

MEDICINE AND PHARMACY

Дослідження процесів навчання та пам'яті в динаміці пікротоксин- індукованого кіндлінгу

Остапенко Ігор Олегович¹

¹ доктор філософії, асистент кафедри загальної та клінічної
патологічної фізіології імені проф. В.В. Підвисоцького;
Одеський національний медичний університет; Україна

Анотація. Епілепсія - хронічне неврологічне захворювання, що супроводжується повторними поведінковими нападами. Фахівці звертають увагу на частих випадках коморбідної обтяженості епілепсії. Доведено, що пацієнти з епілепсією мають високий ризик розвитку тривоги, депресії, розладів навчання. Ретельне дослідження несудомних різновидів поведінки протягом інтеріктальних періодів хронічного епілептогенезу є важливим, оскільки в такому разі з'ясовується перспективний механізм ймовірного пригнічення судомного процесу та досліджується механізм судомних нападів, які наближаються. Мета роботи - дослідження вираженості мнестичних процесів у щурів при кіндлінговій моделі епілепсії за умов модуляції нейротрансмітерних систем хвостатих ядер. На 18-й і на 24-й добах досліджу, а також на стадії посткіндлінгу протягом інтеріктальних періодів у щурів визначали вираженість процесів навчання та пам'яті формуванням у них умовних реакцій активного уникнення. В динаміці пікротоксин (ПКТ) - індукованого кіндлінга в щурів реєструвалися мнестичні розлади, які прогресували та були максимальними на етапах завершеного кіндлінга та в стадії посткіндлінгу. Мнестичні функції при кіндлінзі характеризуються погіршенням процесу навчання та функціонування короткострокової та довгострокової пам'яті. На етапі формування хронічної судомної активності когнітивні процеси детермінуються активацією внутрішньостриарної холін- та ГАМК-ергічної передачі та пригніченням дофамінергічної активності. На етапі завершеного кіндлінга та посткіндлінга мнестичні розлади зберігаються після активації холін- та дофамінергічної нейротрансмісії та пригнічення активності ГАМК-ергічної системи.

Ключові слова: пікротоксин, кіндлінг, посткіндлінг, навчання, пам'ять, мнестичні розлади, стріатум, нейромедіаторні системи.

Епілепсія - хронічне неврологічне захворювання, що супроводжується повторними поведінковими нападами [1]. Частими є випадки коморбідної обтяженості епілепсії. Доведено, що пацієнти з епілепсією мають високий ризик розвитку тривоги, депресії, розладів навчання та раптової смерті [2], причому ці депресивні розлади в пацієнтів з епілепсією часто залишаються недиагностованими та нелікованими [2, 3].

MEDICINE AND PHARMACY

Епілепсія демонструє термінові взаємозв'язки між іктальними (судомними) та інтеріктальними (несудомними) процесами, які детермінуються змінами активності епілептичною та антиепілептичною системами [1, 4, 5].

Ретельне дослідження несудомних різновидів поведінки протягом інтеріктальних періодів хронічного епілептогенезу є важливим, оскільки в такому разі з'ясовується перспективний механізм підсилення антиепілептогенного впливу та ймовірного пригнічення судомного процесу та досліджується механізм судомних нападів, які наближаються. Маючи певні результати досліджень по з'ясуванню нейропатологічних механізмів несудомних форм поведінки за умов кіндлінг-спричиненої моделі епілептогенезу [3, 6], ми перевірили власну гіпотезу.

Мета роботи – дослідження вираженості мнестичних процесів у щурів при кіндлінговій моделі епілепсії за умов модуляції нейротрансмітерних систем хвостатих ядер.

Матеріал і методи дослідження. Досліди були проведені за умов хронічного експерименту на щурах лінії Вістар. Утримання, обробка та маніпуляції з тваринами проводились відповідно із «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухваленими П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013). Досліди проводились з урахуванням правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP), закону України № 3447 – IV Про захист тварин від жорстокого поводження від 21 лютого 2006 року.

Для відтворення хронічного судомного синдрому використовували модель хімічного кіндлінгу, який відтворювали шляхом 24-добового в/очер введення пікротоксину (ПКТ) підпороговою дозою в діапазоні від 0.9 до 1.1 мг/кг [1].

Виділяли наступні групи щурів залежно від активації та пригнічення активності холінергічної [(внутрішньостріарним (в/стр) введенням карбахолу (КРБ) та скополаміну (СКО)], дофамінергічної (в/стр введенням апоморфіну (АПО та галоперидолу (ГЛП) та ГАМК-ергічної (в/стр введенням мусцимолу (МСЦ та бікукуліну (БК) нейромедіації хвостатого ядра. Дослідження процесів пам'яті та навчання здійснювали після 18 (стадія розвиненого кіндлінгу) і 24 введень ПКТ (завершений фармакологічний кіндлінг) та через 14 діб після закінчення формування кіндлінга (стадія посткіндлінгу) [3, 7]. В означені інтервали часу в щурів визначали вираженість процесів навчання та пам'яті формуванням у них умовних реакцій активного уникнення (УРАУ) шляхом пред'явлення тваринам умовного стимулу (УС) і безумовного стимулу (БС) [8].

Отримані результати обчислювали статистично із застосуванням критеріїв АНОВА та Ньюман-Куллз.

MEDICINE AND PHARMACY

Отримані результати та їх обговорення.

Кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ у щурів після 18-го введення епілептогену, на 33 % перевищувало такий показник в групі інтактних щурів ($p < 0,05$, табл. 1).

Величина цього показника через 1 добу (короткострокова пам'ять) та через 7 діб після вироблення рефлексу (довгострокова пам'ять) на 49 % та на 96 %, відповідно, перевищувала відповідні контрольні показники ($p < 0,05$).

У кіндлінгових щурів після в/стр введень ГЛП та МС були зареєстровані показники, які були співставні з такими у кіндлінгових щурів ($p > 0,05$) та суттєво перевищували відповідні контрольні вимірювання ($p < 0,05$). Після введення ГЛП кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ, виявилася на 35,4 % більше при порівнянні з таким показником в контрольній групі щурів ($p < 0,05$). Подібне суміщення УС і БС через 1 добу та через 7 діб після вироблення рефлексу виявилось в 1,7 раза та в 2,1 раза, відповідно, більше відповідно аналогічних показників в контролі ($p < 0,05$).

Таблиця 1

Характеристика процесів навчання та пам'яті в щурів після 18-го введення ПКТ при модуляції активності нейротрансмітерних систем

Групи тварин	Кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ		
	Навчання	Короткострокова пам'ять	Довгострокова пам'ять
1. Контроль, n=9	24,6±2,4	7,1±1,0	2,8±0,4
2. Кіндлінг, n=11	32,8±3,1*	10,6±1,1*	5,5±0,5*
3. Кіндлінг + КРБ, n=6	27,2±2,6	8,1±0,8	4,1±0,4*
4. Кіндлінг + СКО, n=6	23,9±2,4#	7,8±0,8	2,9±0,3#
5. Кіндлінг + АПО, n=6	26,1±2,6	9,1±0,8	3,2±0,3#
6. Кіндлінг + ГЛП, n=6	33,3±3,1*	12,3±1,1*	5,8±0,5*
7. Кіндлінг + МС, n=6	34,7±3,3*	11,9±1,2*	6,3±0,5*
8. Кіндлінг + БК, n=6	26,6±2,4	8,4±0,8	3,6±0,3#

Примітки: * - $p < 0,05$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими даними в контрольній групі тварин;

- $p < 0,05$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими даними у кіндлінгових щурів.

Після в/стр введення МС кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ, на 41,1 % перевищувала такий показник у інтактних щурів ($p < 0,05$). Подібне суміщення УС і БС через 1 добу та через 7 діб після вироблення рефлексу виявилось в 1,7 раза та в 2,3 раза, відповідно, більше при порівнянні з контрольними показниками (в обох випадках $p < 0,05$).

MEDICINE AND PHARMACY

В разі введення КРБ в стріатум кіндлінгових щурів кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ, на 10,5 % перевищувало такий показник у інтактних щурів ($p > 0,05$). Показник кількості суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ через 7 діб після його формування, на 46,4 % перевищував аналогічний показник в контролі ($p < 0,05$).

У кіндлінгових щурів після в/стр введень СКО, АПО та БК всі досліджувані показники були тотожні тим, які реєстрували у щурів контрольної групи. Показники, які характеризували вираженість довгострокової пам'яті в означених групах щурів після 18-го введення конвульсанту, були значно меншими порівняно з такими даними в групі кіндлінгових щурів ($p < 0,05$).

Кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ у кіндлінгових щурів, в 1,5 раза перевищувала такий показник у інтактних щурів ($p < 0,05$, табл. 2). При цьому досліджувані показники коротко- та довгострокові пам'яті у щурів зі сформованим кіндлінгом також були значно збільшені (в 2 та в 2,3 раза, відповідно) відповідно таких показників в контролі ($p < 0,01$).

Таблиця 2

Характеристика процесів навчання та пам'яті в щурів після 24-го введення ПКТ при модуляції активності нейротрансмітерних систем

Групи тварин	Кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ		
	Навчання	Короткострокова пам'ять	Довгострокова пам'ять
1. Контроль, n=9	24,6±2,4	7,1±1,0	2,8±0,4
2. Кіндлінг, n=11	36,9±3,3**	14,3±1,5**	6,4±0,6**
3. Кіндлінг + КРБ, n=6	31,3±2,9	12,6±1,3*	5,3±0,4*
4. Кіндлінг + СКО, n=6	25,6±2,5#	8,7±0,7#	3,7±0,4#
5. Кіндлінг + АПО, n=6	35,2±3,4*	14,6±1,6**	6,7±0,6**
6. Кіндлінг + ГЛП, n=6	27,2±2,4#	9,4±0,8	4,6±0,5#
7. Кіндлінг + МС, n=6	26,7±2,6#	8,9±0,9#	5,3±0,6
8. Кіндлінг + БК, n=6	35,7±3,5**	13,7±1,3**	6,1±0,5**

Примітки: * - $p < 0,05$ і ** - $p < 0,01$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими даними в контрольній групі тварин;
- $p < 0,05$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими даними у кіндлінгових щурів.

Після в/стр введення КРБ кіндлінгових щурам кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ, виявилася

MEDICINE AND PHARMACY

на 27,2 % більшим при порівнянні з контрольним показником ($p > 0,05$). Суміщення УС і БС через 1 добу та через 7 діб після вироблення рефлексу, виявилось в 1,8 раза та в 1,9 раза більшим порівняно з показниками в контрольних спостереженнях ($p < 0,05$).

Після в/стр введення АПО кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ, на 43,1 % перевищувала такий показник у інтактних щурів ($p < 0,05$). Суміщення УС і БС через 1 добу та через 7 діб після вироблення рефлексу виявилось в 2 раза та в 2,4 раза, відповідно, більшим при порівнянні з контрольними показниками (в обох випадках $p < 0,01$).

В разі введення БК в стріатум кіндлінгових щурів кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ, на 45,1 % перевищувала такий показник у інтактних щурів ($p < 0,01$). Показники кількості суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ через 1 добу та 7 діб після його формування, перевищували відповідні контрольні показники в 1,9 та в 2,2 раза ($p < 0,01$).

Отже, за умов досліду після введення в стріатум КРБ, АПО та БК всі досліджувані показники були співставні з відповідними у щурів з кіндлінгом ($p > 0,05$) та суттєво перевищували відповідні контрольні дані ($p < 0,05$).

Протилежні результати, співставні з такими показниками у інтактних щурів, були отримані після в/стр мікроін'єкцій СКО, ГЛП та МС. Після в/стр введення СКО кіндлінгових щурів кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ, виявилась на 4 % більшим при порівнянні з контрольним показником ($p > 0,05$). Суміщення УС і БС через 1 добу та через 7 діб після вироблення рефлексу виявилось на 22,5 % та 32,1 % більшим при порівнянні з такими показниками в контрольних спостереженнях ($p > 0,05$).

Аналогічні дані були отримані у кіндлінгових щурів після введення ГЛП та МС в стріатум. В більшості випадків дані, які були зареєстровані, виявилися суттєво меншими, ніж такі самі дані у кіндлінгових щурів ($p < 0,05$).

Всі досліджувані показники навчання, коротко- та довгострокові пам'яті були збільшені у щурів в стадії посткіндлінга ($p < 0,05$, табл. 3). Кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ у щурів в стадії посткіндлінга, в 1,6 раза перевищувала відповідний контрольний показник ($p < 0,01$). Досліджувані показники коротко- та довгострокові пам'яті у щурів з посткіндлінгом також були значно збільшені (в 2,3 та в 2,9 раза, відповідно) при порівнянні з такими контрольними показниками ($p < 0,05$).

MEDICINE AND PHARMACY

Таблиця 3

Характеристика процесів навчання та пам'яті в щурів в стадії посткіндлінгу при модуляції активності нейротрансмітерних систем

Групи тварин	Кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ		
	Навчання	Короткострокова пам'ять	Довгострокова пам'ять
1. Контроль, n=9	24,6±2,4	7,1±1,0	2,8±0,4
2. Посткіндлінг, n=11	39,7±3,6**	16,3±1,7*	8,2±0,7**
3. Посткіндлінг + КРБ, n=6	40,8±4,1**	13,9±1,4*	7,6±0,7**
4. Посткіндлінг + СКО, n=6	28,8±2,8#	11,3±1,1*#	5,3±0,5 ^a
5. Посткіндлінг + АПО, n=6	37,9±3,8*	17,4±1,6*	7,9±0,6**
6. Посткіндлінг + ГЛП, n=6	29,6±2,9	9,9±1,1#	5,7±0,6*#
7. Посткіндлінг + МС, n=6	31,6±3,1	10,3±1,1#	6,1±0,6*
8. Посткіндлінг + БК, n=6	39,2±3,9**	15,8±1,6*	8,7±0,8**

Примітки: * - $p < 0,05$ і ** - $p < 0,01$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими даними в контрольній групі тварин;
- $p < 0,05$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими даними у щурів в стадії посткіндлінгу.

Після в/стр введення КРБ щурам в стадії посткіндлінга кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ, виявилася в 1,7 раза більшим при порівнянні з контрольним показником ($p < 0,01$). Суміщення УС і БС через 1 добу та через 7 діб після вироблення рефлексу виявилася в 2 раза та в 2,7 раза більшим при порівнянні контрольними показниками ($p < 0,05$).

Аналогічні дані були отримані у посткіндлінгових щурів після введення АПО та БК в стріатум. Всі досліджувані показники були співставні з відповідними у щурів в стадії посткіндлінгу ($p > 0,05$) та суттєво перевищували відповідні контрольні дані ($p < 0,05$).

Після введення в стріатум АПО кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ, виявилася в 1,6 раза більше при порівнянні з таким показником в контрольній групі щурів ($p < 0,05$). Суміщення УС і БС через 1 добу та через 7 діб після вироблення рефлексу виявилася в 2,5 раза та в 2,8 раза, більше, ніж аналогічні показники в контролі ($p < 0,05$).

В разі введення БК в стріатум посткіндлінгових щурів

MEDICINE AND PHARMACY

кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ, виявилася співставним з відповідним показником у щурів в стадії посткіндлінгу та в 1,6 раза перевищувала контрольний показник ($p < 0,01$). Показники кількості суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ через 1 добу та 7 діб після його формування, в 2,2 раза та в 3,1 раза перевищували аналогічні дані в контролі ($p < 0,05$).

Протилежні результати, співставні з такими показниками у інтактних щурів, були отримані після в/стр мікроін'єкцій СКО, ГЛП та МС. Після введення в стріатум СКО кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ, виявилася на 17,1 % більше при порівнянні з таким контрольним показником ($p > 0,05$). Проте, цей показник виявився в 1,4 раза менше при порівнянні з таким у щурів в стадії посткіндлінгу ($p < 0,05$). Суміщення УС і БС через 1 добу та через 7 діб після вироблення рефлексу виявилось в 1,6 раза та в 1,9 раза більше відповідно аналогічних показників в контрольних спостереженнях (в обох випадках $p < 0,05$).

Після в/стр введення ГЛП кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ на 20 % перевищувала такий показник у інтактних щурів ($p > 0,05$). Суміщення УС і БС через 1 добу після вироблення рефлексу виявилось в 1,6 раза менше при порівнянні з показником у посткіндлінгових щурів ($p < 0,05$). Суміщення УС і БС через 7 діб після вироблення рефлексу виявилось в 2 раза більше при порівнянні з контрольним показником ($p < 0,05$).

В разі введення МС в стріатум посткіндлінгових щурів кількість суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ виявилася співставною з відповідним показником у щурів в стадії посткіндлінгу та на 28 % перевищувало контрольний показник ($p > 0,05$). Показник кількості суміщень УС і БС, необхідних для виникнення УРАУ через 7 діб після його формування, в 2,2 раза перевищував аналогічний показник в контролі ($p < 0,05$).

Отже, в більшості випадків дані, які були зареєстровані, виявилися суттєво менше, ніж такі самі дані у кіндлінгових щурів ($p < 0,05$).

Таким чином, отримані дані свідчать про формування в щурів в динаміці ПКТ-індукованого кіндлінга мнестичних розладів, які прогресували та були максимальними на етапах завершеного кіндлінга та в стадії посткіндлінгу.

Мнестичні функції при кіндлінзі характеризуються погіршенням процесу навчання та функціонування короткострокової пам'яті та довгострокової пам'яті. На етапі

MEDICINE AND PHARMACY

формування кіндлінга когнітивні процеси детермінуються активацією в/стр холін- та ГАМК-ергічної передачі та пригніченням дофамінергічної активності. На етапі завершеного кіндлінга та посткіндлінга мнестичні розлади зберігаються після активації холін- та дофамінергічної нейротрансмісії та пригнічення активності ГАМК-ергічної системи.

Висновки.

В динаміці ПКТ-індукованого кіндлінга в щурів рееструвалися мнестичні розлади, які прогресували та були максимальними на етапах завершеного кіндлінга та в стадії посткіндлінгу.

Мнестичні функції при кіндлінзі характеризуються погіршенням процесу навчання та функціонування короткострокової та довгострокової пам'яті.

На етапі формування хронічної судомної активності когнітивні процеси детермінуються активацією в/стр холін- та ГАМК-ергічної та пригніченням дофамінергічної активності. При завершеному кіндлінзі та посткіндлінзі мнестичні розлади зберігаються після активації холін- та дофамінергічної нейротрансмісії та пригнічення активності ГАМК-ергічної системи.

Протилежно спрямована активність та її перспективна модуляція є шляхом до корекції когнітивних розладів при сформованій та резистентній до впливу протисудомних препаратів епілептичній активності.

References:

- [1] Вастьянов РС. Патологические механизмы эпилептической активности при хронической эпилепсии (экспериментальное исследование). Дис. ... д-ра мед. наук. Одеса. 2013: 329.
- [2] Franks RP. Psychiatric issues of childhood seizure disorders. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am.* 2003; 12: 551-565.
- [3] Ostapenko I.O. The perspectives of pharmacological correction of depressive disorders and cognitive deficit as post-traumatic epilepsy leading syndromes. *Journal of Education, Health and Sport.* 2022; 12(2): 360-369.
- [4] Shandra AA, Godlevsky LS, Vastyanov RS. Epileptic and antiepileptic systems interrelation as the systemic indicator of the complexity of epileptic activity manifestation. *Pan-Brain Abnormal Neural Network in Epilepsy.* Feng Ru Tang (Ed.). Singapore: Research Signpost; 2009. 99-120.
- [5] Вастьянов РС, Стоянов АН, Бакуменко ИК. Системная патологическая дезинтеграция при хронической ишемии мозга. Экспериментально-клинические аспекты. Saarbrücken : LAP Lambert Academic Publishing. 2015: 169.
- [6] Vastyanov RS, Stoyanov OM, Platonova OM, Yermuraki PP, Ostapenko IO, Tatarko SV, Bibikova VM. Pathogenetic mechanisms of convulsive

MEDICINE AND PHARMACY

- depressive syndrome in conditions of kindling model of epileptogenesis. *World of Medicine and Biology*. 2021; 1(75): 181-186.
- [7] Shandra AA, Mazarati AM, Godlevsky LS, Vastyanov RS. Chemical Kindling: Implications for Antiepileptic Drugs-Sensitive and Resistant Epilepsy Model. *Epilepsia*. 1996; 37(3): 269-274.
- [8] Ostapenko I.O. Dynamic changes of striatal neurotransmitter systems activity cause changes in behavioral non-convulsive disorders of depressive nature in the course of chronic seizure activity formation in kindling model of epileptogenesis. *Journal of Education, Health and Sport*. 2023; 13 (4): 386-403.