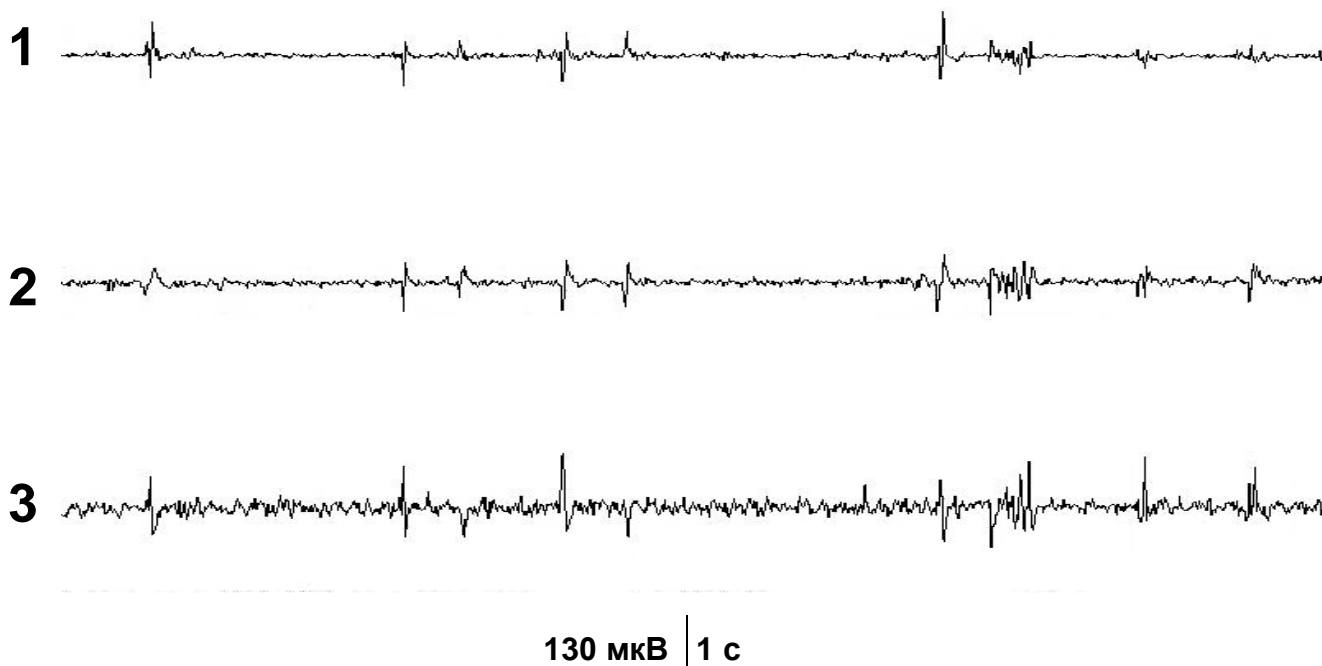


Рис. 4.6 Фрагмент ЕЕГ щурів в умовах пілокарпін-викликаних спонтанних судом через 8 хвилин після електричної стимуляції серединного ядра таламуса

1- лівий вентральний гіпокамп, 2 - лівий таламус, 3 - ліва лобова кора.

Відмітка часу - 1 с, калібрування сигналу - 130 мкв.

В умовах попередньої білатеральної деструкції медіодорзального і серединного ядер таламуса іботеновою кислотою у щурів на ЕЕГ реєструються низькоамплітудні повільно-хвильові комплекси з амплітудою до 80-120 мкв у разі деструкції медіодорзального ядра таламуса (рис. 4.7) і амплітудою 70-100 мкВ у разі деструкції серединного ядра таламуса (рис. 4.8). Активність лобової кори кілька більш виражена (амплітуда 65-100 мкв і частота 2-3 в хв) у щурів після деструкції серединного ядра таламуса (рис. 4.8).

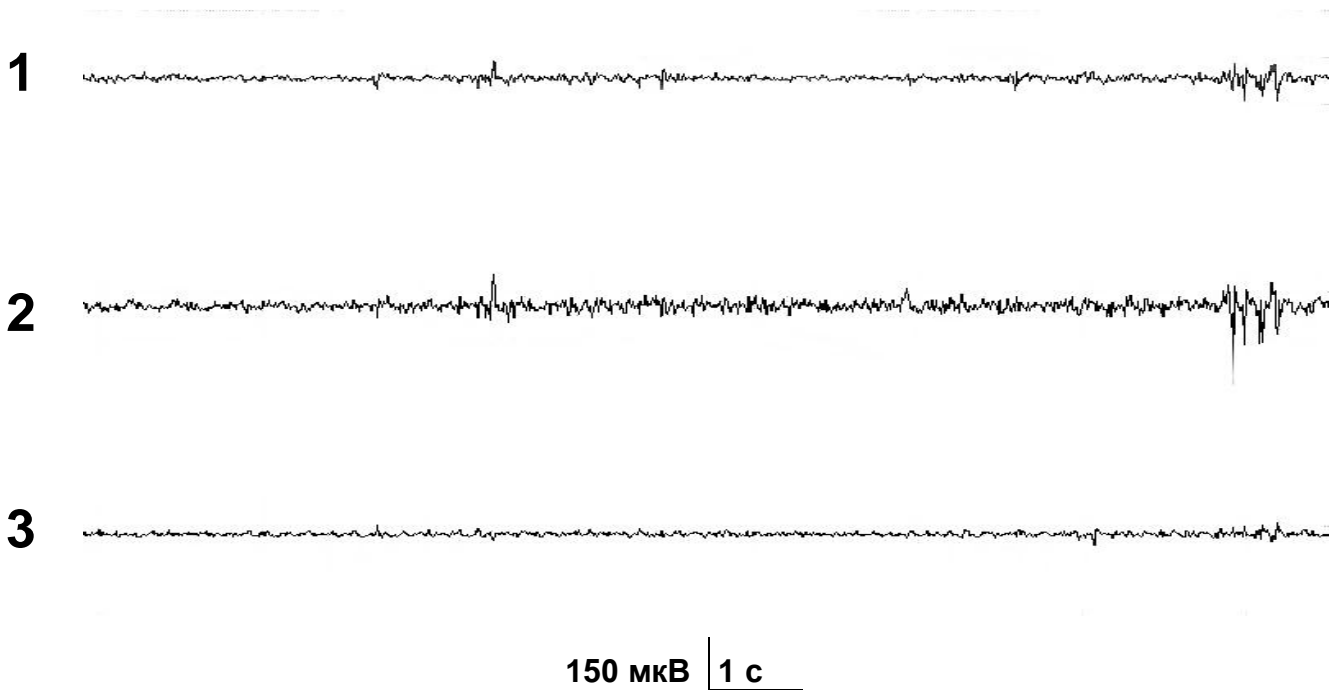


Рис. 4.7 Фрагмент ЕЕГ щурів після деструкції медіодорзального ядра таламуса  
 1- лівий вентральний гіпокамп, 2 - лівий таламус, 3 - ліва лобова кора.  
 Відмітка часу - 1 с, калібрування сигналу - 80  $\mu\text{V}$ .

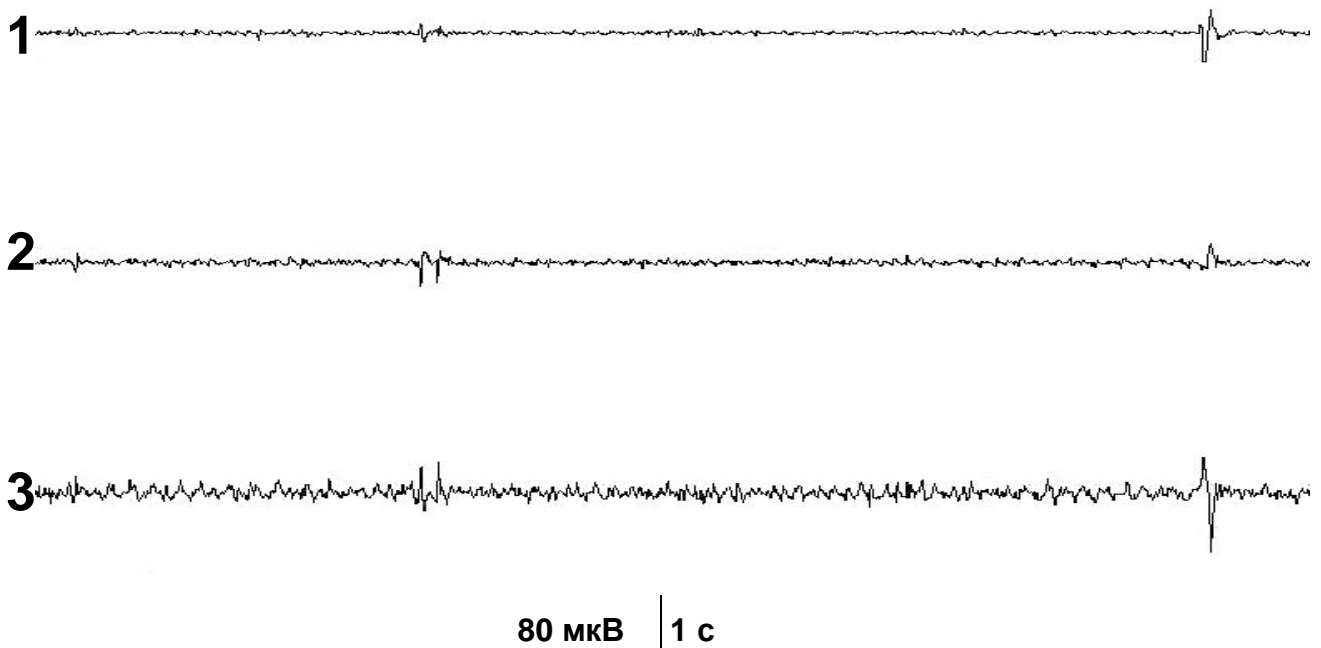


Рис. 4.8 Фрагмент ЕЕГ щурів після деструкції серединного ядра таламуса  
 1 - лівий вентральний гіпокамп, 2 - лівий таламус, 3 - ліва лобова кора.  
 Відмітка часу - 1 с, калібрування сигналу - 80  $\mu\text{V}$ .

Отже, проведені дослідження та отримані результати показують ключову роль медіодорзального і серединного ядер таламуса в механізмах ініціації спонтанних судом при їх індукції пілокарпіном, що показано при дослідженні судомної поведінки тварин і реєстрації електрографічної активності

Завданням наступної частини досліджень було вивчення ролі вентрального гіпокампу (ВГ), верхніх горбиків чотиригорбикового тіла (ВГЧТ) та фронтального відділу кори мозку в механізмах розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом. Утворення мозку, які досліджувалися за модельних умов, були обрані з урахуванням їх функціональної активності стосовно регуляції реактивності мозку та належності щодо епілептичної та антиепілептичної системи [82]. У всіх досліджуваних групах було по 18 щурів.

Протягом перших 3-7 хв після введення пілокарпіну у більшості щурів контрольної групи (введення щурам пілокарпіна без попереднього руйнування або стимуляції фронтального відділу кори) відзначалися вегетативні порушення - гіперсалівація, підвищене занепокоєння, посилення грумінга, посилене обнюхування, посилення моторної активності, почастищення дихання, більш часті епізоди дефекації. Через 10-17 хв після введення пілокарпіну у тварин розвивалися міоклонічні скорочення м'язів морди, голови і передніх кінцівок.

Протягом наступних 5-12 хв ці судомні реакції трансформувалися в клонічні скорочення м'язів тулуба, передніх і задніх кінцівок, після чого у всіх тварин розвинулися генералізовані клоніко-тонічні напади.

Найбільша тривалість гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС реєструвалася у щурів контрольної групи –  $72,3 \pm 6,7$  хв, а також у щурів із стимуляцією ВГ, деструкцією ВГЧТ та стимуляцією фронтальної кори (рис. 4.9). Величина досліджуваного показника була суттєво менше в групах щурів із деструкцією ВГ ( $p < 0,05$ ), стимуляцією ВГЧТ ( $p < 0,05$ ) та деструкцією фронтальної кори ( $p < 0,05$ ; рис. 4.9).

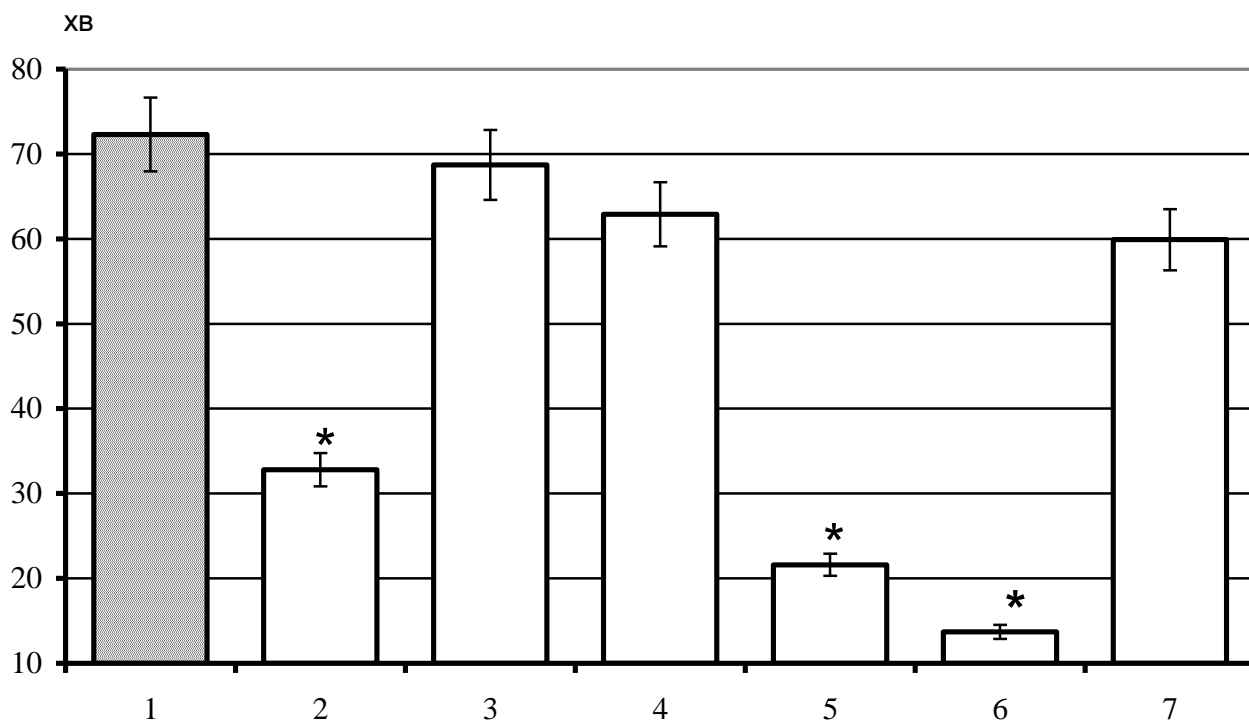


Рис. 4.9 Тривалість гострої стадії пілокарпін-викликаного епілептичного статусу у щурів внаслідок локальної деструкції та стимуляції окремих підкіркових утворень та фронтальних відділів кори мозку щурів і введення пілокарпіну цим щурам

За віссю ординат: тривалість гострої стадії пілокарпін-викликаного епілептичного статусу (хв).

За віссю абсцис: 1 - контроль (введення пілокарпіну), 2 - деструкція вентрального гіпокампу, 3 - стимуляція вентрального гіпокампу, 4 - деструкція верхніх горбиків чотиригорбикового тіла, 5 - стимуляція верхніх горбиків чотиригорбикового тіла, 6 - деструкція фронтальних відділів кори мозку, 7 - стимуляція фронтальних відділів кори мозку.

Примітки: \* -  $p < 0,05$  – вірогідні розбіжності досліджуваного показника порівняно з таким у щурів при контрольних спостереженнях (критерій ANOVA + Newman-Keuls).

У щурів з деструкцією фронтальних відділів кори мозку середня тривалість гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС склала  $13,7 \pm 2,8$  хв, що було в 5 разів коротше відповідних показників у щурів контрольної групи ( $p < 0,05$ ; рис. 4.9). Ми не спостерігали розвитку спонтанних судом у жодної з тварин даної групи, що також суттєво відрізнялося в порівнянні з аналогічними контрольними даними ( $p < 0,05$ ).

Введення пілокарпіну щурам з стимуляцією фронтальних відділів кори мозку сприяло розвитку у тварин змін поведінки, які були аналогічні виявленим у щурів контрольної групи. Середня тривалість стадії гострих судом у цих тварин склала  $59,9 \pm 6,1$  хв, що було на 14,0 % менше у порівнянні з аналогічними контрольними результатами ( $p > 0,05$ ; рис. 4.9).

У 12 з 18 щурів (66,7 %) контрольної групи які вижили після гострої стадії пілокарпін-викликаного ЕС протягом наступних 20-25 днів розвинулися спонтанні судомні реакції, які проявлялися у вигляді малоамплітудних міоклонічних скорочень м'язів передніх кінцівок. Тварини цієї групи демонстрували в середньому по 8 епізодів спонтанних судом (рис. 4.10).

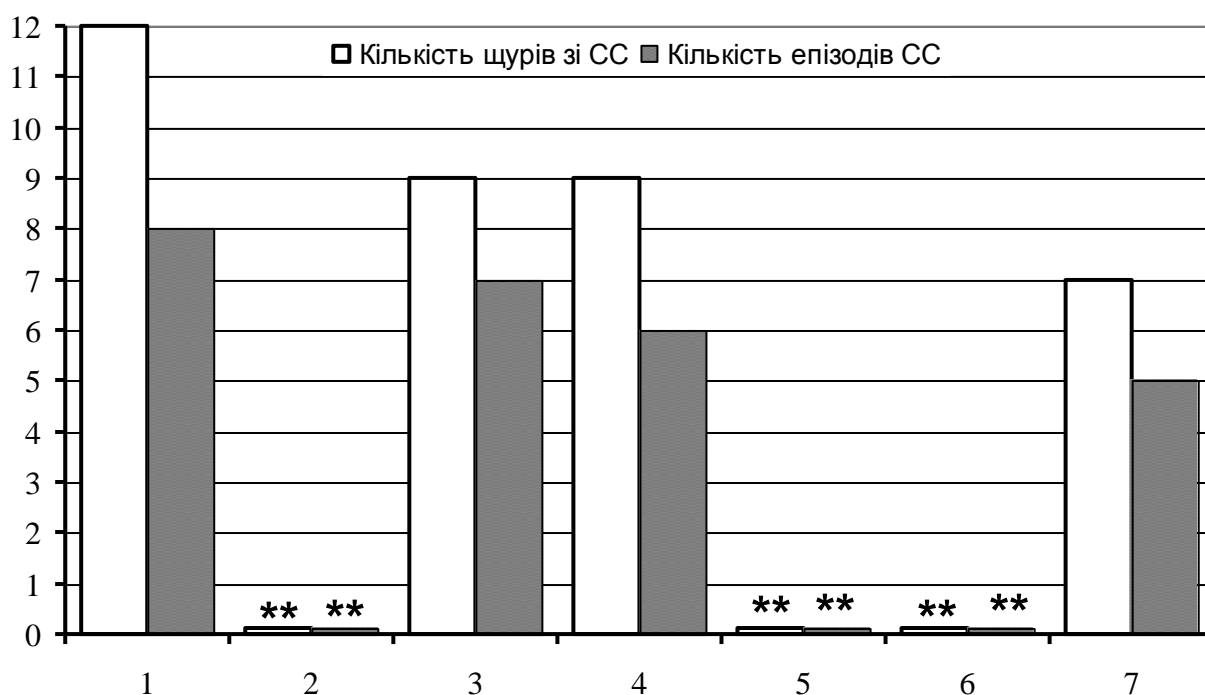


Рис. 4.10 Характеристика пілокарпін-індукованих спонтанних судом у щурів внаслідок локальної деструкції та стимуляції окремих підкіркових утворень та фронтальних відділів кори мозку щурів  
За віссю абсцис: 1- контроль (введення пілокарпіну), 2- деструкція ВГ, 3- стимуляція ВГ, 4- деструкція ВГЧТ, 5- стимуляція ВГЧТ, 6- деструкція фронтальних відділів кори мозку, 7- стимуляція фронтальних відділів кори мозку.

Примітки: \*\* -  $p < 0,01$  – вірогідні розбіжності досліджуваного показника порівняно з таким у щурів при контрольних спостереженнях (критерій Krsucall-Wallis).

При стимуляція фронтальних відділів кори мозку спонтанні судоми після введення пілокарпіну розвинулися у 63,6 % (7 з 11 тварин, які вижили після гострих генералізованих судом), що також суттєво не відрізнялося в порівнянні з аналогічними контрольними показниками (рис. 4.10). Відтерміновані спонтанні судомні реакції характеризувалися наявністю в середньому 5 епізодів дрібноамплітудних клонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

Розвиток СС був відзначений також у щурів із стимуляцією ВГ та деструкцією ВГЧТ. Спонтанні судоми в щурів із стимуляцією ВГ та деструкцією ВГЧТ характеризувалися в середньому 7 та 6 епізодами в кожного щура, відповідно, з середньою тривалістю  $36 \pm 6$  с (рис. 4.10).

В жодного щура із груп з деструкцією ВГ, стимуляцією ВГЧТ та деструкцією фронтальної кори не було зареєстровано епізодів виникнення СС протягом 35 днів спостереження ( $p < 0,01$ ; рис. 4.10).

Таким чином, отримані дані свідчать про опосередкування процесу розповсюдження пілокарпін-індукованої судомної активності по мозку підкірковими утвореннями та фронтальним відділом кори мозку. Про це свідчать фактичні результати розвитку СС за умов стимуляції ВГ, фронтальної кори та деструкції ВГЧТ, а також більшої тривалості пілокарпін-індукованого ЕС у щурів цих груп, що відповідало таким показниками у щурів контрольної групи. Зворотні результати були отримані при деструкції ВГ і фронтальної кори та стимуляції ВГЧТ.

Ці дані є інтересними з позиції теорії системних механізмів розвитку нейропатологічних синдромів, в тому числі й судомного [16, 91], зважаючи на належність ВГ до утворень епілептичної системи, а ВГЧТ – до утворень антиепілептичної системи [82], динамічні зміни функціональної активності яких є показниками потужності хронічної судомної активності [92].

Встановлена патогенетична роль серединних ядер таламусу в механізмах генерації СС за умов пілокарпін-індукованої моделі хронічної епілептичної активності дозволяє пояснити опосередкування цього патологічного процесу

фронтальним відділом кори. Відомо, що з II та V шарів префронтальної кори реципрокні проєкції повертаються до таламусу, формуючи нейрональний механізм таламічних рекрутуючих ритмів [259], які, окрім всього, модулюють функціональний стан кори головного мозку в цілому [260]. Показано наявність таламо-кортикальних синаптичних проєкцій до I, III та VI шарів префронтальної кори, причому термінальні проєкційні ділянки серединних ядер таламусу утворюють в корі дифузну нейрональну мережу [258].

#### 4.2 Тестування ефектів деяких протиепілептичних препаратів в умовах пілокарпін-індукованих спонтанних судом

Завданням цієї частини експериментальних досліджень стало дослідження ефективності антиепілептичних препаратів в умовах пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

З урахуванням того, що при пілокарпін-індукованому хронічному судомному синдромі так, як і при кіндлінзі, відтворюються окремі поведінкові, електрографічні порушення, а також спонтанні судоми, ми вважаємо доцільним перевірити ефективність протисудомних препаратів з різним механізмом реалізації антиепілептичного ефекту - діазепаму, фенобарбіталу, вальпроєвої кислоти, дифенілгідантоїну і карбамазепіну

Для перевірки отриманих результатів ми досліджували вираженість моторної активності і емоційної поведінки тварин в динаміці індукції пілокарпінових спонтанних судом. З урахуванням отриманих результатів про тривалість відтермінованих судом спостереження здійснювали впродовж 45 днів з моменту їх початку.

У 7 з 10 щурів контрольної групи, які вижили після гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС впродовж подальших 20-25 днів розвинулися спонтанні судомні реакції, які проявлялися у вигляді малоамплітудних міоклонічних скорочень м'язів передніх кінцівок. Тварини контрольної групи демонстрували в середньому по 8 епізодів спонтанних судом (табл. 4.2).



Таблиця 4.2.

Характеристика пілокарпін-індукованих спонтанних судомних реакцій в умовах введення протиепілептичних препаратів

Групи тварин з введенням препаратів	Дози, мг/кг	Число щурів зі спонтанними судомами
1. Пілокарпін, n=14	380	7
2. Діазепам, n=19	5,0	10
	7,5	8
	10	3
	15	1##
3. Фенобарбітал, n=19	1,0	10
	5,0	11
	10	11
	15	7
	20	3#
4. Вальпроєва кислота, n=21	100	12
	150	13
	200	12
	250	5
5. Діфенілгідантоїн, n=17	50	9
	75	9
	100	8
	150	8
6. Карбамазепін, n=18	5,0	8
	10	9
	15	7
	20	7

Примітки: # -  $p < 0,05$  і ## -  $p < 0,01$  - достовірні відмінності досліджуваних показників в порівнянні з аналогічними даними у щурів с введенням пілокарпіну (статистичний критерій Krsucall-Wallis).

Після введення мінімальної дози діазепаму (5,0 мг/кг) у всіх щурів цієї групи розвинулися спонтанні судоми, що не мало істотної різниці відносно відповідних даних у щурів контрольної групи ( $p > 0,05$ ).

Пілокарпін-індуковані спонтанні судоми на фоні введення діазепаму дозою 7,5 мг/кг розвинулися у 8 з 10 щурів цієї групи ( $p > 0,05$ ), що вижили, причому тварини в середньому демонстрували по 5 епізодів відтермінованих спонтанних судомних реакцій у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

У групі щурів з пілокарпін-індукованими судомами після введення діазепаму дозою 10 мг/кг, після гострих судом вижили 10 щурів. Спонтанні судоми розвинулися у 3 тварин, причому щури в середньому демонстрували по 5 епізодів спонтанних пілокарпін-індукованих судом (табл. 4.2).

У разі введення максимальної дози діазепаму (15 мг/кг) спонтанні судоми розвинулися у 1 щура (після гострих судом вижили 12 щурів з 19), що мало статистичну різницю в порівнянні з контролем ( $p < 0,01$ ).

Після введення фенобарбіталу дозою 1,0 мг/кг у 10 щурів з пілокарпін-індукованими судомами з 11 спостерігалися СС, що не розрізнялося істотно відносно відповідних даних у щурів контрольної групи ( $p > 0,05$ ; табл. 4.2).

Пілокарпін-індуковані спонтанні судоми після введення фенобарбіталу в дозі 5,0 мг/кг розвинулися у 11 з 12 щурів цієї групи ( $p < 0,01$ ), що вижили, у яких в середньому були зареєстровані по 5 епізодів відтермінованих спонтанних судомних реакцій.

У групі щурів, яким вводили фенобарбітал в дозі 10 мг/кг, після гострих судом вижили 13 щурів. 11 тварин демонстрували по 6 епізодів СС.

Після введення фенобарбіталу в дозі 15 мг/кг пілокарпін-індуковані спонтанні судоми розвинулися у 7 з 13 щурів цієї групи, що вижили, причому тварини всередньому демонстрували по 4 епізоди відтермінованих спонтанних судомних реакцій у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

При введенні максимальної дози фенобарбіталу (20 мг/кг) спонтанні судоми розвивалися у 3 з 13 щурів, що вижили після гострих судом, це мало істотну відмінність в порівнянні з аналогічними результатами в контрольних спостереженнях ( $p < 0,05$ ; табл. 4.2).

Після введення мінімальної дози вальпроєвої кислоти (100 мг/кг) у 12 з 13 щурів цієї групи, що вижили після гострих судом, викликаних пілокарпіном, були зареєстровані спонтанні судоми, що не мало істотної різниці відносно відповідних даних у щурів контрольної групи ( $p > 0,05$ ; табл. 4.2).

Із введенням вальпроєвої кислоти дозою 150 мг/кг у 13 з 14 щурів з групи, які вижили після гострих судом, були відмічені спонтанні судоми, що не мало різниці відносно відповідних даних у щурів контрольної групи ( $p > 0,05$ ). У щурів всередньому зареєстровано по 8 епізодів відтермінованих спонтанних судомних реакцій у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

У групі щурів з відтворенням пілокарпін-індукованих судом після введення вальпроєвої кислоти в дозі 200 мг/кг, після гострих судом вижили 15 щурів. Спонтанні судоми розвинулися у 12 тварин, причому у щурів в середньому відмічали по 6 епізодів спонтанних пілокарпін-індукованих судом.

При введенні максимальної дози вальпроєвої кислоти (250 мг/кг) спонтанні судоми розвивалися у 5 щурів (після гострих судом вижили 15 щурів з 21). Щури в середньому відмічали по 4 епізоди спонтанних пілокарпін-індукованих судом (табл. 4.2).

У 9 із 10 щурів з пілокарпін-індукованими судомами, які вижили після гострих генералізованих судом після введення дифенілгідантоїну дозою 50 мг/кг, відмічали спонтанні судоми, в середньому по 6 епізодів, у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок (табл. 4.2).

Спонтанні судоми в групі з гострими пілокарпін-індукованими судомами після введення дифенілгідантоїну (75 мг/кг) розвинулися у 9 з 11 щурів, які вижили, цієї групи: тварини демонстрували в середньому по 7

епізодів відтермінованих спонтанних судомних реакцій у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

Після пілокарпін-індукованих гострих судом в умовах введення дифенілгідантоїну дозою 100 мг/кг СС розвинулися у 8 тварин: щури демонстрували в середньому по 3 епізоди спонтанних пілокарпін-індукованих судом.

Після введення максимальної (150 мг/кг) дози дифенілгідантоїну СС розвивалися у 8 щурів (після гострих судом вижили 12 щурів з 19). Щури в середньому демонстрували по 5 епізодів спонтанних судом (табл. 4.2).

Внаслідок введення карбамазепіну (в/очер, 5,0 мг/кг) у 8 щурів з 11, що вижили після гострих пілокарпін-індукованих судом зареєстровані спонтанні судоми в середньому по 7 епізодів дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок (табл. 4.2).

Спонтанні судоми після введення карбамазепіну дозою 10 мг/кг розвинулися у 9 з 13 щурів цієї групи. Тварини в середньому демонстрували по 6 епізодів відтермінованих спонтанних судомних реакцій у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

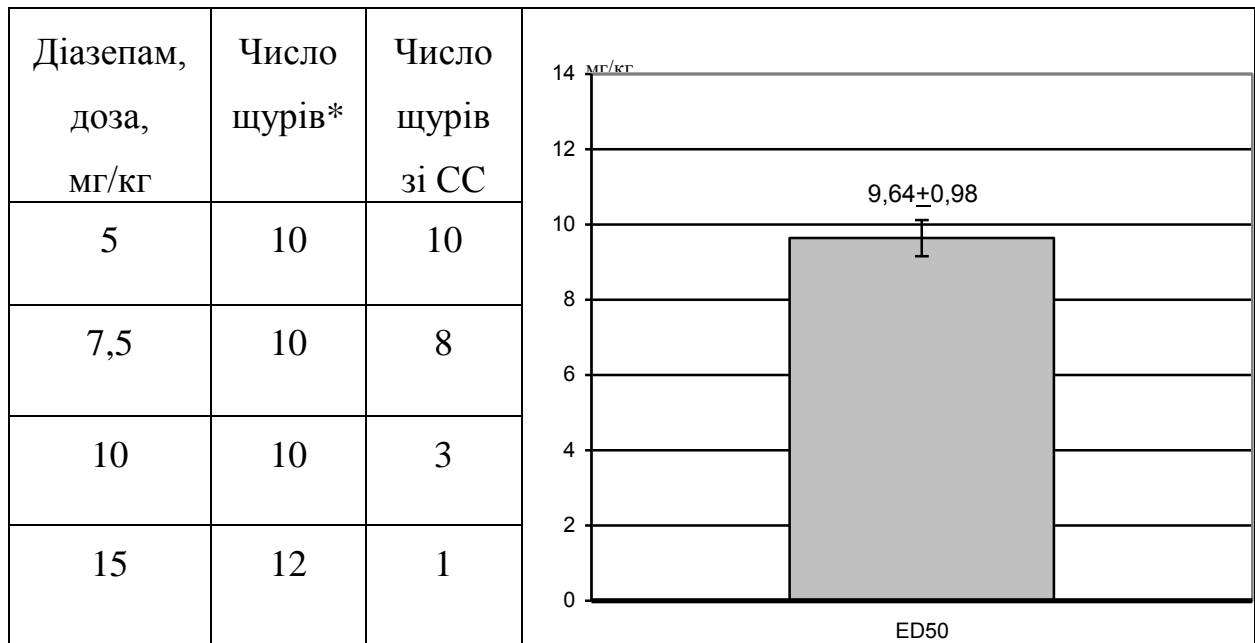
У щурів після гострих пілокарпін-індукованих судом в умовах введення карбамазепіна дозою 15 мг/кг вижили 11 щурів. Спонтанні судоми розвинулися у 7 тварин, причому щури в середньому демонстрували по 6 епізодів спонтанних пілокарпін-індукованих судом.

Внаслідок застосування карбамазепіна максимальною дозою 20 мг/кг, спонтанні судоми розвивалися у 7 щурів (після гострих судом вижили 10 щурів з 18). Щури в середньому демонстрували по 6 епізодів спонтанних судом (табл. 4.2).

При введеннях діазепаму з лікувальною метою, чітко простежується залежний від дози протисудомний ефект. Таким чином, середноефективна доза діазепаму, яка викликала антиепілептичну дію і попереджала розвиток спонтанних пілокарпін-індукованих судом у 50 % щурів, склала  $9,64 \pm 0,98$  мг/кг (табл. 4.3).

Таблиця 4.3.

Розрахунок середньо-ефективної дози діазепаму ( $ED_{50}$  і помилки  $ED_{50}$ ), що чинить протисудомну дію відносно пілокарпін-індукованих спонтанних судом



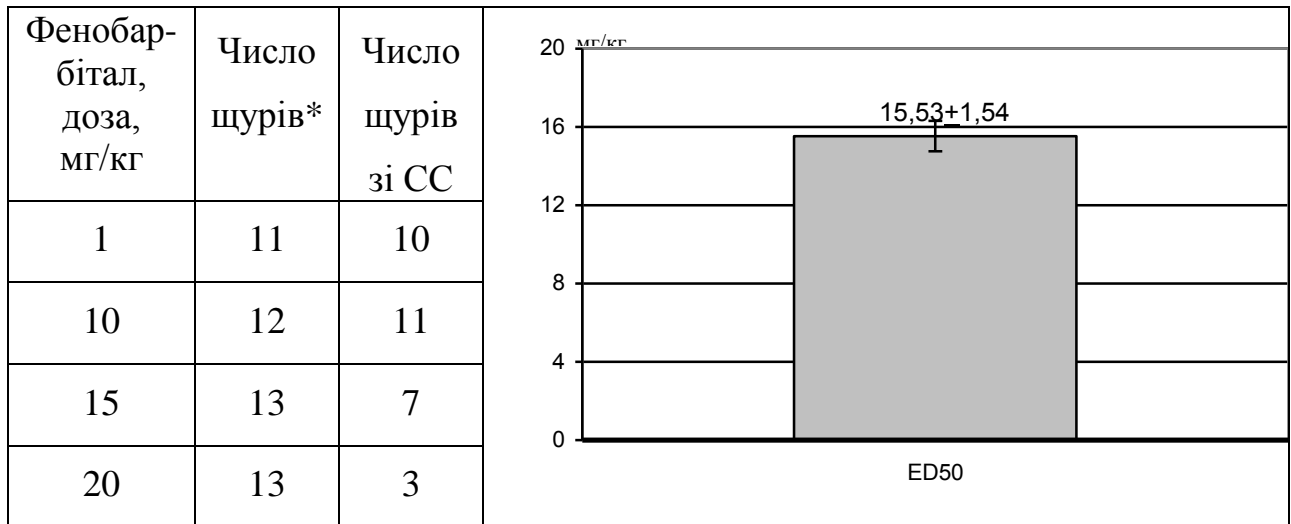
Позначення: \* - число щурів, які вижили після гострих генералізованих пілокарпін-індукованих судом

При введеннях фенобарбіталу з метою лікування спонтанних судом, чітко простежується залежний від дози протисудомний ефект (табл. 4.4). Середньоєфективна доза препарату, яка викликала антиепілептичну дію і попереджала розвиток спонтанних пілокарпін-індукованих судом у 50 % щурів, склала  $15,53 \pm 1,54$  мг/кг (табл. 4.4)

При введенні вальпроєвої кислоти з лікувальною метою, також простежується доза-залежний протисудомний ефект. Середньоєфективна доза вальпроєвої кислоти, яка викликала антиепілептичну дію і попереджала розвиток спонтанних пілокарпін-викликаних судом у 50,0 % щурів, склала  $284,5 \pm 27,3$  мг/кг (табл. 4.5).

Таблиця 4.4.

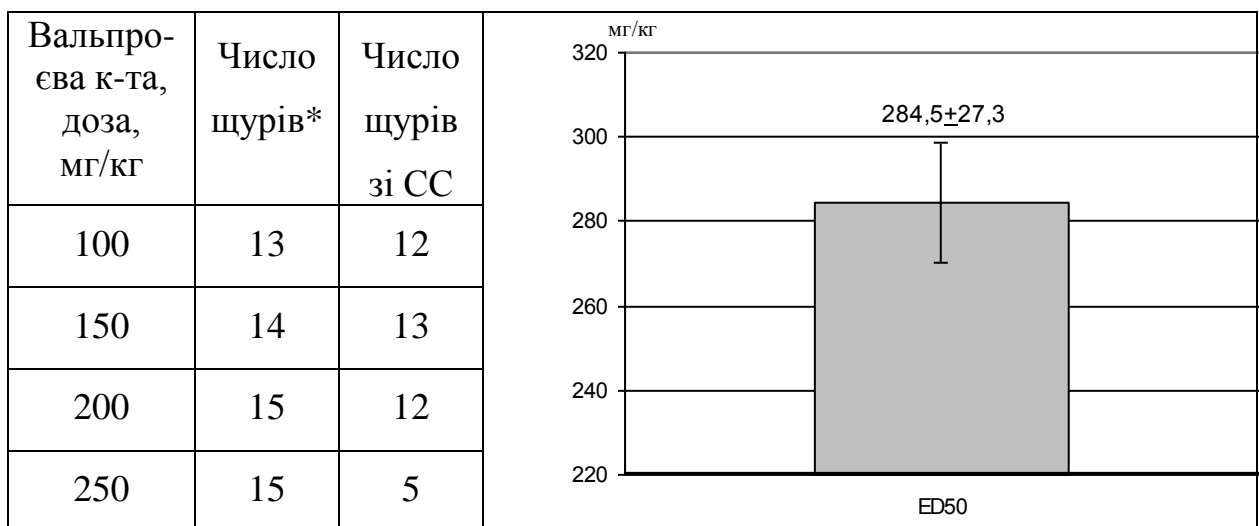
Розрахунок середньо-ефективної дози фенобарбіталу ( $ED_{50}$  і помилки  $ED_{50}$ ), що чинить протисудомну дію відносно пілокарпін-індукованих спонтанних судом



Позначення: \* - число щурів, які вижили після гострих генералізованих пілокарпін-індукованих судом

Таблиця 4.5.

Розрахунок середньо-ефективної дози вальпроєвої кислоти, ( $ED_{50}$  і помилки  $ED_{50}$ ), що чинить протисудомну дію відносно пілокарпін-індукованих спонтанних судом



Позначення: \* - число щурів, які вижили після гострих генералізованих пілокарпін-індукованих судом

Введення дифенілгідантоїну з лікувальною метою не попередили розвиток СС. Нам не вдалося розрахувати середньоефективну дозу препарату, яка при математичній обробці виявилася негативною (табл. 4.6.).

Таблиця 4.6.

Розрахунок середньо-ефективної дози дифенілгідантоїну ( $ED_{50}$  і помилки  $ED_{50}$ ), що чинить протисудомну дію відносно пілокарпін-індукованих спонтанних судом

Дифенілгідантоїн, доза, мг/кг	Число щурів*	Число щурів зі СС
50	10	9
75	11	9
100	12	6
150	12	8

Позначення - такі ж самі, що і в таблиці 4.3

Введення карбамазепіну з лікувальною метою, також як і у випадку з дифенілгідантоїном, не попередили розвиток СС (табл. 4.7). Внаслідок цього неможливо розрахувати середньоефективну дозу препарату, яка при математичній обробці виходить негативною.

Таблиця 4.7.

Розрахунок середньо-ефективної дози карбамазепіну ( $ED_{50}$  і помилки  $ED_{50}$ ), що чинить протисудомну дію відносно пілокарпін-індукованих спонтанних судом

Карбамазепін, доза, мг/кг	Число щурів*	Число щурів зі СС
5,0	11	8
10	13	9
15	11	7
20	10	7

Позначення - такі ж самі, що і в таблиці 4.3.

Введення протиепілептичних препаратів впливало на моторну активність і емоційну поведінку тварин в разі пілокарпін-індукованої хронічної судомної активності. В щурів, яким вводили пілокарпін, відзначалася прогресивна редукція показників горизонтальної рухової активності в тесті "відкрите поле", що підтверджувалося вираженим зменшенням кількості перетнутих квадратів – починаючи з 16 квадратів через 1 добу після введення конвульсанту, до 4 квадратів при розвитку спонтанних судом через 45 діб після введення пілокарпину (рис. 4.11).

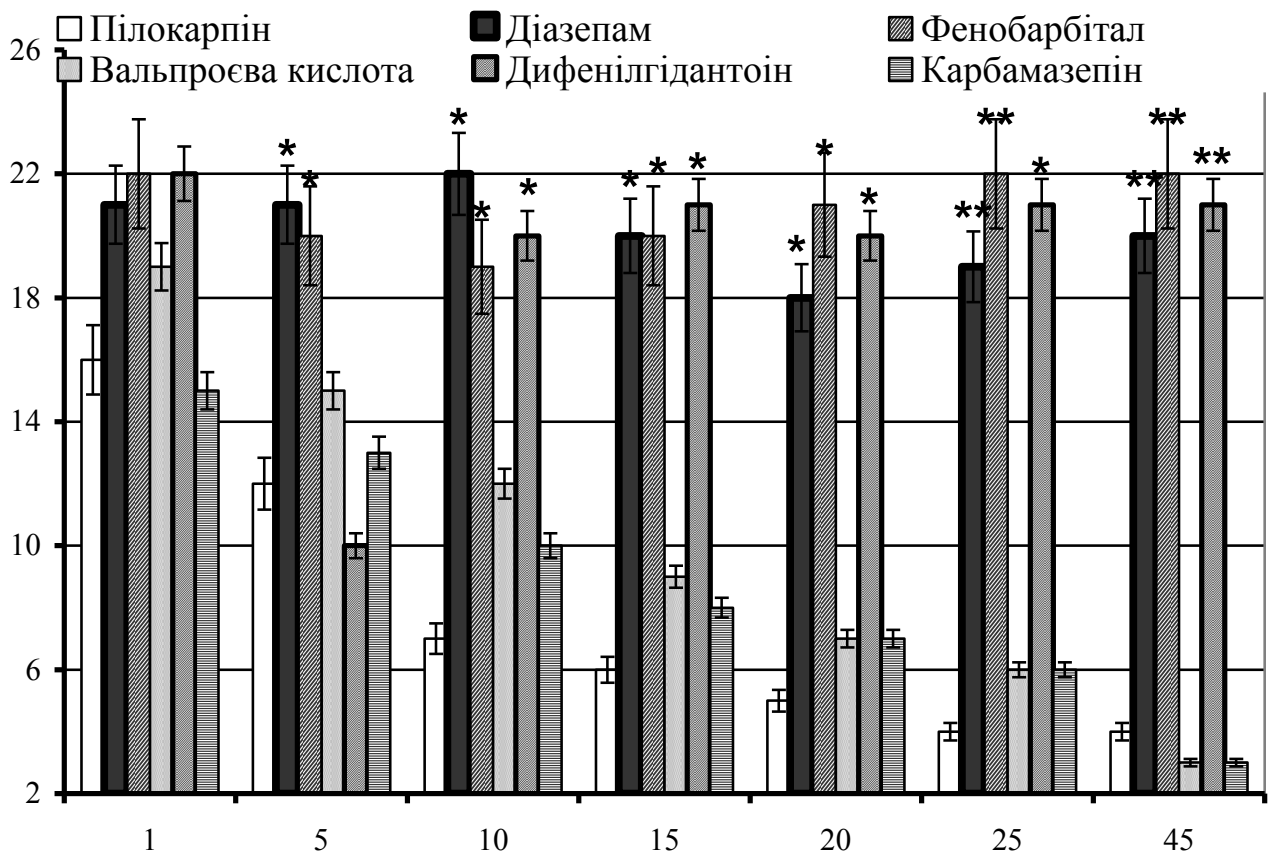


Рис. 4.11 Вплив протиепілептичних препаратів на число перетнутих квадратів в тесті «відкрите поле» в динаміці розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом

Ось абсцисс: 1-25, 45 - дні після введення пілокарпину.

Примітки: \* -  $p < 0,05$  і \*\* -  $p < 0,01$  - достовірні відмінності досліджуваних показників у порівнянні з аналогічними даними у щурів, яким вводили пілокарпін (критерій ANOVA + Newmann - Keuls).



Після введення середньоєфективної дози діазепаму (в/очер,  $9,64 \pm 0,98$  мг/кг), починаючи з 5-ї доби і до кінця досліду кількість перетнутих квадратів в тесті «відкрите поле» дорівнювало в середньому 18-22, що суттєво перевищувало такий показник в групі щурів, яким вводили пілокарпін ( $p < 0,05$ ).

При введенні тваринам фенобарбіталу в дозі ( $15,53 \pm 1,54$  мг/кг) або вальпроєвої кислоти ( $284,5 \pm 27,3$  мг/кг) відзначали аналогічну динаміку горизонтальної рухової активності щурів в тесті «відкрите поле». У цих умовах показники горизонтальної рухової активності не розрізнялися істотно порівняно з відповідними контрольними показниками (введення шурам фізіологічного розчирну), але було суттєво більше, ніж такі ж самі в щурів із введенням пілокарпіну ( $p < 0,05$ ).

Застосування пілокарпіну після введення максимальних доз дифенілгідантоїну і карбамазепіну сприяло зниженню показників горизонтальної моторної активності щурів в тесті «відкрите поле» в динаміці розвитку СС, досягаючи показників в 2-3 перетнутих квадрата в середньому, на 45 добу після введення конвульсантів ( $p > 0,05$ ; рис. 4.11).

В подальшому були з'ясовані особливості вертикальної рухової активності щурів в тесті «відкрите поле» в динаміці розвитку СС, індукованих пілокарпіном, після введення протиепілептичних препаратів. У щурів, яким вводили пілокарпін, зареєстровано було зменшення показників вертикальної рухової активності в тесті «відкрите поле». Кількість вертикальних стійок в них дорівнювало в середньому від 2 (через 1 день після введення пілокарпіну) до 1 (в момент розвитку спонтанних судом на 45-й добі досліду) (рис. 4.12).

Після введення діазепаму ( $9,64 \pm 0,98$  мг/кг) вираженість вертикальної моторної активності щурів в динаміці розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом (від 1-ї до 45-ї доби досліду) становила в середньому 4 вертикальні стійки з підтримкою біля стінки «відкритого поля» і без підтримки в його центрі, що суттєво розрізнялося з таким показником у щурів, яким вводили пілокарпін ( $p < 0,05$ ).

При введенні тваринам фенобарбіталу ( $15,53 \pm 1,54$  мг/кг) або вальпроєвої кислоти ( $284,5 \pm 27,3$  мг/кг), які запобігали розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом у 50,0 % щурів, була зареєстрована схожа динаміка рухової активності щурів в тесті «відкрите поле». В цих умовах показники вертикальної рухової активності не розрізнялися істотно, які були відзначені в щурів із введенням пілокарпину ( $p < 0,05$ ).

Застосування пілокарпину після введенням дифенілгідантоїну і карбамазепіну максимальними дозами спричиняло зниження кількості вертикальних стійок в тесті «відкрите поле» в динаміці розвитку відтермінованих спонтанних судом, досягаючи показників в середньому в 1 вертикальну стійку на 45 добу після введення конвульсанту (рис. 4.12)

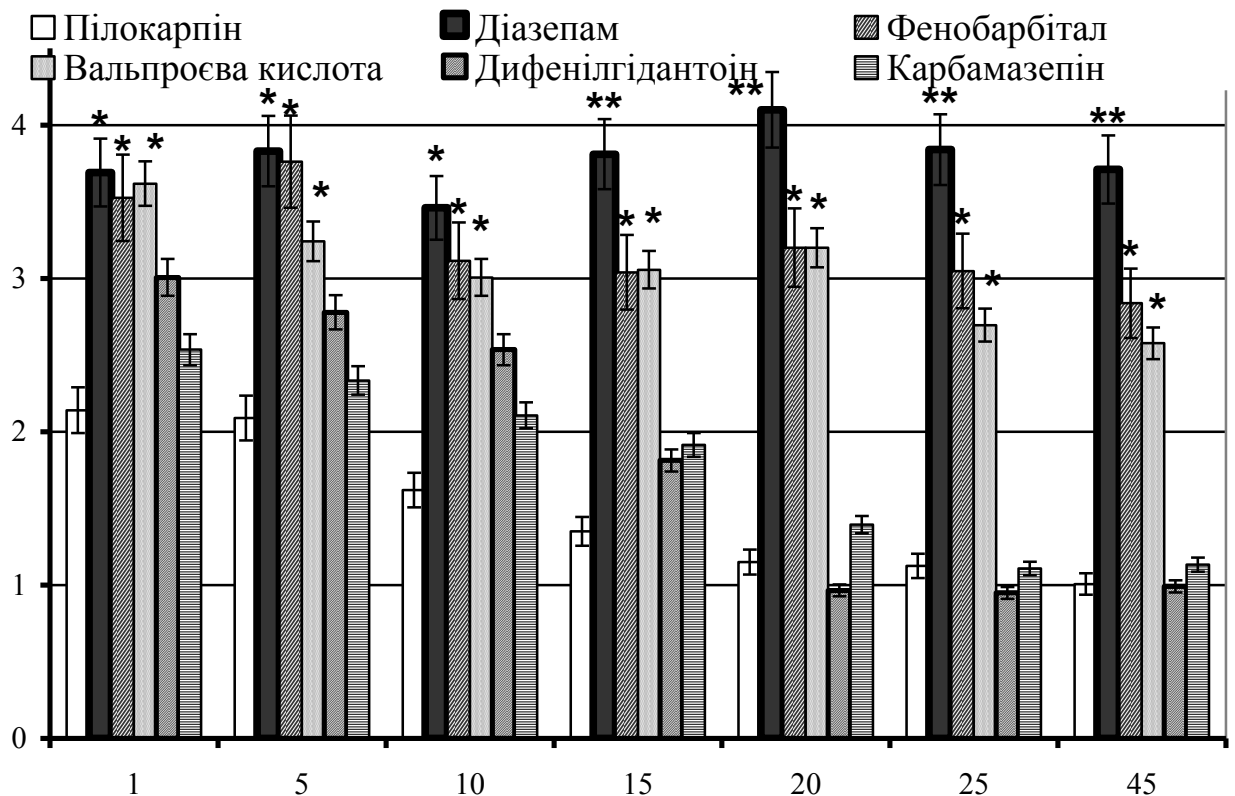


Рис. 4. 12 Вплив протиепілептичних препаратів на число вертикальних стійок в тесті «відкрите поле» в динаміці розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом.

Ось абсцисс: 1-25, 45 - дні після введення пілокарпину.

Примітки - такі ж, що і на рис 4. 11

У заключній частині досліджень вивчали характер зміни емоційної поведінки щурів в динаміці розвитку СС при введенні антиепілептичних препаратів. Через 1 день після введення пілокарпіну у відповідь на спробу взяття в руку щура контрольної групи і ту тварину, у яких згодом СС не розвинулися, намагалися уникнути захоплення в руки і вокалізували. Через 45 днів після застосування конвульсантів, у щурів, у яких розвинулися СС, посилювалася виразність відповідної емоційної реакції на спроби взяття в руки, досягаючи 5 балів. У цей час тварини, тікаючи від руки дослідника в кут камери, вокалізували і намагалися накинутися на його руку (рис. 4.13).

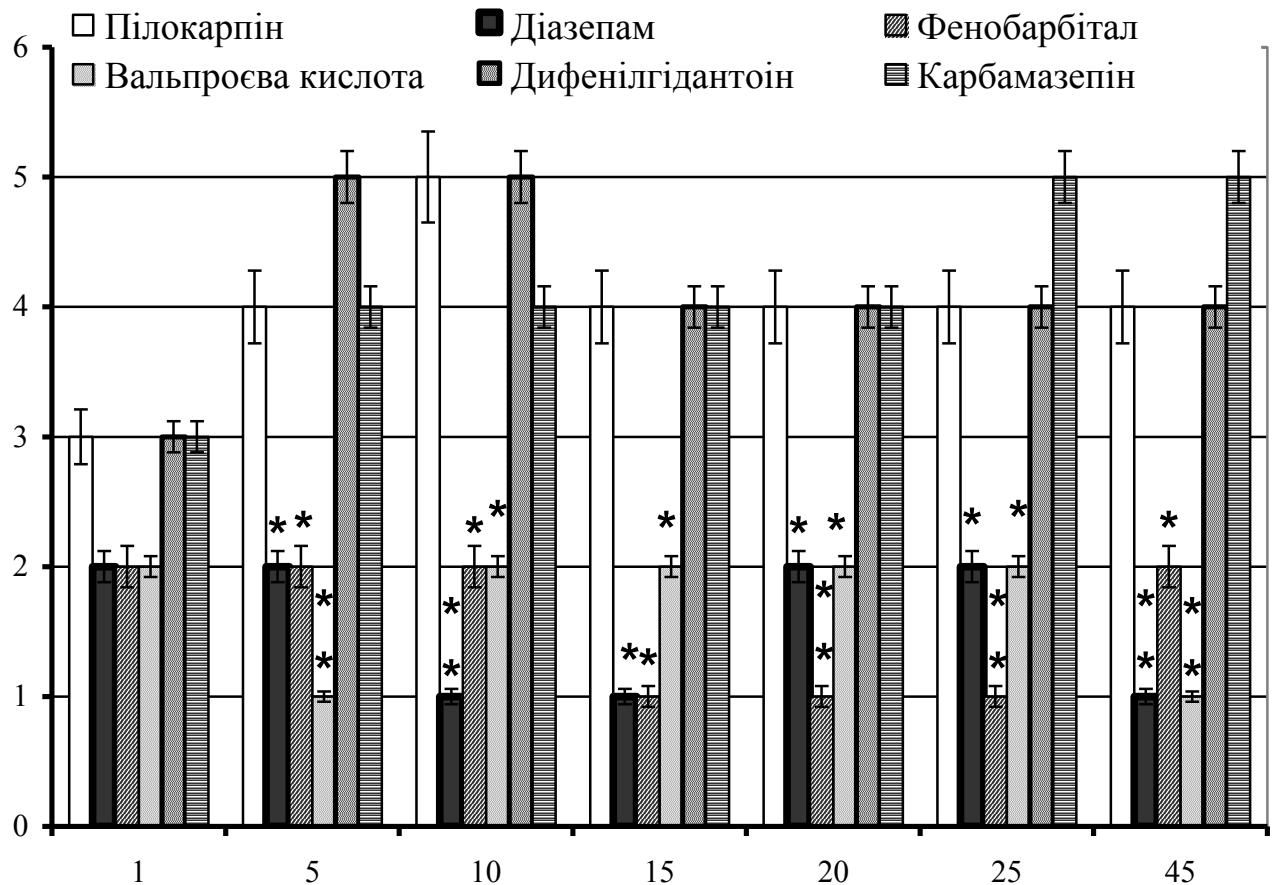


Рис. 4.13 Вплив протиепілептичних препаратів на зміни показників емоційної поведінки щурів в динаміці розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом

Ось абсцисс: 1-25, 45 - дні після введення пілокарпіну

Ось ординат: абсолютні дані, вираженість відповідних реакцій щурів при спробі їх взяття руками дослідника.

Примітки - такі ж, що і на рис. 4.11

Після введення діазепаму ( $9,64 \pm 0,98$  мг/кг) вираженість емоційної поведінки у щурів, яким ввели пілокарпін, була суттєво меншою порівняно з такою у щурів з одним тільки введенням конвульсанту ( $p < 0,05$ ). Так, в динаміці розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом - від 1 до 45 днів після введення конвульсантів величина досліджуваного показника дорівнювала в середньому 1 бал, що було менше, чим у щурів, яким вводили пілокарпін ( $p < 0,05$ ).

При введенні тваринам фенобарбіталу ( $15,53 \pm 1,54$  мг/кг) або вальпроєвої кислоти ( $284,5 \pm 27,3$  мг/кг) відзначили приблизно однакову динаміку абсолютних показників емоційної поведінки. При цьому характер відповідної реакції тварин на спроби взяття в руку не відрізнявся порівняно з відповідними контрольними величинами, але був менше, ніж такий у щурів із введенням конвульсанту ( $p < 0,05$ ; рис. 4.13).

Введення щурам пілокарпіна після максимальних доз діфенілгідантоїну або карбамазепіну сприяло посиленню виразності емоційної поведінки, в результаті чого щури демонстрували агресивне уникнення руки дослідника, при цьому вокалізували. За таких умов досліджувані показники не відрізнялися суттєво з аналогічними в щурів, яким вводили пілокарпін.

**Висновки розділу.** Модуляція активності ядер таламуса (медіодорзального і серединного ядер), а також вентрального гіпокампу, ВГЧТ та фронтальних відділів кори мозку щурів детермінують характер виникнення відтермінованих спонтанних пілокарпін-індукованих судомних реакцій.

При селективній деструкції медіодорзального і серединного ядер таламуса та стимуляцією ВГЧТ у тварин істотно скорочується тривалість стадії гострих пілокарпін-індукованих судом і не відзначається розвиток спонтанних судомних реакцій. Протилежна ситуація відзначається при електричній стимуляції зазначених серединних утворень таламуса та деструкції ВГЧТ.

З'ясовано, що виражене скорочення тривалості гострих генералізованих пілокарпін-викликаних судом зазначається у разі попередньої деструкції вентрального гіпокампу та фронтальних відділів кори, а також при стимуляції ВГЧТ. При цьому спонтанні пілокарпін-індуковані судоми у щурів не

розвиваються. У разі стимуляції ВГ, фронтальних відділів кори та деструкції ВГЧТ пілокарпін-викликані гострі і відтерміновані спонтанні судомні реакції не відрізняються від аналогічних у щурів в контрольних спостереженнях.

Враховуючи отримані дані, а також наявність потужних проекційних еферентних і аферентних взаємодій серединних ядер таламуса і фронтальних відділів кори, можливо припустити опосередкування даними утвореннями мозку патофізіологічних механізмів розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом. Зважаючи також на належність вказаних утворень мозку до епілептичної та антиепілептичної систем, ми припускаємо те, що вентральний гіпокамп, ВГЧТ та фронтальні відділи кори мозку набувають патогенетичного значення в механізмах розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Антиепілептичну дію відносно пілокарпін-викликаних спонтанних судом надають діазепам, фенобарбітал та вальпроєва кислота. Дифенілгідантоїн і карбамазепін не роблять впливу на розвиток відтермінованих спонтанних судом, індукованих пілокарпіном. Доза діазепаму, що запобігає розвиток пілокарпін-викликаних спонтанних судом у 50,0 % щурів, становить  $9,64 \pm 0,98$  мг/кг. Середньоєфективні дози фенобарбіталу та вальпроєвої кислоти дорівнюють, відповідно,  $15,53 \pm 1,54$  мг/кг і  $284,5 \pm 27,3$  мг/кг. Середньоєфективні дози дифенілгідантоїна та карбамазепіну розрахувати не виялося можливим.

Протисудомні ефекти діазепаму, фенобарбіталу та вальпроєвої кислоти у відношенні попередження розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом корелювали з нормалізацією під їх впливом моторної активності тварин у тесті «відкрите поле» та емоційної поведінки у відповідь на спроби взяття у руки в модельних умовах. Дифенілгідантоїн і карбамазепін не роблять впливу на пілокарпін-опосередковані порушення моторної активності щурів в тесті «відкрите поле» та емоційної поведінки у відповідь на спроби взяття у руки.

Приймаючи до уваги механізм реалізації противосудомної дії діазепаму, фенобарбіталу та вальпроєвої кислоти, можливо зробити висновок, що в патогенетичні механізми розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом залучені процеси, що сприяють компрометації ГАМК-ергічного гальмування.

За матеріалами даного розділу були опубліковані наступні роботи:

1. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Дослідження ролі серединних ядер таламусу в механізмах розвитку спонтанних судом. *Перспективи медицини і біології*. 2010. Т. 2, № 2. С. 28-30. *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення статті до друку.*
2. Вастьянов Р. С., Копьева Н. В. Различные эффекты некоторых противосудорожных препаратов в условиях пилокарпин-вызванных спонтанных судорог. *Український медичний альманах*. 2010. Т. 13, № 4. С. 24–26. (Матеріали наук.-практ. конф. «Актуальні питання соматоневрології», м. Луганськ, 28-29 жовтня 2010 р.). *Внесок дисертанта: участь в розробці загальної концепції наукової роботи, оформлення статті до друку.*
3. Kopyyova N. V. Roles of the Frontal Cortex and Subcortical Structures in the Mechanisms Underlying the Development of Pilocarpine-Induced Seizures in Rats. *Neurophysiology*. 2014. Vol. 46, N 3. P. 281-283.
4. Vastyanov R., Kopyyova N., Shandra A. Antiepileptic effect of high-frequency stimulation and bilateral anterior thalamic nucleus lesions on pilocarpine-induced status epilepticus and spontaneous seizures. *Abstracts from the 8<sup>th</sup> Eur. Congr. on Epileptology*. Berlin, 21–25 September 2008. P. 193–194. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів.*
5. Копйова Н. В. Дослідження механізмів розвитку спонтанної судомної активності за умов пілокарпін-індукованих судом. *Фізіологічний журнал*. 2010. Т. 56, № 2. С. 38–39. (Матеріали XVIII з'їзду Українського фізіологічного товариства з міжнар. участю, м. Одеса, 20–22 трав. 2010 р.)
6. Копйова Н. В. Провідна роль вентрального гіпокампу в регуляції збудливості мозку в умовах пілокарпін-індукованих спонтанних судом. *Фізіологічний журнал*. 2014. Т. 60, № 3 (додаток). С. 40. (Тези доповідей XIX з'їзду Українського фізіолог. тов. ім. П.Г. Костюка з міжнар. участю, присв. 90-річчю від дня народження ак. П.Г. Костюка, м. Київ, 26-29 трав. 2014 р.)

7. Копйова Н. В. З'ясування патофізіологічної ролі фронтальної кори мозку та підкіркових утворень в механізмах розвитку спонтанних пілокарпін-індукованих судом. *Тези доповідей VI міжн. конгр. укр. товариства нейронаук, присв. 90-річчю академіка НАН України та НАМН України П. Г. Костюка*, м. Київ, 4-8 червня 2014 р. К., 2014. С. 76.

## РОЗДІЛ 5

## ОСОБЛИВОСТІ МОТОРНОЇ, ЕМОЦІЙНОЇ ПОВЕДІНКИ, БОЛЬОВОЇ ЧУТЛИВОСТІ І КОГНІТИВНИХ ДИСФУНКЦІЙ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ ФОРМУВАННЯ ПІЛОКАРПІН-ВИКЛИКАНИХ СПОНТАННИХ СУДОМ

Пілокарпінова модель хронічних судом відтворює деякі особливості скронево-часткової епілепсії у людини - розвиток гострих генералізованих судом і спонтанних судомних реакцій, загибель нейронів гіпокампу, формування електроенцефалографічних порушень і порушень рухової поведінки, розвиток емоційних дисфункцій та ін. [70, 89, 161]. Аналіз проведених досліджень, присвячених з'ясуванню патофізіологічних механізмів розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судомних реакцій, виявив переважний характер вивчення електрофізіологічних, морфологічних і патохімічних особливостей даної моделі [74, 261, 262]. При цьому недостатня увага приділяється дослідженню порушень поведінки [70], когнітивних порушень [263] та інших особливостей [200] моделі пілокарпін-викликаних спонтанних відтермінованих судом. Зазначені дані мають важливе значення в дослідженні патофізіологічних механізмів досліджуваної моделі хронічної епілепсії, а також в оцінці ефективності комплексної патогенетичної терапії даної патології.

Епізоди підвищеної збудливості, депресивні стани, агресивність, неспокій та ін. часто передують розвитку спонтанних судом [236]. Показано, що саме поведінкові порушення, їх різновид, є єдиною клінічною ознакою, яка дозволяє запідозрити швидкий розвиток спонтанних судом, що значно ускладнює діагностику хронічного судомного синдрому. Враховуючи малу вивченість порушень моторної активності [89, 70, 262], а також емоційної поведінки [236, 264] при пілокарпін-викликаних судомних реакціях, які є важливими клінічними коррелятами скронево-часткової епілепсії [264, 265], в



данному розділі викладені результати дослідження стану рухової активності щурів в тесті «відкрите поле» та емоційної поведінки в динаміці формування пілокарпін-викликаних спонтанних судом.

Якість життя людей з хронічним судомним синдромом, крім маніфестації судомних і відповідних поведінкових порушень, залежить також від вираженості когнітивної дисфункції [236, 264].

Крім суто клінічного значення, оскільки часто при несудомних формах хронічного судомного синдрому, за відсутності грубої осередкової неврологічної симптоматики тільки мінімально виражені нейропсихологічні дисфункції визначають клінічний характер і перебіг захворювання, дана проблема має фундаментальну спрямованість. Останнє видається важливим в аспекті того, що досліджувана нами модель пілокарпін-викликаного хронічного епілепсії адекватна відповідному клінічному стану, а значить в її умовах у тварин повинні відтворюватися всі можливі порушення або певні дисфункції, які відзначаються в клінічній практиці у людей.

Для перевірки викладеного вище припущення ми провели серії експериментальних спостережень з ретроспективним аналізом когнітивних змін у щурів в умовах моделі пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Досліди в данній серії мали деякі методичні особливості, які полягали в тому, що протягом часу з моменту введення пілокарпіну ми не знали заздалегідь, у яких саме щурів спонтанні судоми розвинуться, а в яких самовільні судомні реакції будуть відсутні. З урахуванням цього ми моніторували динаміку змін моторної активності та емоційного поведінки у всіх щурів через 1, 5, 10, 15, 20 і 25 днів після одноразової ін'єкції конвульсантів - цей часовий інтервал достатній для початку формування спонтанних судомних реакцій. З моменту формування у щурів спонтанних судом всі тварини були поділені на наступні групи: 1 група - контрольні тварини з введенням розчином NaCl (n=10); 2 група - щури з введенням пілокарпіна (і додатково введенням М-скополаміном для усунення негативних явищ від стимуляції холінергічних рецепторів), у яких розвивалися спонтанні

судоми (n=35); 3 група - щури з введенням пілокарпіном (і додатково - М-скополаміном), у яких не відзначали розвиток спонтанних судом (n=9). Таким чином, викладені нижче результати та їх аналіз подані ретроспективно.

### 5.1 Дослідження поведінки в тесті «відкрите поле»

Щури трьох груп, після їх розміщення в центрі «відкритого поля», вільно пересувалися по всьому периметру поля, інтенсивно обнюхували повітря, заглядали в отвори в підлозі, піднімалися на задні лапи в центрі і біля стінок «відкритого поля». Досліджувані показники, які були зареєстровані у щурів до введення пілокарпіну, представлені в таблиці 5.1.

Видно, що всі тварини вільно переміщалися по всьому «відкритому полю», досліджували навколишній простір, демонстрували в середньому від 4,4 до 4,8 епізодів грумінгу. Після їх перебування у «відкритому полі» було виявлено в середньому 4,70-5,05 болюсов (табл. 5.1).

Через 1 день після введення пілокарпіну досліджувані показники в тесті «відкрите поле» у щурів контрольної групи і у щурів, у яких спонтанні судоми згодом не розвинулися, не розрізнялися істотно з аналогічними показниками, зареєстрованими до введення конвульсантів.

Деякі відмінності ми відзначили при тестуванні щурів, у яких згодом розвинулися СС. Так, кількість перетнутих квадратів у щурів цієї групи склала  $15,9 \pm 1,4$ , що було на 28,1 % менше порівняно з відповідними показниками у щурів контрольної групи в аналогічний період спостереження ( $p < 0,05$ ) і на 26,7 % менше відносно аналогічних показників у контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,05$ ).

Число вертикальних стійок у щурів досліджуваної групи склало  $2,1 \pm 0,3$ , що також мало істотні відмінності - на 48,8 % менше відносно аналогічних показників у щурів контрольної групи ( $p < 0,01$ ) і на 52,3 % менше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,01$ ).

Таблиця 5.1

Зміни поведінки щурів в тесті «відкрите поле» в динаміці формування спонтанних судом (через 1 і 5 днів після введення конвульсантів)

Групи тварин	Число перетнутих квадратів	Число вертикальних стійок	Число зазирань до отворів	Число епізодів грумінгу	Число дефекацій
<b>До введення пілокарпіну</b>					
Контроль, n=10	21,7±2,3	4,4±0,6	2,19±0,21	4,8±0,8	4,90±0,75
Щури зі спонтанними судомами, n=35	23,1±2,4	3,7±0,5	2,03±0,15	4,4±0,9	5,05±0,80
Щури без спонтанних судом, n=9	24,7±2,1	4,2±0,5	2,11±0,09	4,5±0,7	4,70±0,60
<b>Через 1 добу після введення пілокарпіну</b>					
Контроль, n=10	22,1±2,2	4,1±0,7	2,22±0,22	4,5±0,8	4,80±0,70
Щури зі спонтанними судомами, n=35	15,9±1,4 * #	2,1±0,3 ** ##	1,76±0,11	7,9±0,9	3,04±0,41 * #
Щури без спонтанних судом, n=9	21,9±1,7	3,6±0,6	2,08±0,11	4,7±0,7	4,77±0,67
<b>Через 5 діб після введення пілокарпіну</b>					
Контроль, n=10	20,9±1,7	4,0±0,7	2,30±0,30	4,6±0,7	4,70±0,65
Щури зі спонтанними судомами, n=35	12,3±1,1 *** ##	1,9±0,3 ** ##	1,57±0,09 ** ##	11,7±1,2 ** ##	2,88±0,36 * #
Щури без спонтанних судом, n=9	21,1±1,6	3,8±0,7	2,19±0,12	4,3±0,6	4,37±0,54

Примітки: \* -  $p < 0,05$  і \*\* -  $p < 0,01$  - достовірні відмінності досліджуваних показників у порівнянні з аналогічними даними у щурів контрольної групи (статистичний критерій ANOVA + Newmann - Keuls).

# -  $p < 0,05$ , ## -  $p < 0,01$  і ### -  $p < 0,001$  - достовірні відмінності порівняно з аналогічними даними у щурів до введення пілокарпіну (статистичний критерій ANOVA + Newmann - Keuls).

Число заглядань в отвори в підлозі «відкритого поля» і число епізодів грумінгу у щурів даної групи були рівні  $1,76 \pm 0,11$  і  $7,9 \pm 0,9$  відповідно, що не розрізнялось істотно із зареєстрованими результатами в контрольних спостереженнях до введення конвульсантів і через 1 день після його введення. Число болюсов у щурів у яких згодом розвинулися спонтанні судоми, склало  $3,04 \pm 0,41$  що було на 36,7 % і на 38,0 % менше, відповідно, порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну і через 1 день після його ін'єкції ( $p < 0,05$ , в обох випадках ; табл. 5.1).

Через 5 днів з моменту введення пілокарпіну всі досліджувані показники в тесті «відкрите поле» в групах щурів з введенням фізіологічного розчину NaCl і тих, у яких внаслідок введення конвульсантів не було відзначено розвитку спонтанних судом, не розрізнялися істотно ( $p > 0,05$ ; табл. 5.1).

Число перетнутих квадратів і вертикальних стійок, які продемонстрували щури з розвиненими згодом СС через 5 днів після введення конвульсантів, дорівнювали в середньому  $12,3 \pm 1,1$  і  $1,9 \pm 0,3$ , що, відповідно, на 41,1 %-43,3 % і на 52,5 %-56,8 % менше у порівнянні з аналогічними контрольними показниками у щурів, зареєстрованими до і через 5 днів після введення пілокарпіну ( $p < 0,01$ ; табл. 5.1).

Кількість заглядань в отвори «відкритого поля» у щурів цієї групи склало  $1,57 \pm 0,09$ , що було на 31,7 % менше порівняно з відповідними показниками у щурів контрольної групи в аналогічний період спостереження ( $p < 0,01$ ) і на 28,3 % менше відносно аналогічних показників в контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,01$ ). Число епізодів грумінгу у щурів досліджуваної групи склало  $11,7 \pm 1,2$ , що також мало істотні відмінності - в 2,54 рази більше відносно аналогічних показників у щурів контрольної групи ( $p < 0,01$ ) і в 2,44 рази більше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,01$ ) Число дефекацій у щурів, у яких згодом розвинулися спонтанні судоми склало  $2,88 \pm 0,36$ , що було на 38,7 % і на 41,2 % менше, відповідно, порівняно з

такими показниками в контрольних спостереженнях до введення і через 5 днів після ін'єкції пілокарпіну ( $p < 0,05$ ; табл. 5.1).

Через 10 днів після введення конвульсантів всі досліджувані показники в тесті «відкрите поле» в групах щурів з введенням фізіологічного розчину NaCl і тих, у яких внаслідок введення пілокарпіну не відзначали розвиток спонтанних судом, не розрізнялися істотно ( $p > 0,05$ ; табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Зміни поведінки щурів в тесті «відкрите поле» в динаміці формування спонтанних судом (через 10, 15 і 20 діб після введення конвульсантів)

Групи тварин	Число перетнутих квадратів	Число вертикальних стійок	Число зазирань до отворів	Число епізодів грумінгу	Число дефекацій
<b>Через 10 діб після введення пілокарпіну</b>					
Контроль, n=10	19,6±1,6	4,1±0,7	2,25±0,25	4,5±0,5	4,50±0,60
Щури зі спонтанними судомами, n=35	7,4±0,8 *** ###	1,7±0,2 ** ##	1,44±0,10 ** ##	18,3±1,9 *** ###	3,74±0,47
Щури без спонтанних судом, n=9	20,6±1,8	3,9±0,6	2,02±0,11	4,1±0,5	4,26±0,49
<b>Через 15 діб після введення пілокарпіну</b>					
Контроль, n=10	20,5±1,5	4,0±0,5	2,10±0,20	4,3±0,4	4,10±0,50
Щури зі спонтанними судомами, n=35	5,7±0,6 *** ###	1,2±0,2 *** ###	1,23±0,11 *** ##	19,8±2,1 *** ###	5,16±0,52
Щури без спонтанних судом, n=9	19,2±1,9	3,6±0,7	1,94±0,11	4,0±0,6	4,11±0,44

Таблиця 5.2 (продовження)

<b>Через 20 діб після введення пілокарпіну</b>					
Контроль, n=10	21,7±1,7	4,2±0,6	2,00±0,25	4,2±0,4	4,00±0,55
Щури зі спонтанними судомами, n=35	4,1±0,5 *** ###	1,1±0,2 *** ###	1,09±0,10 *** ###	21,3±2,3 *** ###	8,09±0,58 ** ##
Щури без спонтанних судом, n=9	19,6±1,8	3,5±0,6	1,89±0,11	4,1±0,5	4,17±0,41

Примітки: \*\* -  $p < 0,01$  і \*\*\* -  $p < 0,001$  - достовірні відмінності досліджуваних показників у порівнянні з аналогічними даними у щурів контрольної групи (статистичний критерій ANOVA + Newmann - Keuls).

## -  $p < 0,01$  і ### -  $p < 0,001$  - достовірні відмінності порівняно з аналогічними даними у щурів до введення пілокарпіну (статистичний критерій ANOVA + Newmann - Keuls).

Кількість перетнутих квадратів у щурів цієї групи склало  $7,40 \pm 0,8$ , що було в 2,65 рази менше в порівнянні з відповідними показниками у щурів контрольної групи в аналогічний період спостереження ( $p < 0,001$ ) і в 2,93 рази менше відносно аналогічних показників у контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$ ). Число вертикальних стійок у щурів досліджуваної групи склало  $1,7 \pm 0,2$ , що також мало істотні відмінності - в 2,41 рази менше відносно аналогічних показників у щурів контрольної групи ( $p < 0,01$ ) і в 2,59 разів менше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,01$ ). Число зазирань до отворів в підлозі «відкритого поля» у щурів досліджуваної групи склало  $1,44 \pm 0,10$ , що було на 36,0 % менше відносно аналогічних показників у щурів контрольної групи ( $p < 0,01$ ) і на 34,2 % менше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,01$ ).

Число епізодів грумінгу у щурів склало  $18,3 \pm 1,9$ , що було в 4,07 рази більше в порівнянні з відповідними показниками у щурів контрольної групи в

аналогічний період спостереження ( $p < 0,001$ ) і в 3,81 рази більше щодо аналогічних показників у контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$ ). Число дефекацій у щурів даної групи були рівні  $3,74 \pm 0,47$ , що не розрізняється істотно із зареєстрованими результатами в контрольних спостереженнях до введення конвульсантів і через 10 днів після його введення ( $p > 0,05$  в обох випадках; табл. 5.2).

Через 15 днів після введення пілокарпіну всі досліджувані показники в тесті «відкрите поле» в контрольній групі щурів і у тварин, у яких внаслідок введення конвульсантів не розвивалися СС, не розрізнялися істотно ( $p > 0,05$ ; табл. 5.2). Число перетнутих квадратів і вертикальних стійок, які продемонстрували щури з розвиненими згодом СС через 15 днів після введення конвульсантів, дорівнювали в середньому  $5,7 \pm 0,6$  и  $1,2 \pm 0,2$  що виявилось, відповідно, в 3,60-3,81 рази і в 3,33-3,67 рази менше в порівнянні з аналогічними контрольними показниками у щурів, зареєстрованими до і через 15 днів після введення пілокарпіну, ( $p < 0,001$  ; табл. 5.2).

Кількість заглядань в отвори «відкритого поля» у щурів цієї групи склало  $1,23 \pm 0,11$ , що було на 41,4 % менше порівняно з відповідними показниками у щурів контрольної групи в аналогічний період спостереження ( $p < 0,01$ ) і на 43,8 % менше відносно аналогічних показників у контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$ ). Число епізодів грумінгу у щурів досліджуваної групи склало  $19,8 \pm 2,1$ , що також мало істотні відмінності - в 4,6 разів більше щодо аналогічних показників у щурів контрольної групи і в 4,13 разів більше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$  в обох випадках). Число дефекацій у щурів, у яких згодом розвинулися спонтанні судоми склало  $5,16 \pm 0,52$ , що було, відповідно, на 25,8 % і на 5,3 % більше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення і через 15 днів після ін'єкції пілокарпіну ( $p > 0,05$  ; табл. 5.2).

Через 20 днів після введення конвульсантів всі досліджувані показники в тесті «відкрите поле» в групах щурів з введенням 0,9 % розчину NaCl і тих, у

яких внаслідок введення пілокарпіну не відзначали розвиток спонтанних судом, не розрізнялися істотно ( $p > 0,05$ ; табл. 5.2). Кількість перетнутих квадратів у щурів цієї групи склало  $4,1 \pm 0,5$ , що було в 5,29 рази менше в порівнянні з відповідними показниками у щурів контрольної групи в аналогічний період спостереження ( $p < 0,001$ ) і в 5,34 рази менше відносно аналогічних показників у контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$ ). Кількість вертикальних стійок у щурів досліджуваної групи склало  $1,1 \pm 0,2$ , що також мало істотні відмінності - в 3,83 рази менше відносно аналогічних показників у щурів контрольної групи і в 4 рази менше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$  в обох випадках). Число заглядань в отвори в підлозі «відкритого поля» у щурів досліджуваної групи склало  $1,09 \pm 0,10$ , що було на 45,5 % менше відносно аналогічних показників у щурів контрольної групи ( $p < 0,001$ ) і в 2 рази менше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$ ).

Число епізодів грумінгу у щурів склало  $21,3 \pm 2,3$ , що було в 5,07 рази більше в порівнянні з відповідними показниками у щурів контрольної групи в аналогічний період спостереження ( $p < 0,001$ ) і в 4,84 рази більше щодо аналогічних показників у контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$ ). Число дефекацій у щурів даної групи були рівні  $8,09 \pm 0,58$ , що в 2,0 і в 1,6 рази перевищувало відповідні результати в контрольних спостереженнях до і через 20 днів після введення конвульсантів ( $p < 0,01$  в обох випадках; табл. 5.2).

Через 25 днів після введення пілокарпіну всі досліджувані показники в тесті «відкрите поле» в контрольній групі щурів і у тварин, у яких внаслідок введення конвульсантів не було відзначено розвитку спонтанних судом, не розрізнялися істотно ( $p > 0,05$ ; табл. 5.3).



Таблиця 5.3

Зміни поведінки щурів в тесті «відкрите поле» в динаміці формування спонтанних судом (через 25 діб після введення конвульсантів)

Групи тварин	Число перетнутих квадратів	Число вертикальних стійок	Число зазирань до отворів	Число епізодів грумінгу	Число дефекацій
Контроль, n=10	20,5±1,5	4,0±0,5	1,85±0,20	4,0±0,4	3,85±0,40
Щури зі спонтанними судомами, n=35	3,2±0,4 *** ###	1,0±0,2 *** ###	1,02±0,10 *** ###	22,1±2,2 *** ###	8,27±0,54 *** ###
Щури без спонтанних судом, n=9	19,1±1,7	3,7±0,7	1,97±0,11	4,0±0,5	4,04±0,37

Примітки: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$  - достовірні відмінності досліджуваних показників у порівнянні з аналогічними даними у щурів контрольної групи (статистичний критерій ANOVA + Newmann - Keuls).

## -  $p < 0,01$  і ### -  $p < 0,001$  - достовірні відмінності порівняно з аналогічними даними у щурів до введення пілокарпіну (статистичний критерій ANOVA + Newmann - Keuls).

Число перетнутих квадратів і вертикальних стійок, які продемонстрували щури з розвиненими згодом спонтанними судомами через 25 днів після введення конвульсантів, виявилися, відповідно, в 6,41-7,22 рази і в 4,0-4,4 рази менше в порівнянні з аналогічними контрольними показниками у щурів, зареєстрованими до і через 25 днів після введення пілокарпіну, ( $p < 0,001$ ; табл. 5.3). Кількість заглядань в отвори «відкритого поля» у щурів цієї групи склало  $1,02 \pm 0,10$ , що було на 81,4 % менше порівняно з відповідними показниками у щурів контрольної групи в аналогічний період спостереження ( $p < 0,001$ ) і в 2 рази менше відносно аналогічних показників у контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$ ).

Число епізодів грумінгу у щурів досліджуваної групи також мало істотні відмінності - в 5,5 рази більше відносно аналогічних показників у щурів контрольної групи і в 5 разів більше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$  в обох випадках). Число дефекацій у щурів, у яких згодом розвинулися спонтанні судоми склало  $8,27 \pm 0,54$ , що було, відповідно, в 2,1 і на 63,8 % більше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення і через 25 днів після ін'єкції пілокарпіну ( $p < 0,001$  в обох випадках; табл. 5.3). Це свідчить про зростання емоційної напруги, що може бути пов'язана з деструкцією гіпокампу.

## 5.2 Дослідження емоційної поведінки

До введення пілокарпіну всі щури у відповідь на спробу взяття їх в руки дослідниками демонстрували виражені емоційні відповідні реакції, які носили переважно агресивний характер і виражалися в спробах накинутися на руку дослідника. За загальноприйнятою бальною шкалою оцінки агресивно-оборонної емоційної поведінки вираженість емоційної поведінки у всіх щурів дорівнювала 5 балам [266].

Через 1 день після введення пілокарпіну у відповідь на спробу взяття в руку щури контрольної групи і ті тварини, у яких згодом спонтанні судоми не розвинулися, намагалися уникнути захоплення в руки і вокалізували (рис. 5.1).

У цей же самий час 30 щурів з числа 35, у яких згодом відзначалися спонтанні судоми, при вигляді руки дослідників, тікали від них в кут камери, що прирівнювалося до 3 балів. Решта 5 щурів вокалізували при уникненні - 4 бали, що істотно перевищувало таку відповідну реакцію у щурів в контрольних спостереженнях ( $p < 0,001$ ).

Через 5 днів, так само як і в наступні дні після введення конвульсантів, ми не спостерігали суттєвих відмінностей у вираженості емоційної поведінки тварин у відповідь на спроби взяття їх в руки. Більшість щурів контрольної групи і тих, у яких після введення пілокарпіну спонтанні судоми не

розвивалися, легко і практично без опору піддавалися взяттю в руки дослідників.

Показники відповідної реакції при спробі взяття в руки дослідників у більшості щурів, у яких згодом розвинулися спонтанні судоми, через 5 днів після введення пілокарпіну були рівні 4 балам, що істотно перевищувало аналогічні контрольні показники ( $p < 0,001$ ; рис. 5.1).

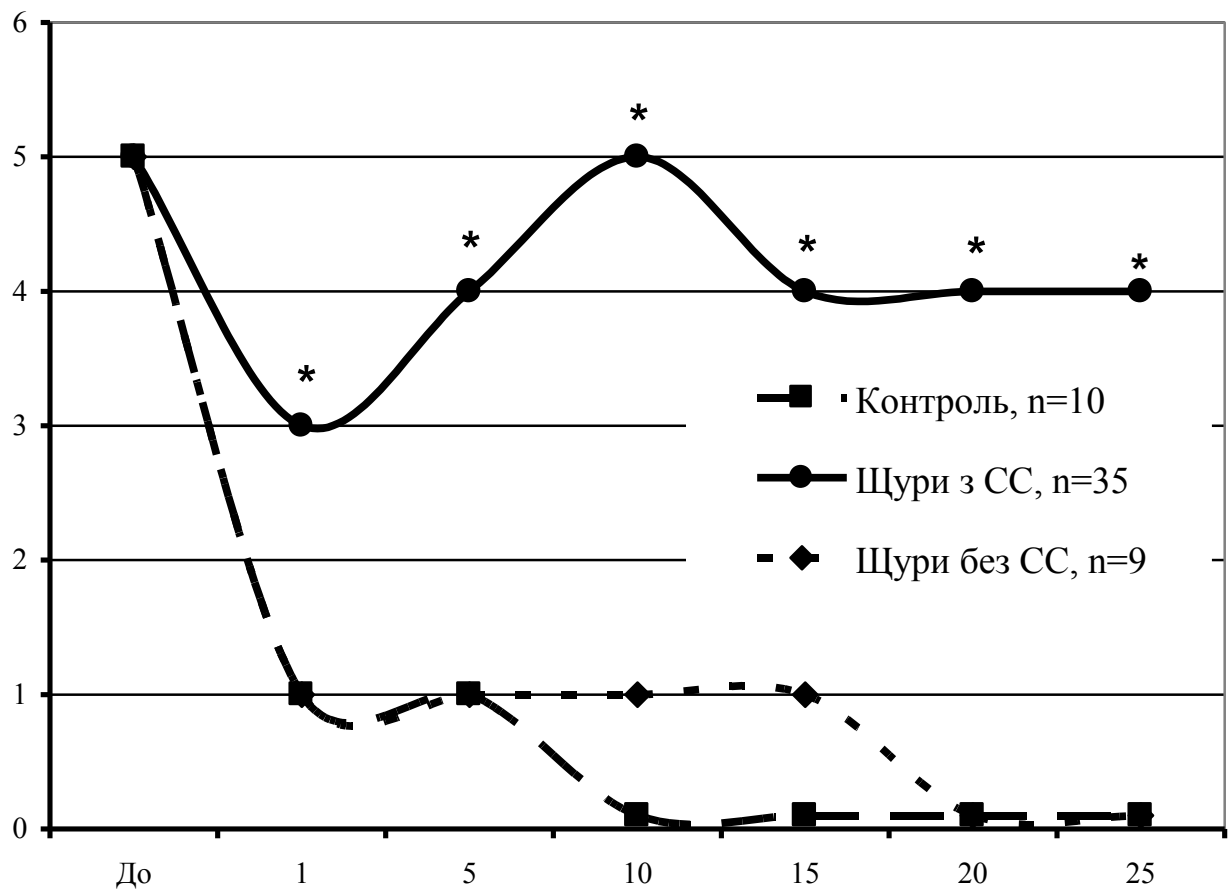


Рис. 5.1 Зміни показників емоційної поведінки щурів в динаміці розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Позначення: по осі абсцис - дні після введення пілокарпіну.

По осі ординат - абсолютні дані, вираженість відповідних реакцій щурів при спробі їх взяття в руки

Примітки: \* -  $p < 0,001$  - достовірні відмінності досліджуваних показників у порівнянні з аналогічними даними у щурів контрольної групи (статистичний критерій Крушкел - Валліса).

На 10 -й день після введення конвульсантів 29 щурів досліджуваної групи накидалися на руки або робили спроби накинутися на руки дослідників у відповідь на спробу взяття їх в руки, що дорівнювало 5 балам. Інші 6 щурів тікали в кут камери, сильно при цьому вокалізую, брали оборонну стійку. Подібна вираженість емоційної поведінки істотно розрізнялася з такою поведінкою у щурів, у яких введення пілокарпіну не приводило до розвитку спонтанних судом ( $p < 0,001$ ).

Через 15 днів після введення пілокарпіну більшість щурів з числа тих, у яких згодом розвинулися спонтанні судоми, демонстрували емоційну поведінку, абсолютна вираженість якої дорівнювала 4 балам, що було істотно більше в порівнянні з аналогічними показниками у щурів в контрольних спостереженнях ( $p < 0,001$ ).

Аналогічна вираженість емоційної поведінки в групі щурів, у яких введення пілокарпіну сприяло розвитку спонтанних судом, зберігалася і в подальші періоди спостереження (рис. 5.1). При цьому зберігалася істотна різниця досліджуваної поведінки порівняно з такими емоційними реакціями у щурів контрольної групи ( $p < 0,001$ ).

### 5.3 Дослідження емоційної поведінки в тесті 8-променевого радіального лабіринту

До введення пілокарпіну тварини всіх груп в тесті 8-променевого радіального піднятого лабіринту в середньому 9,0 % - 13,0 % загального часу знаходження в цьому пристрої, найчастіше перебували в одному з променів. На відвідування інших променів щури витрачали 37,0 %-41,0 % часу, оскільки 50,0 % всього часу експерименту тварини знаходилися на центральній платформі лабіринту (табл. 5.4).

Кількість успішних входів в один з променів лабіринту, в якому щури знаходилися більшу частину часу, щодо загальної кількості входів у всі промені лабіринту, становило від 9,0 % до 15,0 %. У закриті ділянки променів тварини заходили в середньому 9-10 разів під час всього спостереження.

Таблиця 5.4

Зміни показників поведінки щурів в тесті радіального піднятого лабіринту в динаміці формування пілокарпін - індукованих спонтанних судом (СС)

Досліджувані показники/ Групи тварин	Дні з моменту введення пілокарпіна, $M \pm m$					
	1	5	10	15	20	25
<i>Входи в промені,</i>						
Контроль, n=10	10,5±1,5	12,5±1,5	10,5±1,0	9,5±1,0	9,0±0,9	8,0±0,8
Щури з СС, n=35	26,1±3,0*	19,2±1,7*	11,2±1,6	6,9±0,6*	3,2±0,4*	0,7±0,1*
Щури без СС, n=9	14,2±1,4	15,6±1,4	12,7±1,3	10,7±1,3	9,5±1,1	8,7±0,9
<i>Час нахождення в променях,</i>						
Контроль, n=10	9,0±0,9	9,5±0,9	13,0±1,0	14,5±1,5	15,0±1,5	14,5±1,0
Щури з СС, n=35	24,2±2,3*	20,7±2,2*	13,6±1,4	8,9±0,6*	3,3±0,3*	0,5±0,1*
Щури без СС, n=9	12,6±1,2	12,4±1,2	12,6±1,2	13,1±1,2	13,5±1,2	11,8±1,1
<i>Кількість заходів в закриті ділянки променів</i>						
Контроль, n=10	9,5±0,9	10,0±0,9	10,5±1,0	10,0±1,0	9,5±0,9	9,2±0,9
Щури з СС, n=35	10,3±1,1	9,8±0,9	9,2±0,8	8,9±0,8	8,7±0,8	8,3±0,7
Щури без СС, n=9	9,2±0,9	9,6±0,9	9,9±0,9	9,7±0,9	9,4±0,8	8,7±0,8

Примітки: \* -  $p < 0,05$ , - достовірні відмінності досліджуваних показників у порівнянні з аналогічними даними у щурів контрольної групи (статистичний критерій ANOVA + Newmann - Keuls).

Через 1 день після введення пілокарпіну досліджувані показники не розрізнялися істотно в групах щурів з введенням фізіологічного розчину та введенням пілокарпіну і відсутністю розвитку спонтанних судом (табл. 5.4).

В цей час кількість входів в промені лабіринту у щурів, у яких розвивалися спонтанні судоми після введення пілокарпіну, становило  $26,1 \pm 3,0$  щодо загальної кількості входів у всі промені лабіринту в 2,55 рази перевищувало відповідні показники в контрольних спостереженнях ( $p < 0,05$ ). Загальний час знаходження в променях у щурів цієї групи було  $24,2 \pm 2,3$  щодо загального часу перебування у всіх променях лабіринту в 2,75 рази перевищувало аналогічний показник у контрольних спостереженнях ( $p < 0,05$ ).

Кількість заходів в закриті ділянки променів через 1 день після введення пілокарпіну у щурів всіх досліджуваних груп не відрізнявся істотно ( $p > 0,05$ ).

Через 5 днів після введення конвульсантів досліджувані показники в групах щурів з введенням 0,9 % розчину NaCl та з введенням пілокарпіну і відсутністю розвитку СС також не різняться суттєво. При цьому кількість входів в промені лабіринту у щурів, у яких розвивалися СС після введення пілокарпіну, становило  $19,2 \pm 1,7$  в порівнянні із загальною кількістю входів у всі промені лабіринту, що в 1,5 рази перевищувало аналогічні показники у щурів контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Загальний час знаходження в променях у щурів цієї групи було  $20,7 \pm 2,2$  щодо загального часу перебування у всіх променях лабіринту в 2,2 рази перевищувало аналогічний показник в контрольних спостереженнях ( $p < 0,05$ ). Кількість заходів в закриті ділянки променів через 5 днів після введення пілокарпіну у спостережуваних щурів склало  $9,8 \pm 0,9$ , що на 1,0 % -2,0 % відрізнялося порівняно з відповідними показниками у тварин інших груп ( $p > 0,05$ ).

Через 10 днів після введення пілокарпіну кількість входів в промені радіального лабіринту у щурів, у яких згодом розвинулися СС, склало  $11,2 \pm 1,6$  що на 1,0 % -3,0 % відрізнялося з аналогічними показниками у щурів інших груп ( $p > 0,05$ ). При цьому загальний час знаходження в променях і кількість

входів в закриті ділянки променів в даний часовий інтервал після введення пілокарпіну не розрізнялися істотно у щурів всіх досліджуваних груп ( $p>0,05$ ).

Через 15 днів після введення пілокарпіну досліджувані показники в групах щурів з введенням фізіологічного розчину і з введенням пілокарпіну і відсутністю розвитку СС не розрізнялися істотно (табл. 5.4). Кількість входів в промені лабіринту у щурів, у яких розвивалися СС після введення пілокарпіну, становило  $6,9\pm 0,6$  в порівнянні із загальною кількістю входів у всі промені лабіринту, що було на 27,4 % менше відносно аналогічних показників у щурів контрольної групи ( $p<0,05$ ). Загальний час знаходження в променях у щурів цієї групи було  $8,9\pm 0,6$  щодо загального часу перебування у всіх променях лабіринту було на 43,4 % менше порівняно з аналогічним показником у контрольних спостереженнях ( $p<0,05$ ). Кількість заходів в закриті ділянки променів через 15 днів після введення пілокарпіну у спостережуваних щурів склало  $8,9\pm 0,8$ , що на 7,0 %-11,0 % відрізнялося порівняно з відповідними показниками у тварин інших груп ( $p>0,05$ ).

Через 20 днів після ін'єкції пілокарпіну всі досліджувані показники в групі щурів, у яких спонтанні судоми не розвивалися, не розрізнялися істотно в порівнянні з аналогічними контрольними показниками ( $p>0,05$ ). У групі щурів, у яких введення конвульсантів сприяло розвитку спонтанних судом, кількість входів в промені лабіринту і час знаходження в них склали в середньому  $3,2\pm 0,4$  и  $3,3\pm 0,3$ , що в 2,8 разів і в 4,5 рази, відповідно, було менше в порівнянні з аналогічними показниками у щурів з введенням фізіологічного розчину ( $p<0,05$ ). Середня кількість заходження в закритих ділянках променів лабіринту склало  $8,7\pm 0,8$ , що не розрізняється істотно з аналогічними показниками у щурів інших досліджуваних груп ( $p>0,05$ ).

Через 25 днів після введення конвульсантів всі досліджувані показники у щурів, у яких СС не розвивалися, не мали статистичних відмінностей у порівнянні з аналогічними контрольними показниками ( $p>0,05$ ). У щурів з розвитком СС внаслідок застосування пілокарпіну середні показники кількості входів в промені лабіринту і часу перебування в них склали  $0,7\pm 0,1$  и  $0,5\pm 0,1$ ,

що в 11,4 рази і в 29 разів, відповідно, було менше порівняно з такими контрольними показниками ( $p < 0,05$ ). Середня кількість заходження в закриті ділянки променів лабіринту склало  $8,3 \pm 0,7$ , що не розрізняється істотно з аналогічними показниками у щурів інших досліджуваних груп ( $p > 0,05$ ; табл. 3.13). Таким чином розвинення СС супроводжується достовірним визначеним скороченням кількості виходів в промені лабіринту і збереженням часу знаходження в закритих ділянках лабіринту.

#### 5.4 Дослідження больової чутливості

При проведенні контрольних вимірів порога больової чутливості щури після їх розміщення в центрі металевій пластині, яку згодом нагрівали, підскакували при силі струму в середньому від 0,63 мА до 0,66 мА (рис. 5.2).

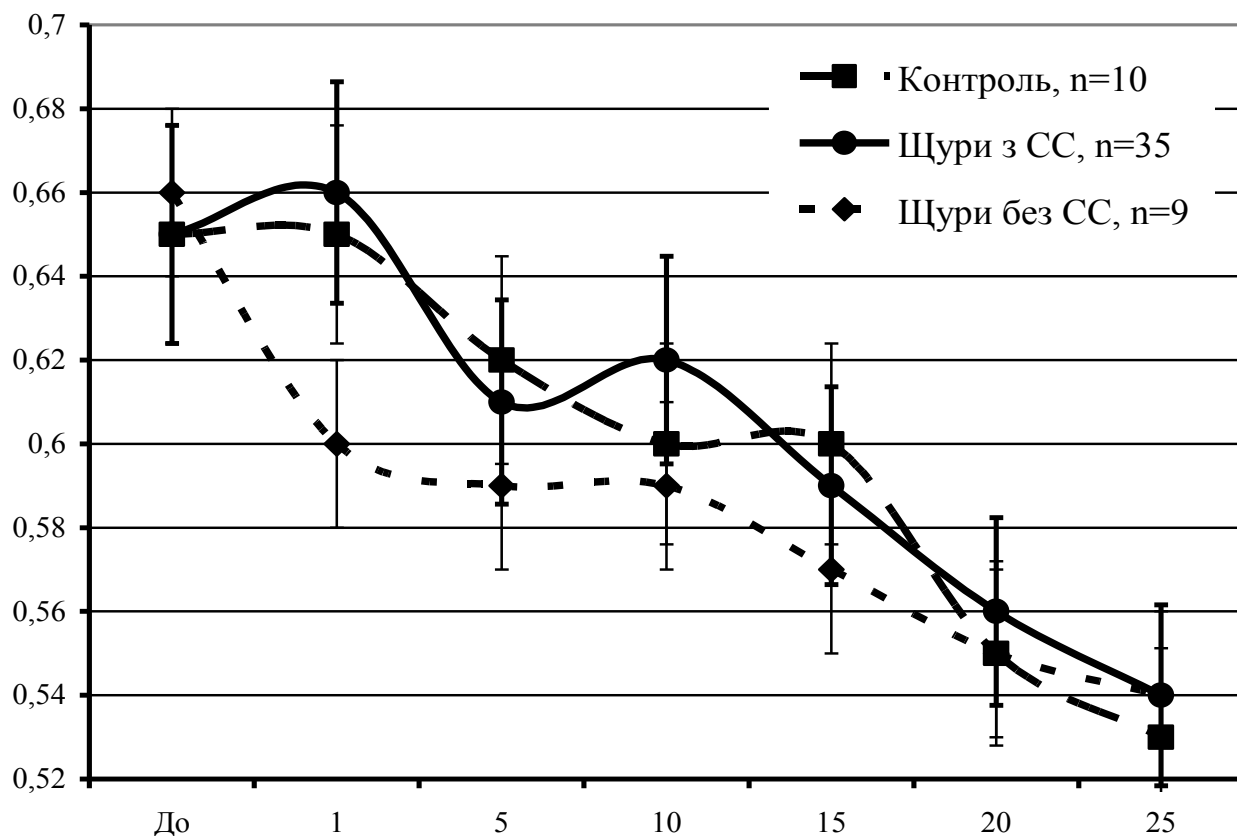


Рис. 5.2 Зміни порога больової чутливості у щурів в динаміці розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Ось абсцисс: дні після введення пілокарпіну.

Ось ординат: поріг больової чутливості ( $M \pm m$ ), мА.



Через 1 день після введення пілокарпіну показники порогу больової чутливості були рівні у щурів контрольної групи  $0,65 \pm 0,5$  мА, у щурів з введенням пілокарпіну без подальшого розвитку спонтанних судом  $0,60 \pm 0,6$  мА і у щурів, у яких розвинулися спонтанні судоми внаслідок застосування конвульсантів –  $0,66 \pm 0,6$  мА. Отримані дані не розрізняються суттєво ( $p > 0,05$ ).

Через 5 днів після введення тваринам дослідних груп пілокарпіна досліджувані показники -  $0,61 \pm 0,6$  мА и  $0,59 \pm 0,6$  мА - також суттєво не розрізнялися з аналогічними в контрольних спостереженнях –  $0,62 \pm 0,5$  мА ( $p > 0,05$ ; рис. 5.2).

Через 10 днів після введення пілокарпіну величина порога больової чутливості у щурів, у яких розвинулися в подальшому спонтанні судоми, дорівнювала  $0,62 \pm 0,5$  мА. У щурів без розвитку в подальшому спонтанних судомних реакцій величина досліджуваного показника склала в середньому  $0,59 \pm 0,6$  мА. Отримані показники не розрізнялися істотно в порівнянні з аналогічними у щурів у контрольній групі ( $p > 0,05$ ).

Через 15 днів після введення пілокарпіну величина порога больової чутливості у щурів контрольної групи дорівнювала  $0,60 \pm 0,6$  мА, у щурів з введенням пілокарпіном без подальшого розвитку СС  $0,57 \pm 0,5$  мА і у щурів, у яких розвинулися спонтанні судоми внаслідок застосування конвульсантів -  $0,59 \pm 0,5$  мА, що не мало істотного розходження ( $p > 0,05$ ).

Через 20 днів після введення пілокарпіну величина порога больової чутливості у щурів, у яких розвинулися в подальшому спонтанні судоми, дорівнювала  $0,55 \pm 0,5$  мА. У щурів без розвитку спонтанних судомних реакцій величина досліджуваного показника склала в середньому  $0,56 \pm 0,5$  мА. Отримані показники не розрізнялися істотно в порівнянні з аналогічними у щурів контрольної групи ( $p > 0,05$ ).

Через 25 днів після введення пілокарпіну величина порога больової чутливості у щурів контрольної групи дорівнювала  $0,53 \pm 0,5$  мА. Величина досліджуваного показника у щурів обох груп з введенням пілокарпіну з подальшим розвитком спонтанних судом і без них склала  $0,53 \pm 0,4$  мА що також

не мало істотної міжгрупової статистичної відмінності ( $p > 0,05$ ; рис. 5.2). Таким чином розвинення спонтанних судом не супроводжується змінами больового порогу, тому що відбувається зміна дослідницької та емоційної поведінки тварин в модельних умовах.

5.5 Дослідження здатності щурів із пілокарпін-індукованим хронічним судомним синдромом щодо умовно-рефлекторної активності

#### 5.5.1 Дослідження формування умовного рефлексу

Для даних досліджень використовували тварин, яких утримували в режимі харчової депривації з вільним доступом до води. У процесі тренування до початку дослідів більшість щурів (90,0 %-95,0 %) привчались легко, з першої спроби знаходити харчове підкріплення у вигляді харчових кульок в променях 8-променевого радіального лабіринту. Через 1 день після введення пілокарпіну 55,5 % тварин контрольної групи з першої спроби знаходили харчові кульки в годівницях, розташованих в променях лабіринту (рис. 5.3)

Решта щурів контрольної групи для знаходження їжі витрачали більше число спроб - середнє число входів в промені лабіринту для знаходження їжі в контрольних спостереженнях склало  $6,8 \pm 0,6$ . Величина досліджуваного показника в даний момент часу у щурів, у яких введення пілокарпіну не сприяло розвитку СС реакцій, дорівнювала  $6,3 \pm 0,5$ , що не розрізнялося істотно з аналогічними показниками в контрольних спостереженнях.

75,7 % щурів зі сформованими згодом СС для знаходження їжі витрачали від 7 до 10 спроб, у 9,1 % тварин число вдалих спроб для знаходження їжі в рукаві лабіринту дорівнювало 6, у 15,2 % щурів - 13. Середній показник кількості вдалих спроб знаходження їжі в променях лабіринту у щурів з пілокарпін - викликаними спонтанними судомами через 1 день після введення конвульсанів на 66,0 % перевищував аналогічні контрольні показники, що, однак, не мало суттєвої статистичної різниці ( $p > 0,05$ ; рис. 5.3).

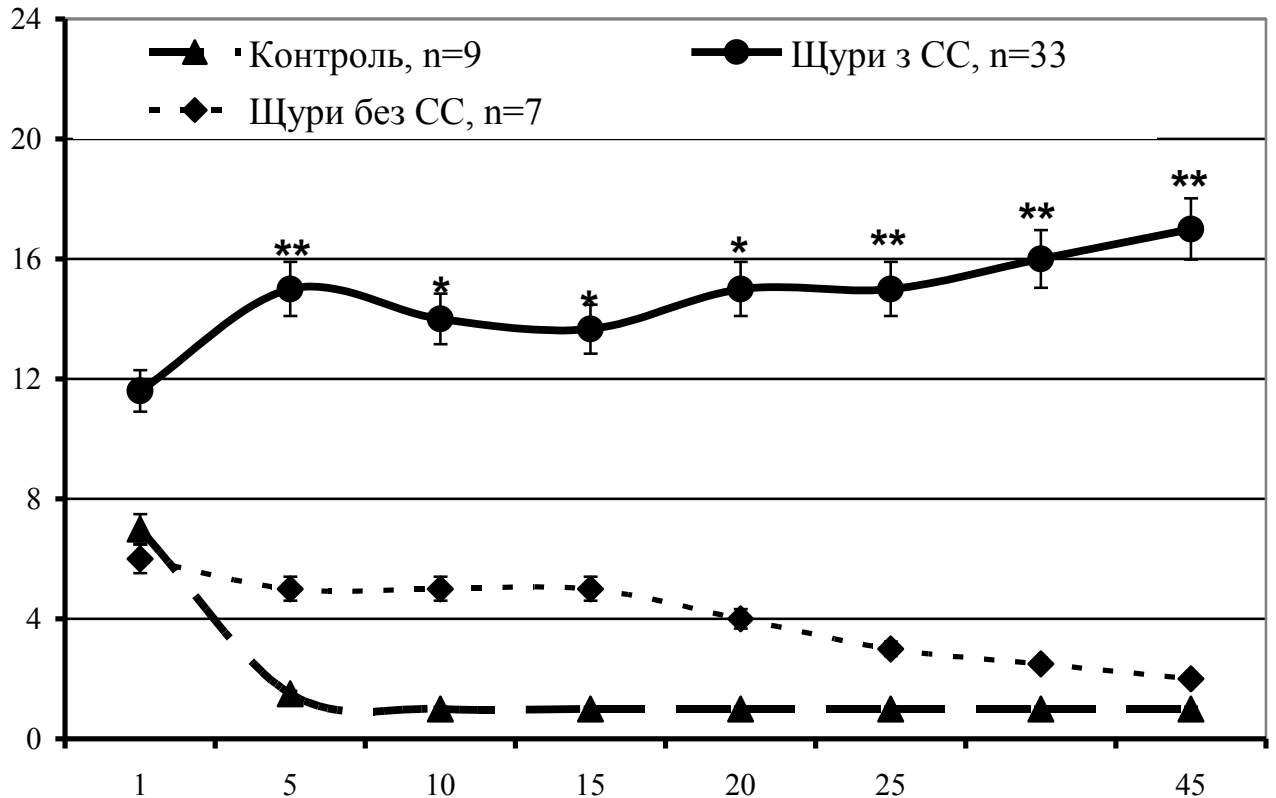


Рис. 5.3 Динаміка формування умовного рефлексу в тесті з використанням 8-променевого радіального лабіринту у щурів в динаміці розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Ось абсцисс: 1-25, 45 - дні після введення пілокарпіну.

Ось ординат: кількість спроб входження в промені лабіринту до моменту вдалою локалізації їжі під час навчання.

Примітки: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$  - достовірні відмінності досліджуваних показників у порівнянні з аналогічними початковими даними у щурів (статистичний критерій ANOVA + Newmann - Keuls).

Через 5 днів після введення пілокарпіну практично всі щури контрольної групи знаходили харчові кульки в променях лабіринту з першої спроби. Величина досліджуваного показника у щурів без розвитку спонтанних судом склала  $5,1 \pm 0,5$ , що не розрізняється істотно з аналогічними показниками в контрольних спостереженнях. В цей же час тварини, у яких введення пілокарпіну сприяло розвитку спонтанних судомних реакцій, демонстрували в

середньому  $15,4 \pm 1,7$  спроб знаходження їжі в променях лабіринту, що в 15 разів перевищувало відповідні контрольні показники ( $p < 0,01$ ).

Через 10 днів після введення пілокаріну величина досліджуваного показника не розрізнялася суттєво в групах щурів з введенням фізіологічного розчину і пілокарпіну (без розвитку спонтанних судом). Число спроб знаходження їжі в променях лабіринту щурами з розвиненими згодом пілокарпін-індукованими спонтанними судомами склало в середньому  $14,4 \pm 1,5$ , що відрізнялося порівняно з аналогічними даними в контрольних спостереженнях ( $p < 0,05$ ).

Через 15 днів після введення пілокарпіну всі тварини контрольної групи знаходили їжу в променях лабіринту з першої спроби. Величина досліджуваного показника у щурів без розвитку спонтанних судом склала  $4,6 \pm 0,4$ , що не розрізнялося істотно з аналогічними показниками в контрольних спостереженнях. Щури, у яких введення пілокарпіну сприяло розвитку спонтанних судомних реакцій, їжу знаходили в середньому після  $13,7 \pm 1,2$  спроб, що в 13 разів перевищувало аналогічні контрольні результати ( $p < 0,05$ ).

Через 20 днів після введення конвульсантів величина досліджуваного показника не розрізнялася суттєво в групах щурів з введенням розчину 0,9 % NaCl і пілокарпіна (без розвитку спонтанних судом). Число спроб знаходження їжі в променях лабіринту щурами з розвиненими згодом пілокарпін-індукованими спонтанними судомами склало в середньому  $15,3 \pm 1,7$ , що мало істотні відмінності щодо аналогічних показників у контрольних спостереженнях ( $p < 0,05$ ).

Через 25 днів після введення пілокарпіну всі тварини контрольної групи знаходили їжу в променях лабіринту з першої спроби. Величина досліджуваного показника у щурів без розвитку спонтанних судом склала  $3,1 \pm 0,3$ , що не розрізняється в порівнянні з аналогічними показниками в контрольних спостереженнях. Щури, у яких введення пілокарпіну сприяло розвитку спонтанних судомних реакцій, їжу знаходили в середньому після

15,5±1,6 спроб, що в 15 разів перевищувало аналогічні контрольні результати ( $p<0,01$ ).

Динаміка змін досліджуваних величин у всіх групах тварин мала схожу спрямованість, що виразилося в тому, що через 45 днів після введення конвульсантів з першої спроби їжу знаходили тварини контрольної групи й ті щури, у яких введення пілокарпіну не викликало розвиток спонтанних судом (рис. 5.3). Щури, у яких було зазначено розвиток спонтанних судомних реакцій, демонстрували в середньому 17,3±1,7 спроб знаходження їжі, що істотно перевищувало аналогічні контрольні результати ( $p<0,01$ ). Таким чином, після введення пілокарпіну у щурів, у яких з часом розвинулися СС, спостерігалось погіршення формування умовного рефлексу

#### 5.5.2 Дослідження збереження умовного рефлексу

Для даних досліджень використовували тварин з раніше виробленим харчовим умовним рефлексом в тесті 8-променевого радіального піднятого лабіринту. У цих умовах тваринам вводили пілокарпін (380 мг/кг, в/очер).

Через 1 день після ін'єкції конвульсантів щури контрольної групи й ті тварини, у яких згодом не відзначали розвиток спонтанних судомних реакцій, знаходили їжу з першої спроби. Щури, у яких введення пілокарпіну сприяло надалі розвитку спонтанних судом, знаходили їжу в променях лабіринту, використовуючи в середньому 5 спроб, що істотно розрізнялось від аналогічних результатів у контрольних спостереженнях ( $p<0,05$ ; рис. 5.4).

Через 5 днів після введення пілокарпіну всі щури контрольної групи і більшість щурів, у яких введення пілокарпіну не сприяло розвитку спонтанних судом, знаходили харчові кульки в променях лабіринту з першої спроби. Досліджувані показники в цих групах тварин не розрізнялися істотно (рис. 5.4).

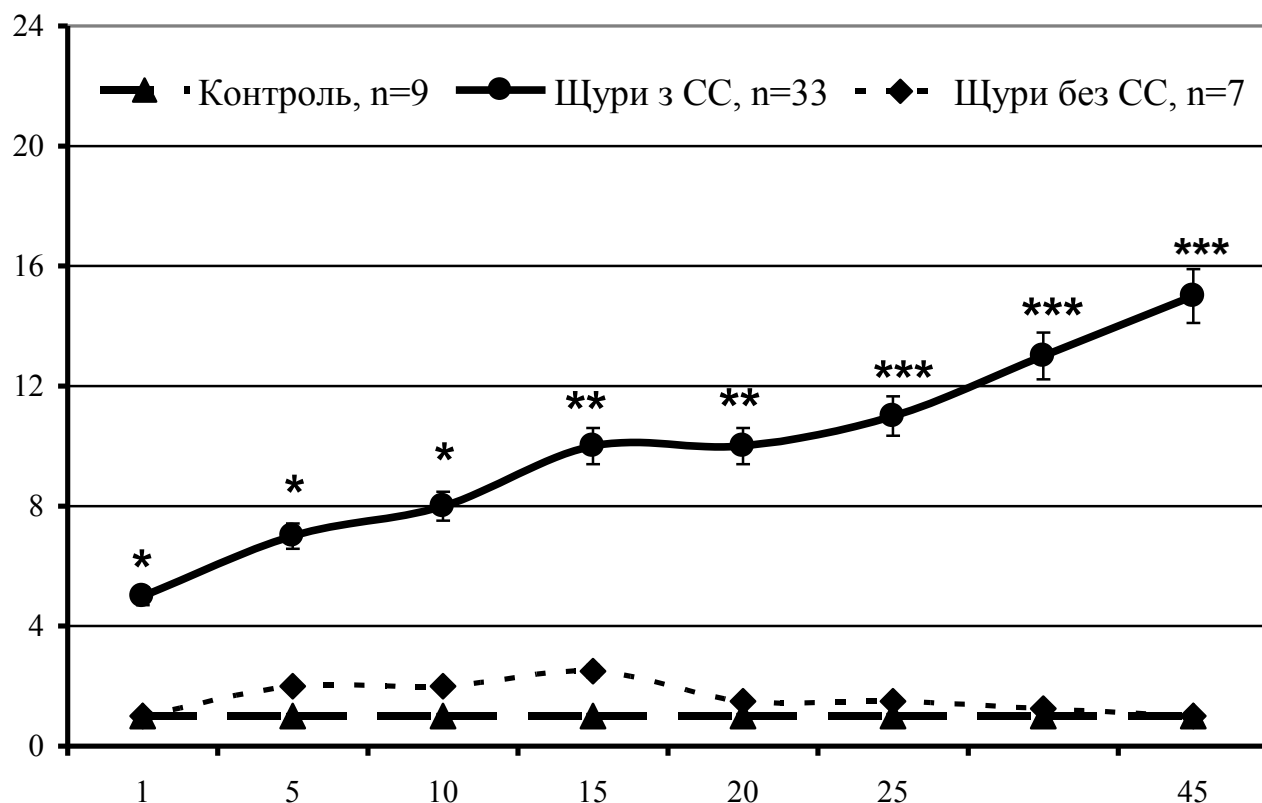


Рис. 5.4 Динаміка збереження умовного рефлексу в тесті з використанням 8-променевого радіального лабіринту у щурів в динаміці розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Позначення - такі ж, як і на рис. 5.3

Примітки: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$  - достовірні відмінності досліджуваних показників у порівнянні з аналогічними початковими даними у щурів (статистичний критерій ANOVA + Newmann - Keuls).

Величина досліджуваного показника у щурів, у яких введення пілокарпіну сприяло розвитку спонтанних судомних реакцій, склала в середньому  $7,2 \pm 0,6$  спроб, що в 7 разів перевищувало відповідні контрольні показники ( $p < 0,05$ ).

Через 10 днів після введення пілокарпіна величина досліджуваного показника не розрізнялася суттєво в групах щурів з введенням фізіологічного розчину і пілокарпіна (без розвитку спонтанних судом). Число спроб знаходження їжі в променях лабіринту щурами з розвиненими згодом

спонтанними судомами склало в середньому  $8,1 \pm 0,7$ , що відрізнялося порівняно з аналогічними даними в контрольних спостереженнях ( $p < 0,05$ ).

Через 15 днів після введення пілокарпіну всі тварини контрольної групи знаходили їжу в променях лабіринту з першої спроби. Величина досліджуваного показника у щурів без розвитку спонтанних судом склала  $1,9 \pm 0,3$ , що не розрізняє істотно з аналогічними показниками в контрольних спостереженнях. Щури, у яких введення пілокарпіну сприяло розвитку спонтанних судомних реакцій, їжу знаходили в середньому після  $10,2 \pm 1,1$  спроб, що в 10 разів перевищувало аналогічні контрольні результати ( $p < 0,01$ ).

Через 20 днів після введення конвульсантів величина досліджуваного показника не розрізнялася суттєво в групах щурів з введенням розчину 0,9 % NaCl і пілокарпіну (без розвитку спонтанних судом). Число спроб знаходження їжі в променях лабіринту щурами з розвиненими згодом пілокарпін-індукованими спонтанними судомами склало в середньому  $10,6 \pm 1,1$ , що мало істотні відмінності в порівнянні з аналогічними показниками в контрольних спостереженнях ( $p < 0,01$ ; рис. 5.4).

Через 25 днів після введення пілокарпіну всі тварини контрольної групи і щури без розвитку спонтанних судом знаходили їжу в променях лабіринту з першої спроби. Щури, у яких введення пілокарпіну сприяло розвитку спонтанних судомних реакцій, їжу знаходили в середньому після  $11,2 \pm 1,1$  спроб, що в 11 разів перевищувало аналогічні контрольні результати ( $p < 0,001$ ).

Динаміка змін досліджуваних величин у всіх групах тварин мала схожу спрямованість і надалі, що виразилося в тому, що через 45 днів після введення конвульсантів з першої спроби їжу знаходили тварини контрольної групи й ті щури, у яких введення пілокарпіну не викликало розвиток спонтанних судом. Щури зі спонтанними судомними реакціями демонстрували в середньому  $15,2 \pm 1,5$  спроб знаходження їжі, що істотно перевищувало аналогічні контрольні дані ( $p < 0,001$ ; рис. 5.4). Таким чином, після введення пілокарпіну у щурів, у яких з часом розвинулися СС, відзначається неможливість збереження умовного рефлексу.

### 5.5.3 Дослідження опору згасання умовного рефлексу.

У дослідах з тваринами у яких раніше вироблений харчовий умовний рефлекс в тесті 8-променевого радіального лабіринту не давали харчове підкріплення і досліджували динаміку мнестичних функцій при формуванні відтермінованих пілокарпін-індукованих спонтанних судомних реакцій. Результати заключної серії експериментів подані на рисунку 5.5.

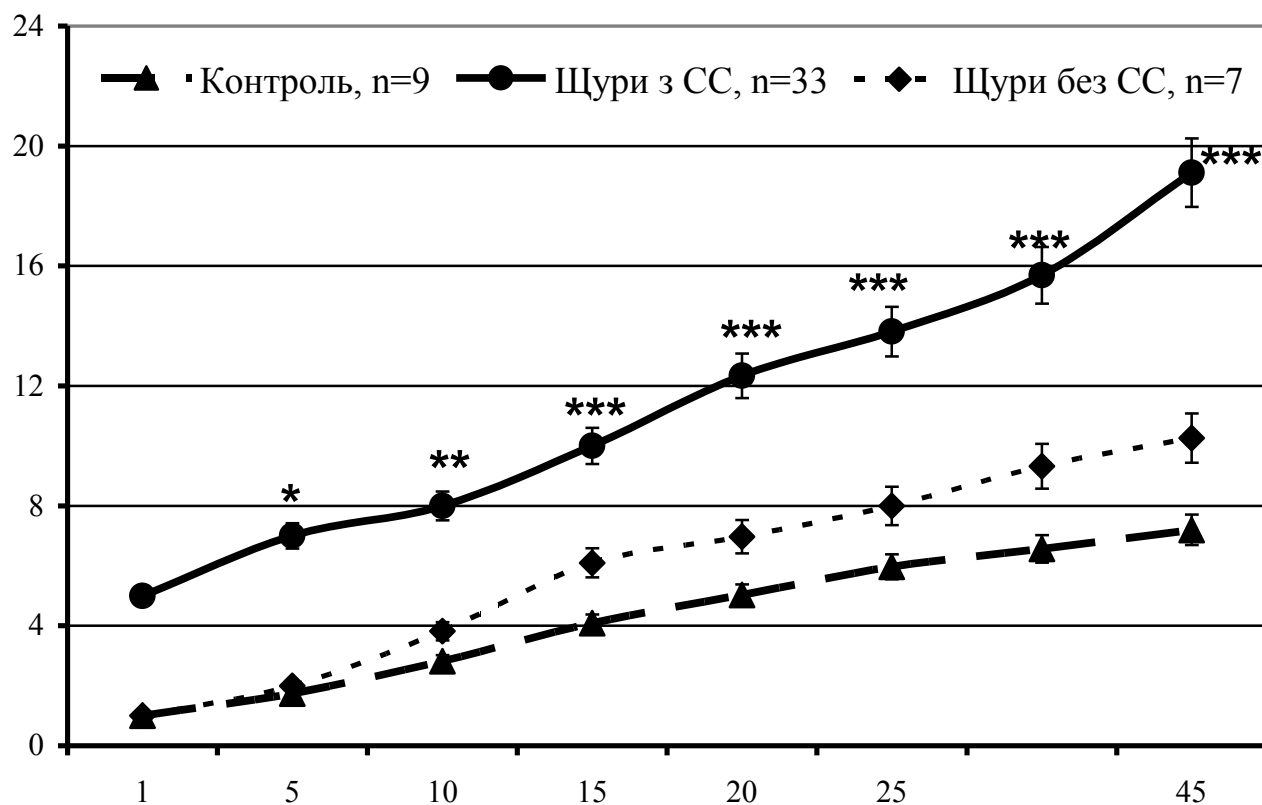


Рис. 5.5 Динаміка згасання умовного рефлексу в тесті з використанням 8-променевого радіального лабіринту у щурів в динаміці розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Позначення - такі ж, як і на рис. 5.3

Примітки: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$  - достовірні відмінності досліджуваних показників у порівнянні з аналогічними початковими даними у щурів (статистичний критерій ANOVA + Newmann - Keuls).



Через 1 день після введення пілокарпіну щури контрольної групи й ті тварини, у яких згодом не відзначали розвиток спонтанних судомних реакцій, за відсутності харчових кульок по виробленому раніше навику заходили тільки в один промінь лабіринту. Тварини, у яких введення пілокарпіну сприяло надалі розвитку спонтанних судом, в аналогічних умовах заходили в 5 різних променів лабіринту, що не мало суттєвої статистичної різниці ( $p > 0,05$ ).

Через 5 днів після введення пілокарпіну всі щури контрольної групи і ті тварини, у яких введення пілокарпіну не сприяло розвитку спонтанних судом, при відсутності харчового підкріплення робили в середньому 2-3 спроби знаходження їжі в променях лабіринту. Досліджувані показники в цих групах тварин не розрізнялися суттєво. Величина досліджуваного показника у щурів, у яких введення пілокарпіну сприяло розвитку спонтанних судомних реакцій, склала в середньому  $7,0 \pm 0,7$  спроб, що в 3,2 рази перевищило аналогічні контрольні показники ( $p < 0,05$ ; рис. 5.5).

Через 10 днів після введення пілокарпіна величина досліджуваного показника не розрізнялася суттєво в групах щурів з введенням фізіологічного розчину і пілокарпіна (без розвитку спонтанних судом) –  $4,0 \pm 0,3$  і  $3,3 \pm 0,4$ , відповідно. Число спроб знаходження їжі в променях лабіринту щурами з розвиненими згодом спонтанними судомами склало в середньому  $8,0 \pm 0,7$  що відрізнялося порівняно з аналогічними даними в контрольних спостереженнях ( $p < 0,01$ ).

Через 15 днів після введення пілокарпіну всі тварини контрольної групи здійснювали в середньому 4 спроби знайти їжу в променях лабіринту. Величина досліджуваного показника у щурів без розвитку спонтанних судом склала  $6,4 \pm 0,5$ , що ні відрізнялося істотно з аналогічними показниками в контрольних спостереженнях. Щури, у яких введення пілокарпіну сприяло розвитку спонтанних судомних реакцій, здійснювали в середньому 10 спроб, що в 2,5 рази перевищувало аналогічні контрольні результати ( $p < 0,001$ ).

Через 20 днів після введення конвульсантів величина досліджуваного показника не розрізнялася суттєво в групах щурів з введенням розчином 0,9 %

NaCl і пілокарпіном (без розвитку спонтанних судом). Число спроб знаходження їжі в променях лабіринту щурами з розвиненими згодом пілокарпін-індукованими спонтанними судомами склало в середньому  $12,1 \pm 1,3$ , що в 2,4 рази перевищувало аналогічні показники в контрольних спостереженнях ( $p < 0,001$ ; рис. 5.5).

Надалі динаміка змін досліджуваних величин у всіх групах тварин мала схожу спрямованість, що виразилося в тому, що через 45 днів після введення конвульсантів тварини контрольної групи здійснювали в середньому  $7,2 \pm 0,6$  спроб знаходження їжі. Аналогічний показник у щурів, у яких введення пілокарпіну не викликало розвиток спонтанних судом, дорівнював  $10,5 \pm 1,1$  ( $p > 0,05$  у порівнянні з контрольними показниками). Щури зі спонтанними судомними реакціями демонстрували в середньому  $19,6 \pm 1,7$  спроб знаходження їжі, що істотно перевищувало аналогічні контрольні дані ( $p < 0,001$ ; рис. 5.5). Таким чином, після введення пілокарпіну відзначалися виражені когнітивні порушення, які виявлялися більш швидким згасанням умовного рефлексу.

**Висновки розділу.** У щурів після введення пілокарпіну (380 мг/кг, в/очер) відзначається порушення моторної активності в тесті "відкрите поле", емоційної поведінки в тесті з 8-променевим радіальним лабіринтом і виражені когнітивні порушення, які реєструються при формуванні та гальмуванні харчового умовного рефлексу в тесті 8-променевого радіального лабіринта.

Порушення рухової активності і компонентів стереотипної поведінки в тесті «відкрите поле» характеризується поступовим, протягом 25 днів після введення конвульсантів, зниженням показників горизонтальної та вертикальної рухової активності, редукцією дослідницької поведінки, а також посиленням вираженості стереотипної поведінки - епізодів грумінгу та кількості дефекацій. Найбільша вираженість змін рухової активності і компонентів стереотипної поведінки в тесті «відкрите поле» відзначається протягом перших 10 днів після введення пілокарпіну.

У тесті 8-променевого радіального лабіринту у щурів після введення пілокарпіну відзначається прогресивне зниження вираженості дослідницької

поведінки. В аналогічних умовах при спробі взяття щурів рукою тварини демонструють посилення вираженості агресивної поведінки. Все вищевідзначене свідчить про формування у щурів гіперемоційності поведінки. Весь комплекс виявлених порушень поведінки в тесті з 8-променевим радіальним лабіринтом свідчить про формування у щурів анксіолітичної поведінки.

Відсутність змін порогу больової чутливості у щурів після введення пілокарпіну свідчить про специфічність зареєстрованих порушень моторної, дослідницької та емоційної поведінки тварин в модельних умовах, що пов'язано з виявленим раніше поразненням структур гіпокампу.

Когнітивні дисфункції у тварин виявлялися у вигляді погіршення формування умовного рефлексу, неможливості його збереження, а також у вигляді більш швидкого його згасання - відсутність опору при гальмуванні умовного рефлексу при відсутності умовного підкріплення.

Вищевідзначені порушення деяких типів поведінки і мнестичні дисфункції були виявлені тільки у тих щурів, у яких згодом розвивалися пілокарпін-викликані спонтанні судоми, і, навпаки, були відсутні у тварин, у яких введення конвульсантів не сприяло розвитку спонтанних судомних реакцій.

Вищевідзначені порушення деяких типів поведінки передували розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судомних реакцій, що, поряд з фактом їх відсутності у тварин без подальших спонтанних судом, дозволяє трактувати наявність даних порушень поведінки в якості характеристики так званого латентного періоду, який передує розвитку спонтанних судом.

Розвиток пілокарпін-викликаних спонтанних судом не припинив формування когнітивних порушень, а посилює їх вираженість, оскільки у щурів з уже сформованими спонтанними судомними реакціями вираженість мнестичних дисфункцій посилювалася.

Розвиток когнітивних дисфункцій є однією з характерних особливостей пілокарпін-індукованих спонтанних судом, причому виразність їх порушення

прогресувала в міру збільшення часу після введення конвульсантів, досягаючи максимуму під час розвитку безпосередніх спонтанних судомних реакцій.

Виявлені когнітивні порушення в умовах розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судомних реакцій, додатково к показаним раніше електрографічним і поведінковим порушенням, свідчать про адекватність використовуваної моделі відповідному клінічному стану, що дозволяє рекомендувати її використання при фундаментальних дослідженнях, присвячених з'ясуванню патофізіологічних механізмів розвитку спонтанної судомної активності і розробки методів її комплексної патогенетичної корекції.

Вважаємо, що патофізіологічні механізми порушень деяких типів поведінки і формування спонтанних судомних реакцій, є односпрямованими і схожими.

Результати даної частини досліджень представляються експериментальним обґрунтуванням доцільності клінічної діагностики можливості розвитку спонтанних судом у пацієнтів при виявленні порушень моторної, дослідницької, емоційної та інших типів поведінки.

Беручи до уваги нейропатоморфологічні зміни підкіркових структур мозку (в тому числі і утворень лімбічної системи) і кори мозку тварин в умовах пілокарпін-викликаного хронічного судомного синдрому, можливо, що тривалі порушення короткочасної і довготривалої пам'яті щурів в наших модельних умовах є наслідком індукованої конвульсантами загибелі нейронів структур лімбічної системи, які мають ключове значення в забезпеченні мнестичних функцій.

За матеріалами даного розділу були опубліковані наступні роботи:

1. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Особливості емоційної поведінки щурів в динаміці розвитку пілокарпін-спричинених спонтанних судом. *Український медичний альманах*. 2009. Т. 12, № 1. С. 28–33. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, аналіз та статистична обробка результатів, оформлення статті до друку*

2. Копйова Н. В. Динаміка формування когнитивних дисфункцій як одна з характеристик моделі спонтанних судом за умов пілокарпін-спричиненої хронічної епілепсії. *Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2009. Т. 9, Вип. 2 (26). С. 62-66. (статті Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Питання експериментального використання лабораторних тварин у медицині, біології, ветеринарії», м. Полтава, 2009 р.)

3. Копйова Н. В. Дослідження рухової та емоційної поведінки щурів за умов пілокарпін-індукованої моделі спонтанних судом. *Український медичний альманах*. 2009. Т. 12, № 2, додаток. С. 102–104.

## АНАЛІЗ І ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Отримані результати різних серій експериментальних досліджень дозволили зробити деякі висновки щодо патофізіологічних механізмів відтермінованих спонтанних судом, індукованих агонистом холінергічних рецепторів пілокарпіном. Сформульовану мету роботи ми виконали, резюмуючи принципові дані і зіставляючи їх з опублікованими результатами експериментальних досліджень, присвячених з'ясуванню патогенетичних механізмів пілокарпін-викликаних спонтанних судом.

Можливість контролю над епілептичними нападами досягається лише у 60,0 % хворих на епілепсію, ще у 10,0-20,0 % можна отримати позитивний результат при наявності побічних ефектів [267, 268]. Кількість резистентних до лікування спостережень досягає 40,0 %, і близько 20,0 % дітей хворих на епілепсію стають інвалідами і втрачають здатність до навчання внаслідок частих важких випадків і виражених порушень когнітивних функцій. І це незважаючи на впровадження в практику більше десятка нових потужних антиепілептичних препаратів і сучасну технологію їх застосування, яка допускає призначення субтоксичних доз препарату в надії отримати ремісію випадків або стабілізацію процесу. Конгрес поставив під сумнів необхідність синтезу нових протисудомних засобів, метою став пошук нових напрямків у боротьбі з епілепсією [270].

Одним з таких напрямків є подальше дослідження механізмів розвитку хронічного судомного синдрому. Нашу увагу привернули відтерміновані судоми при ПЛ-викликаному епілептичному статусі, який є найбільш загрозливим клінічним станом серед численних ускладнень в умовах хронічної епілепсії [34, 35, 89; 271].

Пов'язана з ЕС смертність залишається досить значною [186, 272] і складає, за даними [273], 30,0-50,0 % всіх смертей при хронічній епілепсії. Встановлено, що навіть при сприятливому результаті ЕС, розвиток останнього супроводжується органічним ушкодженням нейрональних утворень і структур

мозку, що сприяє подальшій хронізації процесу та формуванню стійких рухових і психічних розладів [273-276].

Показано, що повторні спонтані судомні напади є однією з найбільш несприятливих особливостей хронічної епілепсії, в тому числі і ЕС.

Саме стадія відтермінованих спонтанних судом і привернула нашу увагу через малу представленість даних про її дослідження в науковій літературі, а також з причини малої вивченості патофізіологічних механізмів даного типу хронічних судом. Зазначений хронічний (або відтермінований) період хронічного епілептогенеза є, крім усього вищевідзначеного, найцікавішим з клінічної та фундаментальної точок зору. Для успішного вирішення поставленої мети слід, перш за все, визначитися з вибором адекватної моделі хронічної ЕпА.

Для проведення експериментальних досліджень з вивчення патофізіологічних механізмів хронічного епілептогенеза та удосконалення методів його патогенетичного лікування загально визнаними вважаються модель кіндлінга і пост-статусні моделі. З використанням названих моделей можна досліджувати патофізіологічні механізми спонтанних судом, зміни збудливості нейронів підкіркових структур і кори великих півкуль, а також особливості взаємодії структур мозку при цьому [77, 277].

Пілокарпінова модель ЕС ефективна, оскільки судоми виникають у 83,3 % щурів. З урахуванням цього, вона має велике фундаментальне та клінічне значення, що знайшло своє підтвердження в багатьох роботах.

Показано, наприклад, що інтраамігдалярне [120, 135] або системне [161] введення різних М-холінолітичних препаратів (карбахолін, ареколін, бетанекол) призводить до появи тривалих судом, що поєднуються з великим ушкодженням структур переднього мозку. Вирішальним механізмом індукції судом в умовах ЕС, що викликається пілокарпіном, є зв'язування препарату з рецепторами постсинаптичних мембран. Джерелом епілептогенеза при цьому стає гіперзбудливість зубчастої звивини гіпокампа. На думку багатьох дослідників,

інтерес викликає не стільки сама модель ЕС, скільки «пост-ЕС модель скронево-часткової епілепсії» [278].

Модель пілокарпін-індукованих судом у щурів, являє собою модель парціальних форм епілептичного синдрому з подальшою вторинною генералізацією, ЕС, розвитком спонтанних судом, є адекватною для дослідження патофізіологічних механізмів розвитку та припинення ЕпА [89].

Актуальним питанням сьогодні є вивчення процесів, що відбуваються в мозку тварин під час латентної (перехідної) фази хронічної ЕпА після припинення гострих судомних нападів і до моменту ініціації спонтанних конвульсій. Розуміння цих процесів наблизить нас до вивчення патофізіологічних механізмів відтермінованих судом і дозволить розробити експериментально обґрунтовані методи патогенетичної корекції даного патологічного стану.

У дослідженнях, проведених в лабораторії кафедри фізіології співробітниками під керівництвом професора Шандри О.А., була досліджена патофізіологічна роль холінергічних механізмів у розвитку судомної активності та зміну поведінки тварин в умовах гострої стадії пілокарпін-викликаного хронічного судомного синдрому. Встановлено, що початкова стадія пілокарпін-викликаного хронічного судомного синдрому електрографічно характеризується переважною гіперстимуляцією вентрального гіпокампу та фронтальної кори [68, 122].

На великій кількості експериментальних спостережень автори переконливо показали, що інтеріктальний період пілокарпін-викликаного хронічного ЕпА характеризується появою деяких особливих форм поведінки, рухової активності, стереотипної, агресивно-оборонної поведінки, поведінки під час плавання і позно-тонічного постприступного синдрому [68]

На підставі проведеного початкового вивчення наявних даних літератури про стан проблеми ми прийшли до висновку, що модель ЕС, яка викликається за допомогою пілокарпіну, характеризується, крім виникнення гострих судом, ще й стадією відтермінованих спонтанних судом, які спостерігаються в



середньому через 20-44 днів після введення конвульсантів. Дана модель ЕС, так само як і моделі ЕС, викликані введенням каїновою кислоти, пікротоксину, електричними стимуляціями, є експериментальним відображенням скроневої епілепсії у людини і включає в себе ряд фізіологічних, морфологічних і біохімічних порушень в лімбічній системі мозку [261, 262].

Для успішного вирішення поставлених завдань та досягнення мети нашої дисертаційної роботи необхідно було визначитися з адекватною моделлю ЕпА, в умовах якої можливо було спостерігати спонтанні (відтерміновані) судоми і яка відповідала основним клінічним формам захворювання і особливо хронічною її течією.

Експериментальною моделлю, яка відтворює хронічний судомний синдром з можливістю формування спонтанних судом, є пілокарпінова модель хронічної ЕпА.

Пілокарпін при системному введенні викликає послідовні поведінкові і електрографічні зміни, які можуть бути розділені на три періоди [69, 117. 84, 140; 200]:

- 1) гострий період ЕС, який може тривати до 24 год;
- 2) латентний період з прогресивною нормалізацією ЕЕГ і поведінки, який триває в межах від 4 до 25 днів;
- 3) хронічний період зі спонтанними судомами 3-5 разів на тиждень (вони нагадують комплексні парціальні судоми у людей).

Отже, ми звернули увагу на те, що ПЛ модель хронічних судом має виражену стадійність. Початкові її стадії є експериментальною моделлю скроневої епілепсії, найважливішим патофізіологічним механізмом якої є гіперстимуляція гіпокампу з подальшим надмірним поширенням епілептиформної активності. Додатково до цього, ПЛ безпосередньо гальмує активність ГАМК-ергічної системи гіпокампу, знижуючи до мінімуму вивільнення ГАМК [280]. В умовах блокування активності ГАМКА системи відзначається гіперзбудливість різних ділянок мозку яка сприяє розвитку ЕС. Практично у всіх експериментальних моделях скроневої епілепсії

гіперзбудливість гіпокампу є наслідком блокади ГАМК<sub>A</sub>-обумовленого гальмування [175], що було підтверджено на зрізах гіпокампу мозку людей на аутопсії [179].

Менше уваги приділялося вивченню хронічної стадії ПЛ-викликаного ЕС, яка характеризується виникненням СС. На це звертають увагу автори, які відзначають недостатню протисудомну ефективність новітніх протисудомних препаратів [200, 181]. Дана стадія досліджуваної моделі є важливою в аспекті дослідження її патофізіологічних механізмів, що зможе дати відповідь про морфологічні субстрати подальшого поширення ЕпА в мозку, можливості тестувати ефекти протисудомних препаратів в даному часовому відрізку судомного синдрому. Це зможе вплинути на розробку нових експериментальних схем корекції даного патологічного стану. Особливо слід відзначити важливість дослідження поведінкових і електрографічних корелятив даної стадії ПЛ-викликаного ЕС

Завданням наших початкових серій досліджень стало дослідження патофізіологічних механізмів формування спотанних судом у відтермінованому періоді пілокарпін-викликаного ЕС, а також часові та електрофізіологічні особливості досліджуваної моделі хронічної епілепсії.

Відзначаємо також відносно високі показники летальності в умовах використаної моделі, що відповідає таким даним інших авторів і підтверджує клінічну відповідність даної моделі такому патологічному стану у людей.

Через 70-90 хвилин після введення пілокарпіну у щурів відзначаються гострі судоми, внаслідок яких гине 16,0 % тварин, а через 20-25 днів розвиваються спонтанні судомні реакції. Проведений аналіз виявив пряму залежність частоти розвитку спотанних судом у щурів від тривалості гострих пілокарпін-викликаних судом.

Отримані нами дані, проте, трохи різняться з даними [117], на думку яких, перші спонтанні судоми у щурів і мишей, які вижили після ЕС, зазвичай з'являлися протягом 5-10 днів після ЕС. Однак, швидше за все, подібні тимчасові відмінності у виникненні спотанних відтермінованих судом можуть

бути пов'язані з різним дозуванням ПЛ та різними видами експериментальних тварин.

При дослідженні поведінки щурів в стадії хронічних спонтанних судом показано, що незважаючи на залучення в судомний процес всього мозку, щури демонстрували помірно активну поведінку - жування, рухову активність, здатність реагувати на тактильні й акустичні стимули. Це контрастує з їх поведінкою під час початкової, гострої стадії ЕС, коли у тварин переважно відзначаються постійні клонуси м'язів шиї та кінцівок. Очевидно, висока частота генерування кіркових потенціалів в хронічній стадії ПЛ-викликаного ЕС не дозволяє сформувати нормальну рухову відповідь структурам довгастого і спинного мозку, однак, робить можливим генерацію локальних рефлексів. Це підтверджує той факт, що більш повільна електрографічна активність мозку щурів під час початкової стадії ПЛ-викликаного ЕС позитивно корелює зі зростанням тяжкості судом, збільшенням амплітуди м'язових скорочень і втратою рефлекторної активності.

При аналізі результатів, отриманих при ЕЕГ-реєстрації, видно, що у більшості щурів вентральний гіпокамп є першою структурою мозку, в якій посилюється активність при ініціації спонтанних відтермінованих судом. Примітно, що в досліджах з використанням 2-діоксіглюкози під час хронічної стадії ПЛ-викликаного ЕС було показано значне зниження метаболізму практично всіх структур головного мозку щурі, що свідчило про їх виключення з числа можливих кандидатів у структури, відповідальні за генерацію спонтанних судом. При цьому незначний рівень метаболізму зберігався в ростральній ольфакторній зоні кори великих півкуль, в базолатеральному і центромедіальному ядрах мигдалини, в каудальній частині неокортексу, в латеральному, латерально-задньому і латерально-колінчастому ядрах таламуса. Однак, у самому заключному відрізку часу ПЛ-викликаного ЕС була виявлена тільки одна структура зі збереженим метаболізмом, яка корелювала з даними ЕЕГ - амонію ріг гіпокампу.

Цікаво, що найбільше зростання тривалості післярозрядів зазначалося в зубчастій звивині гіпокампу протягом «над-кіндлінга». В умовах моделі хімічного кіндлінга також було показано, що найбільш виражене наростання потужності ЕпА зазначалося в гіпокампі. У цьому плані істотний інтерес представляють результати досліджень про те, що незалежно від того, яка структура лімбічної системи (мигдалина, перегородка, дорзальний або вентральний гіпокамп) піддавалися багаторазової електростимуляції, епілептиформні розряди післядії спочатку генерувалися в гіпокампі і були в ньому найбільш вираженими [281, 284]. Автор робить висновок про те, що структури лімбічної системи можуть функціонувати як «системне епілептогенне вогнище» з певною диференціацією структур на «генератори» та «синхронізатори» ЕпА. Роль останнього, на думку автора, може грати гіпокамп, що володіє здатністю до синхронізації активності. Ці та інші дані свідчать про те, що повторні судомні розряди в гіпокампі індукують залучення мигдалини та інших синаптичних пов'язаних з гіпокампом утворень лімбічної системи в генерації «вторинних» післярозрядів, формуванню Еп, які обумовлюють прогресивне збільшення тривалості післярозрядів протягом процедури «над-кіндлінга»[284].

Заслуговують на увагу дані про те, що у тварин зі ССА зазначалося парадоксальне істотно більше зростання порога судомних післярозрядів, що спостерігається в кінці експериментальних спостережень, у порівнянні з такими у тварин без ССА. Логічно було б швидше очікувати, поряд зі зростанням тривалості і потужності ЕпА, зниження судомних порогів. Той факт, що збільшення судомного порога було великим у тварин зі ССА, можливо, свідчить про одночасну стимуляцію механізмів АЕС під впливом активності ЕпС, генеруючею спонтанну ЕпА

Велика вираженість ЕЕГ-активності в мозку частини щурів структурами лобової кори під час ССА свідчить про необхідність подальшого дослідження механізмів залучення даних утворень в опосередкування хронічного ПЛ-викликаного судомного синдрому, а також про складності, неоднозначності

трактування та системності розвитку комплексу змін у мозку щурів в отсроченому періоді пілокарпінового ЕС.

Особливу EEG-картину під час стадії спонтанних судом, коли у деяких тварин потужність генеруємих потенціалів раптово знижувалася, а у більшості щурів EEG змінювалася і виявлялася спайковими потенціалами, можна пояснити даними Hadthforth A. (1995) про градації часу спонтанних судом на ранній період, період паузи з генеруванням спайкових потенціалів і пізній спонтанний період. З урахуванням цього, очевидно, у більшості щурів EEG записувалася протягом періоду паузи або пізнього періоду під час спонтанних судом [282, 285].

Зареєстрований нами характер EEG змін при спонтанних судамах у щурів характеризувався чергуванням в EEG під час спонтанних судом епізодів зі спайковими потенціалами і епізодів з низкоамплитудною активністю.

Таким чином, у щурів після введення ПЛ відзначаються стадійні поведінкові, біохімічні та EEG-зміни, внаслідок яких в середньому через 20-25 днів формуються відтерміновані спонтані судами. Як правило, їх виникненню передують гострі судами, які мають більш виражену інтенсивність і різні поведінкові та електрографічні критерії. Простежується тенденція прямої залежності кількості епізодів спонтанних судом від тривалості стадії гострих судомних реакцій в умовах використовуваної моделі ЕС.

ПЛ-викликані спонтані судами являють собою модель резистентної хронічної епілепсії [248] і є менш вивченими в порівнянні з гострими судомними реакціями. Подальше дослідження патофізіологічних механізмів хронічної стадії ПЛ-викликаного ЕС дозволить експериментально обґрунтувати методи фармакологічної корекції даного стану.

З фундаментальної точки зору модель відтермінованих СС цікава тим, що у людей з хронічною епілепсією часто відзначаються порушення поведінки - епізоди підвищеної збудливості, агресивності, депресивні стани та ін. [236]. Після введення агоніста холінергічних рецепторів пілокарпіну, крім гострих судомних порушень і розвитку хронічного епілептичного синдрому, у тварин

спостерігається розвиток порушень різних типів поведінки [261]. Іноді подібного роду порушення поведінки, які практично ніколи не діагностуються фахівцями, є єдиними попередниками гострих судомних станів, що підкреслює важливість вивчення зазначеного розділу в епілептології.

Показано, що саме поведінкові порушення, їх різновид, є єдиною клінічною ознакою, що дозволяє виявити швидкий розвиток спонтанних судом, що значно ускладнює діагностику хронічного судомного синдрому. Враховуючи малу вивченість порушень моторної активності, а також емоційної поведінки при пілокарпін-викликаних судомних реакціях, які є важливими клінічними коррелятами скронево-часткової епілепсії [264], метою наступних серій експериментальних спостережень в рамках виконання цієї дисертаційної роботи було вивчення рухової активності щурів в тесті «відкрите поле» та емоційної поведінки в динаміці формування пілокарпін-викликаних спонтанних судом.

Дані дослідження мали деякі методичні особливості, які полягали в тому, що протягом часу з моменту введення пілокарпіну ми не знали заздалегідь, у яких саме щурів спонтанні судоми розвинулися, а в яких самовільні судомні реакції будуть відсутні. З урахуванням цього ми моніторували динаміку змін моторної активності та емоційної поведінки у всіх щурів через 1, 5, 10, 15, 20 і 25 днів після одноразової ін'єкції конвульсантів - цей часовий інтервал достатній для початку формування спонтанних судомних реакцій активності.

У наших дослідженнях було підтверджено факт розвитку СС у щурів через 20-25 днів після введення ПЛ. В динаміці формування СС у тварин відзначалася редукція рухової активності і відсутність дослідної поведінки в тесті «відкрите поле», стимуляція емоційної поведінки.

Порушення рухової активності і компонентів стереотипної поведінки в тесті «відкрите поле» характеризується поступовим, протягом 25 днів після введення конвульсантів, зниженням показників горизонтальної та вертикальної рухової активності, редукцією дослідницької поведінки, а також посиленням вираженості стереотипної поведінки - епізодів грумінгу та кількості дефекацій.

Найбільша вираженість змін рухової активності і компонентів стереотипної поведінки в тесті «відкрите поле» відзначається протягом перших 10 днів після введення пілокарпіну.

З практичної точки зору привабливий факт зміни емоційної поведінки у щурів зі СС інтерес фахівців викликає питання, зникають або залишаються емоційні порушення у пацієнтів після припинення судомних реакцій? Різні погляди існують на вирішення питання щодо необхідності адекватної терапії емоційних розладів у пацієнтів при скронево -часткової епілепсії [236; 264].

Нами були вивчені особливості змін емоційної поведінки в динаміці розвитку СС при їх індукції пілокарпіном. Для визначення переважання агресивного або захисного типів дослідженої поведінки були з'ясовані особливості емоційної поведінки щурів при відтворенні конфліктних ситуацій. Показано, що в умовах ПЛ-викликаного хронічного епілептогенеза у щурів, у яких розвиваються СС, зростає опір спробам взяття в руки і повністю зникає дослідницька активність в тесті з 8-радіальним лабіринтом.

Весь комплекс виявлених порушень поведінки в тесті з 8-променевим радіальним піднесеним лабіринтом свідчить про формування у щурів анксиолитичної поведінки. Так, через 1 день з моменту введення ПЛ щури демонстрували посилення орієнтовно-дослідної поведінки, однак, через 25 днів така поведінка в лабіринті практично не було виражена. При цьому вираженість досліджуваного типу поведінки в контрольних спостереженнях, а також у щурів з введенням ПЛ, у яких СС не розвивалися, була досить високою в цих модельних умовах. З урахуванням цього зниження вираженості анксиолитическої поведінки щурів в радіальному піднятому лабіринті протягом 25 днів досліду можна пояснити тим, що наростання почуття страху протягом формування ПЛ-індукованого хронічного епілептичного синдрому та розвитку спонтанних судом підсилює процес пасивного уникнення в цих умовах. При цьому спостерігається порушення діяльності структур гіпокампу. Мабуть,, саме цим пояснюється різке зниження вираженості орієнтовно-дослідної поведінки

щурів в тесті радіального піднятого лабіринту протягом усього часу спостереження.

Наші пояснення зареєстрованої поведінки щурів відповідають припущенням, згідно з яким поступове наростання почуття страху в умовах формування хронічного епілептичного синдрому змушує щурів шукати притулку в одному з променів (рукавів) лабіринту, однак, вираженість страху в цих умовах ще недостатня для того, щоб тварина вистрибнула з відкритого променя лабіринту. Враховуючи мінімальне число епізодів вистрибування щурів з променів лабіринту під час проведення дослідів, можна припустити, що рівень почуття страху у тварин у міру розвитку ПЛ-викликаних спонтанних судом не є критичним для ініціації ризикованої поведінки і формування суїцидального типу поведінки. Подібні дані - розвиток емоційних порушень і формування почуття страху і нічних кошмарів - відзначаються в клінічних умовах у хворих скронево-часткової епілепсією [236, 243, 264], а також у щурів при гіперстимуляція мигдалини [286].

Виявлено, що розвиток СС характеризується певною динамікою емоційної поведінки, спрямованої на посилення почуття страху, що співвідноситься з аналогічним у кіндлінгових щурів [239].

Відсутність змін порогу больової чутливості у щурів після введення пілокарпіну свідчить про специфічність зареєстрованих порушень моторної, дослідницької та емоційної поведінки тварин в модельних умовах.

При ретроспективному аналізі поведінки тварин встановлено, що зазначені зміни поведінки відзначалися тільки у тих щурів, у яких відзначалися СС, отже, зареєстровані зміни поведінки є специфічними в аспекті подальшого розвитку хронічних СС, і докладне дослідження їх патофізіологічних механізмів сприятиме вивченню патогенезу хронічного судомного синдрому.

Вищевідзначені порушення деяких типів поведінки передували розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судомних реакцій, що, поряд з фактом їх відсутності у тварин без подальших спонтанних судом, дозволяє трактувати



наявність даних порушень поведінки в якості характеристики так званого латентного періоду, який передує розвитку спонтанних судом.

Очевидно, патофізіологічні механізми порушень деяких типів поведінки і формування спонтанних судомних реакцій, є односпрямованими і схожими.

Отримані нами результати є експериментальним обґрунтуванням доцільності клінічної діагностики можливості розвитку спонтанних судом у пацієнтів при виявленні порушень моторної, дослідницької, емоційної та інших типів поведінки.

В умовах досліджуваної моделі ЕпА була досліджена динаміка формування когнітивних дисфункцій як однією з особливостей дослідженої моделі хронічного судомного синдрому.

Дослідженню порушень поведінки, когнітивних порушень та інших особливостей [200] моделі пілокарпін-викликаних спонтанних відтермінованих судом приділяється недостатня увага. Зазначені дані мають важливе значення в дослідженні патофізіологічних механізмів досліджуваної моделі хронічної епілепсії, а також в оцінці ефективності комплексної патогенетичної терапії даної патології. Відомо, що якість життя людей з хронічним судомним синдромом, крім маніфестації судомних і відповідних поведінкових порушень, залежить також від вираженості дисфункції когнітивних функцій [236; 264].

Крім суто клінічного значення, оскільки часто при несудомних формах хронічного судомного синдрому при відсутності грубої осередкової неврологічної симптоматики тільки мінімально виражені нейропсихологічні дисфункції визначають клінічний характер і перебіг захворювання, дана проблема має фундаментальну спрямованість. Останнє видається важливим в аспекті того, що досліджувана нами модель пілокарпін-викликаного хронічної епілепсії повинна бути адекватною на відповідні клінічні стани, а значить в її умовах у тварин повинні відтворюватися всі можливі порушення або певні дисфункції, які відзначаються в клінічній практиці у людей.

Для перевірки викладеного вище припущення ми провели серію експериментальних спостережень з ретроспективним аналізом когнітивних змін

у щурів в умовах моделі пілокарпін-індукованих спонтанних судом. З цією метою ми вивчали особливості процесів навчання, а також коротко- і довгострокову пам'ять у щурів в тесті 8-променевого радіального піднятого лабіринту. Для цього спочатку були вивчені особливості формування харчового умовного рефлексу, у другій серії досліджували збереження сформованого умовного рефлексу і опір згасання раніше сформованого умовного рефлексу в динаміці розвитку пікарпін-індукованих спонтанних судомних реакцій.

Отримані результати показують, що у щурів в динаміці формування пілокарпін-викликаних спонтанних судом відзначаються виражені когнітивні порушення, які реєструються при формуванні та гальмуванні харчового умовного рефлексу в тесті з 8-променевим радіальним лабіринтом.

Когнітивні дисфункції у тварин виявлялися у вигляді погіршення формування умовного рефлексу, неможливості його збереження, а також у вигляді більш швидкого його згасання - відсутність опору при гальмуванні умовного рефлексу при відсутності умовного підкріплення. Виявлені мнестичні дисфункції були характерними тільки у щурів з пілокарпін-викликаними спонтанними судомними реакціями. У щурів без судомних проявів подібні когнітивні порушення були відсутні. Подібне дозволяє припустити, що безпосередній розвиток ССА сприяє формуванню когнітивних дисфункцій, які істотно детермінують ступінь соціальної дезадаптації пацієнта в суспільстві при розвитку у нього хронічного судомного синдрому. Відомо, що порушення пам'яті були також показані в умовах гострих судом, викликаних ПЛ і літієм, однак, їх вираженість не була пов'язана з наступним розвитком СС [287].

Отримані нами результати відповідають даним досліджень [263] і [288], які з використанням водного лабіринту Морріса показали, що розвиток когнітивних порушень передують розвитку СС, а також те, що при цьому у щурів порушуються процеси просторової орієнтації. Наші дані відповідають також результатами досліджень, в яких з використанням 8-променевого радіального піднятого лабіринту також показано гостре порушення когнітивних функцій внаслідок введення ПЛ, однак, в наших умовах розвиток когнітивних

дисфункцій досліджувався протягом набагато більшого інтервалу часу, і ми виявили залежність ступеня їх вираженості від часу розвитку

Розвиток пілокарпін-викликаних спонтанних судом не припинив формування когнітивних порушень, а посилювало їх вираженість, оскільки у щурів з уже сформованими спонтанними судомними реакціями вираженість мнестичних дисфункцій посилювалася.

Розвиток когнітивних дисфункцій є однією з характерних особливостей пілокарпін-індукованих спонтанних судом, причому вираженість їх порушення прогресувала в міру збільшення часу після введення конвульсантів, досягаючи максимуму під час розвитку безпосередніх спонтанних судомних реакцій.

Беручи до уваги нейропатоморфологічні зміни підкіркових структур мозку (в тому числі і утворень лімбічної системи) і кори мозку тварин в умовах пілокарпін-викликаного хронічного судомного синдрому, можливо, що тривалі порушення короткочасної і довготривалої пам'яті щурів в наших модельних умовах є наслідком індукованої конвульсантами загибелі нейронів структур лімбічної системи, які мають ключове значення в забезпеченні мнестичних функцій.

Таким чином, виявлені когнітивні порушення в умовах розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судомних реакцій, додатково до показаним раніше електрографічних і поведінковим порушень, свідчать про патогенез епілепсії та адекватність використовуваної моделі відповідному клінічному стану, що дозволяє рекомендувати її використання при фундаментальних дослідженнях, присвячених з'ясуванню патофізіологічних механізмів розвитку спонтанної судомної активності і розробки методів її комплексної патогенетичної корекції.

Дослідження патофізіологічних механізмів ПЛ-викликаних СС вимагає подальшого комплексного системного підходу. Очевидно, виявлені нами порушення поведінки є характеристикою інтеріктального періоду, який передує безпосередньому розвитку СС. З точки зору концепції причинно-наслідкових відносин в патології [241] логічно зауважити також внесок патоморфологічних,

гістопатологічних, патобіохімічних і нейродегенеративних порушень нейронів і гліальних елементів підкіркових утворень, переважно лімбічної системи, і кори мозку у формування хронічної стадії ПЛ-викликаного ЕС. У цьому випадку розвиток СС і їх подальше прогресування сприятимуть подальшому розвитку порушення досліджених типів поведінки. При цьому розробка комплексних методів корекції порушень поведінки буде являти собою патогенетичний базис для купірування відтермінованих СС, що відповідає уявленням Г.М. Крижановського і співавт. [96] і О. А. Шандри і співавт. [97] щодо кіндлінгових судом.

Завданням наступної серії експериментальних досліджень стало дослідження патофізіологічних механізмів розвитку відтермінованих спонтанних судомних реакцій після введення щурам пілокарпіна. У цьому зв'язку нашу увагу привернули серединні ядра таламуса (медіодорзальне і з'єднувальне) і фронтальні відділи кори мозку. Серединні ядерні утворень таламуса виконують релейну функцію, тобто саме через них надмірне збудження охоплює кору мозку, переважно її префронтальні ділянки - таким є механізм виникнення і підтримки епілептиформної активності у людей при скронево-часткової епілепсії [228]. Відомо, що рекрутіруюче таламо-кортикальні впливи модулюють вогнищеві та генералізовані судомні реакції [259]. Відомо, нарешті, що проєкції специфічних і неспецифічних ядер таламуса закінчуються в IV і I шарах лобової кори, відповідно, що повинно припускати опосередкування фронтальної корою епілептиформних реакцій.

Цікавими є дані досліджень Persinger M.A. і співавт. [257], які показали, що після руйнування медіодорзальної частини таламуса у щурів порушувалася орієнтація в просторі і просторової пам'яті в умовах гострих судом, викликаних пілокарпіном і літієм. Можливо, що таламус відіграє певну роль у формуванні мнестичних функцій [242], порушення яких в динаміці формування пілокарпін-викликаних спонтанних судомних реакцій було показано нами раніше (див. підрозділ 4.1).

Для дослідження ролі серединних ядер таламуса (nn mediodorsal і reuniens) і фронтальних ділянок кори в патофізіологічних механізмах піклоарпін-індукованих спонтанних судом ми здійснювали хімічну деструкцію та електричну стимуляцію зазначених утворень мозку.

Отримані результати свідчать про те, що модуляція активності серединних ядер таламуса (медіодорзального ядра і з'єднувального ядра), а також фронтальних відділів кори мозку щурів детермінують характер виникнення відтермінованих спонтанних пілокарпін-індукованих судомних реакцій.

При селективній деструкції медіодорзального і з'єднувального ядер таламуса у тварин істотно скорочується тривалість стадії гострих пілокарпін-індукованих судом і не відзначається розвиток спонтанних судомних реакцій. Протилежна ситуація відзначається при електричній стимуляції зазначених серединних утворень таламуса.

Виражене скорочення тривалості гострих генералізованих пілокарпін-викликаних судом зазначається у разі попередньої деструкції фронтальних відділів кори. При цьому спонтанні пілокарпін-індуковані судоми у щурів не розвиваються. У разі стимуляції фронтальних відділів кори пілокарпін-викликані гострі і відтерміновані спонтанні судомні реакції не відрізняються від аналогічних у щурів в контрольних спостереженнях.

Враховуючи отримані дані, а також наявність потужних проєкційних еферентних і аферентних взаємодій серединних ядер таламуса і фронтальних відділів кори, можливо припустити опосередкування даними утвореннями мозку патофізіологічних механізмів розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Також завданням експериментальних досліджень стало дослідження ефективності деяких антиепілептичних препаратів в умовах пілокарпін-індукованих спонтанних судом. Вихідною посилкою в проведенні даної частини експериментів з'явилася терапевтична резистентність пілокарпін - викликаних гострих судом по відношенню до протисудомного лікування.

Викликані агонистом мускаринових холінергічних рецепторів пілокарпіном судоми відтворюють деякі аспекти скронево-часткової епілепсії [69, 102, 125, 161], яка часто діагностується в клініці у людей. Подібний тип судомного синдрому стійкий до дії антиепілептичних препаратів. Однак, деякі антиконвульсанти, наприклад, фенітоїн, вальпроєва кислота, карбамазепін з різним ступенем вираженості надають протисудомну дію в умовах іншої експериментальної моделі, що відтворює деякі особливості скронево-часткової епілепсії у людей - електричного та хімічного кіндлінга [90].

З урахуванням того, що при пілокарпін-викликаному хронічному судомному синдромі відтворюються деякі поведінкові, патоморфологічні, електрографічні порушення, а також спонтанні судоми, ми порахували доцільність перевірити ефективність протисудомних препаратів з різним механізмом реалізації антиепілептичного ефекту - діазепаму, фенобарбіталу, вальпроєвої кислоти, дифенілгідантоїну і карбамазепіну - в умовах розвитку спонтанних відтермінованих судом.

Отримані нами дані свідчать про те, що діазепам, фенобарбітал і вальпроєва кислота надають антиепілептичну дію відносно пілокарпін - викликаних спонтанних судом. Дифенілгідантоїн і карбамазепін не роблять впливу на розвиток відтермінованих спонтанних судом, індукованих пілокарпіном. Даний ефект пов'язан з механізмом реалізації протисудомної дії дифенілгідантоїна і карбамазепіна, викликаного блокадою натрієвих каналів, що неефективне при хронічній ЕпА, викликаній активацією холінергічних механізмів.

Розрахункова доза діазепаму, що запобігає розвиток пілокарпін-викликаних спонтанних судом у 50 % щурів  $9,64 \pm 0,98$  мг/кг. Середньоєфективні дози фенобарбіталу та вальпроєвої кислоти рівні, відповідно,  $15,53 \pm 1,54$  мг/кг і  $284,5 \pm 27,3$  мг/кг.

Протисудомні ефекти діазепаму, фенобарбіталу та вальпроєвої кислоти у відношенні попередження розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом корелювали з нормалізацією під їх впливом моторної активності тварин у тесті

«відкрите поле» та емоційної поведінки у відповідь на спроби взяття в руки в модельних умовах. Дифенілгідантоїн і карбамазепін не роблять впливу на пілокарпін-опосередковані порушення моторної активності щурів в тесті «відкрите поле» та емоційної поведінки у відповідь на спроби взяття в руки.

Беручи до уваги механізм реалізації противосудомної дії діазепаму, фенобарбіталу та вальпроєвої кислоти, можливо зробити висновок, що в патогенетичні механізми розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом залучені процеси, що сприяють компрометації ГАМК-ергічного гальмування.

Як зазначалося вище, на моделі пілокарпін-викликаного ЕС латентний період розвитку ССА становив у середньому 20-25 днів. Представляє істотний інтерес дослідження антиепілептогенних ефектів препаратів протягом цього бессудомного періоду, що можна було б використовувати для профілактики розвитку епілепсії.

Тому подальше з'ясування патофізіологічних механізмів епілепсії, особливо ССА, послужить ключем до цілеспрямованого синтезу нових біологічно активних речовин, здатних запобігти розвитку епілепсії шляхом блокування основних ланок епілептогенеза. Результати клінічних та експериментальних досліджень чітко свідчать про відмінність механізмів, які обумовлюють процеси іктогенеза (тобто ініціювання, посилення і поширення судомної активності) і епілептогенеза. Останній включає в себе процеси, що обумовлюють готовність мозку до генерації спонтанних, періодично повторюваних судом, і процеси, що беруть участь у прогресуванні епілепсії в хронічну форму, яка часто не піддається терапії [292]. Необхідні також подальші дослідження щодо з'ясування можливості блокування або гальмування процесу епілептогенеза протягом латентного періоду після ЕС за допомогою різних протиепілептичних препаратів.

У висновку хочемо зупинитися на наступному. Для розуміння патофізіологічних механізмів хронічної стадії ПЛ-викликаних СС і для розробки способів їх припинення слід виявити більш складний характер міжструктурних взаємодій утворень головного мозку, об'єднаних в спеціальну

нейрональну мережу. Спроби відновити/нормалізувати порушення поведінки тварин при СС припускають вплив на функціонуючі елементи спеціальної нейрональної мережі з метою збільшення кількості нормально працюючих нейронів, синапсів, нейромедіаторів, синтезу нових білкових субстанцій та ін. Розробка подібного підходу буде являти собою стимуляцію ендогенних захисних механізмів мозку, що володіють протисудомною активністю.

Таким чином, отримані результати показали, що відтерміновані пілокарпін-індуковані спонтанні судоми, що розвиваються в середньому через 20-45 днів після введення конвульсантів, характеризуються патофізіологічними особливостями, в основі яких лежать посилення електричної активності гіпокампу, розвитком широкого комплексу поведінкових і когнітивних порушень, а також зниження вираженості ГАМК-опосередкованого гальмування. Гіпокамп, серединні ядра таламуса і фронтальні відділи кори, очевидно, є ключовими структурами в механізмах розвитку спонтанних судом в даних модельних умовах.



## ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального науково-практичного завдання, яке полягає у визначенні патофізіологічних механізмів розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судомних реакцій у щурів та змін поведінкових феноменів у цих тварин. Отримані дані є перспективними для розробки патогенетично обґрунтованих методів лікування хронічних форм епілепсії.

1. Частота розвитку спонтанних судом у щурів мала пряму залежність від тривалості та інтенсивності епілептичного статусу. Спонтанні судомні реакції розвивалися через 20-25 діб після розвитку гострих пілокарпінових судом у 84,0 % щурів і тривали протягом 40-48 діб.

2. За локалізацією первинного вогнища, відповідального за розвиток спонтанних судом розрізняють 3 групи: вентральний гіпокамп 65,7 % щурів, фронтальні відділи кори 11,4 % щурів, гіпокамп і кора мозку синхронно 22,9 % щурів. Маніфестація спонтанних судом виникала за умов вираженого переважання амплітуди хвиль  $\alpha$ - та  $\delta$ -діапазонів в гіпокампі.

3. Спонтанні судоми корелюють зі структурно-функціональними змінами гіпокампу, фронтальної кори та верхніх горбиків чотиригорбикова тіла. За умов селективної деструкції цих структур та стимуляції верхніх горбиків чотиригорбикова тіла відбувалося зменшення кількості щурів зі спонтанними судомами.

4. Виявлено, що антиепілептичну дію відносно спонтанних судом надавали діазепам, фенобарбітал та вальпроєва кислота дозами  $9,64 \pm 0,98$  мг/кг,  $15,53 \pm 1,54$  мг/кг,  $284,50 \pm 27,30$  мг/кг, відповідно. Протисудомні ефекти цих препаратів корелювали з нормалізацією моторної активності тварин у тесті «відкрите поле» ( $p < 0,05$ ) та емоційної поведінки ( $p < 0,05$ ). Разом з тим дифенілгідантоїн і карбамазепін не впливали на виникнення судом. Зважаючи на механізм реалізації протисудомної дії діазепама, фенобарбітала і вальпроєвої

кислоти, ймовірно, що до патогенетичних механізмів пілокарпін-індукованих спонтанних судом залучені процеси компрометації ГАМК-ергічного гальмування.

5. Розвиток спонтанних судом, спричинив формування у щурів порушень поведінкових реакцій, що пов'язано зі змінами у гіпокампі та фронтальній корі, про це свідчить позитивний ефект застосування антиконвульсантів, точкою прикладення яких є гіпокамп. Також розвиток спонтанних судом характеризувався погіршенням формування харчового умовного рефлексу, неможливістю його збереження та більш швидким його згасанням. Розвиток пілокарпін-викликаних спонтанних судом не припиняв, а посилював формування когнітивних порушень та їх вираженість. Кореляція поведінки та розвитку спонтанних судом обумовлена тим, що поведінка пов'язана з підкірковими структурами залученими в епілептичну систему, тому тонкі здвиги поведінки можуть служити прогностичними критеріями тяжкості і тривалості спонтанних судом.

## ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Болдырев А. И. Эпилепсия у взрослых. – М.: Медицина, 1984. 288 с.
2. Болдырев А.И. Эпилепсия у детей и подростков. - М.: Медицина, 1990. 318 с.
3. Вольф П. Рефлекторные эпилепсии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2005. №10. С. 68-69.
4. Заключение совета экспертов по эпилептологии. «Псевдофармакорезистентность эпилепсии – современное состояние, проблемы и пути решения» / В. А. Карлов, Г. Н. Авакян, В. В. Калинин [и др.]. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния*. 2015. Т. 7, №1. С. 69
5. Киссин М.Я. Клиническая эпилептология. М., 2011. 256 с.
6. Клинические латерализационные признаки при симптоматической височной эпилепсии / М. А. Никитина, К. Ю. Мухин, Л. Ю. Глухова [и др.]. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния*. 2015. Т. 7, №1. С. 59-64.
7. Миронов М.Б. Эпилептический миоклонус век (лекция). *Русский журнал детской неврологии*. 2010. Т. 5. С. 29-38.
8. Мухин К. Ю., Глухова Л. Ю. Симптоматическая височная эпилепсия. *Эпилепсия: атлас электролинической диагностики*. М., 2004. С. 389-406.
9. Новикова Ю. Г. Психологические аспекты провокации и контроля пароксизмальных состояний при эпилепсии у взрослых. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния*. 2015. Т. 7, № 2. С. 65-75.
10. Bob P., Selesova P., Kukla L. Epileptic-like symptoms and stress conditions in adolescents. *Percept Mot Skills*. 2012. Vol. 115. P. 790-796.
11. Ferlisi M.L., Shorvon S. Seizure precipitants (triggering factors) in patients with epilepsy. *Epilepsy Behavior*. 2014. Vol. 33. P. 101-105.
12. Elucidating the Complex Interactions between Stress and Epileptogenic Pathways. *Cardiovasc* / A.R. Friedman, L.P. Cacheaux, S. Ivens, D. Kaufer.

- Psychiatry Neurol.* 2011. URL: <http://www.hindawi.com/journals/cpn/2011/461263/> (дата звернення: 14.12.2015).
13. Panayiotopoulos C. P. *The Epilepsies: Seizures, Syndromes and Management.* Oxfordshire: Bladon Medical Publishing, 2005. 541 p. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2606/> (дата звернення: 10.11.2016).
  14. The economic impact of epilepsy: a systematic review / K. Allers, B. M. Essue, M. L. Hackett [et al]. *BMC Neurol.* 2015. Vol. 15, N. 1. P. 245-251
  15. Yum M.S. Prenatal stress promotes development of spasms in infant rats / M.S. Yum, T. Chachua, J. Velíšková, L. Velíšek. *Epilepsia.* 2012. Vol. 53. P 46-49.
  16. Зенков Л. Р. Клиническая эпилептология (с элементами нейрофизиологии). - М.: ООО Медицинское информационное агентство. 2002. 415 с.
  17. Карлов В. А. Судорожный эпистатус. М., 2003. 63 с.
  18. Резолюция форума евразийских экспертов по эпилепсии. Рабочая группа экспертов Евразии по эпилепсии. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния.* 2015. Т. 7, №1. С. 65-68.
  19. Гусев Е.И., Гехт А.Б., Хаузер В.А., Мильчакова Л.Е., Чурилин Ю.Ю. Эпидемиология эпилепсии в России. *Современная эпилептология.* 2011. С. 77-84.
  20. Anderson P. Stress and Seizures: What Drives the Relationship? *Medscape Medical News.* 2012. Jan 10. URL:[https://www.medscape.com/viewarticle/775751#vp\\_1](https://www.medscape.com/viewarticle/775751#vp_1) (дата звернення: 17.03.2016).
  21. Temporal lobe epilepsy in children and cognitive dysfunction: comprehensive methodologies for comprehensive research and care. In: cognitive dysfunction in children with temporal lobe epilepsy / A.Arzimanoglou, A. Aldenkamp, H. Cross et al. *UK.* 2005. P. 275-289.
  22. Chauhan A. Self Induction of Photosensitive Epilepsy – Role of Secondary Gains and Psychological Management: Twin Case Report and Literature Review. *German Journal of Psychiatry.* 2007. Vol. 10. P. 96-99.

23. Seizure occurrence: precipitants and prediction. / S.R. Haut, C.B. Hall, J.Masur, R.B. Lipton. *Neurology*. 2007. Vol. 69 P. 1905-1910.
24. Helde G., Bovim G., Bråthen G., Brodtkorb E. A structured, nurse-led intervention program improves quality of life in patients with epilepsy: a randomized, controlled trial. *Epilepsy & Behavior*. 2005. Vol. 7. P. 451-457.
25. Tufenkjian K., Lüders H.O. Seizure Semiology: Its Value and Limitations in Localizing the Epileptogenic Zone. *J. Clin. Neurol*. 2012. Vol. 8, N 4. P. 243-250.
26. Всемирная организация здравоохранения (2010) Финансирование систем здравоохранения: путь к всеобщему охвату населения медико-санитарной помощью. Доклад о состоянии здравоохранения в мире, 2010 г. URL: <http://www.who.int/whr/2010/ru/index.html/> (дата звернення: 10.09.2015) .
27. Eze C.N. Effect of health education on trainee teachers' knowledge, attitudes, and first aid management of epilepsy: An interventional study / C.N.Eze, O.M. Ebuehi, F. Brigo, W.M. Otte, S.C. Igwe. *Seizure*. 2015. Vol. 33, N 1. P. 46-53.
28. Living with epilepsy in Lubumbashi (Democratic Republic of Congo): epidemiology, risk factors and treatment gap / B.K. Bora, D.M. Lez, D.O. Luwa, M.B. Baguma et al. *Pan Afr Med J*. 2015. Vol. 21. P. 303.
29. Neuromodulation for Epilepsy / V. Krishna, F. Sammartino, N.K. King, R.Q. So, R. Wennberg. *Neurosurg Clin N Am*. 2016. Vol. 1. P. 123-131
30. Physical trauma in epilepsy: Characteristics and implications in a Nigerian adolescent with severe generalized epilepsy / E.E. Esegbe, F.T. Nuhu, T.L. Sheikh, O.J. Oguizu.. *J Emerg Trauma Shock*. 2015. Vol. 8, N 4. P. 240-242.
31. Somayajula S., Vooturi S., Jayalakshmi S. Psychiatric disorders among 165 patients with juvenile myoclonic epilepsy in India and association with clinical and sociodemographic variables. *Epilepsy Behav*. 2015. Vol. 53. P. 37-42.
32. Wei C.X., Bian M., Gong G.H. Current Research on Antiepileptic Compounds. *Molecules*. 2015. Vol. 20, N 11. P. 20741-20776
33. Kostev K., Haas G. Medical care in Germany: Epidemiology, health economics and outcome research with IMS patient databases. *Optimus*. 2011. P. 3-6.

34. Hamer H. M. Prevalence, utilization, and costs of antiepileptic drugs for epilepsy in Germany--a nationwide population-based study in children and adults / H. M. Hamer, R. Dodel, A. Strzelczyk, M. Balzer-Geldsetzer, J.P. Reese [et al.]. *J Neurol*. 2012. Vol. 259, N 11. P. 376- 84.
35. Ramakrishnan R., Appleton R. Study of prevalence of epilepsy in children with type 1 diabetes mellitus. *Seizure*. 2012. Vol. 21, N 4. P. 292-294.
36. Use of a German longitudinal prescription database (LRx) in pharmacoepidemiology / H. Richter, S. Dombrowski, H. Hamer, P.Hadji, K. Kostev. *Ger Med Sci*. 2015. Vol. 13. URL: <http://www.egms.de/static/en/journals/gms/2015-13/000218.shtml/> (дата звернення: 06.04.2016).
37. Уніфікований клінічний протокол медичної допомоги при епілепсії: діагностика та лікування епілепсії у дорослих / Ю. І. Горанський, А. Є. Дубенко, В. І. Коростій [та ін.]. *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, № 4. С. 151-161.
38. Литовченко Т. А., Зинченко Е. К. Успехи и трудности в лечении эпилепсии. *Рациональная фармакотерапия*, 2009. № 2. С. 24-28.
39. Мартинюк В. Ю. Лечение эпилепсии: игра в рулетку или осознанный выбор стартового препарата? *НейроNews*, 2008. № 2. С. 21-27.
40. Сухоносова, О. Ю. Особливості показників та форм епілепсії у дітей різних вікових груп. *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, № 4. С. 120-122.
41. Євтушенко С. К. Прогресуючі форми епілептичних енцефалопатій у немовлят і дітей (труднощі діагностики та лікування) *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, № 4. С. 123-127.
42. Мар'єнко Л. Б. Особливості патоморфозу епілепсії з початком захворювання в дитячому і підлітковому віці. *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, № 4. С. 109-113.

43. Мостова, О. П. Застосування глибинної психотерапії (аналітичної) в комбінованому с АЕП лікуванні деяких видів епілепсій. *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, № 4. С. 113-115
44. Characterization of spontaneous recurrent epileptiform discharges in hippocampal-entorhinal cortical slices prepared from chronic epileptic animals / Carter D.S., Deshpande L.S., Rafiq A., Sombati S., DeLorenzo R.J. *Seizure*. 2011. Vol. 3. P.218-24.
45. CNF1 Enhances Brain Energy Content and Counteracts Spontaneous Epileptiform Phenomena in Aged DBA/2J Mice / Travaglione S., Ballan G., Fortuna A. [et al.]. *PLoS One*. 2015. Vol. 10, N 10.
46. The effect of STAT3 inhibition on status epilepticus and subsequent spontaneous seizures in the pilocarpine model of acquired epilepsy / Grabenstatter H.L., Del Angel Y.C., Carlsen J., Wempe M.F., White A.M., Cogswell M., Russek S.J., Brooks-Kayal A.R. *Neurobiol Dis*. 2014. Vol. 62. P. 73-85.
47. Increased pCREB expression and the spontaneous epileptiform activity in a BCNU-treated rat model of cortical dysplasia / Pennacchio P., Noé F., Gnatkovsky V., Moroni R.F., Zucca I., Regondi M.C., Inverardi F., de Curtis M., Frassoni C. *Epilepsia*. 2015. Vol. 56, N 9. P. 343-354.
48. Methylxanthine-evoked perturbation of spontaneous and evoked activities in isolated newborn rat hippocampal networks / Ruangkittisakul A., Sharopov S., Kantor C., Kuribayashi J., Mildemberger E., Luhmann H.J., Kilb W., Ballanyi K. *Neuroscience*. 2015. Vol. 20. P.106-120.
49. Spontaneous Temporal Pole Encephalocele Presenting with Epilepsy: Report of Two Cases / Shimada S., Kunii N., Kawai K., Usami K., Matsuo T., Uno T., Koizumi T., Saito N. *World Neurosurg*. 2015. Vol. 84, N 3. P. 867-878.
50. Stacey W.C. Reality EEG: Proving the Similarity between Spontaneous and Induced Seizures. *Epilepsy Curr*. 2015. Vol. 15, N 3. P. 136-143.

51. Unit Activity of Hippocampal Interneurons before Spontaneous Seizures in an Animal Model of Temporal Lobe Epilepsy / Toyoda I., Fujita S., Thamattoor A.K., Buckmaster P.S. *J Neurosci.* 2015. Vol. 35, N 16. P. 600-618.
52. Hippocampal neuron damage in human epilepsy: Meyer's hypothesis revisited / Mathern G.W., Adelson P.D., Cahan L.D., Leite J.P. *Prog Brain Res.* 2002. Vol. 135. P. 237-251.
53. Quantitative post-mortem study of the hippocampus in chronic epilepsy: seizures do not inevitably cause neuronal loss / Thom M., Zhou J., Martinian L., Sisodiya S. *Brain.* 2005. Vol. 128, N 6. P. 1344-1357.
54. Abnormal motor cortex plasticity in juvenile myoclonic epilepsy / Strigaro G., Falletta L., Cerino A., Pizzamiglio C., Tondo G., Varrasi C., Cantello R. *Seizure.* 2015. Vol. 30. P. 101-105.
55. Ictal vomiting as a sign of temporal lobe epilepsy confirmed by stereo-EEG and surgical outcome / Pietrafusa N., de Palma L., De Benedictis A., Trivisano M., Marras C.E., Vigevano F., Specchio N. *Epilepsy Behav.* 2015. Vol. 53. P. 112-116.
56. Presurgical entorhinal cortex volume and postoperative seizure outcome in temporal lobe epilepsy / Elkommos S., Richardson M.P., Schoene-Bake J.C., Marson A., Elger C., Weber B., Keller S.S. *Lancet.* 2015. Vol. 385, N 1. P. 34.
57. Responsive stimulation of motor cortex for medically and surgically refractive epilepsy / Miller K.J., Burns T.C., Grant G.A., Halpern C.H. *Seizure.* 2015. Vol. 33. P. 38-40.
58. Bertram E. Functional anatomy of spontaneous seizures in a rat model of limbic epilepsy. *Epilepsia.* 1997. Vol. 38, N 1. P. 95-105.
59. Bertram E. H. Temporal lobe epilepsy: where do the seizures really begin. *Epilepsy Behav.* 2009. Vol. 14. P. 32-37.
60. Epilepsies as dynamical diseases of brain systems: basic models of the transition between normal and epileptic activity / F. Lopes da Silva, W. Blanes, S. N. Kalitzin [et al.]. *Epilepsia.* 2003. Vol. 44, Suppl. 12. P. 72-83.



61. The developmental evolution of the seizure phenotype and cortical inhibition in mouse models of juvenile myoclonic epilepsy / F. Arain, C. Zhou, L. Ding, S. Zaidi, M.J. Gallagher. *Neurobiol Dis.* 2015. Vol. 82. P. 164-75.
62. Development of spontaneous seizures over extended electrical kindling. I. Electrographic, behavioral and transfer kindling correlates / M. Michael, D. Holsinger, C. Ikeda-Douglas [et al.]. *Brain Res.* 1998. Vol. 793. P. 197-211.
63. McIntyre D. C., Racine R. J. Kindling mechanisms: current progress on an experimental epilepsy model. *Prog. Neurobiol.* 1986. Vol. 27, N 1. P. 1-12.
64. Inhibition by thyrotropin-releasing hormone of epileptic seizures in spontaneously epileptic rats / U. Hisamatsu, R. Xie, S. Masashi [et al.]. *Eur. J. Pharmacol.* 1991. Vol. 96, N 1. P. 15-19.
65. Mathern G., Bertram E. H. In contrast to kindled seizures, the frequency of spontaneous epilepsy in the limbic status model correlates with greater aberrant fascia dentata excitatory and inhibitory axon sprouting, and increased staining for N-methyl-D-aspartate, AMPA and GABA(A) receptors. *Neurosci.* 1997. Vol. 77, N 4. P. 1003-1019.
66. McIntyre D. C., Goddard G. V. Transfer, interference and spontaneous recovery of convulsions kindled from the rat amygdale. *EEG Clin. Neurophysiol.* 1973. Vol. 35, N 5. P. 533-543.
67. Morimoto K., Fahnestock M., Racine R. J. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog. Neurobiol.* 2004. Vol. 73, N 1. P. 1-60.
68. Шандра О. А., Копйова Н. В. Патологические механизмы развития спонтанной судорожной активности. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії.* 2008. № 2 (14). С. 7–17. .
69. Intrahippocampal bethanechol in rats: Behavioural, electroencephalographic and neuropathological correlates / L. Turski, E. A. Cavalheiro, W. A. Turski, Z. Kleinrok. *Behav. Brain Res.* 1983. Vol. 7. P. 361–370.
70. Pilocarpine-induced epileptogenesis in the rat: impact of initial duration of status epilepticus on electrophysiological and neuropathological alterations / H.

- Klitgaard, A. Matagne, J. Vanneste-Goemaere, D. G. Margineanu. *Epilepsy Res.* 2002. Vol. 51, N 1. P. 93–107.
71. Cifelli P., Grace A.A. Pilocarpine-induced temporal lobe epilepsy in the rat is associated with increased dopamine neuron activity. *J. Neuropsychopharmacol.* 2012. Vol.7. P.957-64.
  72. Disease-Modifying Effects of Phenobarbital and the NKCC1 Inhibitor Bumetanide in the Pilocarpine Model of Temporal Lobe Epilepsy. / Claudia Brandt, Maia Nozadze, Nina Heuchert, Marta Rattka, and Wolfgang Löscher *The Journal of Neuroscience.* 2010. Vol.25. P.8602-8612.
  73. The pilocarpine model of epilepsy: what have we learned? / Scorza F. A., Arida R. M., Naffah-Mazzacoratti Mda G, Scerni D. A., Calderazzo L., Cavalheiro E. A. *An Acad Bras Cienc.* 2009. Vol. 81, N 3. P. 345-365.
  74. Study of spontaneous recurrent seizures and morphological alterations after status epilepticus induced by intrahippocampal injection of pilocarpine / Furtado M.A., Castro O.W., Del Vecchio F., de Oliveira J.A., Garcia-Cairasco N. *Epilepsy Behav.* 2011. Vol.20, N 2. P.257-66.
  75. Intrahippocampal cholinesterase inhibition induces epileptogenesis in mice without evidence of neurodegenerative events. / Pernot F., Carpentier P., Baille V., Testylier G., Beaup C. [et al.]. *Neuroscience.* 2009. Vol. 162, N 4. P.1351-1365
  76. Excitatory neurotransmission within substantia nigra pars reticulata regulates threshold for seizures produced by pilocarpine in rats: Effects of intranigral 2-amino-7-phosphonoheptanoate and N-methyl-D-aspartate / L. Turski, E. A. Cavalheiro, W. A. Turski, B. S. Meldrum *Neurosci.* 1986. Vol. 18. P. 61-77.
  77. Leite J. P., Bortolotto Z. A., Cavalheiro E. A. Spontaneous recurrent seizures in rats: An experimental model of partial epilepsy. *Neurosci. Behav. Rev.* 1990. Vol.14. P. 511–517.
  78. Repeated low-dose treatment of rats with pilocarpine: low mortality but high proportion of rats developing epilepsy / Glien M., Brandt C., Potschka H., Voigt H., Ebert U., Löscher W. *Epilepsy Res.* 2001. Vol. 46, N 2. P.111-119.

79. Hamani C., Mello L.E. Spontaneous recurrent seizures and neuropathology in the chronic phase of the pilocarpine and picrotoxin model epilepsy. *Neurol Res.* 2002. Vol. 24. N 2. P. 199-209.
80. Mechanisms in the development of limbic status epilepticus and hippocampal neuron loss: an experimental study in a model of status epilepticus induced by kindling-like electrical stimulation of the deep prepyriform cortex in rats / Inoue K., Morimoto K., Sato K., Yamada N., Otsuki S. *Acta Med Okayama.* 1992. Vol. 46. N 2. P.129-168.
81. Антиэпилептическая система / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. М. Мазарати. *Успехи физиол. наук.* 1992. Т. 23, № 3. С. 53-77.
82. Годлевский Л. С. Функциональные механизмы антиэпилептической системы мозга : автореф. дис. на соискание науч. степени доктора мед. наук : спец. 14.00.16 «Патологическая физиология»/М., 1992. 40.
83. Крыжановский Г. Н., Шандра А. А., Годлевский Л. С. Роль опиоидных механизмов гиппокампа и черной субстанции в поведенческих и судорожных нарушениях. *Бюл. эксперим. биол. мед.* 1991. Т. 111, № 3. С. 235-239.
84. Нейропептид тиролиберин - эндогенная противосудорожная защита мозга / С. А. Чепурнов, Н. Е. Чепурнова, К. Р. Аббасова, О. Б. Гончаров. *Успехи физиол. наук.* 2002. Т. 33, № 1. С. 29-39.
85. Участие факторов пептидной природы в формировании эпилептиформных проявлений при киндлинге / Шандра А. А., Годлевский Л. С., Мазарати А. М. [и др.]. *Нейрохимия.* 1992. Т. 11, № 2. С. 94-99.
86. Anticonvulsive effects of neurotropin under conditions of electrical and chemical kindling convulsive syndrome / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov, A. M. Mazarati. *Pathophysiology.* 1995. Vol. 2, N 2. P. 167-171.

87. On the mechanism of antiepileptic peptides appearance in the cerebro-spinal fluid / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, A. M. Mazarati [et al.]. *Brain Res. Bull.* 1994. Vol. 35, N 4. P. 285-287.
88. Role of peptide factors in formation of epileptiform manifestations during icrotoxin-induced kindling in rats / Shandra A. A., Godlevsky L. S., Mazarati A. M. [et al.]. *Neurophysiology*. 1993. Vol. 25, N 2. P. 99-102.
89. Status epilepticus - новые механизмы и пути торможения (литий-пилокарпиновая модель) / С. А. Чепурнов, Н. Е. Чепурнова, О. М. Редкозубова, С. А. Саакян. *Успехи физиол. наук*. 2005. Т. 36, № 1. С. 68-84.
90. The role played by endogenous opioid system in the chemical kindling / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov, S. V. Gatsuk. *Epilepsia*. 1996. Vol. 37, Suppl. 4. P. 130-131.
91. Крыжановский Г. Н. Детерминантные структуры в патологии нервной системы. - М. : *Медицина*, 1980. 358 с.
92. Дизрегуляционная патология нервной системы / под ред. Е. И. Гусева, Г. Н. Крыжановского. – М. : *ООО «Медицинское информационное агентство»*. 2009. 512 с.
93. Крыжановский Г. Н., Макулькин Р. Ф., Шандра А. А. Роль гиперактивных детерминантных структур в формировании функциональных комплексов судорожной активности в коре мозга. *Бюлл. эксперим биол. мед.* 1977. Т. 83, № 1. С. 5-10.
94. Крыжановский Г. Н., Макулькин Р. Ф., Шандра А. А. Формирование комплексов эпилептических очагов в коре головного мозга применением различных веществ. *Бюлл. эксперим. биол. мед.* 1979. Т. 79, № 2. С. 117-121.
95. Крыжановский Г. Н., Макулькин Р. Ф., Шандра А. А. Взаимодействие очагов возбуждения и их коплексов в коре головного мозга. *Журн. высш. нервн. деят.* 1982. № 3. С. 487-494.

96. Киндлинг как модель формирования эпилептической активности / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, Р. Ф. Макулькин. *Успехи физиол. наук.* 1988. Т. 19, №4. С. 12-32.
97. Шандра А. А., Годлевский Л. С., Брусенцов А. И. Киндлинг и эпилептическая активность. – Одесса : *Астропринт*, 1999. 191 с.
98. Формирование двигательных и эмоциональных расстройств у крыс при ежедневном введении пикротоксина в подпороговой дозе / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский [и др.]. *Бюл. эксперим. биол. мед.* 1989. Т. 108, № 7. С. 16-21.
99. Гиппокамп как детерминантная структура, генерирующая эпилептическую активность при коразоловом киндлинге / Г. Н. Крыжановский, Р. Ф. Макулькин, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский. *Бюл. эксперим. биол. мед.* 1985. Т. 99, № 5. С. 527-532.
100. Ebert U., Löscher W. Strong olfactory stimulation reduces seizure susceptibility in amygdala-kindled rats. *Neurosci. Lett.* 2000. Vol. 287, N 3. P. 199-202.
101. Morrell F., deToledo-Morrell L. From mirror focus to secondary epileptogenesis in man: an historical review. *Adv. Neurol.* 1999. Vol. 81. P. 11-23.
102. McIntyre D. C., Poulter M. O., Gilby K. Kindling: some old and some new. *Epilepsy Res.* 2002. Vol. 50, N 12. P. 79-92.
103. Racine R. J., Steingart M., McIntyre D. C. Development of kindling-prone and kindling-resistant rats: selective breeding and electrophysiological studies. *Epilepsy Res.* 1999. Vol. 35, N 3. P. 183-195.
104. Lateral geniculate kindling and long-lasting photosensitivity in cats / J. Wada, Y. Minabe, H. Okuda [et al.]. *Exp. Neurol.* 1986. Vol. 91, N 2. P. 343-354.
105. Differential sensitivity of genetically Fast vs. Slow kindling rats strains to GABAergic convulsive agents / R. J. Racine, M. Steingart, Y. Bureau, D. C. McIntyre. *Neuropharmacology.* 2003. Vol. 45, N 7. P. 918-924.
106. McIntyre D. C., Kelly M. E., Dufresne C. Fast and Slow amygdala kindling rat strains: comparison of amygdala, hippocampal, piriform and perirhinal cortex kindling. *Epilepsy Res.* 1999. Vol. 35, N 3. P. 197-209.

107. Годлевский Л. С., Коболев Е. В., Смирнов И. В. Стимуляция мозга: механизмы прекращения судорожной активности. – Одесса: Нептун-Технология, 2006. 184 с.
108. Bitemporal intractable epilepsy: could it be surgically treatable? / S. A. Chkhenkeli, M. Chkhenkeli, T. N. Rakviashvili [et al.]. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 2013. Vol. 91, N 2. P. 104-112.
109. Electrophysiological effects and clinical results of direct brain stimulation for intractable epilepsy / S. A. Chkhenkeli, M. Sramka, G. S. Lortkipanidze [et al.]. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2004. Vol. 106, N 4. P. 318-329.
110. Sutula T. P. Mechanisms of epilepsy progression: current theories and perspectives from neuroplasticity in adulthood and development. *Epilepsy Res.* 2004. Vol. 60. P. 161-171.
111. Sutula T. P. Kindling, epilepsy, and the plasticity of network synchronization. Kindling 6. M. E. Corcoran, S. L. Moshe Eds. N. Y.: Springer. 2005. P. 147-159.
112. Anxiogenic-like profile of Wistar adult rats based on the pilocarpine model: an animal model for trait anxiety? / Duarte F.S., Duzzioni M., Hoeller A.A., Silva N.M., Ern A.L., Piermartiri T.C., Tasca C.I., Gavioli E.C., Lemos T., Carobrez A.P., De Lima T.C. *Psychopharmacology.* 2013. Vol.227, N2. P.209-19.
113. Cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizures induced by pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy / L. Turski, C. Ikonomidou, W. A. Turski [et al.]. *Synapse.* 1989. Vol. 3. P. 154–171.
114. Circuit mechanisms of seizures in the pilocarpine model of chronic epilepsy: cell loss and mossy fiber sprouting / L. E. Mello, E. A. Cavalheiro, A. M. Tan [et al.]. *Epilepsia.* 1993. Vol. 34, N 6. P. 985-995.
115. Damage, reorganization, and abnormal neocortical hyperexcitability in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy / E. R. Sanabria, A. V. Silva, R. Spreafico, E. A. Cavalheiro. *Epilepsia.* 2002. Vol. 43, Suppl. 5. P. 96-106.
116. Harvey B. D., Sloviter R. S. Hippocampal granule cell activity and c-Fos expression during spontaneous seizures in awake, chronically epileptic,

- pilocarpine-treated rats: implications for hippocampal epileptogenesis. *J. Comp. Neurol.* 2005. Vol. 488, N 4. P. 442-463.
117. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study / Turski W.A., Cavalheiro E.A., Schwarz M., Czuczwar S.J., Kleinrok Z., Turski L. *Behav Brain Res.* 1983. Vol. 9, N 3. P. 315-335.
118. Kimura H. Catecholamine and cholinergic system and amygdaloid kindling / H. Kimura, Y. Kaneko, J. A. Wada. *Kindling 2. - N. Y.: Raven Press*, 1981. P. 265-287.
119. Neuronal and glial pathological changes during epileptogenesis in the mouse pilocarpine model / K. Borges, M. Gearing, D. L. McDermott [et al.]. *Exp. Neurol.* 2003. Vol. 182, N 1. P. 21-34.
120. Olney J. W., T. de Gubareff, Labruyere J. Seizure-related brain damage induced by cholinergic agents. *Nature.* 1983. Vol. 301. P. 520-522.
121. Thiol oxidation and altered NR2B/NMDA receptor functions in in vitro and in vivo pilocarpine models: Implications for epileptogenesis / R. Di Maio, P. G. Mastroberardino, X. Hu [et al.]. *Neurobiol. Dis.* 2012. Vol. 49. P. 87-98.
122. Vastyanov R. Calcium channels blockade improves pilocarpine-induced status epilepticus. *Epilepsia.* 2002. Vol. 43, Suppl. 8. P. 80-81.
123. Does Pilocarpine-Induced Epilepsy in Adult Rats Require Status epilepticus? / Graciela Navarro Mora, Placido Bramanti, Francesco Osculati, Asmaa Chakir, Elena Nicolato, Pasquina Marzola, Andrea Sbarbati, Paolo Francesco Fabene. *Published.* 2009. Vol. 4, N 6. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2685457/?report=reader/> (дата звернення: 05.09.2016).
124. Gorter J.A., van Vliet E.A., Lopes da Silva F.H. Which insights have we gained from the kindling and post-status epilepticus models? *J. Neurosci Methods.* 2016. Vol. 260. P. 96-108.
125. The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures / Clifford D.B., Olney J.W., Maniotis A., Collins R.C., Zorumski C.F. *Neuroscience.* 1987. Vol. 23, N 3. P. 953-968.

126.  $\alpha$ -Linolenic Acid, A Nutraceutical with Pleiotropic Properties That Targets Endogenous Neuroprotective Pathways to Protect against Organophosphate Nerve Agent-Induced Neuropathology / Piermartiri T., Pan H., Figueiredo T.H., Marini A.M. *Molecules*. 2015. Vol. 20, N 11. P. 20355-80.
127. Dynamics of hippocampal acetylcholine release during lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in rats / Hillert M.H., Imran I., Zimmermann M., Lau H., Weinfurter S., Klein J. *J Neurochem*. 2014. Vol. 131, N 1. P. 42-52.
128. Huperzine A prophylaxis against pentylenetetrazole-induced seizures in rats is associated with increased cortical inhibition / Gersner R., Ekstein D., Dhamne S.C., Schachter S.C., Rotenberg A. *Epilepsy Res*. 2015. Vol. 117. P. 97-103.
129. Increased susceptibility to acetylcholine in the entorhinal cortex of pilocarpine-treated rats involves alterations in KCNQ channels / Maslarova A., Salar S., Lapolover E., Friedman A., Veh R.W., Heinemann U. *Neurobiol Dis*. 2013. Vol. 56. P. 14-24.
130. Lietsche J., Imran I., Klein J. Extracellular levels of ATP and acetylcholine during lithium-pilocarpine induced status epilepticus in rats. *Neurosci Lett*. 2016. Vol. 611. P. 69-73.
131. Muscarinic excitation of parvalbumin-positive interneurons contributes to the severity of pilocarpine-induced seizures / Yi F., DeCan E., Stoll K., Marceau E., Deisseroth K., Lawrence J.J. *Epilepsia*. 2015. Vol. 56, N 2. P.297-309.
132. Vosu H., Wise R.A. Cholinergic seizure kindling in the rat: comparison of caudate, amygdala and hippocampus. *Behav Biol*. 1975. Vol. 13, N 4. P. 491-495.
133. Wasterlain C.G, Jonc V. Muscarinic kindling: transsynaptic generation of a chronic seizure focus. *Life Sci*. 1980. Vol. 26, N 5. P. 387-391.
134. Wasterlain C.G, Jonc V. Cholinergic kindling of the amygdala requires the activation of muscarinic receptors. *Exp Neurol*. 1981. Vol. 73, N 2. P. 595-599.
135. Cholinomimetics produce seizures and brain damage in rats / Turski WA, Czuczwar S.J., Kleinrok Z., Turski L. *Experientia*. 1983. Vol. 39, N 12. P. 1408-1411.



136. Lundy P.M, Shaw R.K. Modification of cholinergically induced convulsive activity and cyclic GMP levels in the CNS. *Neuropharmacology*. 1983. Vol. 22, N 1. P. 55-63.
137. Pulsinelli W.A, Brierley J.B. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke*. 1979. Vol. 10, N 3. P.267-272.
138. Injections of picrotoxin and bicuculline into the amygdaloid complex of the rat: an electroencephalographic, behavioural and morphological analysis / Turski W.A., Cavalheiro E.A., Calderazzo-Filho L.S., Kleinrok Z., Czuczwar S.J., Turski L. *Neuroscience*. 1985. Vol. 14, N 1. P. 37-53.
139. Ben-Ari Y., Tremblay E., Ottersen O.P. Injections of kainic acid into the amygdaloid complex of the rat: an electrographic, clinical and histological study in relation to the pathology of epilepsy. *Neuroscience*. 1980. Vol. 5, N 3. P. 515-528.
140. Cavalheiro E. A., Riche A., Le Gal La Salle G. Long-term effects of intrahippocampal kainic acid injection in rats: a method for inducing spontaneous recurrent seizures. *EEG Clin. Neurophysiol*. 1982. Vol. 53, N 6. P. 581-589.
141. The role of epileptic activity in hippocampal and "remote" cerebral lesions induced by kainic acid / Ben-Ari Y., Tremblay E., Ottersen O.P., Meldrum B.S. *Brain Res*. 1980. Vol. 191, N 1. P. 79-97.
142. Intrastratial folic acid mimics the distant but not local brain damaging properties of kainic acid / Olney J.W., Fuller T.A., de Gubareff T., Labruyere J. *Neurosci Lett*. 1981. Vol. 25, N 2. P. 185-191.
143. Olney J.W., Fuller T.A., de Gubareff T. Kainate-like neurotoxicity of folates. *Nature*. 1981. Vol. 292. P. 165-167.
144. Henshall D.C., Meldrum B.S. Cell death and survival mechanisms after single and repeated brief seizures. In Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies. 4th edition. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US). 2012. P. 262-276.

145. Squire L.R., Davis H.P. The pharmacology of memory: a neurobiological perspective. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1981. Vol. 21. P. 323-356
146. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain / Whitehouse P.J., Price D.L., Struble R.G., Clark A.W., Coyle J.T., Delon M.R. *Science*. 1982. Vol. 215. P. 1237-1239.
147. McGeer E.G., McGeer P.L. Neurotoxins as tools in neurobiology. *Int Rev Neurobiol*. 1981. Vol. 22. P. 173-204.
148. Higley M.J., Picciotto M.R. Neuromodulation by acetylcholine: examples from schizophrenia and depression. *Curr Opin Neurobiol*. 2014. Vol. 29. P. 88-95.
149. Mood and anxiety regulation by nicotinic acetylcholine receptors: A potential pathway to modulate aggression and related behavioral states / Picciotto M.R., Lewis A.S., van Schalkwyk G.I., Mineur Y.S. *Neuropharmacology*. 2015. Vol. 96. P. 235-243.
150. Mood and behavioral effects of physostigmine on humans are accompanied by elevations in plasma beta-endorphin and cortisol / Risch S.C., Cohen R.M., Janowsky D.S., Kalin N.H., Murphy D.L. *Science*. 1980. Vol. 209. P. 1545-6.
151. Belluzzi J.D., Grossman S.P. Avoidance learning: long-lasting deficits after temporal lobe seizure. *Science*. 1969. Vol. 166, P. 1435-7.
152. Barbiturate serum levels and protection against kindled amygdaloid seizures in the rat / Albertson T.E., Peterson S.L., Stark L.G., Baselt R.C. *Neuropharmacology*. 1980. Vol. 19, N 11. P. 1141-4.
153. Snead O.C. 3rd. On the sacred disease: the neurochemistry of epilepsy. *Int Rev Neurobiol*. 1983. Vol. 24. P. 93-180.
154. Purpura D.P., Shofer R.J. Excitatory action of dibutyryl cyclic adenosine monophosphate on immature cerebral cortex. *Brain Res*. 1972. Vol. 38, N 1. P. 179-181.
155. Snead O.C. 3rd. Seizures induced by carbachol, morphine, and leucine-enkephalin: a comparison. *Ann Neurol*. 1983. Vol. 13, N 4. P. 445-451.
156. Changes in glucose metabolism and metabolites during the epileptogenic process in the lithium-pilocarpine model of epilepsy / Lee E.M., Park G.Y., Im

- K.C., Kim S.T., Woo C.W., Chung J.H., Kim K.S., Kim J.S., Shon Y.M., Kim Y.I., Kang J.K. *Epilepsia*. 2012. Vol. 53, N 5. P. 860-869.
157. Furman M. Seizure Initiation and Propagation in the Pilocarpine Rat Model of Temporal Lobe Epilepsy. *The Journal of Neuroscience*. 2013. Vol. 33, N 42. P. 16409-16411.
158. Honchar M.P., Olney J.W., Sherman W.R. Systemic cholinergic agents induce seizures and brain damage in lithium-treated rats *Science*. 1983. Vol. 220. P. 323-325.
159. Hypometabolism precedes limbic atrophy and spontaneous recurrent seizures in a rat model of TLE / Jupp B., Williams J., Binns D., Hicks R.J., Cardamone L., Jones N., Rees S., O'Brien T.J. *Epilepsia*. 2012. Vol. 53, N 7. P.1233-44.
160. Spontaneous seizures in a rat model of multiple prenatal freeze lesioning / Kamada T., Sun W., Takase K., Shigeto H., Suzuki S.O., Ohyagi Y., Kira J. *Epilepsy Res*. 2013. Vol. 105, N 3. P.280-91.
161. Seizures produced by pilocarpine in mice: a behavioral, electroencephalographic and morphological analysis / Turski W.A., Cavalheiro E.A., Bortolotto Z.A., Mello L.M., Schwarz M., Turski L. *Brain Res*. 1984. Vol. 321, N 2. P. 237-253.
162. Entorhinal cortex entrains epileptiform activity in CA1 in pilocarpine-treated rats / Wozny C., Gabriel S., Jandova K., Schulze K., Heinemann U., Behr J. *Neurobiol Dis*. 2005. Vol. 19, N 3. P. 451-460.
163. Disruption of the m1 receptor gene ablates muscarinic receptor-dependent M current regulation and seizure activity in mice / Hamilton SE, Loose MD, Qi M, Levey A.I., Hille B., McKnight G.S., Idzerda R.L., Nathanson N.M. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997. Vol. 94, N 24. P. 13311-6.
164. Use of M1-M5 muscarinic receptor knockout mice as novel tools to delineate the physiological roles of the muscarinic cholinergic system / Bymaster F.P., McKinzie D.L., Felder C.C., Wess J. *Neurochem Res*. 2003. Vol. 28, N 3. P. 437-442
165. Benardo L.S., Prince D.A. Cholinergic pharmacology of mammalian hippocampal pyramidal cells // *Neuroscience*. 1982. Vol. 7, N 7. P. 1703-1712.

166. Kainic acid-induced generalized seizures alter the regional hippocampal expression of the rat Kv4.2 potassium channel gene / J. Francis, D.G. Jugloff, N.S. Mingo, M.C. Wallace, O.T. Jones, W.M. Burnham, J.H. Eubanks. *Neurosci Lett.* 1997. Vol. 232, N 2. P. 91-94.
167. Hippocampal heterotopia lack functional Kv4.2 potassium channels in the methylazoxymethanol model of cortical malformations and epilepsy / Castro P.A., Cooper E.C., Lowenstein D.H., Baraban S.C. *J Neurosci.* 2001. Vol. 21, N 17. P. 6626-6634.
168. The transsynaptic regulation of the septal-hippocampal cholinergic neurons / Costa E., Panula P., Thompson H.K., Cheney D.L. *Life Sci.* 1983. Vol. 32, N 3. P. 165-179.
169. Lesion of septal-hippocampal neurons with 192 IgG-saporin alters function of M1 muscarinic receptors / Potter P.E., Gaughan C., Assouline Y. *Neuropharmacology.* 1999. Vol. 38, N 4. P. 579-586.
170. Alterations of neuronal connectivity in area CA1 of hippocampal slices from temporal lobe epilepsy patients and from pilocarpine-treated epileptic rats / Lehmann T.N., Gabriel S., Kovacs R., Eilers A., Kivi A., Schulze K., Lanksch W.R., Meencke H.J., Heinemann U. *Epilepsia.* 2000. Vol. 41, Suppl 6. P. 190-194.
171. Fluorescent tracer in pilocarpine-treated rats shows widespread aberrant hippocampal neuronal connectivity / Lehmann T.N., Gabriel S., Eilers A., Njunting M., Kovacs R., Schulze K., Lanksch W.R., Heinemann U. *Eur J Neurosci.* 2001. Vol. 14, N 1. P. 83-95.
172. Shetty A.K. Entorhinal axons exhibit sprouting in CA1 subfield of the adult hippocampus in a rat model of temporal lobe epilepsy *Hippocampus.* 2002. Vol. 12, N 4. P.534-542.
173. Intracellular observations on the disinhibitory action of acetylcholine in the hippocampus / Ben-Ari Y., Krnjević K., Reinhardt W., Ropert N. // *Neuroscience.* 1981. Vol. 6, N 12. P. 2475-2484.

174. Krnjević K., Ropert N. Septo-hippocampal pathway modulates hippocampal activity by a cholinergic mechanism. *Can J Physiol Pharmacol.* 1981. Vol. 59, N 8. P. 911-914.
175. Wuarin J.P., Dudek F.E. Electrographic seizures and new recurrent excitatory circuits in the dentate gyrus of hippocampal slices from kainate-treated epileptic rats. *J Neurosci.* 1996. Vol. 16, N 14. P. 4438-4448.
176. Dudek F.E., Sutula T.P. Epileptogenesis in the dentate gyrus: a critical perspective. *Prog Brain Res.* 2007. Vol. 163. P. 755-773.
177. Functional connections in the human temporal lobe. I. Analysis of limbic system pathways using neuronal responses evoked by electrical stimulation / Wilson C.L., Isokawa M., Babb T.L., Crandall P.H. *Exp Brain Res.* 1990. Vol. 82, N 2. P. 279-292.
178. Tauck D.L., Nadler J.V. Evidence of functional mossy fiber sprouting in hippocampal formation of kainic acid-treated rats. *J Neurosci.* 1985. Vol. 5, N 4. P. 1016-1022.
179. The functional relationship between antidromically evoked field responses of the dentate gyrus and mossy fiber reorganization in temporal lobe epileptic patients / Masukawa L.M., Uruno K., Sperling M., O'Connor M.J., Burdette L.J. *Brain Res.* 1992. Vol. 579, N 1. P. 119-127.
180. Croiset G., De Wied D. ACTH: a structure-activity study on pilocarpine-induced epilepsy. *Eur J Pharmacol.* 1992. Vol. 229. P. 211-216.
181. In vivo study of the effect of valpromide and valnoctamide in the pilocarpine rat model of focal epilepsy / Lindekens H., Smolders I., Khan G.M., Bialer M., Ebinger G., Michotte Y. *Pharm Res.* 2000. Vol. 17, N 11. P. 1408-1413.
182. Substantia nigra is an anticonvulsant site of action of topiramate in the focal pilocarpine model of limbic seizures / Meurs A., Clinckers R., Ebinger G., Michotte Y., Smolders I. *Epilepsia.* 2006. Vol. 47, N 9. P.1519-1535.
183. Millan M.H., Chapman A.G., Meldrum B.S. Extracellular amino acid levels in hippocampus during pilocarpine-induced seizures. *Epilepsy Res.* 1993. Vol. 14, N 2. P. 139-148.

184. Pitkanen A., Sutula T. P. Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy. *Lancet Neurol.* 2002. Vol. 1, N 3. P. 173–181.
185. Pitkanen A., Lukasiuk K. Molecular and cellular basis of epileptogenesis in symptomatic epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2009. Vol. 14, Suppl. 1. P. 16–25.
186. Epilepsy: new advances / Moshé S.L., Perucca E., Ryvlin P., Tomson T. *Lancet.* 2015. Vol. 385. P. 884-898.
187. Schuele S.U., Lüders H.O. Intractable epilepsy: management and therapeutic alternatives. *Lancet Neurol.* 2008. Vol. 7, N 6. P. 514-524.
188. Lothman E.W., Bertram E.H. 3rd, Stringer J.L. Functional anatomy of hippocampal seizures. *Prog Neurobiol.* 1991. Vol. 37, N 1. P. 1-82.
189. Lothman E.W., Williamson J.M. Influence of electrical stimulus parameters on afterdischarge thresholds in the rat hippocampus. *Epilepsy Res.* 1992. Vol. 13, N 3. P. 205-213.
190. Lothman E.W. Basic mechanisms of the epilepsies. *Curr Opin Neurol Neurosurg.* 1992. Vol. 5, N 2. P. 216-223.
191. Assessment of inhibition and epileptiform activity in the septal dentate gyrus of freely behaving rats during the first week after kainate treatment / Hellier J.L., Patrylo P.R., Dou P., Nett M., Rose G.M., Dudek F.E. // *J Neurosci.* 1999. Vol. 19, N 22. P. 10053-64.
192. Stafstrom C.E., Thompson J.L., Holmes G.L. Kainic acid seizures in the developing brain: status epilepticus and spontaneous recurrent seizures. *Brain Res Dev Brain Res.* 1992. Vol. 65, N 2. P. 227-36.
193. A new model of chronic temporal lobe epilepsy induced by electrical stimulation of the amygdala in rat / Nissinen J., Halonen T., Koivisto E., Pitkänen A. *Epilepsy Res.* 2000. Vol. 38, N 2-3. P. 177-205.
194. Circuit mechanisms of seizures in the pilocarpine model of chronic epilepsy: cell loss and mossy fiber sprouting / L. E. Mello, E. A. Cavalheiro, A. M. Tan [et al.]. *Epilepsia.* 1993. Vol. 34, N 6. P. 985-995.

195. Lemos T, Cavalheiro EA. Suppression of pilocarpine-induced status epilepticus and the late development of epilepsy in rats. *Exp Brain Res.* 1995. Vol. 102, N 3. P. 423-8.
196. The course of untreated seizures in the pilocarpine model of epilepsy / Arida R.M., Scorza F.A., Peres C.A., Cavalheiro E.A. *Epilepsy Res.* 1999. Vol. 34, N 2. P. 99-107.
197. Neuronal cell death in a rat model for mesial temporal lobe epilepsy is induced by the initial status epilepticus and not by later repeated spontaneous seizures / Gorter J.A., Gonçalves Pereira P.M., van Vliet E.A., Aronica E., Lopes da Silva F.H., Lucassen P.J. *Epilepsia.* 2003. Vol. 44, N 5. P. 647-58.
198. Progression of spontaneous seizures after status epilepticus is associated with mossy fibre sprouting and extensive bilateral loss of hilar parvalbumin and somatostatin-immunoreactive neurons / Gorter J.A., van Vliet E.A., Aronica E., Lopes da Silva F.H. // *Eur J Neurosci.* 2001. Vol. 13, N 4. P. 657-69.
199. Selective and persistent upregulation of *mdr1b* mRNA and P-glycoprotein in the parahippocampal cortex of chronic epileptic rats / van Vliet E., Aronica E., Redeker S., Marchi N., Rizzi M., Vezzani A., Gorter J. *Epilepsy Res.* 2004. Vol. 60, N 2-3. P. 203-13.
200. Loss and sprouting of nitric oxide synthase neurons in the human epileptic hippocampus / Leite J.P., Chimelli L., Terra-Bustamante V.C., Costa E.T., Assirati J.A., de Nucci G., Martins A.R. *Epilepsia.* 2002. Vol. 43, Suppl 5. P. 235-42.
201. Elwes R.D., Chesterman P., Reynolds E.H. Prognosis after a first untreated tonic-clonic seizure. *Lancet.* 1985. Vol. 2. P. 752-3.
202. Elwes R.D. The course of untreated epilepsy / R.D. Elwes, A.L. Johnson, E.H. Reynolds. *BMJ.* 1988. Vol. 297. P. 948-50.
203. Early treatment of a single generalized tonic-clonic seizure to prevent recurrence / R. Gilad., Y. Lampl, U. Gabbay, Y. Eshel, I. Sarova-Pinhas. *Arch Neurol.* 1996. Vol. 11. P. 1149-52.

204. Bertram E.H., Cornett J.F. The evolution of a rat model of chronic spontaneous limbic seizures. *Brain Res.* 1994. Vol. 661. P. 157-62.
205. Cyclicity of spontaneous recurrent seizures in pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in rat / K. Goffin, J. Nissinen, K. Van Laere, A. Pitkänen. *Exp Neurol.* 2007. Vol. 205. P. 501-5.
206. Use of chronic epilepsy models in antiepileptic drug discovery: the effect of topiramate on spontaneous motor seizures in rats with kainate-induced epilepsy / H.L. Grabenstatter, D.J. Ferraro, P.A. Williams, P.L.Chapman, F.E. Dudek. *Epilepsia.* 2005. Vol. 46. P. 8-14.
207. Hippocampal interneuron loss and plasticity in human temporal lobe epilepsy / N.C. de Lanerolle, J.H. Kim, R.J. Robbins, D.D. Spencer. *Brain Res.* 1989. Vol. 495. P. 387-95.
208. Margerison J.H., Corsellis J.A. Epilepsy and the temporal lobes. A clinical, electroencephalographic and neuropathological study of the brain in epilepsy, with particular reference to the temporal lobes. *Brain.* 1966. Vol. 89. P. 499-530.
209. Sloviter R. S. Permanently altered hippocampal structure, excitability and inhibition after experimental status epilepticus in the rat: the 'dormant basket cell' hypothesis and its possible relevance to temporal lobe epilepsy. *Hippocampus.* 1991. Vol. 1, N 1. P. 41-46.
210. The dentate gyrus as a regulated gate for the propagation of epileptiform activity / U. Heinemann, H. Beck, J.P. Dreier, E. Ficker, J. Stabel, C.L. Zhang. *Epilepsy Res Suppl.* 1992. Vol. 7. P. 273-80.
211. Chronic epilepsy with damage restricted to the hippocampus: possible mechanisms / C.G. Wasterlain, Y. Shirasaka, A.M. Mazarati, I. Spigelman. *Epilepsy Res.* 1996. Vol. 26. P. 55-65.
212. Golarai G., Sutula T.P. Functional alterations in the dentate gyrus after induction of long-term potentiation, kindling, and mossy fiber sprouting. *J Neurophysiol.* 1996. Vol. 75. P. 343-53.



213. NMDA receptor-dependent plasticity of granule cell spiking in the dentate gyrus of normal and epileptic rats / Lynch M., Sayin U., Golarai G., Sutula T. *J Neurophysiol.* 2000. Vol. 84. P. 2868-79.
214. Longo B.M., Mello L.E. Blockade of pilocarpine- or kainate-induced mossy fiber sprouting by cycloheximide does not prevent subsequent epileptogenesis in rats. *Neurosci Lett.* 1997. Vol. 226. P. 163-6.
215. GABAergic neurons containing the Ca<sup>2+</sup>-binding protein parvalbumin in the rat hippocampus and dentate gyrus / Kosaka T., Katsumaru H., Hama K., Wu J.Y., Heizmann C.W. *Brain Res.* 1987. Vol. 419. P. 119-30.
216. Freund T.F., Buzsáki G. Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus.* 1996. Vol. 6. P. 347-470.
217. Facilitation of olfactory bulb kindling after specific destruction of serotonergic terminals in the olfactory bulb of the rat / M. Lerner-Natoli, G. Rondouin, A. Malafosse, F. Sandillon, A. Privat, M. Baldy-Moulinier. *Neurosci Lett.* 1986 Vol.66. P. 299-304
218. Pinel J.P., Van Oot P.H. Generality of the kindling phenomenon: some clinical implications. *Can J Neurol Sci.* 1975. Vol. 4. P. 467-75.
219. Pinel J.P., Rovner L.I. Experimental epileptogenesis: kindling-induced epilepsy in rats. *Exp Neurol.* 1978. Vol. 58. P. 190-202.
220. Development of spontaneous seizures over extended electrical kindling. II. Persistence of dentate inhibitory suppression / N.W. Milgram, M. Michael, S. Cammisuli, E. Head [et al.] *Brain Res.* 1995. Vol. 670. P. 112-20.
221. Spontaneous seizures and loss of axo-axonic and axo-somatic inhibition induced by repeated brief seizures in kindled rats / U. Sayin, S. Osting, J. Hagen, P. Rutecki, T. Sutula. *J Neurosci.* 2003. Vol. 23. P. 759-68.
222. Brandt C., Ebert U., Löscher W. Epilepsy induced by extended amygdala-kindling in rats: lack of clear association between development of spontaneous seizures and neuronal damage. *Epilepsy Res.* 2004. Vol. 62. P. 135-56.

223. Rajasekaran K., Kapur J., Bertram E.H. Alterations in GABA(A) receptor mediated inhibition in adjacent dorsal midline thalamic nuclei in a rat model of chronic limbic epilepsy. *J Neurophysiol.* 2007. Vol. 98. P. 2501-8.
224. Baba H., Wada J.A. Reciprocal inhibition between seizures induced by intermittent light stimulation and premotor cortical stimulation in Senegalese baboons, *Papio papio*. *Epilepsia.* 1987. Vol. 28. P. 645-50.
225. Gotman J. Relationships between triggered seizures, spontaneous seizures, and interictal spiking in the kindling model of epilepsy. *Exp Neurol.* 1984. Vol. 84. P. 259-73.
226. Wauquier A., Ashton D., Melis W. Behavioral analysis of amygdaloid kindling in beagle dogs and the effects of clonazepam, diazepam, phenobarbital, diphenylhydantoin, and flunarizine on seizure manifestation. *Exp Neurol.* 1979. Vol. 64. P. 579-86
227. Cavazos J.E., Jones S.M., Cross D.J. Sprouting and synaptic reorganization in the subiculum and CA1 region of the hippocampus in acute and chronic models of partial-onset epilepsy. *Neuroscience.* 2004. Vol. 126. P. 677-88.
228. Engel J. Jr. Introduction to temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* 1996. Vol.26. P. 141-150.
229. Fisher P.D., Sperber E.F., Moshé S.L. Hippocampal sclerosis revisited. *Brain Dev.* 1998. Vol. 20. P. 563-73.
230. Benefits and risks of intranigral transplantation of GABA-producing cells subsequent to the establishment of kindling-induced seizures / M.W. Nolte, W. Löscher, C. Herden, W.J. Freed, M. Gernert. *Neurobiol Dis.* 2008. Vol. 31. P. 342-54.
231. "Dormant basket cell" hypothesis revisited: relative vulnerabilities of dentate gyrus mossy cells and inhibitory interneurons after hippocampal status epilepticus in the rat / R.S. Sloviter, C.A. Zappone, B.D. Harvey [et al.]. *J Comp Neurol.* 2003. Vol. 459. P. 44-76.
232. Margerison J.H., Corsellis J.A. Epilepsy and the temporal lobes. A clinical, electroencephalographic and neuropathological study of the brain in epilepsy,

- with particular reference to the temporal lobes. *Brain*. 1966. Vol. 89. P. 499-530.
233. Molecular neuropathology of human mesial temporal lobe epilepsy / I. Blümcke, H. Beck, A.A. Lie, O.D. Wiestler. *Epilepsy Res*. 1999. Vol. 36. P. 205-23.
234. Sayin U., Rutecki P.A. Group I metabotropic glutamate receptor activation produces prolonged epileptiform neuronal synchronization and alters evoked population responses in the hippocampus. *Epilepsy Res*. 2003. Vol. 53. P. 186-95.
235. Which insights have we gained from the kindling and post-status epilepticus models? / J.A. Gorter, E.A. van Vliet, F.H. Lopes da Silva. *J Neurosci Methods*. 2015. Vol. 15. P. 165-270.
236. Marsh L., Rao V. Psychiatric complications in patients with epilepsy: a review. *Epilepsy Res*. 2002. Vol. 49. P. 11-33.
237. Kanner A.M. Psychiatric issues in epilepsy: the complex relation of mood, anxiety disorders, and epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2009. Vol. 15. P. 3-7.
238. Вастьянов Р. С., Копьёва Н. В. Патофизиологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса. *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2009. № 5. С. 33 – 41.
239. Kalynchuk L.E. Pinel J.P., Treit D. Long-term kindling and interictal emotionality in rats: effect of stimulation site. *Brain Res*. 1998. Vol. 779. P. 149-57.
240. Persistence of the interictal emotionality produced by long-term amygdala kindling in rats / L.E. Kalynchuk, J.P. Pinel, D. Treit, S.J. Barnes [et al.]. *Neuroscience*. 1998. Vol. 85. P. 1311-9.
241. Causes and consequences of pathogenic processes in evolution: implications from experimental epilepsy in animals / L. S. Godlevsky, G. van Luijtelaa, A. A. Shandra, A. M. L. Coenen. *Medical Hypothesis (Lond.)*. 2002. Vol. 58, N 3. P. 237-243.

242. Shandra A. A., Godlevsky L. S., Vastyanov R. S. Epileptic and antiepileptic systems interrelation as the systemic indicator of the complexity of epileptic activity manifestation. *Pan-Brain Abnormal Neural Network in Epilepsy / Ed. by Feng Ru Tang/*. 2009. P. 99-120.
243. Gloor P. Preoperative electroencephalographic investigation in temporal lobe epilepsy: extracranial and intracranial recordings. *Can J Neurol Sci*. 1991. Vol. 18. P. 554-8.
244. Волошин М. Я. Электрофизиологические методы исследования головного мозга в эксперименте. – К.: *Наукова думка* 1987. 192 с.
245. Ноздрачев А. Д., Поляков Е. Л., Гнетов А. В. Исследование функций головного мозга. - Л.: *Изд-во Ленинградского университета*. 1987. 160с.
246. Письмо комиссии по проблеме этики отношения к животным. *Успехи физиол. наук*. 1993. Т. 24, № 4. С. 108.
247. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. *Высшая школа*, - М.: 1991. 400 с.
248. Racine R. J. Modification of seizure activity by electrical stimulation. I. After-discharge threshold. *EEG Clin. Neurophysiol*. 1972. Vol. 32, N 3. P. 269-279.
249. Kruger L., Saporta S., Larry W. Photographic Atlas of the Rat Brain the Cell and Fiber Architecture Illustrated in Three Planes With Stereotaxic Coordinates: A Photographic Guide to the Cell and Fiber Architecture of the Rat Brain Illustrated in Three Planes With Stereotaxic Coordinates. *Cambridge University Press*. 1995. P. 299.
250. Шабанов П. Д., Лебедев А. А. Зоосоциальное поведение крыс. *Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии*. 2007. №3. С. 2-79.
251. Вероятностные характеристики поведения крыс в условиях "открытого поля" / Н. С. Лазаренко, Е. С. Лазаренко, И. О. Забродин, Г. А. Вартанян. *Журн. высш. нерв. деят.* 1982. Т. 32, № 6. С. 1096-1103.
252. Мамылина Н. В. Анализ поведенческой активности экспериментальных животных, перенесших эмоционально-болевого стресс. *Современные проблемы науки и образования*. 2011. № 5. – Режим доступа:

www.scienceeducation.ru/99-4922. – Дата доступа: 17.11.2012.

253. The effect of amygdala kindling on spontaneous and cocaine-induced motor activity and lidocaine seizures / R.M. Post, K.M. Squillace, A. Pert, W. Sass. *Psychopharmacology (Berl)*. 1981. Vol. 72, N. 2. P. 189-96.
254. Pellow S. Can drug effects on anxiety and convulsions be separated? *Neurosci Biobehav Rev*. 1985. Vol. 9, N. 1. P. 55-73.
255. File S.E., Andrews N. Low but not high doses of buspirone reduce the anxiogenic effects of diazepam withdrawal. *Psychopharmacology (Berl)*. 1991. Vol. 105, N. 4. P. 578-82.
256. Герасимов А. Н. Медицинская статистика. – М. : МИА, 2007. – 480 с.
257. Bureau Y.R., Peredery O., Persinge M.A. Concordance of quantitative damage within the diencephalon and telencephalon following systemic pilocarpine (380 mg/kg) or lithium (3 mEq/kg)/pilocarpine (30 mg/kg) induced seizures. *Brain Res*. 1994. Vol. 648, N. 2. P. 265-269.
258. Negyessy L., Goldman-Rakie P.S. Morphometric characterization of synapses in the primate prefrontal cortex formed by afferents from the mediodorsal thalamic nucleus. *Exp. Brain Res*. 2005. Vol. 164, P. 148-154.
259. Sloan D.M., Bertram E.D. Changes in midline thalamic recruiting responses in the prefrontal cortex of the rat during the development of chronic limbic seizures. *Epilepsia* 2009. Vol. 50, N. 3. P. 556-565.
260. Vertes R.P. Differential projections of the intralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse* 2004. Vol. 51, N. 1. P. 52-58.
261. Behavioral and neurochemical alterations after lithium-pilocarpine administration in young and adult rats: a comparative study / V.M. De Bruin, M.M. Marinho, F.C. De Sousa, G.S. Viana. *Pharmacol Biochem Behav*. 2000. Vol. 65, N 3. P. 547-551.
262. Behavioral, biochemical and histological studies in a model of pilocarpine-induced spontaneous recurrent seizures / J. Szyndler, T. Wierzba-Bobrowicz, A. Skórzewska, P. Maciejak, J. Walkowiak, W. Lechowicz, D. Turzyńska, Bidziński A, Płaźnik A. *Pharmacol Biochem Behav*. 2005. Vol. 81, N 1. P. 15-

- 23.
263. Cognitive functions after pilocarpine-induced status epilepticus: changes during silent period precede appearance of spontaneous recurrent seizures / Hort J., Brożek G., Mares P., Langmeier M., Komárek V. *Epilepsia*. 1999. Vol. 40, N 9. P. 1177-1183.
264. Vazquez B., Devinsky O. Epilepsy and anxiety. *Epilepsy Behav.* 2003. Vol. 4, Suppl. 4. P. 20-25.
265. Multiple pilocarpine-induced status epilepticus in developing rats: a long-term behavioral and electrophysiological study / Santos N.F., Marques R.H., Correia L., Sinigaglia-Coimbra R., Calderazzo L., Sanabria E.R., Cavalheiro E.A. *Epilepsia*. 2000. Vol. 41, Suppl. 6. P.57-63.
266. Albert D.J., Richmond S.E. Reactivity and aggression in the rat: induction by alpha-adrenergic blocking agents injected ventral to anterior septum but not into lateral septum. *J Comp Physiol Psychol*. 1977. Vol. 91, N 4. P. 886-896.
267. Medina L.S., Bernal B., Ruiz J. Role of functional MR in determining language dominance in epilepsy and nonepilepsy populations: a Bayesian analysis. *Radiology*. 2007. Vol. 242, N 1. P. 94-100.
268. S. Riggio Psychiatric manifestations of nonconvulsive status epilepticus. *Mt Sinai J Med*. 2006. Vol. 73, N 7. P. 960-966.
269. Third International Congress on Epilepsy, Brain and Mind: Part 1 / Korczyn A.D., Schachter S.C., Amlerova J. et al. *Epilepsy Behav.* 2015. Vol. 50. P. 116-137
270. Third International Congress on Epilepsy, Brain, and Mind: Part 2 / Rektor I., Schachter S.C., Arya R. et al. *Epilepsy Behav.* 2015. Vol. 50. P. 138-159
271. A comparison of lorazepam, diazepam, and placebo for the treatment of out-of-hospital status epilepticus / Alldredge B.K., Gelb A.M., Isaacs S.M. et al. *N Engl J Med*. 2001. Vol. 345, N 9. P. 631-637
272. Ferraro T.N., Dlugos D.J, Buono R.J. Challenges and opportunities in the application of pharmacogenetics to antiepileptic drug therapy. *Pharmacogenomics*. 2006. Vol. 7, N 1. P. 89-103

273. Beyenburg S. Current pharmacotherapy of epilepsy in adults. *Bull Soc Sci Med Grand Duche Luxemb.* 2005. Vol. 3. P. 263-281.
274. Derakhshan I. Nonconvulsive status epilepticus with an unusual EEG: a fresh look at lateralities of motor control and awareness. *Epilepsy Behav.* 2006. Vol. 9, N 1. P. 204-210.
275. Ettinger A.B., Kustra R.P., Hammer A.E. Effect of lamotrigine on depressive symptoms in adult patients with epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2007. Vol. 10, N 1. P. 148-154
276. Chen J.W., Naylor D.E., Wasterlain C.G. Advances in the pathophysiology of status epilepticus. *Acta Neurol Scand.* 2007. Vol. 187, Suppl. P. 7-15
277. Brain injury-induced enhanced limbic epileptogenesis: anatomical and physiological parallels to an animal model of temporal lobe epilepsy / Coulter D.A., Rafiq A., Shumate M. et al. *Epilepsy Res.* 1996. Vol. 26, N 1. P. 81-91.
278. Löscher W. Animal models of drug-resistant epilepsy. *Novartis Found Symp.* 2002. Vol. 243. P. 149-159
279. de Curtis M., Avanzini G. Interictal spikes in focal epileptogenesis *Prog Neurobiol.* 2001. Vol. 63, N 5. P. 541-567
280. Krnjević K., Ropert N. Septo-hippocampal pathway modulates hippocampal activity by a cholinergic mechanism *Can J Physiol Pharmacol.* 1981. Vol. 59, N 8. P. 911-914
281. Handforth A., Treiman D.M. Functional mapping of the late stages of status epilepticus in the lithium-pilocarpine model in rat: a 14C-2-deoxyglucose study *Neuroscience.* 1995. Vol. 64, N 4. P. 1075-1089.
282. Handforth A., Treiman D.M. Functional mapping of the early stages of status epilepticus: a 14C-2-deoxyglucose study in the lithium-pilocarpine model in rat. *Neuroscience.* 1995. Vol. 64, N 4. P. 1057-1073.
283. Hippocampal abnormalities after prolonged febrile convulsion: a longitudinal MRI study / Scott R.C., King M.D., Gadian D.G. et al. *Brain.* 2003. Vol. 126, N 11. P. 2551-2557.
284. Карамышев В. Д. Функциональные взаимоотношения структур

лимбической системы в процессе инициации судорожной активности (экспериментальное исследование). — Автореф. дис... канд. мед. наук. — Харьков, 1974. 20 с.

285. Brenner R.P. EEG in convulsive and nonconvulsive status epilepticus. *J Clin Neurophysiol.* 2004. Vol. 21, N 5. P. 319-331.
286. Role of the amygdala and periaqueductal gray in anxiety and panic / Graeff FG, Silveira M.C., Nogueira R.L. et al. *Behav Brain Res.* 1993. Vol. 58, N 1-2. P. 123-131
287. Harrigan T., Peredery O., Persinger M. Radial maze learning deficits and mediodorsal thalamic damage in context of multifocal seizure-induced brain lesions. *Behav Neurosci.* 1991. Vol. 105, N 3. P. 482-6.
288. Lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in immature rats result in long-term deficits in spatial learning and hippocampal cell loss / Wu C.L., Huang L.T., Liou C.W. et al. *Neurosci Lett.* 2001. Vol. 312, N 2. P. 113-117.
289. Wolf D.C., Bueno-Junior L.S., Lopes-Aguiar C. et al. The frequency of spontaneous seizures in rats correlates with alterations in sensorimotor gating, spatial working memory, and parvalbumin expression throughout limbic regions. *Neuroscience* 2016. Vol. 312. P. 86-98.
290. Kalemenev S.V., Zubareva O.E., Frolova E.V. et al. Impairment of exploratory behavior and spatial memory in adolescent rats in lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Dokl Biol Sci.* 2015. Vol. 463. P.175-7
291. Scheepers M., Kerr M. Epilepsy and behavior. *Curr Opin Neurol.* 2003. Vol. 16, N 2. P. 183-187.
292. Löscher W., Schmidt D. New Horizons in the development of antiepileptic drugs: Innovative strategies. *Epilepsy Res.* 2006. Vol. 69, N 3. P. 183-272.



## ДОДАТКИ

## ДОДАТОК А

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:

1. Шандра О. А., Копйова Н. В. Патофизиологические механизмы развития спонтанной судорожной активности. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2008. № 2 (14). С. 7–17. *Внесок дисертанта: участь в розробці загальної концепції теми та схеми проведення наукової роботи*
2. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Особенности эмоциональной поведенки щурів в динаміці розвитку пілокарпін-спричинених спонтанних судом. *Український медичний альманах*. 2009. Т. 12, № 1. С. 28–33. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, аналіз та статистична обробка результатів, оформлення статті до друку.*
3. Копйова Н. В. Спонтанна судомна активність за умов пілокарпін-індукованого епілептичного статусу: характеристика моделі. *Досягнення біології та медицини*. 2009. № 1 (13). С. 17–23.
4. Копйова Н. В. Динаміка формування когнитивних дисфункцій як одна з характеристик моделі спонтанних судом за умов пілокарпін-спричиненої хронічної епілепсії. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2009. Т. 9, вип. 2 (26). С. 62-66. (Питання експериментального використання лабораторних тварин у медицині, біології, ветеринарії: статті Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Полтава, 2009 р.).
5. Копйова Н. В. Дослідження рухової та емоційної поведінки щурів за умов пілокарпін-індукованої моделі спонтанних судом. *Український медичний альманах*. 2009. Т. 12, № 2, додаток. С. 102–104.
6. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Патофизиологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса. *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2009. № 3 (17). С. 135-145. *Внесок дисертанта: підготовка огляду*

літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення статті до друку.

7. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Дослідження ролі серединних ядер таламусу в механізмах розвитку спонтанних судом. *Перспективи медицини і біології*. 2010. Т. 2, № 2. С. 28-30. *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення статті до друку*

8. Вастьянов Р. С., Копьева Н. В. Различные эффекты некоторых противосудорожных препаратов в условиях пилокарпин-вызванных спонтанных судорог. *Український медичний альманах*. 2010. Т. 13, № 4. С. 24–26. (Актуальні питання соматоневрології: матеріали наук.-практ. конф., м. Луганськ, 28-29 жовтня 2010 р.). *Внесок дисертанта: участь в розробці загальної концепції наукової роботи, оформлення статті до друку*.

9. Kopyyova N. V. Roles of the Frontal Cortex and Subcortical Structures in the Mechanisms Underlying the Development of Pilocarpine-Induced Seizures in Rats. *Neurophysiology*. 2014. Vol. 46, N 3. P. 281-283.

10. Копйова Н. В., Ляшенко С. Л., Топал М. М. Дослідження патогенетичних механізмів спонтанних судом за умов пілокарпін-спричиненої моделі хронічного судомного синдрому. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015. Vol. 5, N 8. P. 159-176. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, участь в оцінці результатів, оформлення статті до друку*.

11. Копйова Н. В. Особливості моделі спонтанних, хронічних судом, індукованих пілокарпіном. *Бюлетень VI читань ім. В.В. Подвисоцького, присвячених до 150-річчя з дня народження*, м. Одеса, 31 трав.- 1 черв. 2007 р. Одеса, 2007. С. 79–80.

12. Дизрегуляторные механизмы хронической эпилептической активности / Шандра А. А., Денисенко О. В., Копьёва Н. В., Кащенко О. А. *Патогенез*. 2007. Приложение 1. С. 26. (Тезисы Объединенного пленума Российского и Московского научных обществ патофизиологов, посвященный 85-летию академика Крыжановского Г. Н., г. Москва, 13–14 ноября 2007 г.).

*Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, участь у систематизації та оформленні тез до друку.*

13. Роль эпилептогенных систем в развитии хронической эпилептической активности / Шандра А. А., Копйова Н. В., Вастьянов Р. С., Кащенко О. А. *Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти*. 2008. Т. 4, № 1 (додаток). С. 71. (Матеріали IV конф. Україн. товариства нейронаук, присв. 100-літтю з дня народж. ак. НАН України П.М. Серкова, м. Донецьк, 10–12 червня 2008 р.). *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку.*

14. Шандра А. А., Копьёва Н. В. Электрографическая характеристика самопроизвольных отсроченных судорог у крыс в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса. *Патологія*. 2008. Т. 5, № 2. С. 84. (Матеріали V націон. конгресу патофізіологів України «Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів», м. Запоріжжя, 17–19 вересня 2008 р.). *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку.*

15. Vastyanov R., Kopyova N., Shandra A. Antiepileptic effect of high-frequency stimulation and bilateral anterior thalamic nucleus lesions on pilocarpine-induced status epilepticus and spontaneous seizures. *Abstracts from the 8<sup>th</sup> Eur. Congr. on Epileptology*. Berlin, 21–25 September 2008. P. 193–194. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів.*

16. Копьёва Н. В. Патолофизиологические механизмы отсроченных пилокарпин-вызванных спонтанных судорог. *Актуальные проблемы клинической неврологии: материалы всерос. юбил. науч.-практ. конф., посв. 85-летию проф. Лобзина В. С., г. Санкт-Петербург, 29-30 сент. 2009 г. СПб., 2009*. С. 212–213.

17. Копйова Н. В. Дослідження механізмів розвитку спонтанної судомної активності за умов пілокарпін-ідукованих судом. *Фізіологічний журнал*. 2010.

Т. 56, № 2. С. 38–39. (Матеріали XVIII з'їзду Українського фізіологічного товариства з міжнар. участю, м. Одеса, 20–22 трав. 2010 р.)

18. Копйова Н. В. Модель пілокарпін-індукованих спонтанних відстрочених судом в якості методики вивчення патофізіологічних механізмів хронічного епілептогенезу. *Сучасні проблеми атеросклерозу – від гіпотез до фактів*: тези доповідей VII Південноукраїнської наук.-практ. конф., м. Одеса, 11 квітня 2012 р. Одеса., 2012. С. 119.

19. Копйова Н. В. Характеристика пілокарпін-спричинених відтермінованих спонтанних судом у щурів. *Бюллетень XI чтений им. В.В. Подвысоцкого*, г. Одесса, 24-25 мая 2012 г. Одесса, 2012. С. 74–75.

20. Копйова Н. В., Топал М. М. Дослідження електричної активності мозку щурів за умов пілокарпін-індукованого хронічного судомного синдрому. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини*: тези наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присв. 100-річчю з дня народження К. Д. Двужильної, м. Одеса 2013 р. Одеса, 2013. С. 45. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення результатів, виступ з доповіддю на конференції.*

21. Копйова Н. В. Провідна роль вентрального гіпокампу в регуляції збудливості мозку в умовах пілокарпін-індукованих спонтанних судом. *Фізіологічний журнал*. 2014. Т. 60, № 3 (додаток). С. 40. (Тези доповідей XIX з'їзду Українського фізіолог. тов. ім. П.Г. Костюка з міжнар. участю, присв. 90-річчю від дня народження ак. П.Г. Костюка, м. Київ, 26-29 трав. 2014 р.)

22. Копйова Н. В. З'ясування патофізіологічної ролі фронтальної кори мозку та підкіркових утворень в механізмах розвитку спонтанних пілокарпін-індукованих судом. *Тези доповідей VI міжн. конгр. укр. товариства нейронаук, присв. 90-річчю академіка НАН України та НАМН України П. Г. Костюка*, м. Київ, 4-8 червня 2014 р. К., 2014. С. 76.

## ДОДАТОК Б

## АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні матеріали і положення дисертаційної роботи представлені на:

1. Міжнародній науково-практичній конференції VI читаннях ім. В.В. Подвисоцького (м. Одеса, 31 трав.- 1 черв. 2007 р.). Форма участі - стендова доповідь та публікація тез.

2. Об'єднаному пленумі Російського і Московського наукових товариств патофізіологів «Дизрегуляционная патология», присв. 85-річчю з дня народження академіка Г. М. Крижановського (м. Москва, 13–14 листопада 2007 р.). Форма участі - публікація тез.

3. IV конференції Українського товариства нейронаук, присв. 100-літтю з дня народження академіка НАН України П.М. Серкова (м. Донецьк, 10–12 червня 2008 р.). Форма участі - публікація тез.

4. V національному Конгресі патофізіологів України з міжнародною участю “Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів” (м. Запоріжжя, 17–19 вересня 2008 р.). Форма участі - публікація тез.

5. 8 Європейському Конгресі з епілептології (м. Берлін, 21–25 вересня 2008). Форма участі - публікація тез.

6. Всеросійській Ювілейній науково-практичній конференції «Актуальные проблемы клинической неврологии», присвяченій 85-річчю з дня народження професора В. С. Лобзіна (м. Санкт-Петербург, 29-30 вересня 2009 р.). Форма участі - публікація тез.

7. Науково-практичній конференції «Актуальні питання соматоневрології» (м. Луганськ, 28-29 жовтня 2010 р.). Форма участі - виступ та публікація тез.

8. XVIII-му з'їзді Українського фізіологічного товариства (м. Одеса, 20–22 трав. 2010 р.). Форма участі - публікація тез.

9. VII Південноукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні проблеми атеросклерозу - від гіпотез до фактів» (м. Одеса, 11 квітня 2012 р.). Форма участі - публікація тез.

10. Міжнародній науково-практичній конференції XI читаннях ім. В.В. Подвисоцького (м. Одеса, 24-25 травня 2012 р.). Форма участі - стендова доповідь та публікація тез.

11. Науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 100-річчю з дня народження К. Д. Двужильної «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини» (м. Одеса, 2013) Форма участі - стендова доповідь та публікація тез.

12. XIX з'їздах Українського фізіологічного товариства (м. Київ, 26-29 трав. 2014 р.). Форма участі - публікація тез.

13. VI Конгресі Українського товариства нейронаук, присв. 90-річчю академіка НАН України П. Г. Костюка (м. Київ, 4-8 червня 2014 р.). Форма участі - стендова доповідь та публікація тез.

ДОДАТОК В  
АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з науково-педагогічної  
(навчальної) роботи Вінницького  
національного медичного університету  
ім. М. І. Пирогова МОЗ України,  
д.мед.н., професор

Гумінський Ю. Й.

11 \_\_\_\_\_ 2014 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

**матеріалів наукових досліджень Копйової Н. В. в учбовий процес**


1. **Назва впровадження:** Патогенетична роль холінергічних механізмів в розвитку відстрочених пілокарпін-спричинених судом
2. **Установа-розробник, автор:** Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології, асистент Копйова Н. В.
3. **Джерело інформації:** 1) Копьёва Н. В. Патофизиологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копьёва // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2009. – №3 (17). – С.135-145; 2) Копйова Н. В. Дослідження ролі серединних ядер таламусу в механізмах розвитку спонтанних судом / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копйова // Перспективи медицини і біології. – 2010. – Т. 2, №2. – С. 28-30; 3) Kopyova N. V. Roles of the Frontal Cortex and Subcortical Structures in the Mechanisms Underlying the Development of Pilocarpine-Induced Seizures in Rats / N. V. Kopyova // Neurophysiology. – 2014. - Vol. 46, N 3. – P. 281-283.
4. **Де впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова при проведенні лекційного курсу та практичних занять за темою «Патологічна фізіологія нервової системи».
5. **Терміни впровадження:** 2014-2015 навч. рік
6. **Результати впровадження:** Використання результатів наукових досліджень Копйової Н. В. в навчальному дозволяє розширити знання студентів про патофізіологічні механізми кіндлінг-індукованої епілептиформної активності.
7. **Зауваження та пропозиції:** Немає.
8. **Затверджено** на засіданні кафедри 11. 11 2014 р., протокол № 6

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова  
д.мед.н., доцент

Рикало Н. А.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор  
Івано-Франківського національного  
медичного університету д.біол.н., проф. Ерстенюк Г.М.

«24» \_\_\_\_\_ 2014 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Назва впровадження:** Патогенетична роль холінергічних механізмів в розвитку відстрочених пілокарпін-спричинених судом.
2. **Установа-розробник, автор:** Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології, асистент Копйова Н. В.
3. **Джерело інформації:** 1) Копйова Н. В. Патофизиологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копйова // Актуальные проблемы транспортной медицины. - 2009. - №3 (17). —С. 135-145; 2) Копйова Н. В. Дослідження ролі серединних ядер таламусу в механізмах розвитку спонтанних судом / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копйова // Перспективи медицини і біології. - 2010. - Т. 2, №2. - С. 28-30; 3) Kopyova N. V. Roles of the Frontal Cortex and Subcortical Structures in the Mechanisms Underlying the Development of Pilocarpine-Induced Seizures in Rats / N. V. Kopyova // Neurophysiology. - 2014. - Vol. 46, N 3. - P. 281-283.
4. **Де впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету при проведенні лекційного курсу та практичних занять за темою «Патологічна фізіологія нервової системи».
5. **Терміни впровадження:** 2014-2015 р.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів наукових досліджень Копйової Н. В. в навчальному дозволяє розширити знання студентів про патофізіологічні механізми кіндлінг-індукованої епілептиформної активності.
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
8. **Затверджено** на засіданні кафедри 24.11.2014 р., протокол №20.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології,  
д.мед.н., професор

Л.М.Заяць



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-методичної роботи  
Запорізького державного медичного  
університету МОЗ України  
професор

« 15 » 10



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Копйової Н. В. в учбовий процес

1. **Назва впровадження:** Патогенетична роль холінергічних механізмів в розвитку відстрочених пілокарпін-спричинених судом
2. **Установа-розробник, автор:** Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології, асистент Копйова Н. В.
3. **Джерело інформації:** 1) Копьёва Н. В. Патофизиологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копьёва // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2009. – №3 (17). – С.135-145; 2) Копйова Н. В. Дослідження ролі серединних ядер таламусу в механізмах розвитку спонтанних судом / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копйова // Перспективи медицини і біології. – 2010. – Т. 2, №2. – С. 28-30; 3) Kopyyova N. V. Roles of the Frontal Cortex and Subcortical Structures in the Mechanisms Underlying the Development of Pilocarpine-Induced Seizures in Rats / N. V. Kopyyova // Neurophysiology. – 2014. - Vol. 46, N 3. – P. 281-283.
4. **Де впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету при проведенні лекційного курсу та практичних занять за темою «Патологічна фізіологія нервової системи».
5. **Терміни впровадження:** 2014-2015 навч. рік
6. **Результати впровадження:** Використання результатів наукових досліджень Копйової Н. В. в навчальному дозволяє розширити знання студентів про патофізіологічні механізми хронічного судомного синдрому.
7. **Зауваження та пропозиції:** Немає.
8. **Затверджено** на засіданні кафедри 15. 10 2014 р., протокол № 4

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри патологічної фізіології  
Запорізького державного медичного університету  
д.мед.н., професор

Ганчева О. В.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Одеського національного медичного  
університету МОЗ України,  
д.мед.н., професор

Бажора Ю. І.

08 2014 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ****матеріалів наукових досліджень Копйової Н. В. в учбовий процес**

1. **Назва впровадження:** Роль холінергічних механізмів в регуляції процесів збудливості головного мозку за умов пілокарпін-індукованих судом
2. **Установа-розробник, автор:** Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології, асистент Копйова Н. В.
3. **Джерело інформації:** 1) Копьёва Н. В. Патологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копьёва // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2009. – №3 (17). – С.135-145; 2) Копйова Н. В. Дослідження ролі серединних ядер таламусу в механізмах розвитку спонтанних судом / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копйова // Перспективи медицини і біології. – 2010. – Т. 2, №2. – С. 28-30; 3) Kopyova N. V. Roles of the Frontal Cortex and Subcortical Structures in the Mechanisms Underlying the Development of Pilocarpine-Induced Seizures in Rats / N. V. Kopyova // Neurophysiology. – 2014. - Vol. 46, N 3. – P. 281-283.
4. **Де впроваджено:** На кафедрі фізіології Одеського національного медичного університету при проведенні лекційного курсу та практичних занять за темою «Фізіологія центральної нервової системи».
5. **Терміни впровадження:** 2014-2015 навч. рік
6. **Результати впровадження:** Використання результатів наукових досліджень Копйової Н. В. в навчальному дозволяє розширити знання студентів про роль холінергічних механізмів в регуляції процесів збудливості головного мозку за умов пілокарпін-індукованих судом
7. **Зауваження та пропозиції:** Немає.
8. **Затверджено** на засіданні кафедри 28 серпня 2014 р., протокол № 1.

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри фізіології  
Одеського національного медичного університету  
д.мед.н., доцент

Вастьянов Р. С.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з науково-педагогічної роботи  
Одеського національного медичного  
університету МОЗ України,  
д.мед.н., професор

Бажора Ю. І.

2014 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Копйової Н. В. в учбовий процес

1. **Назва впровадження:** Патогенетична роль холінергічних механізмів в розвитку відстрочених пілокарпін-спричинених судом
2. **Установа-розробник, автор:** Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології, асистент Копйова Н. В.
3. **Джерело інформації:** 1) Копьёва Н. В. Патофизиологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копьёва // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2009. – №3 (17). – С.135-145; 2) Копйова Н. В. Дослідження ролі серединних ядер таламусу в механізмах розвитку спонтанних судом / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копйова // Перспективи медицини і біології. – 2010. – Т. 2, №2. – С. 28-30; 3) Kopyova N. V. Roles of the Frontal Cortex and Subcortical Structures in the Mechanisms Underlying the Development of Pilocarpine-Induced Seizures in Rats / N. V. Kopyova // Neurophysiology. – 2014. - Vol. 46, N 3. – P. 281-283.
4. **Де впроваджено:** На кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету при проведенні лекційного курсу та практичних занять за темою «Патологічна фізіологія нервової системи».
5. **Терміни впровадження:** 2014-2015 навч. рік
6. **Результати впровадження:** Використання результатів наукових досліджень Копйової Н. В. в навчальному дозволяє розширити знання студентів про патофізіологічні механізми кіндлінг-індукованої епілептиформної активності.
7. **Зауваження та пропозиції:** Немає.
8. **Затверджено** на засіданні кафедри 14.09 2014 р., протокол № 2

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної  
фізіології Одеського національного медичного університету  
д.мед.н., доцент

Савицький І. В.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Директор з науково-педагогічної роботи  
Одеського національного медичного  
університету, МОЗ України,  
д.мед.н., професор

Бажора Ю. І.

2014 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Копйової Н. В. в учбовий процес

1. **Назва впровадження:** Патогенетична роль холінергічних механізмів в розвитку відстрочених пілокарпін-спричинених судом
2. **Установа-розробник, автор:** Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології, асистент Копйова Н. В.
3. **Джерело інформації:** 1) Копьёва Н. В. Патологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копьёва // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2009. – №3 (17). – С.135-145; 2) Копйова Н. В. Дослідження ролі серединних ядер таламусу в механізмах розвитку спонтанних судом / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копйова // Перспективи медицини і біології. – 2010. – Т. 2, №2. – С. 28-30; 3) Kopyova N. V. Roles of the Frontal Cortex and Subcortical Structures in the Mechanisms Underlying the Development of Pilocarpine-Induced Seizures in Rats / N. V. Kopyova // Neurophysiology. – 2014. - Vol. 46, N 3. – P. 281-283.
4. **Де впроваджено:** На кафедрі неврології Одеського національного медичного університету при проведенні лекційного курсу та практичних занять за темою «Епілепсія і неепілептичні пароксизмальні стани».
5. **Терміни впровадження:** 2014-2015 навч. рік
6. **Результати впровадження:** Використання результатів наукових досліджень Копйової Н. В. в навчальному дозволяє розширити знання студентів про патофізіологічні механізми кіндлінг-індукованої епілептиформної активності.
7. **Зауваження та пропозиції:** Немає.
8. **Затверджено** на засіданні кафедри 05.11 2014 р., протокол № 104

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри неврології  
Одеського національного медичного університету  
д.мед.н., доцент

Стоянов О. М.