

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/370171067>

ON THE ROLE OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α) AND NUCLEAR FACTOR ρ -NF- κ B IN THE PENTYLENETETRAZOLE KINDLING PATHOGENESIS

Article in *Odes'kij medic'nij žurnal (The Odessa Medical Journal)* · January 2023

DOI: 10.54229/2226-2008-2022-1-2-2

CITATIONS

0

READS

35

7 authors, including:



Züleyha Doğanyığıt
Bozok University

79 PUBLICATIONS 389 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Asli Okan
Bozok University

41 PUBLICATIONS 127 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Enes Akyüz
University of Wisconsin-Madison

73 PUBLICATIONS 553 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Olesya B. Poshvyak
Danylo Halytsky Lviv National Medical University

20 PUBLICATIONS 8 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Epilepsy [View project](#)



PC-based automatic laparoscopic diagnostics [View project](#)

УДК 615.213: 616.13-018.74

DOI 10.54229/2226-2008-2022-1-2-2

*Zuleyha Doganyigit¹, Asli Okan¹, Enes Akyuz², Olesya Poshvyak³,
Mykhailo Pervak⁴, Olha Yehorenko⁴, Leonid Godlevsky⁴*

ДО РОЛІ ФАКТОРА НЕКРОЗА ПУХЛИН-А (TNF-А) ТА P-NF-KB В ПАТОГЕНЕЗІ ПЕНТИЛЕНЕТЕТРАЗОВОГО КІНДЛІНГА¹

¹ Університет Йозгат Бозок, Йозгат, Туреччина² Університет наук про здоров'я, Стамбул, Туреччина³ Львівський національний медичний університет, Львів, Україна⁴ Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 615.213: 616.13-018.74

Zuleyha Doganyigit¹, Asli Okan¹, Enes Akyuz², Olesya Poshvyak³, Mykhailo Pervak⁴, Olha Yehorenko⁴, Leonid Godlevsky⁴

ДО РОЛІ ФАКТОРА НЕКРОЗА ПУХЛИН-А (TNF-А) ТА P-NF-KB В ПАТОГЕНЕЗІ ПЕНТИЛЕНЕТЕТРАЗОВОГО КІНДЛІНГА

¹ Університет Йозгат Бозок, Йозгат, Туреччина² Університет наук про здоров'я, Стамбул, Туреччина³ Львівський національний медичний університет, Львів, Україна⁴ Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

Визначення ролі ендогенних нейротропних факторів в якості маркерів хронічної епілептичної активності дозволяє патогенетично обґрунтувати нові підходи до лікування епілепсії. Метою роботи було імуногістохімічне вивчення експресії фактору некрозу пухлин-альфа (TNF- α) та ядерний фактор NF- κ B в тканині дорсального гіпокампу у щурів з кіндлінговими судомами. Кіндлінг викликали у 15 щурів тритижневим застосуванням пентиленететразоля (ПТЗ) в дозі 35.0 мг/кг, в/очер. 20 щурам групи контролю вводили 0.9% фізіологічний розчин NaCl. У 10 щурів цієї групи проводили повне фарбування зрізів з використанням авідин-біотинпероксидазного методу і ще у 10 щурів, які склали групу негативного контролю, проводили фарбування з використанням лише вторинних антитіл. Інтенсивність кольору зрізів мозку групи контролю та кіндлінгу порівнювали з колірністю зрізів мозку групи негативного контролю за допомогою програми «Image J», після чого експресію досліджуваних факторів визначали в умовних одиницях (УО). У щурів з ПТЗ-кіндлінгом рівень TNF- α становив 17.86 ± 0.83 УО і перевищував відповідний показник в групі контролю (4.78 ± 0.14 УО), ($p < 0.001$). Експресія NF- κ B становила 5.24 ± 0.61 проти 1.73 ± 0.07 УО в контролі, ($p < 0.001$). Визначення експресії TNF- α та NF- κ B в лімбічних структурах можливо використовувати в якості маркерів ефективності експериментальних методів лікування хронічної епілепсії.

Ключові слова: судоми, цитокіни, гіпоксія, пентиленететразол, гіпокамп.

UDC 615.213: 616.13-018.74

Zuleyha Doganyigit¹, Asli Okan¹, Enes Akyuz², Olesya Poshvyak³, Mykhailo Pervak⁴, Olha Yehorenko⁴, Leonid Godlevsky⁴

ON THE ROLE OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α) AND NUCLEAR FACTOR P-NF-KB IN THE PENTYLENETETRAZOLE KINDLING PATHOGENESIS

¹ Yozgat Bozok University, Yozgat, Turkey² University of Health Sciences, Istanbul, Turkey³ Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine⁴ Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Determining the role of endogenous factors as markers of chronic epileptic activity allows pathogenetically justifying new approaches to treating epilepsy. The aim of the work was the immunohistochemical study of the expression of the tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and nuclear factor p-NF- κ B in the tissue of the dorsal parts of the hippocampus in rats with kindling seizures. Kindling was produced in 15 rats by three-week i.p. pentylenetetrazole (PTZ, 35.0 mg/kg) administration. 20 control group rats were injected with 0.9% NaCl solution. The avidin-biotin-peroxidase method was used in 10 control group rats for staining. The rest ten rats composed the negative control group and stained using only secondary antibodies. The color intensity of the brain sections of the control and kindling groups was compared with the color of the brain sections of the negative control group using the "Image J" program. In rats with PTZ-kindling, the level of TNF- α was 17.86 ± 0.83 relative units (RU) and exceeded the corresponding indicator in the control group (4.78 ± 0.14 RU), ($p < 0.001$). The expression of p-NF- κ B was 5.24 ± 0.61 against 1.73 ± 0.07 RU in control ($p < 0.001$). Determination of the expression of TNF- α and NF- κ B in limbic structures can be used as markers of the effectiveness of experimental treatment methods for chronic epilepsy.

Key words: seizures, cytokines, hypoxia, pentylenetetrazol, hippocamp.

Вступ. Нейроімунні порушення складають патогенетичну основу виникнення та розвитку епілепсії, в тому числі однієї із найважчих її форм, якою є резистентна до фармакологічного лікування епілепсії [1].

¹ Дослідження проведене за фінансової підтримки Міністерства Охорони Здоров'я України НДР «Підвищення ефективності контролю епілептичної активності застосуванням фармакологічних препаратів та неінвазивного подразнення структур мозку» (№ державної реєстрації 0121U114510).

На сьогоднішній день більш ефективних підходів до фармакологічного контролю проявів захворювання включас дослідження маркерів патогенезу епілептичного синдрому. Серед інших важливими виявляються прозапальні цитокіни, а саме – фактор некрозу пухлин-альфа (TNF- α), внутрішньоклітинний шлях контролюваний ядерним фактором каппа В (p-NF- κ B), які тісно пов'язані із ключовим регулятором адаптації до гіпоксії – гіпоксія-індукованим фактором 1 α (HIF-1 α) [2; 3].

Гіпоксія головного відіграє значну роль у патогенезі хронічного епілептичного синдрому, в тому числі

ТЕОРІЯ ТА ЕКСПЕРИМЕНТ

як обов'язковий компонент нейроімунного запального процесу [1]. Найбільш суттєві зміни викликані гіпоксією – формування первинного епілептогенного вогнища спостерігається в структурах лімбічної системи, зокрема в гіпокампі [4; 5].

Двостороння взаємодія між HIF-1 α і ядерним фактором каппа В (NF- κ B) є характерною за умов гіпоксії [2]. Також встановлено, що TNF- α відіграє певну роль у стимуляції NF- κ B і його вивільнення також може збільшуватися при гіпоксії [3].

Взаємні регулюючі впливи TNF- α та HIF-1 α можуть здійснюватись за рахунок численних внутрішньоклітинних інформаційних шляхів, які включають NF- κ B та залежні від нього фосфатидилінозитол-3 кіназні шляхи [3]. Встановлено, що активація p-NF- κ B, викликана TNF- α супроводжується зростанням експресії мРНК HIF-1 α , що відбувається за відсутності первинного впливу гіпоксичного чинника [6]. Подібні впливи відбуваються завдяки TNF- α індукованій здатності

NF- κ B активувати промотор HIF-1 α [7]. Встановлено, що розвиток післянападової депресії у кіндлінгових мишей відбувається на тлі гальмування NF- κ B/TLR-4 інформаційного шляху [8]. За умов гострого запалення TNF- α може індукувати експресію HIF-1 α макрофагами, а як наступний крок – здійснювати контроль експресії фактору росту ендотелію судин (VEGF) та індукібельної синтази оксиду азоту (iNOS) через регулюючий вплив на головні HIF-залежні гени [8].

Мета дійсного дослідження полягала у дослідженні імунореактивності маркерів хронічного епілептогенезу, а саме TNF- α та p-NF- κ B у дорсальному гіпокампі щурів із розвиненими ПТЗ-кіндлінговими судомами.

Матеріал і методи дослідження.

Експериментальні тварини

Дослідження проводили на 35 самцях щурів Вістар віком 2-3 місяці, масою 180–220 г. Тварин утримували за стандартних умов температури (23 \pm 2 $^{\circ}$ C), вологості (60%) та 12-годинного циклу зміни освітлення

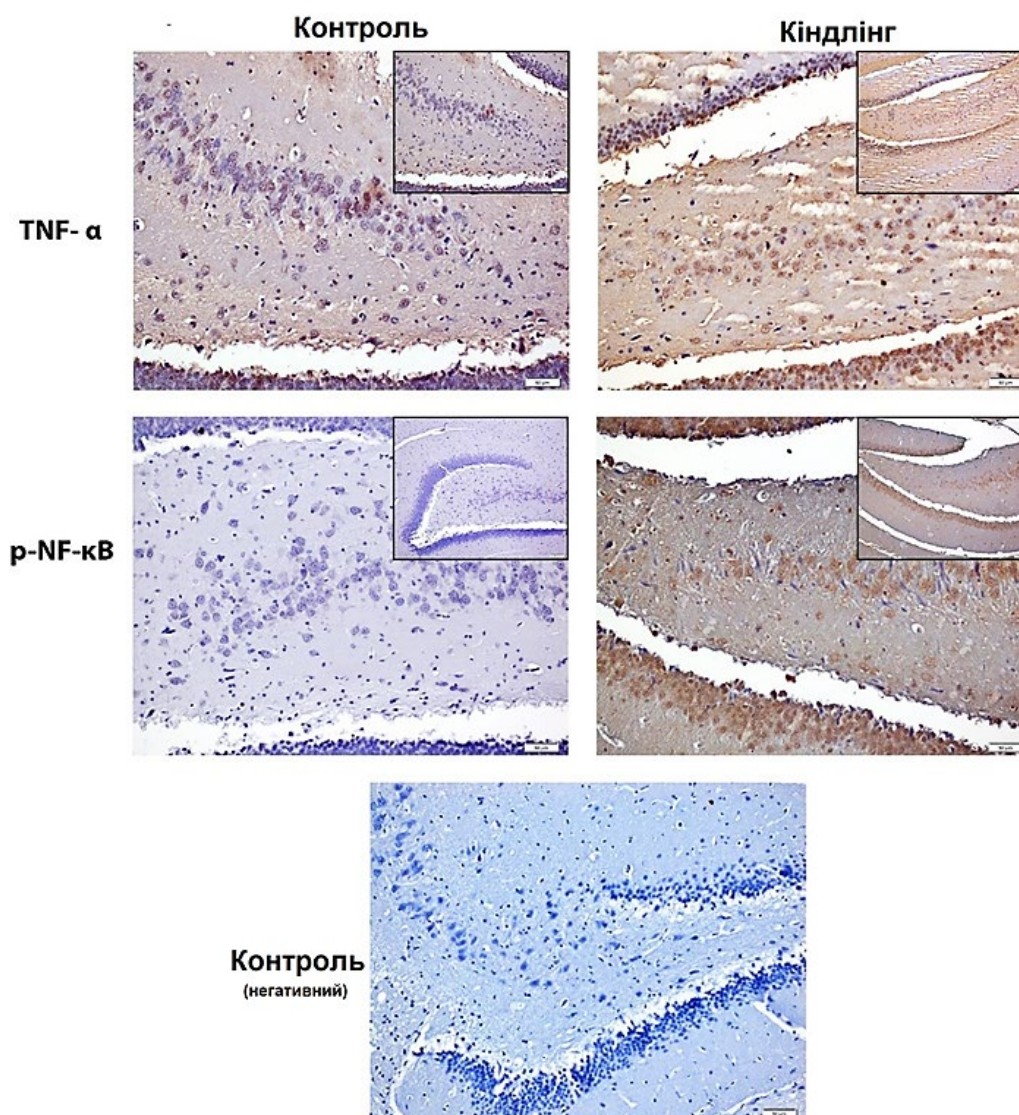


Рис. 1. Репрезентативні зображення TNF- α і p-NF- κ B в дорсальному гіпокампі у контрольних щурів і PTZ-кіндлінгових щурів. Знімки зроблені зі збільшенням $\times 200$. Калібрівка масштабу (правий нижній кут зображень – білий прямокутник): 50 мкм

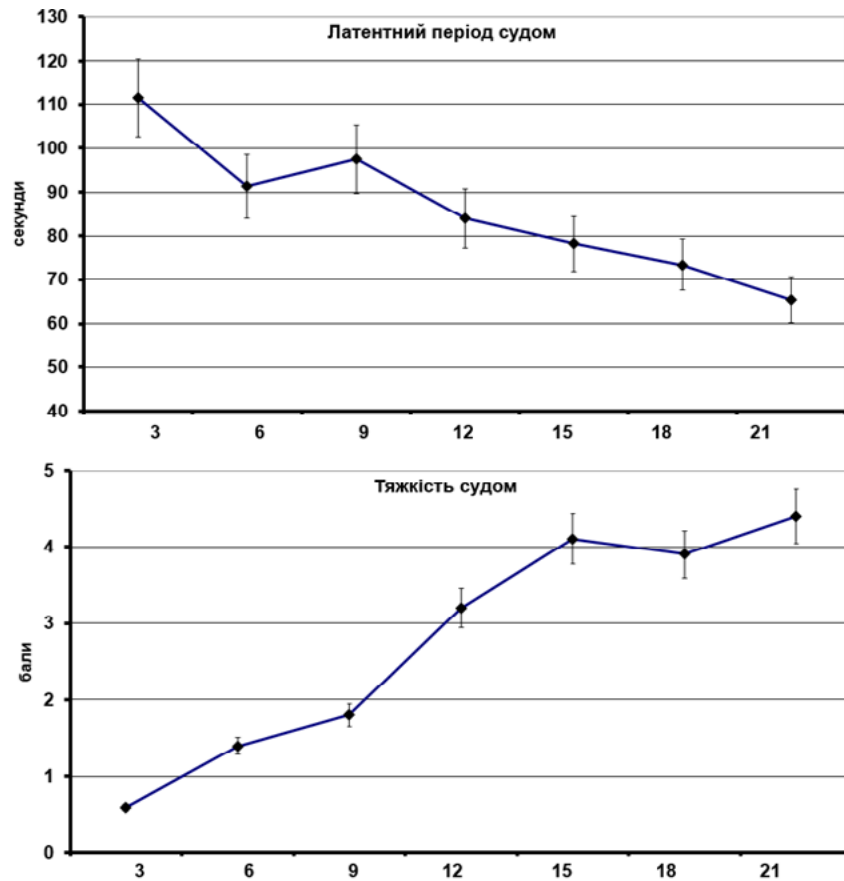


Рис. 2. Динаміка латентного періоду та тяжкості судом протягом розвитку пентилентетразол-індукованого кіндлінгу

Позначення: по вісі абсцис – період спостереження (доби). По вісі ординат – досліджувані показники. Результати представлені як $M \pm SEM$.

з вільним доступом до води та їжі. Усі процедури проводились у відповідності до рекомендацій Керівництва з догляду та використання лабораторних тварин, прийнятого Національними інститутами здоров'я (Бетесда, США) та Гельсінської декларації, а також відповідно до дозволу комісії з біоетики Одеського національного медичного університету (протокол за № 3 від 14.03.2018)

Модель ПТЗ-викликаного кіндлінга

Модель епілепсії, викликані пентилентетразолом (ПТЗ), була індукована, як описано раніше [5]. ПТЗ (P6500, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) розчиняли в 0.9% розчині NaCl ex tempore і вводили внутрішньоочеревинно (в/очер) в дозі 35.0 мг/кг на протязі 21 доби ($n=15$). У всіх включених до імуногістохімічних досліджень щурів після кожного з трьох останніх введень ПТЗ спостерігались судомі тяжкістю 4-5 балів. Щурам групи контролю ($n=20$, з яких 10 склали групу негативного імуногістохімічного контролю – див.нижче) вводили в/очер 0.9% фізіологічний розчин NaCl.

Після кожної ін'єкції щурів поміщали наодинці в ізольовану прозору клітку з оргскла і оцінювали тяжкість судом на протязі 30 хв за шестибальною шкалою [5]. Тяжкість судом оцінювали за такою шкалою: 0 – відсутність судом; 1 – завмирання, тремор і міоклонічні посмикування окремих груп м'язів; 2 – клонічні

судомі всього тіла; 3 – клонічні нападіві судомі передніх кінцівок тіла з підйомами на задні лапи; 4 – генералізовані клоніко-тонічні судомі з втратою рівноваги та падіннями; 5 – повторні напади, як на 4 стадії, або летальний результат в результаті нападів.

Імуногістохімічний аналіз

Тканини головного мозку фіксували в 10% формальдегіді і згодом парафінізували. З парафінізованих блоків виготовляли зрізи товщиною 5 мкм за допомогою ротаційного мікротома, розміщували їх на предметному склі, вкритих полі-L-лізином, для імуногістохімічного аналізу [9].

Для визначення відмінностей у експресії TNF- α та p-NF-kB в тканині мозку використовували авідин-біотинпероксидазний метод згідно з раніше описаною методикою (Рис. 1) [10].

Зображення отримували за допомогою світлового мікроскопа Olympus BX53 та аналізували за допомогою комп'ютерної програми «Image J» версії 1.46 (Національний інститут охорони здоров'я, Бетесда, США). Дані оцінювали залежно від інтенсивності фарбування порівняно з контролем. Для відділення корисного сигналу від фону застосовували порогову функцію і середню інтенсивність сигналу вимірювали за допомогою функції «вимірювання» [11]. Середня інтенсивність фоновому кольору зразків гіпокампу

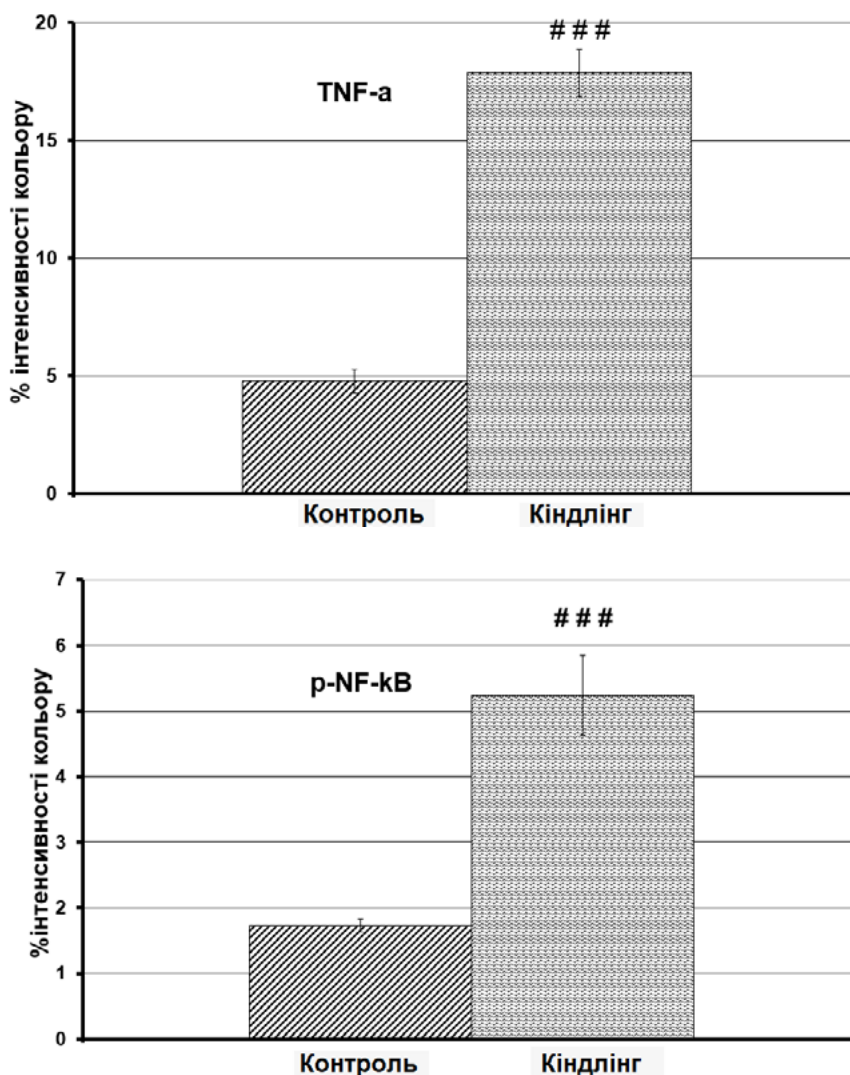


Рис. 3. Інтенсивність експресії TNF- α і p-NF- κ B в тканині дорсального гіпокаму щурів із розвиненим ПТЗ-індукованим кіндлінгом

Позначки: по вісі абсцис – групи спостереження, по вісі ординат – досліджувані показники. Значення представлені як $M \pm SEM$.

– $P < 0.001$ у порівнянні до групи контролю (непарний двосторонній t-критерій Стьюдента).

була отримана шляхом усереднення значень зображень негативного контролю – зразків тканини гіпокаму щурів групи контролю, які були оброблені лише вторинними антитілами [9]. Значення рівня інтенсивності імуногістологічного фарбування досліджуваних зразків розраховували як середню інтенсивність сигналу відносно фонові колірності негативного контролю для 10 зображень на одну експериментальну тварину груп контролю та кіндлінгу. Кількісну міру колірності виражали в умовних одиницях (УО) [10].

Статистичні процедури

Для проведення статистичної обробки отриманих результатів використовували SPSS програму для Windows (SPSS Inc., версія 24.0, Чикаго, США). Дані представляли як середні величини зі стандартною похибкою середньої величини ($M \pm SEM$). Для порівняння показників між групами контролю та ПТЗ-викликаного кіндлінгу застосовували непарний дво-

сторонній t-тест Стюдента. Відмінності між групами приймали як достовірні при $p < 0.05$.

Результати та їх обговорення

Поведінкові характеристики кіндлінгових судом

Судоми почалися після другої-четвертої ін'єкції та мали прогресуючий розвиток протягом наступних 2-3 введень ПТЗ до рівня міоклонусів мязів тулуба. Наступні 4-9 введень викликали підйом щурів на задні кінцівки з клонічними судомами передніх кінцівок щурів. Генералізовані клоніко-тонічні судомні напади виникали у піддослідних тварин після 8-17-ї ін'єкції ПТЗ. Під час нападів щури втрачали рівновагу, падали на бік і демонстрували післянападоду депресію. Протягом тритижневого щодобового введення ПТЗ спостерігалось характерне скорочення латентного періоду виникнення судом – до 65.4 ± 7.1 с, а також посилення їх тяжкості – до 4.3 ± 0.2 балів (Рис. 2). Щури, які було включено до подальшого імуногістохімічного дослі-

дження, демонстрували розвиток генералізованих судомних нападів у відповідь на кожне із трьох останніх введення епілептогену.

Рівень TNF- α та p-NF- κ B в дорсальному гіпокампі

Порівняно з контрольною групою щури з розвиненими ПТЗ-індукованими судомами демонстрували значне посилення експресії TNF- α і p-NF- κ B в досліджуваних зразках тканини гіпокампа (Рис. 3).

Рівень TNF- α , який в групі контролю складав 4.78 ± 0.14 УО підвищувалися до $17,86 \pm 0,83$ УО ($p < 0.001$). Експресія p-NF- κ B в тканині дорсального гіпокампу щурів групи контролю (1.73 ± 0.07 УО) зростала до 5.24 ± 0.61 УО ($p < 0.001$) (Рис. 3).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що у щурів з модельованою методом ПТЗ-кіндлінга хронічною епілептичною активністю в структурах дорсального гіпокампу спостерігається збільшення експресії TNF- α та p-NF- κ B, що засвідчує їх патогенетичну роль в механізмах кіндлінг-провокованих судом, а також коморбідних станів, зважаючи на роль структур гіпокампу в регуляції різних форм поведінки тварин.

TNF- α , як медіатор запалення, який впливає на численні внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, також забезпечує тісну взаємодію з факторами адаптації до гіпоксії [3; 4]. Слід зазначити, що гіпоксія завжди супроводжує запалення яка відіграє провідну роль у виникненні хронічної епілептичної активності [1; 12]. Важливим є контроль механізмів адаптації до гіпоксії на рівні клітин завдяки активації HIF – залежних шляхів, які також є значущими для регуляції імунної реактивності та запалення. Активація HIF супроводжується зростанням продукції прозапальних цитокинів, що доведено на багатьох типах клітин. Причому подібна активація вже не залежить від дії гіпоксії як первинного чинника. Важливим у цьому відношенні є встановлений механізм TNF- α регуляції продукції HIF-1 α на транскрипційному рівні через активування NF- κ B. Можливі також впливи TNF- α на HIF-1 α на посттранскрипційні та тарансляцій-

ному рівнях, який більшою мірою може відбуватись за рахунок інших прозапальних цитокинів [7].

Слід зазначити, що активація NF- κ B відбувається за умов реакції активації мікроглії, яка є важливою ланкою патогенезу хронічної епілепсії [12]. Крім того, значний спектр внутрішньоклітинних сигнальних шляхів включаючи NF- κ B, можуть бути активовані через залучення астроцитів та виникнення іктальних судомних нападів [12]. Отримані в дійсному дослідженні результати, а саме – зростання експресії NF- κ B в дорсальному гіпокампі у щурів, які демонстрували виникнення генералізованих іктальних проявів у відповідь на завершальні три введення ПТЗ, також вказують на критичну роль NF- κ B сигнального шляху у виникненні саме іктальних судом. Підтвердженням цього припущення є дані щодо нейропротекторного ефекту інактивації клітин мікроглії та інгібування NF- κ B на моделі генералізованої епілепсії, спричиненої каїновою кислотою [13]. Надмірна експресія мікроРНК, яка інактивує сигнальний шлях NF- κ B, зменшує пошкодження нейронів гіпокампу при епілепсії, зменшує реакцію активації мікроглії [14].

Вміст в тканині головного мозку щурів з амігдалярним кіндлінгом зростає, а застосування TNF- α провокує генералізовані судоми [4]. Подібні зміни мають місце і в мозку мишей з ПТЗ-індукованим кіндлінгом [15]. Отримані в дійсному дослідженні результати зростання імуногістохімічної експресії TNF- α в дорсальному гіпокампі свідчать, що можливою мішенню про-епілептогенного впливу TNF- α можуть бути структури лімбічної системи.

Висновок. Вміст TNF- α і p-NF- κ B в дорсальному гіпокампі щурів із розвиненими ПТЗ-індукованими кіндлінговими судомами збільшується, що вказує на патогенетичну роль зазначених факторів у формуванні та розвитку хронічної епілептизації мозку.

Перспективним є вивчення динаміки досліджених факторів в контролі ефективності фармакологічного лікування експериментального хронічного епілептичного синдрому, а також їх значення у формуванні коморбідних станів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Vezzani A. Brain Inflammation and Seizures: Evolving Concepts and New Findings in the Last 2 Decades. *Epilepsy Curr.* 2020 Nov-Dec;20(6_suppl):40S-43S. doi: 10.1177/1535759720948900. Epub 2020 Oct 5. PMID: 33012196; PMCID: PMC7726731.
2. D'Ignazio L, Bandarra D, Rocha S. NF- κ B and HIF crosstalk in immune responses. *FEBS J.* 2016;283(3):413-24.
3. Varfolomeev E., Vucic D. Intracellular regulation of TNF activity in health and disease. *Cytokine.* 2018;101:26-32.
4. Shandra AA, Godlevsky LS, Vastyanov RS, Konovalenko VL, Rapoport EN, Korobka NN The role of TNF- in amygdala kindled rats. *Neurosci Res* 2002; 42: 147-153
5. Godlevsky L.S., Muratova T.N., Kresyun N.V., Van Luijtelaaar G, Coenen A. Anxiolytic and antidepressive effects of electric stimulation of the paleocerebellar cortex in pentylenetetrazol kindled rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2014; 74: 456-64. PMID: 25576976
6. Kim, K.W.; Lee, S.J.; Kim, J.C. TNF- α upregulates HIF-1 α expression in pterygium fibroblasts and enhances their susceptibility to VEGF independent of hypoxia. *Exp. Eye Res.* 2017, 164, 74–81.
7. Malkov M.I., Lee C.T., Taylor C.T. Regulation of the Hypoxia-Inducible Factor (HIF) by Pro-Inflammatory Cytokines. *Cells.* 2021 Sep 7;10(9):2340. doi: 10.3390/cells10092340.
8. Tao Z., Chun-Yan H., Hua P., Bin-Bin Y., Xiaoping T. Phyllanthin From Phyllanthus Amarus Ameliorates Epileptic Convulsion and Kindling Associated Post-Ictal Depression in Mice via Inhibition of NF- κ B/TLR-4 Pathway. *Dose Response.* 2020 Aug 3;18(3):1559325820946914. doi: 10.1177/1559325820946914.
9. Akyüz E., Doğanyigit Z., Paudel YN., Kaymak E., Yilmaz S., Uner A., et al. Increased ACh-associated immunoreactivity in autonomic centers in PTZ kindling model of epilepsy. *Biomedicines.* 2020; 8(5):113. doi: 10.3390/biomedicines8050113.
10. Doğanyigit Z., Okan A., Kaymak E., Pandır D., Silici S. Investigation of protective effects of apilarnil against

lipopolysaccharide induced liver injury in rats via TLR 4/HMGB-1/NF- κ B pathway. *Biomed Pharmacother.* 2020; 125: 109967. doi: : 10.1016/j.biopha.2020.109967.

11. Crowe A.R., Yue W. Semi-quantitative determination of protein expression using immunohistochemistry staining and analysis: an integrated protocol. *Bio Protoc.* 2019; 9(24): e3465. doi: 10.21769/BioProtoc.3465.
12. Lee J.W., Chun W., Lee H.J., Kim S.M., Min J.H., Kim D.Y., Kim M.O., Ryu H.W., Lee S.U. The Role of Microglia in the Development of Neurodegenerative Diseases. *Biomedicines.* 2021 Oct 12;9(10):1449. doi: 10.3390/biomedicines9101449.
13. Wang H.K., Yan H., Wang K., Wang J. Dynamic regulation effect of long non-coding RNA-UCA1 on NF- κ B in hippocampus of epilepsy rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017;21(13):3113-9.
14. Qi Y., Qian R., Jia L., Fei X., Zhang D., Zhang Y., et al. Overexpressed microRNA-494 represses RIPK1 to attenuate hippocampal neuron injury in epilepsy rats by inactivating the NF- κ B signaling pathway. *Cell cycle.* 2020;19(11):1298-313.
15. Wang K., Liu Y., Shi Y., Yan M., Rengarajan T., Feng X. *Atomum tsaoko* fruit extract exerts anticonvulsant effects through suppression of oxidative stress and neuroinflammation in a pentylenetetrazol kindling model of epilepsy in mice. *Saudi J Biol Sci.* 2021 Aug;28(8):4247-4254. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.06.007.

REFERENCES

1. Vezzani A. Brain Inflammation and Seizures: Evolving Concepts and New Findings in the Last 2 Decades. *Epilepsy Curr.* 2020 Nov-Dec;20(6_suppl):40S-43S. doi: 10.1177/1535759720948900. Epub 2020 Oct 5. PMID: 33012196; PMCID: PMC7726731 (in English).
2. D'Ignazio L, Bandarra D, Rocha S. NF- κ B and HIF crosstalk in immune responses. *FEBS J.* 2016;283(3):413-24 (in English).
3. Varfolomeev E., Vucic D. Intracellular regulation of TNF activity in health and disease. *Cytokine.* 2018;101:26-32 (in English).
4. Shandra AA, Godlevsky LS, Vastyanov RS, Konovalenko VL, Rapoport EN, Korobka NN The role of TNF- in amygdala kindled rats. *Neurosci Res* 2002; 42: 147-153 (in English).
5. Godlevsky L.S., Muratova T.N., Kresyun N.V., Van Luijtelaar G, Coenen A. Anxiolytic and antidepressive effects of electric stimulation of the paleocerebellar cortex in pentylenetetrazol kindled rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2014; 74: 456-64. PMID: 25576976 (in English).
6. Kim, K.W.; Lee, S.J.; Kim, J.C. TNF- α upregulates HIF-1 α expression in pterygium fibroblasts and enhances their susceptibility to VEGF independent of hypoxia. *Exp. Eye Res.* 2017, 164, 74–81 (in English).
7. Malkov MI, Lee CT, Taylor CT. Regulation of the Hypoxia-Inducible Factor (HIF) by Pro-Inflammatory Cytokines. *Cells.* 2021 Sep 7;10(9):2340. doi: 10.3390/cells10092340 (in English).
8. Tao Z, Chun-Yan H, Hua P, Bin-Bin Y, Xiaoping T. Phyllathin From Phyllanthus Amarus Ameliorates Epileptic Convulsion and Kindling Associated Post-Ictal Depression in Mice via Inhibition of NF- κ B/TLR-4 Pathway. *Dose Response.* 2020 Aug 3;18(3):1559325820946914. doi: 10.1177/1559325820946914 (in English).
9. Akyüz E, Doğanyigit Z, Paudel YN, Kaymak E, Yilmaz S, Uner A, et al. Increased ACh-associated immunoreactivity in autonomic centers in PTZ kindling model of epilepsy. *Biomedicines.* 2020; 8(5):113. doi: 10.3390/biomedicines8050113. (in English).
10. Doğanyigit Z, Okan A, Kaymak E, Pandir D, Silici S. Investigation of protective effects of apilarnil against lipopolysaccharide induced liver injury in rats via TLR 4/HMGB-1/NF- κ B pathway. *Biomed Pharmacother.* 2020; 125: 109967. doi: : 10.1016/j.biopha.2020.109967. (in English).
11. Crowe AR, Yue W. Semi-quantitative determination of protein expression using immunohistochemistry staining and analysis: an integrated protocol. *Bio Protoc.* 2019; 9(24): e3465. doi: 10.21769/BioProtoc.3465. (in English).
12. Lee JW, Chun W, Lee HJ, Kim SM, Min JH, Kim DY, Kim MO, Ryu HW, Lee SU. The Role of Microglia in the Development of Neurodegenerative Diseases. *Biomedicines.* 2021 Oct 12;9(10):1449. doi: 10.3390/biomedicines9101449. (in English).
13. Wang HK, Yan H, Wang K, Wang J. Dynamic regulation effect of long non-coding RNA-UCA1 on NF- κ B in hippocampus of epilepsy rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017;21(13):3113-9. (in English).
14. Qi Y, Qian R, Jia L, Fei X, Zhang D, Zhang Y, et al. Overexpressed microRNA-494 represses RIPK1 to attenuate hippocampal neuron injury in epilepsy rats by inactivating the NF- κ B signaling pathway. *Cell cycle.* 2020;19(11):1298-313. (in English).
15. Wang K, Liu Y, Shi Y, Yan M, Rengarajan T, Feng X. *Atomum tsaoko* fruit extract exerts anticonvulsant effects through suppression of oxidative stress and neuroinflammation in a pentylenetetrazol kindling model of epilepsy in mice. *Saudi J Biol Sci.* 2021 Aug;28(8):4247-4254. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.06.007. (in English).

Надійшла до редакції 10.11.2022 р.

Прийнята до друку 30.11.2022 р.

Електронна адреса для листування tyukhailo.pervak@onmedu.edu.ua