

ВПЛИВ РІЗНИХ ЗА МЕХАНІЗМОМ ДІЇ ЕПІЛЕПТОГЕНІВ НА ВЕНТРАЛЬНИЙ ГІПОКАМП ЩУРІВ, У ЯКИХ ВІДТВОРЕНО РЕЗИСТЕНТНУ ФОРМУ ЕПІЛЕПТИЧНОГО СИНДРОМУ

Одеський державний медичний університет

Резистентна до дії антиепілептичних препаратів форма епілепсії може бути модельована шляхом відтворення кіндлінгу з наступною перервою протягом двох-трьох тижнів, коли тваринам не застосовують епілептогени у режимі відтворення кіндлінгу. Тестування епілептогену після перерви при його введенні щурам супроводжується виникненням судомного синдрому, який є резистентним до дії протиепілептичних препаратів [2]. Ця модель придатна для адекватних досліджень патогенетичних механізмів розвитку хронічної епілептизації мозку.

Можливим механізмом, який спричинює нечутливість до впливу антиепілептичних препаратів, можуть бути глибокі порушення механізмів гальмівного контролю утворень головного мозку, перш за все ГАМК-ергічного гальмування [2]. Такі порушення можуть виникати з участю інших нейромедіаторних систем, зокрема системи збуджуючих амінокислот і опіатергічної системи мозку [1–3]. Новим і не досить дослідженим аспектом патогенезу резистентної епілепсії є роль медіаторів запалення, а саме системи цитокінів, які можуть провокувати виникнення епілептиформних проявів [1; 6]. На моделі резистентної епілепсії не досліджено роль утворень вентрального гіпокампа в проявах посиленого нейронального збудження та значення в його розвитку системи прозапальних цитокінів.

Метою даного дослідження було вивчення ефектів внутрішньогіпокампулярної мікроін'єкції епілептогенів, які мають різний нейрохімічний механізм збуджуючого впливу, на моделі кіндлінг-викликаної резистентної форми епілепсії та особливостей цих ефектів за умов застосування пентоксифіліну, здатного знижувати вивільнення ендогенних прозапальних цитокінів — фактора некрозу пухлин-альфа й інтерлейкіну-1-бета [4].

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведені на щурах-самцях лінії Вістар масою 230–270 г за умов гострого експерименту.

Під нембуталовим наркозом (40,0 мг/кг, в/очер) щурам відповідно до координат стереотаксичного атласу [5] імплантували ніхромові електроди у вентральний гіпокамп (AP = -4,3; L = 4,5; H = 8,0), а також канюлі в бокові шлуночки головного мозку (AP = 0,8, L = 1,5, H = 3,5). Індиферентний електрод фіксували в носових кістках. Електроди та канюлі прикріплювали до поверхні черепа за допомогою швидкофіксуючої пластмаси типу «Норакрил». Через 7–12 діб із моменту оперативного втручання тварин використовували в експерименті.

Модель резистентної епілепсії відтворювали шляхом повторних щодобових застосувань коразолу субконвульсивною дозою (30,0 мг/кг, в/очер) протягом трьох тижнів (усього

21 ін'єкція епілептогену). Тварин, які реагували генералізованими клоніко-тонічними нападами на останні три ін'єкції епілептогену, утримували протягом двох тижнів без застосування коразолу, після чого знову використовували коразол дозою 30,0 мг/кг, в/очер. Генералізовані судоми, які спостерігали після введення коразолу у віддаленому періоді, кваліфікували як судоми, нечутливі до протиепілептичної дії, а самі судоми, таким чином, відтворювали особливості резистентної форми епілепсії [2].

Вогнища епілептичної активності спричинювали за допомогою здійснення внутрішньогіпокампулярної ін'єкції розчину епілептогену, що проводили через 24 год з моменту застосування тестуючої дози епілептогену у віддаленому періоді кіндлінгу. Зокрема, для такої ін'єкції застосовували мікроін'єктор «Hamilton» (США), за допомогою якого вводили епілептоген об'ємом 1,0 мкл протягом 1 хв в утворення лівого вентрального гіпокампа. Як групу контролю використовували інтактних щурів, яким здійснювали аналогічні введення епілептогенів. Брالی такі розчини конвульсантів, які готували *ex tempore*: розчин натрієвої солі бензилпеніциліну (10 000 МО/мл), NMDA («Sigma», США) (10,0 мг/мл), каїнової кислоти («Sigma», США) (2,0 мг/мл) і азотнокислого стрихніну (30,0 мг/мл).

Запис електричної активності проводили монополярно на

комп'ютерному електроенцефалографі «DX-системи» (Харків) при частоті опитування каналів 256 імп/с. Потужність вогнищевої епілептичної активності виражали в умовних одиницях, її розраховували шляхом множення середньої частоти генерування спайкових розрядів (коливання за 1 с) на їх середню амплітуду (мВ) протягом 1 хв. Тривалість існування вогнищ визначали від моменту появи першого і до останнього спайкового потенціалу. При цьому до уваги брали тільки тварин, у яких не визначалося розвитку іктальних розрядів.

У окремих серіях спостережень розраховували середньо-ефективні дози NMDA при її внутрішньогіпокампулярному застосуванні як такі, що спричинюють клонічні судоми (КС) і тонічну екстензію передніх кінцівок (ТЕПК) [7].

Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням методу ANOVA + Newman — Keuls тесту.

Результати дослідження та їх обговорення

Проведені дослідження показали, що за умов внутрішньогіпокампулярної мікроін'єкції розчину пеніциліну спостерігалася формування вогнищ, які генерували спайкову активність — цей ефект реєструвався як у тварин контрольної групи, так і у щурів із резистентною формою епілепсії. При цьому латентний період виникнення вогнищ був меншим у щурів досліджуваної групи на 15,1 %, потужність епілептичної активності — більшою на 11,5 %, а тривалість існування вогнищ перевищувала таку в контролі на 19,3 %, що, однак, не відрізнялося від контролю ($P > 0,05$) (рис. 1). Водночас мікроін'єкція розчину NMDA спричинювала у щурів досліджуваної групи розвиток спайкових потенціалів, латентний період появи яких був на 61,8 % меншим, ніж у контролі ($P < 0,01$). При цьому протягом 3–9 хв спостерігало-

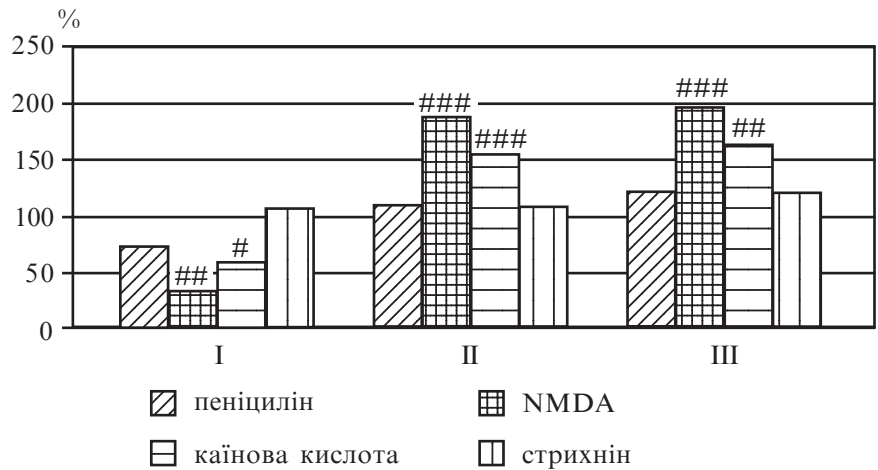


Рис. 1. Епілептогенні ефекти різних конвульсантів при їх внутрішньогіпокампулярному застосуванні у щурів із фармакорезистентною формою епілептичного синдрому

Примітка. За віссю абсцис: I — латентний період перших судомних розрядів; II — максимальна потужність вогнищ епілептогенезу; III — тривалість існування вогнищ епілептогенного збудження. За віссю ординат — досліджувані показники в процентах щодо таких у контролі, який прийнято за 100 %; # — $P < 0,05$; ## — $P < 0,01$; ### — $P < 0,001$ порівняно з відповідними показниками в групі контролю.

ся збільшення частоти й амплітуди розрядів, у 4 із 9 тварин зареєстровано виникнення іктальних розрядів. Потужність вогнищевої активності, яку вимірювали до початку іктальної активності, перевищувала таку у щурів контрольної групи в 2,01 разу ($P < 0,001$). Тривалість існування вогнищ також була в 1,95 разу більшою, ніж у контролі ($P < 0,001$). Внутрішньогіпокампулярна мікроін'єкція розчину каїнової кислоти супроводжувалася розвитком перших спайкових потенціалів, латентний період появи яких був меншим від такого в контролі на 33,7 % ($P < 0,05$). При цьому в 2 щурів із 8 відповідно на 12-й і 17-й хвилини із моменту введення епілептогену спостерігалася формування іктальних розрядів. Тривалість існування епілептичних вогнищ перевищувала таку в контролі на 55,3 % ($P < 0,01$). З введенням у гіпокамп мозку розчину стрихніну латентний період перших спайкових розрядів перевищував такий у тварин контрольної групи на 8,6 %, потужність епілептичної активності — на 10,2 %, а тривалість існування

вогнищ — на 21,3 % ($P > 0,05$) (див. рис. 1).

За умов відтворення моделі резистивної форми епілепсії у щурів спостерігалася суттєве зниження середньо-ефективної дози ED_{50} , яка спричинювала КС — у 2,35 разу порівняно з відповідним показником у групі інтактних щурів — ($0,65 \pm 0,04$) мкг ($P < 0,05$). При застосуванні пентоксифіліну (ПТФ) дозою 25,0 мг/кг, в/очер (24 год після введення тестуючої дози коразолу у віддаленому періоді) у щурів ED_{50} NMDA не відрізнялася суттєво від показників у групі контролю (інтактні щури) та від тварин із кіндлінгом у ранній фазі його розвитку (чутлива до впливу епілептогенів форма епілептичного синдрому) ($P > 0,05$) (рис. 2). Тестуюче застосування коразолу у віддаленому періоді кіндлінгу на фоні використання ПТФ дозою 100,0 мг/кг супроводжувалося підвищенням ED_{50} NMDA порівняно з такою в групі тварин із кіндлінгом у ранній фазі його розвитку на 54,7 % ($P < 0,05$).

Застосування більш високих доз NMDA (у діапазоні від 0,5 до 6,0 мкг внутрішньогіпокам-

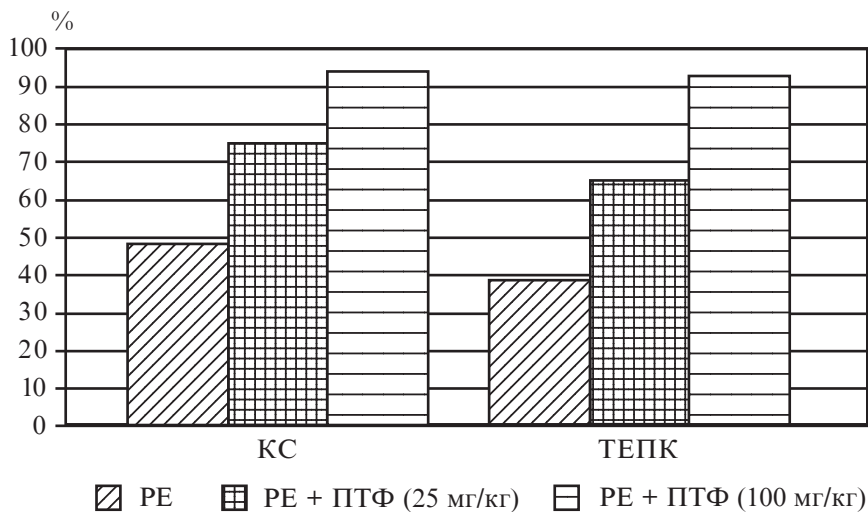


Рис. 2. Вплив пентоксифіліну на судоми, спричинені внутрішньогіпокампульним застосуванням NMDA:

За віссю абсцис: КС — клонічні судоми, ТЕПК — тонічна екстензія передніх кінцівок. За віссю ординат: ED_{50} — NMDA в процентах щодо відповідної величини епілептогену в інтактних щурів, яка прийнята за 100%; PE — резистентна форма епілептичного синдрому; * — $P < 0,05$ порівняно з відповідним показником у групі інтактних щурів; # — $P < 0,05$ порівняно з показником у групі щурів у ранній фазі кіндлінгу (чутлива до дії антиепілептичних препаратів форма епілептичного синдрому) (ANOVA + Newman — Keuls тест).

пально) супроводжувалося виникненням типової ТЕПК у частини піддослідних тварин. При цьому ED_{50} NMDA становила ($2,6 \pm 0,3$) мкг, а у щурів із резистентною формою епілептичного синдрому — на 48,5% менше, ніж у щурів у ранній фазі кіндлінгу ($P < 0,05$) (див. рис. 2). За умов застосування ПТФ ED_{50} NMDA була відповідно в 1,5 (ПТФ дозою 25,0 мг/кг, $P > 0,05$) і в 1,8 разу вищою (ПТФ дозою 100,0 мг/кг, $P < 0,05$), ніж у щурів із кіндлінгом у ранній фазі його розвитку (див. рис. 2).

Таким чином, наведені результати свідчать про те, що у щурів із модельованою резистентною формою епілептичного синдрому спостерігається посилена чутливість утворень вентрального гіпокампа до епілептогенної дії NMDA та каїнової кислоти, тобто до впливу агоністів рецепторів збуджуючих амінокислот. Причому у антагоніста ГАМК-рецептор бензилпеніциліну натрію подібний ефект був відсутній, що свідчить про відносну збереженість функціональної актив-

ності ГАМКергічних механізмів мозку. Причому роль метаболічних рецепторів, які активуються каїновою кислотою, є відповідно порівняно меншою, ніж роль NMDA, тому що епілептогенні ефекти останньої були більш вираженими.

Раніше була встановлена провідна роль вентральних відділів гіпокампа у формуванні детермінанти хронічної епілептичної активності за умов відтворення у щурів коразолового та пікротоксинового кіндлінгу [2]. Отримані в даному дослідженні дані дозволяють припустити, що одним із патогенетичних механізмів, які зумовлюють високу вразливість вентрального гіпокампа внаслідок дії епілептогенних та інших патогенетичних факторів може бути також висока чутливість вентральних відділів гіпокампа до впливу прозапальних цитокінів, на що вказує висока терапевтична ефективність ПТФ, який блокує вивільнення цих цитокінів [4]. З іншого боку, епілептогенний вплив агоністів збуджуючих амінокислот здійснюється шляхом посилення активності про-

запальної ендогенної цитокінової системи [6]. Таким чином, можна вважати, що резистентність епілептогенного збудження до впливу антиепілептичних препаратів може бути ефективно коригована шляхом застосування ПТФ, а також інших фармакологічних агентів, які здатні знижувати вивільнення прозапальних цитокінів.

Незначна тенденція посилення активності стрихніну, яка спостерігалася в проведених дослідженнях, може пояснюватися тим, що при розвитку резистентності зберігалася функціональна активність стрихнінчутливої ділянки рецепторів збуджуючих амінокислот [8].

Отже, отримані результати свідчать про патогенетичне значення підвищеної активності системи збуджуючих амінокислот, а саме — NMDA і метаболічних рецепторів вентрального гіпокампа в патогенезі резистентної до дії антиепілептичних препаратів форми епілептичного синдрому. Отримані результати можуть мати перспективне значення для розробки патогенетично обґрунтованої терапії невропатологічних синдромів різного походження.

Висновки

1. У віддаленому періоді коразол-індукованого кіндлінгу, який відтворює механізми фармакологічної резистентності епілептичного синдрому, у щурів спостерігається підвищена чутливість до впливу агоністів рецепторів збуджуючих амінокислот — NMDA та каїнової кислоти.

2. Ефект підвищення чутливості утворень вентрального гіпокампа до епілептогенного впливу NMDA блокується за умов застосування ПТФ, який пригнічує вивільнення прозапальних цитокінів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Годлевский Л. С. Стимуляция мозга: механизмы прекращения судорожной активности / Л. С. Годлевский

кий, Е. В. Кобольев, И. В. Смирнов. — О. : Нептун-Технология, 2006. — 184 с.

2. Шандра А. А. Киндлинг и эпилептическая активность / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. И. Брусенцов. — О. : Астропринт, 1999. — 272 с.

3. Heida J. G. Febrile convulsions induced by the combination of lipopolysaccharide and low-dose kainic acid enhance seizure susceptibility, not epileptogenesis, in rats / J. G. Heida, G. C. Teskey, Q. J. Pittman // *Epilepsia*. — 2005. — Vol. 46, N 12. — P. 1898-1905.

4. *Pentoxifylline* and propentophylline are inhibitors of TNF-alpha release in monocytes activated by advanced glycation endproducts / I. Meiners, S. Hauschildt, K. Nieber, G. Munch // *J. Neural. Transm.* — 2004. — Vol. 111, N 3. — P. 441-447.

5. Paxinos G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson // Sydney: Academic Press Inc., 1998.

6. *The role of TNF- α in amygdala kindled rats* / A. A. Shandra, L. S. God-

levsky, R. S. Vastyanov [et al.] // *Neuroscience Research*. — 2002. — Vol. 42. — P. 147-153.

7. *A neuro-pharmacological evaluation of felbamate as a novel anticonvulsant* / H. S. White, H. H. Wolf, E. A. Swinyard [et al.] // *Epilepsia*. — 1992. — Vol. 33, N 3. — P. 564-572.

8. *Woodbury D. M. Convulsant drug: Mechanisms of action* / D. M. Woodbury // *Antiepileptic drugs: Mechanism of action*. — N. Y. : Raven Press, 1980. — P. 249-303.

УДК 612.821.7+616.853

Є. В. Кобольєв

ВПЛИВ РІЗНИХ ЗА МЕХАНІЗМОМ ДІЇ ЕПІЛЕПТОГЕНІВ НА ВЕНТРАЛЬНИЙ ГІПОКАМП ЩУРІВ, У ЯКИХ ВІДТВОРЕНО РЕЗИСТЕНТНУ ФОРМУ ЕПІЛЕПТИЧНОГО СИНДРОМУ

У щурів, у яких спричинювали резистентну форму експериментального судомного синдрому за допомогою коразолового кіндлінгу, досліджували динаміку вогнищевої епілептичної активності, яку відтворювали у вентральному гіпокампі лівої півкулі головного мозку за допомогою мікроін'єкції розчинів натрієвої солі бензилпеніциліну, NMDA, каїнової кислоти й азотнокислого стрихніну. Встановлено підвищення епілептогенної дії NMDA та каїнової кислоти, а також зниження чутливості до дії NMDA під впливом пентоксифіліну, що свідчить про роль прозапальних цитокінів у підвищенні чутливості мозку до впливу системи збуджуючих амінокислот за умов моделювання резистентної форми епілептичного синдрому.

Ключові слова: резистентна форма епілептичного синдрому, пентоксифілін, NMDA, збуджуючі амінокислоти.

UDC 612.821.7+616.853

Ye. V. Kobolyev

THE INFLUENCE OF DIFFERENT EPILEPTOGENS UPON VENTRAL HIPPOCAMPUS OF RATS WITH RESISTANT FORM OF SEIZURE SYNDROME

In rats in which resistant form of experimental seizure syndrome was induced via corazol kindled administrations, the dynamics of focal epileptogenesis was investigated, which was induced in left ventral hippocampus via microinjection of sodium salt of benzilpenicillin, NMDA, kainic acid and strychnin nitrate. It was established that seizure susceptibility to epileptogenic effects of NMDA and kainic acid was raised. The net decreasing of susceptibility to NMDA effects were registered after pentoxifyllin administration, which reduced elaboration of endogenous proinflammatory cytokines.

Key words: resistant form of seizure syndrome, pentoxifylline NMDA, excitatory aminoacids.

УДК 612.332.2+612.387/591.1-59.085:57.017.3

О. В. Сторчило, канд. біол. наук, доц.

ДОСЛІДЖЕННЯ РАДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ПЛОДІВ РОЗТОРОПШІ ПЛЯМИСТОЇ НА ТРАНСПОРТ ГЛЮКОЗИ В ТОНКІЙ КИШЦІ НАЩАДКІВ ОПРОМІНЕНИХ ЩУРІВ

Одеський державний медичний університет

Проблеми подолання наслідків радіаційного ураження не перестають бути актуальними в суспільстві, яке змушене існувати за умов використання ядерних технологій і пов'язаних із цим підвищенням радіаційного фону та забрудненням радіонуклідами повітря, питної води

та продуктів харчування. В останньому випадку радіонукліди потрапляють до гастроентерального тракту і, долаючи ентеральний бар'єр, з кров'ю — до всіх органів і тканин, де негативно впливають на процеси життєдіяльності. Крім прямої дії на опромінений організм,

це спричинює численні вади розвитку його нащадків: зростання частоти загибелі після народження, порушення темпів росту, хвороби серця, порушення пам'яті та здатності до асоціативного мислення, підвищену втомлюваність тощо [1], тому пошук соціально доступних ма-