

MEDICINE AND PHARMACY

Зміни позно-тонічної поведінки щурів в динаміці кіндлінгової моделі хронічної судомної активності

Остапенко Ігор Олегович¹

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

Анотація. Епілепсія є тривалим, схильним до прогресування нервово-психічним захворюванням різної етіології, яке проявляється у вигляді пароксизмальних та більш-менш стійкими психічними порушеннями. Велика частина тягаря супутньої патології пов'язана з психічними розладами. Для остаточного розуміння перспектив експериментальної картина мінімізації або усунення депресивних поведінкових проявів протягом інтеріктального періоду часу за умов хронічного епілептогенезу нами було вирішено з'ясувати вираженість несудомної поведінки тварин протягом інтеріктальних інтервалів часу в динаміці кіндлінг-спричиненої хронічної судомної активності. Мета роботи – дослідження динаміки вираженості позно-тонічної поведінки щурів за умов різних періодів формування пікротоксин-індукованого кіндлінга при модуляції функціональної активності хвостатих ядер. На 18-й і на 24-й добах досліду, а також на стадії посткіндлінгу протягом інтеріктальних періодів у щурів досліджували вираженість позно-тонічної поведінки. Протягом формування ПКТ-спричиненого хронічного судомного синдрому в структурі позно-тонічних поведінкових реакцій тварин превалюють опіоїдні механізми. Прояви позно-тонічного поведінкового синдрому в цей час детермінуються підсиленням ГАМК-ергічної та пригніченням активності дофамінергічної нейромедіації стріатуму разом із розгальмовуванням його холінергічної медіації. На етапі сформованого кіндлінгу та посткіндлінгу в структурі позно-тонічних поведінкових реакцій тварин превалюють нейролептичні компоненти. Отримані дані свідчать про гіперактивацію стріатуму при розвитку хронічної судомної активності, функціональна активність якого залежить від часу розвитку судомного синдрому.

Ключові слова: хімічний кіндлінг, пікротоксин, посткіндлінг, позно-тонічна поведінка, стріатум, холінергічна нейротрансмітерна система, дофамінергічна та ГАМКергічна нейротрансмітерні системи.

Епілепсія є тривалим, схильним до прогресування нервово-психічним захворюванням різної етіології, яке проявляється у вигляді пароксизмальних та більш-менш стійкими психічними порушеннями [1, 2]. Велика частина тягаря супутньої патології пов'язана з психічними розладами [1]. Депресивні розлади є одними з найчастіших супутніх порушень поведінки в пацієнтів з епілепсією, залишаючись при цьому недиагностованими та

MEDICINE AND PHARMACY

нелікованими.

Підхід до лікування депресії у хворих на епілепсію нині недостатньо розроблений [1, 3]. Для остаточного розуміння перспектив експериментальної картина мінімізації або усунення депресивних поведінкових проявів протягом інтеріктального періоду часу за умов хронічного епілептогенезу нами було вирішено з'ясувати вираженість несудомної поведінки тварин протягом інтеріктальних інтервалів часу в динаміці кінлінг-спричиненої хронічної судомної активності.

Дослідження особливостей позно-тонічної поведінки дозволяє комплексно оцінити мінімально існуючі поведінкові порушення та надати уявлення стосовно превалювання активності окремих нейромедіаторних систем [1]. З урахуванням цього нами було досліджено структуру позно-тонічного синдрому в динаміці кіндлінг-спричиненої судомної активності. Зважаючи на детермінацію хвостатим ядром формування судомної активності та розладів поведінки за умов фармакологічного кіндлінга, цікавим було також проведення досліджень вираженості позно-тонічної поведінки за умов зміни функціонального стану стріатуму шляхом внутрішньостріарного (в/стр) введення агоністів та антагоністів провідних нейромедіаторних систем стріапалідарної системи – холінергічної, дофамінергічної та ГАМК-ергічної систем.

Мета роботи – дослідження динаміки вираженості позно-тонічної поведінки щурів за умов різних періодів формування пікротоксин-індукованого кіндлінга при модуляції функціональної активності хвостатих ядер.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальні дослідження проводили на білих 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 8 груп щурів залежно від активації та пригнічення активності холінергічної (внутрішньостріарним введенням карбахолу (КРБ) та скополаміну (СКО), дофамінергічної (внутрішньостріарним введенням апоморфіну (АПО) та

MEDICINE AND PHARMACY

галоперидолу (ГЛП) та ГАМК-ергічної (внутрішньостриарним введенням мусцимолу (МСЦ та бікукуліну (БК) нейромедіації хвостатого ядра. Дослідження несудомної поведінки щурів здійснювали після 18 введення ПКТ (стадія розвиненого хронічного судомного синдрому), після 24 введення ПКТ (завершений фармакологічний кіндлінг), після 14-денного інтервалу після закінчення формування кіндлінга (38 доба досліджу, стадія посткіндлінгу) [4]. В означені інтервали часу в щурів визначали вираженість позно-тонічної поведінки [1],

Отримані результати обчислювали статистично із застосуванням критеріїв АНОВА та Крушккал-Валлісу.

Отримані результати та їх обговорення.

У відповідь на 18-е введення ПКТ в динаміці формування кіндлінгової моделі епілептогенезу позно-тонічна поведінка щурів характеризувалася тим, що при їх розміщенні в центр горизонтальної площадки передні кінцівки були розставлені (в 5 щурів із 9; табл. 1). При перекиданні на бік 8 з 9 тварин залишалися у незручній позі довше 1 хвилини. У більшості щурів (у 8 із 9) був зареєстрований екзофтальм. При торканні пензликом рогівки рогівковий рефлекс у більшості тварин був відсутнім. Задні кінцівки були відведеними у 8 з 9 щурів. Середня вираженість больового синдрому при затисканні хвоста дорівнювала $1,14 \pm 0,06$ балів, що було в 2,5 раза менше, ніж в контрольних спостереженнях ($p < 0,05$).

Позно-тонічна поведінка щурів з активацією та блокадою холінергічних рецепторів стріатуму не відрізнялася суттєво в обох групах та була співставною з такою, яку демонстрували інтактні щури в контрольних спостереженнях. При цьому за умов внутрішньостриарного введення КРБ та СКО у переважній більшості щурів у групах при їх розміщенні в центрі горизонтальної площадки передні кінцівки були розставлені. У всіх щурів був збережений рефлекс перевертання, реєстрували нормальний тонус очних м'язів та нормальний рогівковий рефлекс. Задні кінцівки були відведеними у більшості щурів у групах, а тонус хвоста зберігався нормальним.

Практично всі тварини в групах були здатні утримати позу «місток» при опорі тулуба горизонтально розташованими паличками на передні та задні лапи, жодна з тварин не була здатна утриматися на вертикальному стрижні та не демонструвала прояви експлозивної поведінки. Інтенсивність больової реакції у відповідь на защипування хвоста дорівнювала $2,67 \pm 0,14$ та $2,71 \pm 0,13$ балів, відповідно (табл. 2).

Структура позно-тонічного поведінкового синдрому в щурів

MEDICINE AND PHARMACY

із в/стр введенням ГАЛ також характеризувалася певними змінами. При розміщенні в центрі горизонтальної площадки у 2 із 6 щурів передні кінцівки були розставлені. У 50 % щурів був порушений рефлекс перевертання, у 5 із 6 щурів реєстрували екзофтальм та відсутність рогівкового рефлексу. У переважній більшості щурів задні кінцівки були відведеними та реєстрували підвищений тонус хвоста.

Таблиця 1

Характеристика позно-тонічної поведінки у щурів після 18-го введення пікротоксину

Групи щурів	Показники, які досліджуються					
	Положення передніх кінцівок	Рефлекс перевертання	Очні симптоми	Рогівковий рефлекс	Змушена поза	Тонус хвоста
1. Контроль (інтактні щури), n=11	Лапи розставлені, n=10	Нормальний, n=11	Екзофтальм, n=0	Нормальний, n=11	Задні кінцівки відведені, n=10	Нормальний, n=11
2. Кіндлінгові щури (КЩ), після 18-ї ін'єкції ПКТ, n=9	Лапи розставлені, n=5	Порушений, n=8	Екзофтальм, n=8	Відсутній, n=8	Задні кінцівки відведені, n=8	Підвищений, n=7
3. КЩ, яким в/стр ввели карбахол (КРВ; 100 нг), n=6	Лапи розставлені, n=5	Нормальний, n=5	Екзофтальм, n=0	Нормальний, n=4	Задні кінцівки відведені, n=4	Нормальний, n=3
4. КЩ, яким в/стр ввели скополамін (СКО; 500 нг), n=6	Лапи розставлені, n=4	Нормальний, n=6	Екзофтальм, n=0	Нормальний, n=5	Задні кінцівки відведені, n=5	Нормальний, n=4
5. КЩ, яким в/стр ввели апоморфін (АПО; 250 нг), n=6	Лапи розставлені, n=4	Нормальний, n=5	Екзофтальм, n=1	Нормальний, n=5	Задні кінцівки відведені, n=5	Нормальний, n=5
6. КЩ, яким в/стр ввели галоперидол (ГЛП; 500 нг), n=6	Лапи розставлені, n=2	Порушений, n=3	Екзофтальм, n=5	Відсутній, n=5	Задні кінцівки відведені, n=5	Підвищений, n=5
7. КЩ, яким в/стр ввели мусцимол (МСЦ; 2,0 нг), n=6	Лапи розставлені, n=3	Порушений, n=4	Екзофтальм, n=5	Відсутній, n=5	Задні кінцівки відведені, n=6	Підвищений, n=6
8. КЩ, яким в/стр ввели бікукулін (БК; 20 нг), n=6	Лапи розставлені, n=5	Нормальний, n=6	Екзофтальм, n=1	Нормальний, n=5	Задні кінцівки відведені, n=5	Нормальний, n=5

MEDICINE AND PHARMACY

Після внутрішньостріарної ін'єкції мусцимолу у 50 % щурів передні кінцівки були розставлені після їх розміщення в центрі горизонтальної площадки. У 4 щурів із 6 був порушений рефлекс перевертання, у 5 із 6 щурів реєстрували екзофтальм та відсутність рогівкового рефлексу. У всіх щурів задні кінцівки були відведеними, у більшості щурів реєстрували підвищений тонус хвоста. 5 із 6 тварин були здатні утримати позу «місток» при опорі тулуба горизонтально розташованими паличками на передні та задні лапи, 2 щури була здатні утриматися на вертикальному стрижні та демонстрували прояви експлозивної поведінки. Інтенсивність больової реакції у відповідь на зашпикування хвоста становила $1,32 \pm 0,08$ бала, що виявилось в 2,14 раза менше при порівнянні з таким контрольним показником ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Характеристика позно-тонічної поведінки у щурів після 18-го введення пікротоксину (частина 2)

Групи щурів	Показники, які досліджуються				
	Захоплення передніми лапами	«Місток»	Утримання на «вертикальному стрижні»	Больовий рефлекс	Експлозивність
1. Контроль (інтактні щури), n=11	Лапи розставлені, n=10	Нормальний, n=11	Екзофтальм, n=0	Нормальний, n=11	Задні кінцівки відведені, n=10
2. Кіндлінгові щури (КЩ), після 18-ї ін'єкції ПКТ, n=9	Лапи розставлені, n=5	Порушений, n=8	Екзофтальм, n=8	Відсутній, n=8	Задні кінцівки відведені, n=8
3. КЩ, яким в/стр ввели карбахол (КРБ; 100 нг), n=6	Лапи розставлені, n=5	Нормальний, n=5	Екзофтальм, n=0	Нормальний, n=4	Задні кінцівки відведені, n=4
4. КЩ, яким в/стр ввели скополамін (СКО; 500 нг), n=6	Лапи розставлені, n=4	Нормальний, n=6	Екзофтальм, n=0	Нормальний, n=5	Задні кінцівки відведені, n=5
5. КЩ, яким в/стр ввели апоморфін (АПО; 250 нг), n=6	Лапи розставлені, n=4	Нормальний, n=5	Екзофтальм, n=1	Нормальний, n=5	Задні кінцівки відведені, n=5
6. КЩ, яким в/стр ввели галоперидол (ГЛП; 500 нг), n=6	Лапи розставлені, n=2	Порушений, n=3	Екзофтальм, n=5	Відсутній, n=5	Задні кінцівки відведені, n=5
7. КЩ, яким в/стр ввели мусцимол (МСЦ; 2,0 нг), n=6	Лапи розставлені, n=3	Порушений, n=4	Екзофтальм, n=5	Відсутній, n=5	Задні кінцівки відведені, n=6

MEDICINE AND PHARMACY

Продовження табл. 2

8. КЩ, яким в/стр ввели бікукулін (БК; 20 нг), n=6	Лапи розставлені, n=5	Нормальний, n=6	Екзофтальм, n=1	Нормальний, n=5	Задні кінцівки відведені, n=5
--	-----------------------	-----------------	-----------------	-----------------	-------------------------------

Примітка. * - $p < 0,05$ - вірогідні розбіжності досліджуваного показника порівняно з такими даними в інтактних щурів (статистичний критерій АНОВА)

Особливості позно-тонічної поведінки щурів на момент відтворення кіндлінгової моделі епілепсії наведені в табл. 3. Простежується відведення передніх та задніх кінцівок у всіх тварин, тобто превалювання екстензорного положення тулубу. Щури демонстрували нормальний рефлекс перевертання та рогівковий рефлекс. Тонус хвоста був зниженим у 7 щурів із 9.

Таблиця 3

Характеристика позно-тонічної поведінки у щурів після 24-го введення пікротоксину

Групи щурів	Показники, які досліджуються					
	Положення передніх кінцівок	Рефлекс перевертання	Очні симптоми	Рогівковий рефлекс	Змушена поза	Тонус хвоста
1. Контроль (інтактні щури), n=11	Лапи розставлені, n=6	Нормальний, n=8	Екзофтальм, n=0	Нормальний, n=8	Задні кінцівки відведені, n=9	Нормальний, n=9
2. Кіндлінгові щури (КЩ), після 18-ї ін'єкції ПКТ, n=9	Лапи розставлені, n=9	Нормальний, n=6	Екзофтальм, n=5	Нормальний, n=9	Задні кінцівки відведені, n=9	Снижений, n=7
3. КЩ, яким в/стр ввели карбахол (КРВ; 100 нг), n=6	Лапи розставлені, n=5	Нормальний, n=5	Екзофтальм, n=6	Нормальний, n=5	Задні кінцівки відведені, n=5	Знижений, n=6
4. КЩ, яким в/стр ввели скополамін (СКО; 500 нг), n=6	Лапи зведені, n=5	Порушений, n=5	Екзофтальм, n=1	Порушений, n=6	Задні кінцівки зведені, n=5	Нормальний, n=6
5. КЩ, яким в/стр ввели апоморфін (АПО; 250 нг), n=6	Лапи розставлені, n=4	Нормальний, n=6	Екзофтальм, n=5	Нормальний, n=6	Задні кінцівки відведені, n=5	Знижений, n=6
6. КЩ, яким в/стр ввели галоперидол (ГЛП; 500 нг), n=6	Лапи зведені, n=6	Порушений, n=6	Екзофтальм, n=0	Порушений, n=5	Задні кінцівки зведені, n=6	Нормальний, n=5

MEDICINE AND PHARMACY

Продовження табл. 3

7. КЩ, яким в/стр ввели мусцимол (МСЦ; 2,0 нг), n=6	Лапи зведені, n=6	Порушений, n=5	Екзофтальм, n=1	Порушений, n=6	Задні кінцівки зведені, n=5	Нормальний, n=6
8. КЩ, яким в/стр ввели бікукулін (БК; 20 нг), n=6	Лапи розставлені, n=5	Нормальний, n=5	Екзофтальм, n=6	Нормальний, n=5	Задні кінцівки відведені, n=5	Знижений, n=6

Позу «місток» були здатні утримувати 2 щура із 9, а на вертикальному стрижні утримувалися 4 щура із 9. Середня вираженість больового синдрому при затисканні хвоста дорівнювала ($3,84 \pm 0,21$) бала, що було в 1,5 раза більше, ніж в контрольних спостереженнях ($p < 0,05\%$ табл. 4).

Таблиця 4

Характеристика позно-тонічної поведінки у щурів після 24-го введення пікротоксину (частина 2)

Групи щурів	Показники, які досліджуються				
	Захоплення передніми лапами	«Місток»	Утримання на «вертикальному стрижні»	Больовий рефлекс	Експлозивність
1. Контроль (інтактні щури), n=11	n=7	n=7	n=0	$2,58 \pm 0,12$	n=0
2. Кіндлінгові щури (КЩ), після 18-ї ін'єкції ПКТ, n=9	n=7	n=2	n=4	$3,84 \pm 0,21^*$	n=4
3. КЩ, яким в/стр ввели карбахол (КРБ; 100 нг), n=6	n=5	n=3	n=3	$3,78 \pm 0,18^*$	n=3
4. КЩ, яким в/стр ввели скополамін (СКО; 500 нг), n=6	n=1	n=0	n=1	$2,16 \pm 0,19$	n=0
5. КЩ, яким в/стр ввели апоморфін (АПО; 250 нг), n=6	n=4	n=2	n=4	$3,81 \pm 0,21^*$	n=2
6. КЩ, яким в/стр ввели галоперидол (ГЛП; 500 нг), n=6	n=1	n=1	n=0	$2,24 \pm 0,17$	n=0
7. КЩ, яким в/стр ввели мусцимол (МСЦ; 2,0 нг), n=6	n=0	n=1	n=0	$2,16 \pm 0,18$	n=1

MEDICINE AND PHARMACY

Продовження табл. 4

8. КШ, яким в/стр ввели бікукулін (БК; 20 нг), n=6	n=4	n=2	n=4	3,69±0,19*	n=2
--	-----	-----	-----	------------	-----

Примітка. * - $p < 0,05$ - вірогідні розбіжності досліджуваного показника порівняно з такими даними в інтактних щурів (статистичний критерій АНОВА)

У щурів з внутрішньостріарним введенням карбахолу позно-тонічна поведінка характеризувалася тим, що при їх розміщенні в центрі горизонтальної площадки передні кінцівки були розставлені (в 5 щурів із 6).

Позно-тонічна поведінка кіндлінгових щурів на 24-й добі дослідження після введення налоксону та кетаміну була співставною з такою у кіндлінгових щурів без введення вказаних вище речовин, а також суттєво змінювалася після введення атропіну, що свідчить про залучення холінергічних рецепторів в її реалізацію на стадії завершеного пікротоксинового кіндлінгу.

У щурів в стадії посткіндлінгу простежується превалювання екстензорного положення тулубу у вигляді відведення передніх та задніх кінцівок. У переважній більшості щурів порушений рефлекс перевертання, відсутній рогівковий рефлекс. Реєстрували екзофтальм. Тонус хвоста був підвищеним у всіх щурів. Позу «місток» були здатні утримувати 8 щурів із 9, а на вертикальному стрижні утримувалися 2 щура із 9. Експлозивні реакції розвивалися у 4 із 9 щурів. Середня вираженість больового синдрому при затисканні хвоста дорівнювала $1,26 \pm 0,09$ бала, що було в 2,3 рази менше, ніж в контрольних спостереженнях ($p < 0,05$).

Важливо, що позно-тонічна поведінка щурів в стадії посткіндлінгу без внутрішньостріарних введень препаратів була тотожною в щурів після введення кетаміну та атропіну, а також суттєво змінювалася після введення налоксону, що свідчить про залучення опіоїдних рецепторів в її реалізацію на стадії формування ПКТ-спричиненого кіндлінгу [4].

Таким чином, в динаміці ПКТ-індукованого кіндлінгу відбуваються зміни позно-тонічної поведінки переважно за рахунок превалювання у структурі вказаного поведінкового синдрому опіоїдних та нейролептичних механізмів. Так, у фазі розвиненого кіндлінгу, на 18-у добу введення конвульсанту в структурі позно-тонічної поведінки домінували опіоїдні механізми. На момент сформованого кіндлінга структуру позно-тонічного поведінкового синдрому детермінували нейролептичні механізми. А в стадії посткіндлінгу в структурі позно-тонічної поведінки щурів превалювали опіоїдні механізми.

MEDICINE AND PHARMACY

Висновки .

Протягом формування ПКТ-спричиненого хронічного судомного синдрому в структурі позно-тонічних поведінкових реакцій тварин превалюють опіоїдні механізми. Прояви позно-тонічного поведінкового синдрому в цей час детермінуються підсиленням ГАМК-ергічної та пригніченням активності дофамінергічної нейромедіації стріатуму разом із розгальмовуванням його холінергічної медіації.

На момент формування пікротоксिनного кіндлінгу в структурі позно-тонічних поведінкових реакцій тварин превалюють нейролептичні компоненти. Прояви позно-тонічного поведінкового синдрому в цей час відзначаються підсиленням холінергічної та дофамінергічної нейромедіації стріатуму разом із пригніченням його ГАМК-ергічних механізмів.

На стадії посткіндлінгу в структурі позно-тонічних поведінкових реакцій тварин превалюють опіоїдні механізми. В цей момент у досліджуваних щурів відбувається активація холін- та дофамінергічної нейромедіації стріатуму та пригнічення його ГАМК-ергічної активності.

Отримані дані свідчать про гіперактивацію стріатуму за умов розвитку ПКТ-індукованої хронічної судомної активності, функціональна активність якого залежить від терміну маніфестації судомного синдрому.

References:

- [1] Vastyanov RS, Stoyanov OM, Platonova OM, Yermuraki PP, Ostapenko IO, Tatarko SV, Bibikova VM. Pathogenetic mechanisms of convulsive depressive syndrome in conditions of kindling model of epileptogenesis. *World of Medicine and Biology*. 2021; 1(75): 181-186.
- [2] Vastyanov RS, Kirchev VV, Muratova TM, Kashchenko OA, Vastyanova OV, Tatarko SV, Zayats LM. Comparative analysis of motor and emotional behavioral disorders in conditions of experimental chronic ischemic and chronic convulsive syndromes. *World of Medicine and Biology*. 2021; 2(76): 183-188.
- [3] Moroz VM, Shandra OA, Vastyanov RS, Yoltukhivsky MV, Omelchenko OD. *Physiology*. Vinnytsia : Nova Knyha, 2016: 722.
- [4] Вастьянов РС, Топал ММ, Стоянов ОМ, Брошков ММ, Галузінська МІ, Левковська ВЮ, Шпота ОЄ. Нейрофармакологічний аналіз модуляції активності хвостатого ядра при хронічній судомній активності. *Світ медицини та біології*. 2019; 1(67): 126-133.