

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ВАСТЬЯНОВ Руслан Сергійович

УДК 612.017.1:612.8.062;612.821.7+616.853

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ЕПІЛЕПТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ
ПРИ ХРОНІЧНІЙ ЕПІЛЕПСІЇ
(експериментальне дослідження)

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація
на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Науковий консультант:
Шандра Олексій Антонович
Заслужений діяч науки і техніки
України, доктор медичних наук,
професор

Одеса – 2012

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ	5
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1 ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОЇ ЕПІЛЕПТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ (огляд літератури)	19
1. 1. Нейропатологічні механізми розвитку епілептичної активності. Системний підхід	19
1. 2. Нейропатологічні механізми кіндлінг-індукованого хронічного судомного синдрому ...	27
1. 3. Системний показник складності хронічної епілептичної активності через визначення механізмів взаємодії епілептичної та антиепілептичної систем	39
1. 4. Цитокін-індуковані механізми контролю хронічної епілептичної активності	44
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	59
2. 1. Експериментальні тварини	59
2. 2. Моделі судомного синдрому, які було застосовано в роботі	60
2. 3. Дози та терміни введення нейропептидів та протиепілептичних препаратів	66
2. 4. Операційна підготовка тварин: імплантація електродів для реєстрації електричної активності і канюль для внутрішньомозкових уведень. Реєстрація біоелектричної активності мозку. Внутрішньомозкові введення препаратів. Методика отримання цереброспинальної рідини	69
2. 5. Визначення концентрації фактору некрозу пухлини-альфа а інтерлейкіну1-бета в крові та тканині мозку щурів	70

	2. 6.	Поведінкові тести	71
	2. 7.	Електрична стимуляція та електричне руйнування структур мозку. Методика мікроелектростимуляції	74
	2. 8.	Препарати, що застосовувалися в роботі	76
	2. 9.	Гістологічна верифікація ділянок уведення препаратів, канюль і електродів	76
	2. 10.	Статистична обробка результатів досліджень	76
РОЗДІЛ 3		Патофізіологічні механізми хронічної епілептичної активності	79
	3. 1.	Формування хронічного судомного синдрому при повторних введеннях пікротоксину (1,0 мг/кг)	79
	3. 2.	Формування моделі посткіндлінгу як стану хронічного судомного синдрому, резистивного щодо дії проти епілептичних препаратів	80
	3. 3.	Патофізіологічні механізми хронічної судомної активності за умов відтворення епілептичного статусу	83
	3. 4.	Залучення імунної системи до патофізіологічних механізмів хронічної епілептичної активності	89
	3. 5.	Формування фармакологічного кіндлінгу у щурів в постнатальному періоді	104
	3. 6.	Патофізіологічні механізми післятравматичної судомної активності	111
	3. 7.	Патофізіологічні механізми відстрочених спонтанних судом	117
	3. 8.	Дослідження кортикальних механізмів розвитку епілептичної активності при пікротоксиновому кіндлінзі	134

РОЗДІЛ 4	Розробка комплексної патогенетичної терапії хронічної епілептичної активності	147
4. 1.	Вплив дельта-сон індукуючого пептиду та його аналогів на гострі та хронічні форми епілептичної активності	147
4. 2.	Вплив кіоторфіну, неокіоторфіну та та d-ser-2-неокіоторфіну на гостру форму епілептичної активності	170
4. 3.	Вплив діазепам зв'язуючого пептиду на гострі та хронічні форми епілептичної активності	181
4. 4.	Вплив соматостатину та нейротензіну на гостру форму епілептичної активності	187
4. 5.	Пептидні механізми як індуктори активності антиепілептичної системи мозку при хронічній епілептичній активності	196
4. 6.	Дослідження протисудомних ефектів фенобарбіталу та дифенілгідантоїну за умов пікротоксин-індукованих судом в щурів при кіндлінзі та посткіндлінзі	204
4. 7.	Ефекти протисудомних препаратів на кіндлінг-викликану епілептичну активність у щурів різного віку	212
4. 8.	Визначення ефектів протиепілептичних препаратів за умов спонтанної епілептичної активності	221
	АНАЛІЗ І ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	240
	ВИСНОВКИ	277
	ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ	281

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ

АЕС	- антиепілептична система
ВК	- вальпроєва кислота
ГНФ	- гліальний нейротрофічний фактор
ГППЗ	- генератор патологічно підсиленого збудження
ЕЕГ	- електроенцефалограма
ЕпА	- епілептична активність
ЕС	- епілептичний статус
ДСП	- дельта-сон індукуючий пептид
ДО	- детермінантний осередок
ДС	- детермінантна структура
ІЛ-1	- інтерлейкін-1-бета
ІЛ-6	- інтерлейкін-6
КБЗ	- карбамазепін
КК	- каїнова кислота
КП	- коркове представництво
КРГ	- кортикотропін-релізинг гормон
МЕС	- мікроелектростимуляція
ОНМедУ	- Одесский национальный медицинский университет
ПДЧПК	- проксимальні та дистальні частини передніх кінцівок
ПТЗ	- пентиленететразол
ПТФ	- пентоксіфілін
ПС	- патологічна система
ПФП	- подвійна функціональна посилка
ССР	- спонтанні судомні реакції
СХП	- спайк-хвильові потенціали
ТФР	- трансформуючий фактор роста-бета

ФНП	- фактор некроза пухлини-альфа
ФР	- фактор роста
ФРН	- фактору росту нерву
ФРФ	- фактор росту фібробластів
ЦСР	- церебро-спинальна рідина
ЧМТ	- черепно-мозкова травма
BDNF	- нейротрофічний фактор мозкового походження
FGF	- фактор роста фібробластів
NGF	- фактор роста нервів
TLR	- Toll-like рецептори

ВСТУП

Актуальність теми. Епілепсія – хронічне захворювання головного мозку, яке проявляється розвитком повторних непровокованих судом з порушенням моторних, сенсорних, вегетативних, когнітивних або психічних функцій, обумовлених надмірними електричними розрядами в корі головного мозку [1-12]. Частота виникнення епілепсії в різних країнах коливається від 50 до 70 випадків на 100000 населення, розповсюдженість захворювання становить 5-10 випадків на 1000 осіб (дорівнює приблизно 1 %) [1, 11, 13-16]. В Україні число хворих на епілепсію дорівнює приблизно 500000 пацієнтів, в тому числі приблизно 140000 хворих на епілепсію в країні – діти [17, 18].

Згідно даних ВООЗ та Міжнародної Протиепілептичної Ліги, медикаментозне лікування епілепсії, яке здійснюється із застосуванням існуючих синтетичних протисудомних препаратів, включаючи похідні барбітурової кислоти, гідантоїни, карбамазепін, бензодіазепіни та ін., у 60-80 % випадків дозволяє усувати клінічні прояви хвороби [1, 19-37]. Проте, і в цьому випадку пацієнти продовжують вживати антиепілептичні препарати [38-45]. Відомо про повторне виникнення судом після 2-річної ремісії в 8 % випадків [46-48] та після 5-річної ремісії в 1,6 % випадків [2, 49-53], внаслідок чого також відбувається пролонгований прийом протисудомних фармакологічних сполук. Отже, враховуючи наявність значної кількості хворих на епілепсію, які є резистентними щодо фармакотерапії, яка застосовується, слід зазначити, що ефективність лікування епілепсії не задовольняє фахівців. Це підтверджує звіт Міжнародної Протиепілептичної Ліги за 2011 рік, в якому йдеться про те, що із числа приблизно 40 млн хворих на епілепсію у всьому світі адекватне лікування отримують лише третина з них [54].

Таким чином, розробка ефективних методів терапії епілепсії з мінімальними побічними ефектами є важливим завданням, що має суттєве медичне, економічне та соціальне значення. Наведені вище дані свідчать про

необхідність розробки та впровадження до практики методів і нових фармакологічних сполук, які дозволяють ефективно пригнічувати епілептичну активність (ЕПА). Однією з причин незадовільного стану справ при лікуванні хворих на епілепсію є недостатнє дослідження патогенезу епілептичного синдрому. З оглядом на це розробка методів фармакологічної терапії епілепсії повинна здійснюватися на ґрунті методологічних заходів, які адекватно відображають патогенез епілептичного синдрому.

Досягнення сучасної медичної науки, зокрема її фундаментальних галузей, сприяли значному дослідженню механізмів нейропатологічних синдромів, які характеризуються гіперактивністю окремих утворень головного мозку [55-74]. Проте, загальновідомі успіхи та розвиток технічних підходів, які дозволяють простежувати перебіг багатьох неврологічних захворювань на клітинному, молекулярному, нейрональному та навіть генетичному рівнях де в чому відтиснули на задній бік загальнофундаментальні дослідження, які дають змогу прослідкувати системні механізми вказаних розладів на рівні цілісного організму [75-81]. З фундаментальної точки зору вірним є той факт, що основні клітинні та молекулярні патологічні процеси, зокрема, ендогенез патологічних процесів відбуваються та мають поліморфні клінічні на підґрунті системних патофізіологічних механізмів, до розвитку яких залучені численні органи, тканини та клітини [82].

Такі положення є основними у провідній концепції аналізу механізмів захворювання мозку та розробки методів їхньої експериментальної терапії - теорії генераторних, детермінантних і системних механізмів нейропатологічних синдромів, яка розроблена та обґрунтована академіком Російської АМН Крижановським Г.М. та його учнями (1980-2012 р.р.) із подальшою її трансформацією в концепцію дизрегуляційної патології нервової системи за умов хронічного судомного синдрому [56, 72, 74, 75, 78, 79]. Згідно з цією теорією, епілепсію як нозологічну одиницю можливо розглядати з точки зору дизрегуляційної хвороби в якості стійкої дизрегуляційної патології нервової системи. При епілепсії відокремлюють транзиторний дизрегуляційний

процес, в підґрунті якого є формування генератору патологічно підсиленого збудження (ГППЗ), та кінцеву дизрегуляційну патологію, яка є системною патологією з формування епілептичної патологічної системи (ПС), кожний ланцюг якої я проявом дизрегуляції відповідних процесів [74, 79, 82].

Науковий напрямок в експериментальній епілептології стосовно модуляції ЕпА групою речовин ендогенної натури, який розробляється професором Шандрою О.А. та його послідовниками, дозволив дійти до вивчення проблеми з'ясування патофізіологічних механізмів епілептогенезу [71-73, 81, 83-94]. Скоріше за все в реалізації просудомних та антисудомних ефектів беруть участь ендогенні фізіологічно активні речовини різної природи, ендогенні нейропептиди, нейромедіатори тощо. Показано, що цитокіни можуть бути важливою патогенетичною ланкою у формуванні хронічних порушень контролю збудливості нейрональних утворень мозку і, зокрема, дія цитокінів, ймовірно, опосередкує ефекти епілептичної ПС [95-106].

Механізми розвитку епілепсії останнім часом розглядаються переважно з точки зору стійкого дефіциту гальмівних механізмів мозку [56, 72-74, 79, 81, 107-112]. Разом з цим, з кінця 80-х років минулого століття була зформована та увійшла до практики епілептології концепція високої функціональної активності системи збуджуючих амінокислот як ведуча в уявленнях про патогенез епілептичного синдрому та епілепсії в цілому [113-119]. Проте, зазначені підходи, які доповнюють один одного та обґрунтовують необхідність застосування в клініці речовин, що підвищують ГАМК-ергічну модуляцію і знижують активність системи збуджуючих амінокислот, не призвели до якісної зміни підходів до лікування епілепсії [25, 27, 29, 36, 44]. Уявлення про стійкий характер порушень з боку окремих нейротрансмітерних систем - дефіцит ГАМК та надлишок збуджуючих амінокислот - не віддзеркалюють універсальний механізм патогенезу даного захворювання та не можуть бути фрагментом поліфункціональних порушень, які, ймовірно, мають системний характер та є основою хронічного епілептогенезу. Ймовірно, що ці порушення мають динамічний характер [82, 120-123]. Можна припустити, що концепція нейрохімічних змін - дефіциту та активації окремих нейромедіаторних систем –

вичерпала можливості та потребує корекції з урахуванням можливих динамічних змін чутливості рецепторних систем [14, 124-131].

Важливість функціонального (нейрофізіологічного) компоненту у виникненні та розвитку ЕпА, яка є стійкою та прогресивно розвивається, підкреслює уявлення про епілептичну ПС [56, 58, 61, 72, 74, 75, 77-81]. Механізми, які лежать в підґрунті формування епілептичної ПС, притаманні гострим та хронічним формам епілептичного синдрому, наприклад, фармакологічному кіндлінгу – адекватної моделі хронічної епілептизації мозку [61, 71-73]. З урахуванням цього важливою є можливість подальшого моделювання та експериментального лікування станів, які віддзеркалюють механізми хронічної форми епілепсії [134-140].

Розвиток кіндлінгу супроводжується зміною функціональної активності утворень мозку, які складають так звану антиепілептичну систему (АЕС) [56]. Показано, що її складовими частинами є хвостате ядро, мозочок, ретикулярна частина чорної речовини, верхні горбики чотирибугір'я [56, 72, 75, 82, 88, 141-144]. Зміна функціональної активності вказаних утворень значним чином модулює ЕпА при кіндлінзі [72, 75, 144-146].

Відомо, кіндлінг є моделлю, яка частково віддзеркалює клінічну форму скроневої мезіальної епілепсії. Кіндлінг розглядають як можливий універсальний механізм, що приймає участь в епілептогенезі не лише за умов досліду, але й такий, що притаманній мозку людини [72, 137, 136, 147-149]. Показано, що ЕпА, яка формується у щурів впродовж двотижневого періоду часу після завершення кіндлінга (так званий посткіндлінг), також характеризується вираженою стійкістю судомної активності щодо дії антиепілептичних препаратів [150]. Ми вважаємо, що вивчення патогенетичних механізмів хронічного судомного синдрому доцільно буде проводити із використанням моделей кіндлінга, посткіндлінга і епілептичного статусу (ЕС), які зараз є адекватними стосовно відтворення стійкого характеру хронічного епілептогенезу [68, 69, 71-73, 150]. Все це є важливим в аспекті дослідження патофізіологічних механізмів епілепсії.

За думкою Г.М.Крижановського, в основі розвитку нейропатологічних синдромів, які характеризуються гіперактивністю систем, лежить формування під впливом патологічної детермінанти ПС, яка є новою патодинамічною організацією, що виникає з первинно та вторинно змінених утворень ЦНС, діяльність якої має дезадаптивне або пряме патогенне значення для організму [82, 146]. ПС формується власне ушкодженою нервовою системою. Цей процес належить до типових патологічних процесів в нервовій системі, він формується при різних нервових розладнаннях та має універсальний характер. Епілептична ПС є одним з прикладів ПС.

Уявлення про епілептичну ПС як патогенетичну основу хронічної епілепсії узгоджуються з уявленнями Sutula T. (2004) стосовно ролі «складних систем» в епілептогенезі [139]. Подібна концепція епілепсії, за думкою автора, є прикладом розладнань «складних систем» та не може бути повною мірою пояснена розумінням одного або навіть декількох ланцюгів цієї системи. Епілепсія, будучи порушенням «складних систем», обмежує тим сами можливості ідентифікації одного механізму або декількох процесів, які лежать в підґрунті епілептогенезу та прогресуванні епілепсії.

Важливі питання при цьому залишаються неостаточно з'ясованими: недостатньо досліджені нейропатофізіологічні механізми хронічного судомного синдрому, патогенетичні механізми епілептизації мозку, невідома патологічна дизрегуляційна інтеграція нервової та імунної систем організму при епілептогенезі, суперечливі результати стосовно просудомних та протисудомних ефектів окремих ендогенних сполук та розробка схеми комплексної патогенетично обґрунтованої терапії хронічної ЕпА, недосліджений динамічний баланс між епілептичною ПС та антиепілептичною системою (АЕС) як показник потужності хронічної ЕпА. Через це виправданим є проведення досліджень, спрямованих на з'ясування патофізіологічних механізмів хронічного судомного синдрому у тварин різного віку та розробка ефективних комбінацій препаратів, які пригнічуватимуть хронічну ЕпА.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана в межах науково-дослідних робіт кафедри фізіології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) за темами “Дослідити механізми розвитку хронічної лімбічної епілепсії на прикладі посттравматичної епілепсії та кіндлінгу з метою розробки терапевтичних підходів, що підвищують ефективність лікування та профілактики епілепсії” (№ держреєстрації 0105U008874) та “Нейропатофізіологічний аналіз механізмів розвитку скроневої епілептичної активності та розробка методів її корекції” (№ держреєстрації 0111U003345), в яких дисертант є відповідальним виконавцем. Частина матеріалів дисертаційного дослідження було отримано при виконанні наукових тем “Роль інтерлейкінів в патогенезі хронічної епілептичної активності” (затверджена Європейською комісією ІНТАС, № 2037) та “Хронічні мультиелектродні реєстрації з моторної кори” (“Registrazione cronica multielettrodica della corteccia motorica”, затверджена Європейською Спільнотою за програмою EU ‘Sesto Programma Quadro’, Контракт № 001917). Дисертант був виконавцем фрагментів вказаних наукових тем.

Мета та завдання дослідження

Мета роботи - з'ясування різних системних патогенетичних механізмів хронічної епілептичної активності у тварин різного віку через дослідження взаємовідносин між епілептичною та антиепілептичною системами та розробка ефективних комбінацій протисудомних сполук.

Відповідно до висунутої мети були сформульовані такі *завдання дослідження*.

1. Дослідити патофізіологічні механізми формування підвищеної судомної готовності в щурів різного віку за умов кіндлінгу та посткіндлінгової моделі хронічного судомного синдрому та вивчити пептид-обумовлені механізми розвитку та припинення хронічної ЕпА.
2. З'ясувати патофізіологічні механізми і стадійність розвитку пілокарпін-індукованого хронічного судомного синдрому та дослідити особливості та

патофізіологічні механізми розвитку спонтанних судом, електроенцефалографічні зміни в корі головного мозку щурів та їх поведінку за умов цієї моделі.

3. Вивчити роль кальцієвих каналів, системи збуджуючих амінокислот, пептид-опосередковані патофізіологічні механізми в патогенезі хронічної ЕпА при відтворенні епілептичного статусу.
4. Вивчити цитокін-опосередковані патофізіологічні механізми хронічного судомного синдрому.
5. Дослідити кортикальні механізми розвитку хронічної епілептичної активності та зміни представленості моторних ділянок кори мозку при пікротоксиновому кіндлінзі.
6. Розробити та експериментально обґрунтувати можливість комплексної патогенетичної терапії хронічного судомного синдрому через застосування нейропептидів та протисудомних сполук в щурів різного віку.
7. На основі комплексного аналізу патофізіологічних механізмів формування хронічного судомного синдрому вивчити системні механізми взаємодії епілептичної та антиепілептичної систем мозку.

Об'єкт дослідження – патогенез хронічної епілепсії.

Предмет дослідження – патофізіологічні механізми розвитку та пригнічення хронічного судомного синдрому та розробка ефективної фармакотерапії.

Методи дослідження – патофізіологічні, біохімічні, імунологічні та статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів.

В роботі вперше встановлені механізми реалізації протисудомної дії сполук білкової природи. Доведено, що отримана у котів з епілептичним статусом церебро-спинальна рідина, яка містить пептидні сполуки, пригнічує розвиток судом в щурів-реципієнтів.

Вперше з'ясовано протисудомні ефекти кіоторфіну, неокіоторфіну та d-ser-2- неокіоторфіну. Вперше показано протисудомну активність дельта-сон індукуючого пептиду за умов гострих судом та пікротоксинового кіндлінгу, а також його антиішемічну дію. Простежені механізми реалізації протисудомних ефектів дельта-сон індукуючого пептиду та його аналогів при їх уведенні в різні структури мозку та за умов різних форм судомного синдрому.

Вперше виявлено, що двотижневий період після закінчення моделювання кіндлінгу – так званий посткіндлінг характеризується більш вираженою інтенсивністю судом та більшою резистентністю стосовно дії протисудомних сполук.

При проведенні імунологічних досліджень встановлено зростання концентрації фактору некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-1-бета в крові та тканині мозку за умов розвитку хронічного судомного синдрому. Вперше зареєстровано протисудомний вплив екзогенно введеного фактору некрозу пухлини-альфа на перебіг кіндлінг-індукованого судомного синдрому.

Виявлено, що травматичне ушкодження мозку у дорослих щурів, на відміну від молодих тварин, сприяє збільшенню інтенсивності судом, викликаних пілокарпіном, а також пікротоксином і каїновою кислотою, що свідчить про викликаний травматичним ушкодженням головного мозку загальний дизрегуляційний ефект. Вперше встановлено, що пікротоксин-індукований кіндлінг у щурят формується швидше порівняно з дорослими щурами. Доведено, що кіндлінг-викликана ЕпА у молодих щурів є стійкою до дії карбамазепіну і вальпроєвої кислоти.

Вперше показано, що у щурів через 20-25 днів після введення пілокарпіну розвиваються відстрочені спонтанні судоми. Тривалість періоду їх розвитку складає 40-48 днів з максимальною їх вираженістю впродовж 40 днів з моменту ініціації. Виявлена періодичність в динаміці загальної кумулятивної кількості спонтанних судом під час спостереження з тривалістю періоду в 7-10 днів.

За результатами дослідження запатентовані методи моделювання та лікування резистентної форми епілепсії, що підтверджено 4 патентами СРСР та України.

Практичне значення отриманих результатів

Одержано нові дані стосовно патофізіологічних механізмів розвитку хронічного судомного синдрому за умов різних способів його моделювання – кіндлінгу, посткіндлінгу, епілептичного статусу, післятравматичного та пілокарпін-індукованого судомного синдрому. Отримані результати є обґрунтуванням патофізіологічних механізмів формування несудомних форм поведінкових порушень при пілокарпін-викликаному хронічному епілептичному синдромі, що може бути використано для розробки нових методів фармакотерапії епілепсії.

Обґрунтована нова патогенетична концепція пригнічення хронічного судомного синдрому через застосування пептидів, що дозволить оптимізувати фундаментальні дослідження методів комплексного патогенетично обґрунтованого лікування хронічної ЕпА та підвищити ефективність профілактики хронічної епілепсії. Набула подальшого розвитку концепція пептидергічної регуляції збудливості мозку, що дозволило встановити її патогенетичне значення за умов епілептизації мозку.

Нові наукові дані розширюють сучасні уявлення стосовно формування резистентності в ранньому постнатальному періоді. Принципово важливими є показаний автором факт прискореного розвитку пікротоксинового кіндлінгу в дорослих щурів, в яких раніше був відтворений кіндлінг.

Отримані дані дозволяють припустити провідну роль запалення у патофізіологічних механізмах епілепсії. Виявлена взаємодія нервової та імунної систем при ініціації хронічного судомного синдрому створює підґрунтя для застосування блокаторів цитокінових рецепторів в клінічній практиці з метою досягнення протисудомного ефекту.

Практична значимість отриманих результатів підтверджується впровадженнями до навчального процесу кафедр низки вищих учбових

зкладів України: патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету, патологічної фізіології та фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, ДЗ «Дніпропетровська державна медична академія», Донецького національного медичного університету ім. М. Горького, патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету, фізіології та нервових хвороб з курсом неврології ДУ «Кримський державний медичний університет ім. С. І. Георгіївського», фізіології, невропатології та нейрохірургії та неврології з післядипломною освітою Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, патологічної фізіології, фізіології та нервових хвороб з нейрохірургією ДЗ «Луганський державний медичний університет», фізіології ОНМедУ, фізіології людини та тварин Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова, фізіології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачовського», патологічної фізіології та фізіології ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», неврології Харківської медичної академії післядипломної освіти.

Особистий внесок дисертанта.

Дисертація є самостійною науковою працею автора, внесок якого є основним у виборі мети та завдань, об'єму і методів дослідження, проведенні патентно-інформаційного пошуку за темою досліджень. Автором особисто виконано весь обсяг експериментальних досліджень, пов'язаних з відтворенням різних моделей хронічної ЕПА, реєстрацією електроенцефалограми (ЕЕГ) та поведінки тварин, а також експериментальним лікуванням хронічного судомного синдрому. Здобувач зробив науковий аналіз, обговорення отриманих результатів, сформулював основні положення та висновки.

Аналіз результатів, отриманих при дослідженні протисудомної дії дельта-сон індукуючого пептиду (ДСІП), патофізіологічної ролі фактору некрозу пухлини-альфа (ФНП) та інтерлейкіну-1-бета (ІЛ-1) в механізмах хронічного судомного синдрому здійснено за допомогою д.мед.н. професора

Л. С. Годлевського та професора Дж. Лайтлаара (Нідерланди), за що автор висловлює їм подяку. У дослідженні вмісту ФНП та ІЛ-1 в крові та тканині мозку тварин допомагав завідувач багатопрофільної діагностичної лабораторії DIAMED, м. Одеса, к.мед.н. В. Л. Коноваленко.

Автор самостійно проводив статистичну обробку отриманих результатів досліджень.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були повідомлені на I Конгресі Української Протиепілептичної Ліги (УПЕЛ, Одеса, 1996), II (Гаага, 1996), III-му (Варшава, 1998), V-му (Мадрид, 2002) та VII-му (Хельсінкі, 2006) Європейських конгресах з епілептології, I-му Національному конгресі невропатологів, психіатрів та наркологів України, присвяченому 75-річчю створення Українського науково-дослідного інституту клінічної та експериментальної неврології та психіатрії (Харків, 1997), XV-му (Донецьк, 1998), XVI-му (Вінниця, 2002), XVII-му (Чернівці, 2006) та XVIII-му (Одеса, 2010) з'їздах Українського фізіологічного товариства, II та III міжнародних конференціях УПЕЛ (Київ, 1998, 1999), I-й (установчій) конференції українського товариства нейронаук, присвяченій 90-річчю з дня народження академіка П. М. Серкова (Київ, 1998), 23-му міжнародному конгресі з епілепсії (Прага, 1999), Східно-Європейській конференції з міжнародною участю «Епілепсія та клінічна нейрофізіологія» (Ялта-Гурзуф, 1999), III-му Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю, присвяченому 100-річчю з дня народження академіка АМН СРСР М. М. Горєва (Одеса, 2000), міжнародному симпозиумі «Membrane and Signalling» (Київ, 2000), IV-му міжнародному медичному конгресі молодих вчених (Тернопіль, 2000), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні аспекти лікування епілепсії» (Одеса, 2001), науковій конференції «Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині» (Одеса, 2003), I-му (Сочі, Дагомис, 2005), II-му (Кишинів, 2008) та III-му (Ялта, 2011) з'їздах фізіологів СНД «Физиология и здоровье человека», V-му національному Конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Сучасні проблеми

патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів” (Запоріжжя, 2008), IV-й міжнародній науковій конференції «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі та патології», присвяченій 90-річчю від дня народження П.Г. Богача (Київ, 2008), науково-практичній конференції «Нові технології в невідкладній та відновлювальній медицині» (Ялта, 2008), всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених “Медична наука – 2008” (Полтава, 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, 2009), III-й всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання нейроендокринології» (Луганськ, 2010), VI-му конгресі наукового товариства патофізіологів України з міжнародною участю «Від фундаментальних досліджень до клінічної патофізіології» (Сімферополь, Ялта, 2012), IV-му Національному конгресі неврологів, психіатрів та наркологів України «Доказова медицина в неврології, психіатрії та наркології. Сьогодні й майбутнє» (Харків, 2012).

Публікації за темою дисертації.

За темою дисертації опубліковано 61 наукова робота, з них 2 розділи в монографіях у співавторстві, 30 статей, у тому числі 15 статей у виданнях іноземних держав, які включені до міжнародних наукометричних баз, і 15 статей у фахових наукових виданнях України, 4 патенти та 25 тез доповідей на міжнародних конференціях, з’їздах та конгресах.

Об’єм і структура дисертації.

Дисертаційну роботу викладено на 280 сторінках комп’ютерного тексту. Вона складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, 2 розділів власних досліджень (загалом 16 підрозділів), аналізу й узагальнення результатів і висновків. Робота ілюстрована 31 таблицями і 46 рисунками. Список використаної літератури займає 49 сторінок, бібліографічний показник включає 499 джерел, з них 96 – кирилицею.

РОЗДІЛ 1

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОЇ
ЕПІЛЕПТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ

Огляд літератури

1. 1. Нейропатологічні механізми розвитку епілептичної активності.
Системний підхід

Досягнення сучасної медичної науки, зокрема її фундаментальних галузей, сприяли значному поглибленню розуміння механізмів нейропатологічних синдромів, які характеризуються гіперактивністю окремих утворень головного мозку [55-74]. Проте, загальновідомі успіхи та розвиток технічних підходів, які дозволяють простежувати перебіг багатьох неврологічних захворювань на клітинному, молекулярному, нейрональному та навіть генетичному рівнях, де в чому відтіснили на задній бік загальнофундаментальні дослідження, які дають змогу прослідковувати системні механізми вказаних розладів на рівні цілісного організму [75-81]. З фундаментальної точки зору вірним є той факт, що основні клітинні та молекулярні патологічні процеси, зокрема, ендогенез патологічних процесів, відбуваються та мають поліморфні клінічні симптоми на підґрунті системних патологічних механізмів, до розвитку яких залучені численні органи, тканини та клітини [82].

Останніми роками завдяки експериментально-клінічним розробкам багатьох вчених, об'єднаних навколо наукової школи почесного Президента Світового товариства патофізіологів академіка Г. М. Крижановського, було продовжено дослідження загальних позицій теорії детермінантних, генераторних та системних механізмів нейропатологічних захворювань нервової системи, які характеризуються гіперактивність окремих утворень мозку [56, 72, 74, 79] та розроблено теорію дизрегуляційної патології нервової системи [78]. За думкою Г. М. Крижановського, патофізіологічні порушення органів та систем

також реалізуються крізь молекулярні процеси. Але він вважав, що з фундаментальної точки зору, в теоретичному та в прикладному аспекті доцільно розрізнити рівні маніфестації дизрегуляційної патології, початкові дизрегуляційні молекулярні процеси та вторинні патофізіологічні механізми системних порушень. На поміжнейрональному рівні в якості патофізіологічного механізму (мів) прикладом є «пул патологічно змінених нейронів», на поміжсистемному рівні – утворення патологічних систем [78, 79].

Яскравим прикладом наведеного вище є епілепсія, яку можливо розглядати з точки зору дизрегуляційної хвороби в якості стійкої дизрегуляційної патології нервової системи. За умов епілепсії відокремлюють транзиторний дизрегуляційний процес, в підґрунті якого є формування генератору патологічно підсиленого збудження (ГППЗ), та кінцеву дизрегуляційну патологію, яка є системною патологією з формування епілептичної патологічної системи (ПС), кожний ланцюг якої я проявом дизрегуляції відповідних процесів [78].

Виходячи із загальної дефініції положення «дизрегуляційна патологія», зрозуміло, що в його підґрунтя мають бути залучені патологічні взаємозв'язки різних клітин, органів та систем організму, включаючи механізми гуморальної/ендокринної дизрегуляції. Детальне дослідження функціонального стану окремих нейромедіаторних та нейропептидних систем за умов різних форм експериментального судомного синдрому свідчить на користь їх участі в нейропатофізіологічних механізмах хронічної епілептичної активності. При цьому, зважаючи на «злам» поміжнейрональних взаємозв'язків при ініціації та розповсюдженні епілептичної активності (ЕпА) відбувається дизрегуляція цих поміжнейрональних взаємовідносин, внаслідок чого порушуються численні механізми аферентних «входів» та еферентних «виходів» в утвореннях ЦНС, що загалом спричиняє порушення регуляторних механізмів, які мали би виконувати саногенну протисудомну дію. Показано, що такі уявлення були підставою для розробки положень про «комплексну патогенетичну терапію» нейропатологічних синдромів та епілептичного синдрому зокрема [79, 81].

Дослідження механізмів виникнення, розвитку та підтримання сталості нейропатологічних синдромів, які характеризуються гіперактивністю окремих утворень головного мозку, дозволило прийти висновку, що основою їх розвитку є формування під впливом патологічної детермінанти ПС, яка є новою патодинамічної організацією, що виникає із первинно та вторинно змінених утворень ЦНС та спричиняє прямий патогенний або непрямий дезадаптивний (дизрегуляційний) впливи на організм [78, 79]. За таких умов ПС формується власне ушкодженою нервовою системою. Цей процес належить до типових патологічних процесів у нервовій системі, має універсальне загальнобіологічне значення та формується при різних нервових розладнаннях. Якщо вже сформувалася, то ПС може розвиватися повільно та бути патофізіологічним підґрунтям низки нейропатологічних синдромів. Клінічна маніфестація ПС детермінується видом фізіологічної системи, порушення функціональної активності якої започаткувало розвиток ПС, та від розташування її детермінантної структури (ДС) і підпорядкованих (залежних) частин ПС, які реалізують патогенні ефекти детермінанти [78].

Основні закономірності утворення, функціональної організації, підтримання сталості та особливості діяльності епілептичної ПС були досліджені на прикладі комплексу вогнищ ЕпА [80]. При створенні у різних ділянках неокортексу розрізаних осередків відносно слабкої ЕпА та додатковому створенні ще в одній ділянці нового, потужнішого вогнища останній набуває значення детермінантного осередка (ДО). Під його впливом не лише зростала активність в раніше створених осередках, але й відбувалася синхронізація та зміна характеру ЕпА у ДО, а також об'єднання осередків до багатоосередкового комплексу з єдиним характером генерування ЕпА [60, 80]. За умов фармакологічного пригнічення або екстирпації ДО відбувався розпад багатоосередкового комплексу та проявлялися колишні розрізнені осередки ЕпА. Пригнічення активності будь-якого з підпорядкованих осередків комплексу не спричиняло його розпаду. Для відновлення активності багатоосередкового комплексу після його зникнення завдяки пригніченню ДО достатньо було підвищити власне активність ДО [80]. Вказане вище

підтверджує також провідну роль ДО у розвитку, підтримці та стабілізації активності спричиненого під його впливом епілептичного комплексу.

Відзначені системні особливості формування епілептичної ПС були простежені за умов експериментального відтворення хронічного судомного синдрому із застосуванням моделі електричного та хімічного кіндлінгу. Показано формування детермінантної структури, які генерувала прогресивно зростаючі за амплітудою епілептиформні потенціали та післярозряди, які залучають до спільної динамічної патологічної структурної організації утворення моторної кори іпсилатеральної півкулі мозку. Загалом все відзначене обумовлює зростання інтенсивності судомних проявів.

Показано, що при хімічному кіндлінзі патологічна детермінантна структура, яка детермінує прояви епілептичної ПС, формується в гіпокампі [72, 77, 81]. За таких умов, рівно як і на моделі епілептичного комплексу, найбільша потужність ЕпА реєструвалася в детермінантній структурі, її менша вираженість відзначалася у підпорядкованих ланцюгах епілептичної ПС [72]. Ці положення узгоджуються з даними досліджень [151], які показали залучення базолатерального мигдалика до генерації вторинних епілептиформних післярозрядів у вентральному гіпокампі в щурів із електростимуляційним кіндлінгом мигдалика, що спричиняє прогресивне зростання тривалості ЕпА. Отже, при застосуванні повторних кіндлінгових стимуляцій відбувалося зростання потужності ЕпА та залучення до епілептичної ПС додаткових утворень мозку з формуванням вторинних і дзеркальних осередків в утвореннях обох півкуль [152]. Нагадаємо, що десятьма роками пізніше вийшла в світ монографія Г. М. Крижановського, в якій було підсумовані результати численних експериментальних досліджень із висвітленням теорії дизрегуляційної патології [78], в межах якої логічно укладаються викладені вище результати про структурно-функціональні дизрегуляційні зміни в нервовій системі при судомному синдромі.

Ще одне підтвердження вказаному вище впливає з прямої кореляції швидкості розповсюдження судомних потенціалів від появи та в подальшому інтенсивності судомних проявів. Так, за умов розвитку генералізованих клоніко-

тонічних судомних нападів (в тому числі й повторних) з падінням тварин на бік, вегетативними розладами та післянападковими депресіями ЕпА швидко охоплює базальні ганглії, таламус, неокортекс, тоді як при реєстрації клонічних здригань м'язів морди передніх кінцівок епілептиформні післярозряди реєструються лише в ділянці мигдалика, який підлягає електричній стимуляції. В тварин із розвинутим кіндлінгом початок ЕпА частіше мав дифузний характер з практично одночасною реєстрацією ЕпА в різних утвореннях мозку, тоді як протягом перших судомних нападів реєстрували осередковий початок ЕпА в гіпокампі [72]. По закінченню розвитку повторних кіндлінгових нападів максимальної деструкція ДО, тобто утворення мозку, яке підлягало кіндлінговим стимуляціям, не впливає суттєво на генерацію ЕпА у вторинних структурах, судомні напади такої ж інтенсивності можуть бути відтворені за допомогою електростимуляції будь-якого з утворень мозку, яке має зв'язки зі стимульованим утворенням [153, 154]. Наведені дані узгоджуються з результатами досліджень «вимикання» активності детермінантної структури на моделі багатоосередкового комплексу.

Важливого значення набуває факт, що в тварин різних видів - кішок і мавп – при електричному кіндлінзі мигдалика первинний детермінантний осередок збудження в цій структурі, генеруючи гіперсинхронну епілептиформну активність, змінює активність багатьох з'єднаних з ним проєкційних нейрональних мереж, індукує їх надмірне розширення та спричиняє форомування вторинних детермінантних утворень, які індукують судомну активність в підпорядкованих утвореннях ЦНС [155]. Ймовірно, що зміцнення внутрішньосистемних зв'язків та стабілізація внаслідок цього епілептичної ПС є механізмом підтримання сталості самої ПС та обумовлених її активністю клінічних проявів. Таким чином, розвиток епілептичної ПС відбувається за рахунок залучення до неї нових утворень ЦНС та виникнення вторинних детермінант. З точки зору системного підходу щодо нейропатологічних механізмів хронічного судомного синдрому, початкова транзиторна гіперактивація нейронів як результат термінового дисбалансу між гальмівними та збуджуючими процесами в мозку при впливі епілептогенного стимулу(ів) при подальшому динамічному розвитку патологічного процесу

трансформувалася до стану дизрегуляційної патології – стійкого порушення балансу поміж гальмівними та збуджуючими процесами в мозку, який є стійким щодо фармакотерапевтичних впливів, характеризується інерційністю та є причиною ендогенезу патологічних процесів або подальшого прогресивного розвитку нової патології. Слід відзначити, що особливості клінічних проявів епілептичної ПС багато в чому обумовлені розташуванням та характером активності первинної детермінантної структури та вторинних осередків, які залучаються епілептичної ПС. Різна локалізація первинних детермінантних структур та формування внаслідок цього різних епілептичних ПС, ймовірно, є патогенетичним підґрунтям різноманітних клінічних форм епілепсії.

Отже, йдеться про провідну роль епілептичної ПС у формуванні, тривалості існування, характері активності та клінічній маніфестації відповідного типу судомного синдрому. Відбувається патологічна інтеграція гомологічних утворень мозку в нервовій системі, що в свою чергу є проявом ендогенно виникаючих нейропатологічних механізмів розвитку окремих форм її патології [156]. Уявлення про такий тип патологічних інтеграцій, поява яких ініціюється лише дією ушкоджуючого (за умов епілептичної ПС – епілептогенного) чинника, а існування яких неможливо за умов нормального функціонування нервової системи завдяки впливу регуляторних механізмів, були недавно сформульовані [78]. Одним із патофізіологічних механізмів, який спричиняє появу таких патологічних інтеграцій, є порушення регіонарних механізмів та загального інтегративного контролю в ЦНС загалом.

Отже, порушення загального інтегративного контролю в ЦНС відіграє вирішальну роль у визначенні можливості формування і діяльності ПС, оскільки саме він впливає на активність патологічної детермінанти, на поширення збудження по ЦНС і на реалізацію функціональної посилки детермінанти [75]. Якщо цей контроль ефективний, то ПС не утворюється, незважаючи на вплив детермінанти. Ендогенна АЕС [56, 157], недостатня ефективність якої є однією з умов полегшеного формування та розвитку епілептичної ПС, також є проявом, по-перше, патологічної інтеграції з саногенною ефективністю та, по-друге, активності механізмів загального інтегративного контролю.

Всі патологічні інтеграції в нервовій системі виникають внаслідок дизрегуляційної патології, причому відокремлюють різні рівні їх формування: епілептична ПС, при яку йшлося вище, є прикладом формування патологічної інтеграції на рівні системних взаємовідносин (разом із патологічною детермінантою). Прикладами патологічної інтеграції на молекулярному рівні є агрегати дефектних молекул, на рівні поміжнейрональних взаємовідносин – агрегат «дефектних» гіперактивних нейронів з повільно виникаючим дефіцитом гальмівного контролю – йдеться про ГППЗ, який за умов фармакологічного кіндлінгу формується в гіпокампі [78].

На молекулярному рівні прикладами патологічних інтеграцій є агрегати ушкоджених білків або первинно дефектні білкові молекули. Синтез та вивільнення ендогенних сполук нервовою тканиною є одним із патогенетичних чинників, які обумовлюють виникнення епілептогенних систем. Так, при кіндлінзі в мозковій тканині виявлені сполуки, що полегшують процес епілептизації мозку та розвиток ЕпА при екзогенному впливі епілептогенних чинників [56]. Роль подібних проепілептогенів гратимуть окремі пептиди, що дозволяє припускати наявність пептидергічних патогенетичних механізмів, які здатні регулювати збудливість головного мозку та ЦНС.

Важливу роль в утворенні епілептичної ПС має спадковий чинник. Показано, що в частини кіндлінгових тварин не вдається викликати генералізовані судомні напади, що разом із різною динамікою швидкості розвитку та інтенсивності кіндлінгових нападів у тварин свідчить, ймовірно, на користь генетичної схильності щодо прискорення розвитку або запобігання розвитку кіндлінгу. Підтвердження цьому отримано в дослідженнях [154], в яких за допомогою селекційного розведення були виведені лінії щурів, схильних і резистентних щодо електростимуляційного кіндлінга, так звані Fast- та Slow- лінії тварин [149, 158, 159].

Дослідження особливостей ефектів фармакологічних антиепілептичних препаратів та електростимуляції структур АЕС на моделях осередкової ЕпА, їх комплексів та кіндлінгової моделі виявили ряд закономірностей ліквідації епілептичної ПС. Відомо зростання активності епілептичної ПС та розвиток її

резистентності щодо лікувальних впливів при збільшенні числа осередків, які входять до її складу. Так, поодинокій осередок ЕпА в корі головного мозку відносно легко пригнічується за умов електростимуляції структур АЕС. При додатковому створенні в корі мозку ще двох осередків ЕпА із формування єдиного трьохосередкового комплексу, то електрична стимуляція цього утворення не здатна ліквідувати активність ані первинного осередку, ані всього багатоосередкового комплексу. Для його пригнічення потрібна тривала стимуляція всієї АЕС [80, 157]. Таким чином, в комплексі епілептичних осередків зростає резистентність кожного осередка як частини епілептичної ПС. У клініці також відомий факт резистентності щодо антиепілептогенного лікування хворих з багатоосередковими формами епілепсії [160, 161].

Значення збільшення числа складових частин епілептичної ПС у зростанні її резистентності до гальмівних впливів чітко простежується на прикладі більшої резистентності комплексу з трьох осередків ЕпА порівняно з комплексом, який складається з двох осередків. При цьому якщо протягом формування комплексу один з осередків ЕпА не увійшов до нього та не став, відповідно, частиною епілептичної ПС, то його активність легко пригнічується під впливом електростимуляції структур АЕС, в той час як весь комплекс з трьох осередків зберігався [78].

Цей факт констатує, що резистентність вогнищ ЕпА в неокортексі визначається не лише їх кількістю, а патологічною інтеграцією, тобто, об'єднанням в систему, в якій здійснюється підкріплювальне взаємодія її частин та синхронізація їх активності. При виключенні навіть одного із підпорядкованих осередків комплексу резистентність двохосередкового комплексу, який залишався, знижувалася. Наведене свідчить про те, що стійкість епілептичної ПС, в тому числі її резистентність щодо фармакотерапевтичних впливів детермінується кількістю позитивно взаємозв'язаних в ній ланок [157].

З цим узгоджується відомий лікувальний ефект, який нерідко досягається перерізкою мозолистого тіла та інших мозкових комісур у хворих на епілепсію. Внаслідок такої операції роз'єднання двох півкуль обумовлює редукцію

епілептичної ПС, до якої входять структури обох півкуль. Після цього ПС розпадається, та її активність пригнічується під впливом ендогенних антиепілептичних механізмів.

Наведені вище дані про епілептичну ПС як патогенетичне підґрунтя хронічної епілепсії узгоджуються з уявленнями про роль «складних систем» (“complex systems”) в епілептогенезі [139]. Подібна концепція епілепсії є прикладом розладнання «складних систем» і не може повною мірою бути пояснена вивченням однієї або навіть декількох ланок цієї системи. Епілепсія, будучи порушенням «складних систем», тим самим обмежує можливості встановлення одного механізму або декількох процесів, що лежать в основі епілептогенезу та прогресування епілепсії.

Спроба з'ясувати послідовність специфічних молекулярних або клітинних механізмів, що лежать в основі епілептогенезу, зустрічає значні складнощі, оскільки невідкладні феномени, наприклад, нейрональна синхронізація, прямо не пов'язані з даними специфічними порушеннями [139]. Можна погодитися з думкою автора про те, що розуміння процесів, що відбуваються у всіх складових частинах «складних систем», вимагає не лише детального знання цих частин, а й розуміння міжрівневих взаємодій в системі.

Підсумовуючи, слід відзначити актуальність системного підходу при вивченні нейропатологічних механізмів хронічного судомного синдрому. Подальший розвиток теорії детермінантних, системних та генераторних механізмів невропатологічних синдромів із відокремленням дизрегуляційної патології клітин, органів, систем та формуванням дизрегуляційних патологічних інтеграцій є тим корисним приладом для продовження дослідження патогенетичних механізмів епілептогенезу.

1. 2. Нейропатологічні механізми кіндлінг-індукованого хронічного судомного синдрому

З точки зору системного підходу щодо нейропатологічних механізмів хронічного судомного синдрому епілептогенез, який ініціює розвиток епілепсії, є

прикладом дизрегуляційної патології, в той час як власне епілепсія є прикладом дизрегуляційної хвороби, підґрунтям якої є епілептична ПС [78]. Провідним чинником, який є обов'язковим для епілептогенезу, є глибока недостатність загального інтеграційного контролю мозку. Слід також розуміти, що наслідки втрати подібного загального регуляторного контура в організмі можуть бути різнобічними. Одними з них є патологічні ефекти феномену нейропластичності, який за нормальних умов виконує фізіологічні функції по забезпеченню структурно-функціональної та метаболічної організації нервової системи, завдяки чому присутність ефекту в окремій її частині забезпечується протягом достатньо тривалого терміну після припинення епілептогенного впливу.

Одним із яскравих прикладів подібної нейропластичності при існуванні епілептогенної ПС є феномен кіндлінгу (“розгойдування”). Кіндлінг вважається найбільш адекватною моделлю епілепсії, індукованою за допомогою повторних, спочатку підпорогових електричних стимуляцій лімбічних утворень мозку – мигдалика або гіпокампа [135-136], що спричиняє появу та прогресивне збільшення судомної активності з розвитком генералізованих тоніко-клонічних нападів [138, 140, 147, 149, 153, 162-167].

Поведінкові та електрофізичні прояви кіндлінгу багато в чому відповідають клінічним парціальним вторинно-генералізованим формам епілептичного синдрому. Кіндлінгова модель дозволяє дослідникові точно контролювати початок судом, їх розвиток і тривалість. Істотною особливістю кіндлінгу як моделі хронічної епілептизації є те, що стан підвищеної судомної готовності, що формується, зберігається протягом тривалого терміну (місяці, роки) після припинення епілептогенних дій.

Характерним є розвиток дегенеративних змін нейронів в лімбічних утвореннях мозку і формування спонтанних епілептичних нападів [127-129, 163, 165-179]. Довгострокове збереження стану підвищеної судомної готовності за умов кіндлінгу свідчить про значні стабілізовані структурно-функціональні пластичні поміжнейрональні перебудови, патологічні зміни їх зв'язків, які обумовлені, ймовірно, стійкими змінами генетичного апарату клітини.

Wadman W.J. et al. (1985), досліджуючи клітинно-молекулярні механізми фокального епілептогенезу, аналізують експериментальні дані з вивчення клітинно-молекулярних механізмів фокального епілептогенезу [180]. Розглядаючи принципи формування синхронізованої пачкової активності в епілептогенному фокусі, обговорюється роль синаптичної активності та збудливості позасинаптичної мембрани в розвитку епілептиформних розрядів нейронів. Особлива увага приділяється різним шляхам надходження Ca^{2+} в клітину та участі кальцій/кальмодулін залежного фосфорилування нейрональних білків в механізмах епілептогенезу.

Рівень транскрипції генів ізоформ протеїнкінази C у ході формування епілептичного осередку, викликаного кіндлінгом колатералей Шаффера/коммісуральних волокон CA_1 ділянки гіпокампу порівнювався з рівнем експресії цих генів у контрольних тварин з використанням напівкількісного методу гібридизації *in situ*. У гіпокампі контрольних тварин рівень мРНК протеїнкінази C відповідав ген-специфічному патерну експресії і значно відрізнявся у нейронів областей CA_1 , CA_3 та зубчатої звивини. На ранніх стадіях епілептогенезу, тобто після 6 і 14 розрядів післядії, були знайдені специфічні зміни в експресії протеїнкінази C- β , - γ і - δ , але не в експресії генів ізоформ протеїнкінази C- α , - γ або - δ . Експресія протеїнкінази C β була зменшена в CA_1 , а експресія протеїнкінази C- γ і протеїнкінази C- δ виявилася посиленою в CA_1 , CA_3 і зубчатій звивині. Після повного завершення кіндлінгу у тварин, що перенесли 10 генералізованих судом, була виявлена тенденція повернення рівнів експресії до контрольних значень. Через один місяць після останніх судом ніяких значних змін в рівнях експресії генів, що вивчаються, знайдено не було [181]. Ці дослідження вказують на участь експресії генів специфічних ізоформ протеїнкінази C в індукції епілептичного осередку, але не в підтримці довготривалого стану зниження судомного порогу посткіндлінгу.

В умовах кіндлінг-викликаного епілептогенезу істотну роль відіграє посилення кальцій-залежної провідності в нейронах ділянки CA_1 гіпокампу [182]. Автори показали, що виникнення фокусу ЕпА у гіпокампі щура веде до збільшення потенціал-залежної кальцієвої провідності CA_1 пірамідних нейронів

гіпокампа. Використовуючи методи гібридизації *in situ*, досліджували, чи пов'язані ці зміни зі зміною експресії гена, що кодує α_1A -Е-субодиниці потенціал-залежних кальцієвих каналів. В початкових стадіях епілептогенезу автори знайшли значне збільшення рівнів α_1A -, α_1D - і α_1E -субодиниць мРНК в різних районах гіпокампа, в порівнянні з контрольною групою. В той же час, експресія гена, що кодує α_1B -субодиницю, знижувалася в CA_1 області і зубчатій звивині. У щурів з повним кіндлінгом було знайдено зміну рівня мРНК тільки α_1B -субодиниці в CA_3 області через 24 г після останнього нападу. Через 28 днів після останнього нападу змін в експресії гена α_1 -субодиниці знайдено не було, що, на думку авторів, свідчить про специфічну роль цього гена на ранніх стадіях кіндлінгу. Експресія цього гена може відігравати роль у становленні епілептичного осередку шляхом зміни густини потенціал-залежних кальцієвих каналів, залучених у процес викиду медіатора [182, 183].

Увага фахівців, що розробляють питання епілептогенезу, останнім часом, все більше і більше зосереджується на аспекті «стійкості» або «резистентності» судомної активності до проведення фармакологічної корекції [15, 52, 160, 161]. Слід зазначити, що даний напрям в епілептології є перспективним, оскільки йдеться про значний контингент хворих на епілепсію і судомні розлади, у яких неможливо досягти повного контролю за судомними нападами. При цьому особливу увагу треба акцентувати на тому факті, що у більшості з цих пацієнтів захворювання виникло в дитячому віці або навіть в перинатальному періоді життя.

Показано, що підвищена судомна готовність мозку зберігається протягом 6 міс після закінчення коразолового кіндлінгу [69]. Через 6 місяців тяжкість судом у "кіндлінгових" тварин на дозу коразолу 20 мг/кг відтворюється при дозі 30 мг/кг і виявляється самопосилена розвитку тяжкості судом у кіндлінгових тварин. У 10 місячних тварин гострі коразолові судоми супроводжуються одночасним зменшенням максимальної кількості місць скріплення і константи дисоціації бензодіазепінових рецепторів, у молодих тварин - тільки зменшенням максимального числа місць скріплення [184]. Через 6 місяців після кіндлінгу кількість V_{max} рецепторів було знижене удвічі. Мабуть, зменшення V_{max}

мимовільно виникає після припинення тривалого застосування коразолу [185]. Звідси випливає, що механізми підвищеної судорожної реакції через 6 міс після розвитку кіндлінгу є принципово іншими. Ін'єкція коразолу в дозі 30 мг/кг відтворює ті ж зміни густини бензодіазепінових рецепторів у кіндлінгових тварин, які були сформовані і зафіксовані відразу після розвитку кіндлінгу, тобто 6 місяців тому, незалежно від стану активності рецептора до моменту тестування.

Таким чином, підвищення збудливості мозку у віддалені терміни після припинення кіндлінгових стимуляція свідчить про ендогенез патологічного процесу, який продовжується, про подальший розвиток дизрегуляційної патології за умов застосованої моделі хронічного судомного синдрому. Такий феномен названий «відставленим еплептогенезом» [186], ймовірним його патофізіологічним механізмом є дизрегуляція процесів біохімічного синтезу сполук пептидної природи.

В останні десятиріччя значно розширилися уявлення про нейропатологічні механізми розвитку і надмірного розповсюдження збудження нейрональних систем головного мозку, що є основою епілептизації мозку. Цій події сприяли численні відкриття, у тому числі виявлення ключової ролі, яку відіграє ендогенна опіоїдна система і система збуджуючих амінокислот в механізмах розвитку і розповсюдження ЕпА.

Так, зокрема, на думку [139], - одним з основних висновків із досліджень, проведених протягом останніх 20 років, є "відкриття", яке полягає в тому, що в основі розвитку ЕпА лежить не єдиний механізм. Кожна форма епілепсії розвивається за участю різних механізмів і основна задача полягає у визначенні провідного механізму, який забезпечує розвиток певного епілептоформного феномену, або в умовах експериментуального моделювання на тваринах, або у людей.

Sutula T. P. та інші відзначають, що клітини, які генерують судоми, є, у принципі, нормальними клітками [140]. Епілептогенез відбувається в нормальній тканині, яка трохи змінена, зокрема, в ній відмічається або підвищення збудливості, або зниження ефективності механізмів гальмівного контролю.

У ЦНС хребетних, ЕпА є результатом активації відносно великих груп нейронів, що здатні генерувати надмірну, гіперсинхронну, високочастотну активність. Властивості "епілептичних нейронів", що знаходяться в межах таких популяцій, інтенсивно вивчаються, обговорюються протягом багатьох років і дотепер залишаються причинами наукових суперечок. Більше того, вважається, що епілептичні нейрони - це клітини з порушеннями внутрішніх властивостей мембрани, і є "пейсмейкером" активності нормальних нейронів.

Встановлено, що активність епілептизованих нейронів зазнає істотні та різноманітні зміни, які в основному виражаються в появі тривалих високоамплітудних коливань мембранного потенціалу, так званих пароксизмальних деполяризаційних зсувів (ПДЗ) [187-190] деполяризацій, що виникають під впливом різних епілептогенних дій ПДЗ за часом співпадають зі спайковими інтеріктальними розрядами, реєстрованими на ЕЕГ і електрокортикограмі.

Виявлено, що характер імпульсації окремих нейронів частково визначається взаємостосунками між направленими всередину клітини струмами іонів Na^+ і Ca^{2+} , і направленими назовні струмами K^+ і Cl^- [186, 188]. При переважанні повільного струму, направлено всередину нейрона, розвивається деполяризація мембрани, внаслідок чого можуть розвиватися високочастотні спайкові розряди.

Останніми роками інтенсивно досліджують особливості міжнейрональної реорганізації та її роль в епілептогенезі. Показано, що "розгалуження" аксонів, так званий "sprouting"-феномен, з'являється як наслідок судом в мозку хворих на епілепсію та у тварин з експериментальною ЕпА [186, 191, 192]. В цих дослідженнях було показано також, що спрутинг супроводжується конкурентною загибеллю нейронів і закінчення аксонів, що "розгалужуються", заповнюють місця синаптичних контактів, в яких, у результаті загибелі клітин, утворився дефіцит нормальних пресинаптичних елементів. Проте, залишається нез'ясованим, чи є загибель нейронів достатнім механізмом тригера такої міжнейронної реорганізації, або остання необхідна для виникнення хронічної гіперзбудливості.

Виникнення ЕпА передбачає наявність епілептичного осередку. Концепція епілептичного осередку є однією з провідних у плані вивчення механізмів епілептогенезу [58-60, 76, 79, 80] і має критичне значення для розробки нейрохірургічних методів лікування епілепсії [45, 52, 160]. Стабільний осередок ЕпА – ділянка стійкої патологічної імпульсації нейронів, може бути створений в експерименті за допомогою аплікації на кору різних конвульсантів [58, 60, 80].

Близькими ідеї "епілептичного осередку" є концепції генератора ЕпА, або пейсмекера епілептичної активності [58, 72, 78-80]. Так, поле СА₃ гіпокампа часто описується як пейсмекер інтеріктальних спайкових розрядів: нейрони цього поля мають ритмічну синхронізовану активність в умовах відсутності зв'язків з іншими відділами мозку [66, 77, 183]. Активність нейронів поля СА₃ у свою чергу індукує спайкові розряди в інших відділах мозку, з якими поле СА₃ має морфологічні зв'язки. Так, поле СА₁ гіпокампа, що відрізняється високою судомною готовністю, завдяки могутнім зв'язкам з полем СА₃ починає генерувати інтеріктальні спайкові розряди.

Численні спроби ідентифікації первинних структур мозку, що генерують ЕпА, за допомогою множинних імплантацій електродів, успіху не принесли. Однією з причин невдачі є топічне обмеження кількості імплантованих електродів. Використання методів ауторадіографії за допомогою 2-діоксиглюкози і позитронно-емісійної топографії доповнили дослідження метаболічних змін у мозку протягом ЕпА, проте, короткий період їхньої дії погіршує визначення локалізації первинного ланцюга ЕпА [118, 163].

Провідним патофізіологічним механізмом кіндлінгової моделі епілепсії є сьогодні досить добре вивчена участь деяких медіаторних систем в епілептогенезі [63, 112, 158, 185, 193-202]. Значна кількість робіт присвячена з'ясуванню ролі ГАМК-ергічної гальмівної системи в розвитку і припиненні ЕпА [203-206]. В результаті цих та інших досліджень, довгий час вважалося, що ЕпА розвивається за відсутності (або значному порушенні) ГАМК-ергічного гальмування.

Проте, залишається незрозумілим, чи є порушення гальмування первинним чинником при хронічній епілепсії. Епілептична активність може бути викликана

в гострому досліді за допомогою блокування ГАМК-А-рецепторів [207]. Проте, цих даних недостатньо, щоб говорити про те, що порушення ГАМК-ергічного гальмування є суттєвим чинником в розвитку ЕпА в умовах хронічних моделей епілепсії або «спонтанної» ЕпА.

Більше того, показано, що розвиток деяких форм ЕпА відбувається при збереженні або навіть підвищенні активності гальмівних ГАМК-ергічних механізмів [68, 72, 90]. Проте, навіть незначна зміна рівня гальмування може викликати значне посилення збудливості нейронів. Так, показано, що зниження на 10 % - 15 % гальмування, обумовленого ГАМК-А-рецепторами, може істотно порушити баланс збудження і гальмування, і викликати розвиток спонтанних спалахів гіперсинхронної активності в неокортексі [126, 186, 204, 207, 208].

Відомо, що окремі групи ГАМК-ергічних нейронів використовують як медіатор інші субстанції, особливо нейропептиди. Так, багато ГАМК-ергічних нейронів гіпокампа містять соматостатин [209-212]. Хоча роль останнього в цих клітинах залишається нез'ясованою, було знайдено зменшення його концентрації в мозку хворих на епілепсію [213-215]. Зокрема, соматостатин-умісні нейрони в зубчатій фасції дуже чутливі до надпорогового рівня збудження, відсутні у гіпокампа хворих на епілепсію людей, а також у тварин, у яких викликали кіндлінг. Пошкодження подібних популяцій інтернейронів можна досягнути як за допомогою блокади рецепторів, так і збільшенням вмісту внутрішньоклітинного кальцію [209, 213, 214]. Проте, залишається нез'ясованим, як впливає втрата цих інтернейронів на гіперзбудливість гіпокампа та інших структур мозку.

З метою з'ясування даного аспекту епілептогенезу у щурів моделювали епілепсію введенням каїнової кислоти (КК) дозою 5 мг/кг в/очер з інтервалом в 1 год сумарною дозою близько 30 мг/кг [216]. У тварин через декілька тижнів виникали судоми, у середньому, з частотою 0,28 на годину. Введення КК призводило до зниження в зубчатій звивині гіпокампа загальної кількості нейронів та кількості соматостатин-імунореактивних нейронів. У частини тварин спостерігалися аномально високі реакції області зубчатої звивини на ортодромну стимуляцію.

Помічено, що формування ЕС супроводжувалося реорганізацією аксонів гранулярних нейронів, яка була більш виражена у скронеvій області гіпокампа, на відміну від області, прилеглої до перегородки. Автори вважають, що аксональна реорганізація і нейрональна загибель в скронеvій області гіпокампа відіграють важливу роль в епілептогенезі [214].

З'явилося безліч фактів, що свідчать про участь глутаматергiчної синаптичної передачі в розвитку iктальної та iнтерiктальної ЕпА [167, 185, 217, 218]. Описано безліч типів та підтипів рецепторів глутамата [219]. Серед основних iонних рецепторів розрізняють два типи: NMDA-рецептори і не-NMDA-рецептори. Важливий доказ залучення NMDA в генерацію ЕпА був одержаний в дослідженнях, що показали посилення NMDA-обумовленого компоненту збудливого постсинаптичного потенціалу (ЗПСП) в нейронах гіпокампа при кіндлінізі [220], а також значний вплив NMDA на розвиток ЗПСП кiркових і гіпокампальних нейронів у хворих на епілепсію [221-225].

Показано, що активність NMDA-рецепторів модулюється іонами магнію, цинку і поліамінами - сперміном і спермідином [226, 227]. Також як і ГАМК-рецептори, NMDA-рецептори для ефективної роботи повинні піддаватися фосфорилуванню. Потенційна важливість функції NMDA підтверджується ефективністю застосування антагоністів NMDA-рецепторів в блокуванні пізніх компонентів судомних потенціалів в умовах деяких моделей епілептогенезу. Деякі антагоністи NMDA-рецепторів (наприклад, МК-801) досліджуються в клініці. Є цікавим той факт, що ефективність блокування NMDA-рецепторів для пригнічення ЕпА варіювала залежно від умов моделювання ЕпА. Показано, що антагоністи NMDA-рецепторів були дуже ефективними в пригніченні ЕпА в умовах судом, що розвиваються, і не мали ефекту після формування судом [215, 219, 228-230]. Ці дані дозволяють припустити важливість NMDA-iндукованих механізмів ЕпА.

Було досліджено динаміку вмісту вільних амінокислот у венозній крові, цереброспінальній та iнтерстиціальній рідині мозку під час ЕС у собак [231]. Оцінювали концентрації таких амінокислот: фосфосерину, таурину, аспартату, гідроксипроліну, треоніну, серину, аспарагіну, глутамату, глутаміну α -

аміноадіпату, гліцину, аланіну, валіну, метионіну, ізолейцину, лейцину, тирозину, фенілаланіну, орнітину і лізину. Знайдено значне збільшення рівнів збудливих амінокислот глутамату і аспартату в інтерстиціальній рідині скроневої області мозку в перші 10 хв після введення пентилентетразолу (ПТЗ), а також помітне збільшення позаклітинних рівнів фосфосерину, гліцину, таурину і глутаміну [231].

Подібне збільшення рівня глутамату та інтерстиціальної рідини мозку відоме в таких моделях фокальної епілепсії у тварин, як внутрішньомозкове введення кобальту, фолату, КК та електричний кіндлінг мигдалика, але не при судомах, що викликані системним введенням КК, бікукулліну і пікротоксину. У людини при спонтанному фокальному нападі або після електричної стимуляції в інтерстиціальній рідині також спостерігається збільшення рівнів глутамату і аспартату. Збільшення рівнів глутамату і глутаміну може бути обгрунтоване посиленням процесів детоксикації аміаку, концентрація якого в мозковій тканині зростає в процесі епілептичного нападу і (або) блокадою ПТЗ пресинаптичних ГАМК-рецепторів, що інгібують викид глутамату. Таким чином, автори роблять висновок, що розвиток ПТЗ-викликаного судомного нападу пов'язаний зі значним збільшенням рівнів глутамату, аспартату, таурину, гліцину і фосфосерину, перебіг нападу супроводжується значним збільшенням рівнів серину і гліцину, у комбінації з невеликим збільшенням рівня глутамату [232].

Останніми роками значну патогенетичну роль при кіндлінзі у здійсненні пластичних процесів в синапсах та нейронах відводять нейротрофічним факторам [105, 233-235]. Досліджували експресію деяких нейротрофічних чинників в мозку щурів під час амигдалярного кіндлінгу, який відтворює скроневу епілепсію у людини. Було знайдено збільшення рівня мРНК фактора роста фіброblastів (FGF-2) в гіпокампі, гіпоталамусі, лобовій та тім'яній корі через 6 годин після одинарного авторозряду, тоді як в інших мозкових структурах, наприклад в стріатумі і таламусі, змін в рівні мРНК зареєстровано не було [236]. Одинарний авторозряд не викликав змін в експресії гена FGF-1 нейротрофічного фактора мозкового походження (BDNF). У тварин з повним кіндлінгом, яких не стимулювали протягом тижня, змін в рівнях мРНК

нейротрофічних чинників знайдено не було. Стимуляція мигдалика в цих тварин викликала збільшення рівня мРНК BDNF в гіпокампі і корі, рівні мРНК FGF-1 і FGF-2 не змінювалися. Таким чином, припускається, що різні нейротрофічні чинники можуть діяти на різних стадіях розвитку амигдалярного кіндлінгу та відігравати специфічну роль в адаптивних змінах.

Надмірна ЕпА в кіндлінговій моделі епілепсії індукує функціональну синаптичну реорганізацію моховитих волокон в гіпокампі. Проте незрозуміло, чи є це зростання вторинним у відношенні до зниження густини нейронів у гіларній ділянці. Було показано блокаду фактора росту нервів (NGF), яка уповільнює розвиток судом та інгібує зростання моховитих волокон [237]. Внутрішньошлуночкове (в/шліні) введення NGF посилює кіндлінг-індукований епілептогенез, зростання моховитих волокон в CA₃ області гіпокампа та у внутрішньому молекулярному шарі, а також гальмує викликане судомами зниження густини гіларних клітин. Автори припускають, що таке зростання моховитих волокон пов'язане з активацією нейронів, що викликає активацію росткових чинників, що зменшує загибель клітин при судомному нападі.

В гострих дослідженнях показано, що при формуванні пікротоксिनowego кіндлінгу відбувається зниження вираженості бластної трансформації лімфоцитів, що викликається бактеріальним ліпополісахаридом і фітогемаглютиніном. Даний ефект виявляється після 10 ін'єкцій конвульсанта, і його вираженість збільшується при сформованому кіндлінзі. В/очер використання ДСПІ (0,1 мг/кг) і карбамазепіну (20 мг/кг) запобігає розвитку епілептогенних ефектів пікротоксину, але повне запобігання ефекту придушення бласттрансформації лімфоцитів спостерігається в умовах вживання дельта-сон індукуючого пептиду, тоді як карбамазепін запобігав ефекту гальмування бласттрансформації, що виявлявся в умовах вживання фітогемаглютиніну [238].

У роботі [186] наведені дані про деякі нейрохімічні аспекти кіндлінгу. Однією з прийнятих гіпотез генезу кіндлінгу є гіпотеза реорганізації синаптичних структур зубчатої звивини. Обговорена роль мозкового нейротрофічного фактора і фактора зростання нервів у формуванні кіндлінгу.

Особлива увага надана ролі ГАМК-ергічної нейропередачі та NMDA-залежних синаптичних процесів в генезі кіндлінгу. Наведені дані про внесок метаботропних глутаматних рецепторів групи I в розвитку кіндлінгу.

Показано, що зміст мРНК препро-тиротропін-релізинг гормону збільшувався в піроформній корі через 24 год після останнього введення ПТЗ (40 мг/кг, протягом 7 днів), що викликав кіндлінг у щурів, а вміст препро-тиротропін-релізинг гормону в цій структурі мозку не змінювався [239]. Вміст препро-тиротропін-релізинг гормону збільшувався через 24 год після останнього введення ПТЗ лише в стріатумі, що зумовлене зниженням $V_{\text{макс}}$ рецепторів препро-тиротропін-релізинг гормону. Через 7 днів після введення ПТЗ $V_{\text{макс}}$ і D_{50} рецепторів препро-тиротропін-релізинг гормону збільшувалися лише в пириформній корі. Через 15 днів змін біохімічних параметрів не відбувалося. Автори висловлюють, що система препро-тиротропін-релізинг гормону приймає участь в регуляції кіндлінгу у щурів, проте, вона не пов'язана з механізмом постійної судомної чутливості, характерної для цієї моделі [239].

Таким чином, наведені дані літератури свідчать про адекватність моделі кіндлінга та її відповідність скронево-дольовій формі епілепсії в пацієнтів. Досліджені нейропатологічні механізми цієї моделі цілком укладаються в положення теорії про дизрегуляцію системних механізмів, які є підґрунтям формування хронічного судомного синдрому. Провідна роль дизрегуляції поміжнейрональних, нейромедіаторних, синаптичних механізмів, підсилення ендогенезу, динамічні взаємовідносини поміж епілептичною ПС та антиепілептичною системою за умов вказаної моделі епілептогенезу свідчить про можливість отримання з її допомогою нових даних стосовно комплексної патогенетичної корекції цієї дизрегуляційної патології. Проте, зважаючи на багатобічність механізмів дизрегуляційної патології при епілепсії, ретельне вивчення її патофізіологічних механізмів та розробка нови схем патогенетчно обґрунтованої корекції або пригнічення хронічного судомного синдрому має бути проведено із застосуванням додаткових моделей епілептогенезу.

1. 3. Системний показник складності хронічної ЕпА через визначення механізмів взаємодії епілептичної та антиепілептичної систем

Концепція АЕС, разом з поняттям «антиноцицептивної системи», є подальшим розвитком універсального загальнобіологічного принципу антагоністичної регуляції стосовно діяльності нейрональних популяцій і утворень мозку. Створення цієї концепції стало можливим, виходячи з уявлень Г. М. Крижановського про ГППЗ, патологічну детермінанту та ПС [74, 79, 145] як універсальне нейропатологічне підгрунтя виникнення, позитку та підтримання сталості епілептичної ПС. Виникнення концепції АЕС було передбачено обґрунтуванням основних категорій загальної патології нервової системи. Зараз поняття антисистеми є однією з цих категорій.

Поява поняття АЕС, як результат динамічного розвитку загальнобіологічного принципу, не супроводжувалася виникненням споріднених концепцій, «антипаркінсонічна», «антиішемічна» і т. п. Це є визначальним, оскільки підкреслює необхідність дефініції системного патологічного субстрату, що забезпечує виникнення відповідних нейропатологічних синдромів. З іншого боку, цей факт підкреслює зважений характер появи поняття АЕС, висвітлюючий найважливішу особливість сучасного етапу розвитку нейропатології - його системний аспект.

Дизрегуляторні стани АЕС можуть бути як дефіцитарними формами, які забезпечують прискорення епілептогенезу, так і її гіперфункціональними станами, які можуть призводити до протилежних за своїм функціональним знаком змін функцій мозку. Сучасні клінічні методи (PET, SPECT, MRI) підтверджують можливість деструктивно-атрофічних змін в утвореннях АЕС, зокрема, в мозочку, в якості одного з чинників посилення епілептогенезу [240]. З іншого боку, системний характер діяльності антиепілептичних утворень мозку пов'язаний із залученням до сфери нейрорегуляторних процесів безлічі медіаторів, нейропептидів, у тому числі й тих, які мають імунорегуляторні властивості.

Динамічні зміни активності АЕС можна також прослідкувати на моделі кіндлінга. Модель електростимуляційного кіндлінга мигдалика дозволяє досліджувати в динаміці початок формування ЕпА, прогрес поведінкових та електрографічних проявів, що супроводжується стадійним розвитком судомного процесу до виникнення спонтанних судом [134, 135, 137, 241]. Так, протягом епілептизації відзначається збільшення амплітуди й тривалості епілептиформних післярозрядів, які поширюючись захоплюють різні підкіркові утворення спочатку в межах одного, потім обох півкуль, після чого до генерації ЕпА залучаються утворення кори мозку [61, 72, 107, 111, 127, 139, 147, 149].

Цим електрофізіологічним проявам відповідають різні біохімічні зміни і транскрипції генів. На ранніші стадії епілептизації, коли епілептиформні післярозряди поширюються в межах однієї півкулі, ним відповідає активація низки так званих «негайних генів передранньої реакції» (ITGs) або транскрипція таких чинників як *c-fos*, *c-jun*, зростання вивільнення або секреції нейропептидів (наприклад, тиреотропін-релізинг гормону).

Зазначені зміни на цій стадії локалізувалися в іпсилатеральній по відношенню до стимульованого мигдалика півкулі. Впродовж подальших стадій (з судомами інтенсивністю в 4-5 балів) кіндлінгу за ступенем білатералізації ЕпА відмічено зміни експресії генів спочатку в обох гіпокампах, а потім в корі обох півкуль мозку [242, 243]. У нейронах зубчастої звивини гіпокампу кіндлінгових тварин відзначається посилена експресія кортикотропін-релізинг гормону, а також експресія білків-переносників цього гормону, посилена індукція м-РНК *c-fos* і м-РНК тиреотропін-релізинг гормону та м-РНК BDNF [242-245]. З активацією деяких з цих чинників пов'язують посилену гибель нейронів через апоптоз і подальше розростання (так званий «спрутинг»-феномен) дендритів та аксонів зернистих клітин гіпокампу [246-249].

При кіндлінзі показано численні дизрегуляційні зміни нейромедіаторів, нейромодуляторів, їх рецепторів, які формують складну мозаїку функціональної активності утворень, що беруть участь в діяльності епілептичної ПС та утворень АЕС, які активуються за мірою функціонування ПС та розповсюдження ЕпА по мозку. Одним із подібних медіаторів, який забезпечує ефекти епілептогенної

ПС, відзначено велику концентрацію КРГ. Показано при цьому, що його внутрішньомигдаликове та в/шлун введення викликає розвиток судом, подібних таким при кіндлінзі [244]. Тиреотропін-релізінг гормон, навпаки, є одним з представників нейропептидів, які реалізують функціональні ефекти активованої АЕС - його введення в гіпокамп зменшує тривалість і амплітуду епілептиформних післярозрядів [250]. При коразоловому кіндлінзі показано накопичення в мозку речовин пептидної природи, які при введенні щурам-реципієнтам викликали в них як про-, так і антиепілептичні ефекти [251].

Таким чином, в розвитку епілептичного процесу (як і будь-якого іншого патологічного процесу) можна виділити зміни, які представляють різні ланки епілептичної ПС, а також такі, які виникають вторинно, у відповідь на активність епілептичної ПС, - захисно-компенсаторні процеси, обумовлені активністю утворень АЕС. Ці процеси тісно взаємодіють, розвиваються і протікають на різних рівнях, починаючи з молекулярного. Епілептичний напад проявляється клінічно тоді, коли рівень активності епілептичної ПС перевищує активність ендогенних антиепілептичних механізмів. З іншого боку, активація утворень епілептичної ПС індукує свого роду «природну» активацію утворень АЕС, що обумовлює припинення судомного нападу [75].

Відомо, що при епілептичному нападі в утвореннях АЕС з'являється підвищена активність, яка зникає по закінченні нападу. При системному введенні коразолу судомний процес завершується генеруванням гіперсинхронних розрядів в мозочку, що співпадає з припиненням нападу [252]. Активація утворень епілептичної ПС (передусім її детермінантних утворень) є тригерним механізмом активації АЕС. Так, хвостате ядро отримує потужні аферентні входи від гіпокампу та мигдалика, які, по-перше, мають найнижчі епілептогенні пороги та, по-друге, відіграють роль детермінанти у формуванні багатьох епілептичних ПС. Тому виникнення ЕпА у вказаних утвореннях обумовлює активацію нейронів хвостатого ядра.

Показано, що електрична активація утворень АЕС (мозочок, верхні горбики чотирибугір'я) обумовлює появу в лікворі тварин речовин пептидної природи, які при в/шлун введенні щурам-реципієнтам індукують

протисудомний ефект [253, 254]. В цих дослідках було активовано утворення АЕС, і у тварин не було судомних реакцій. Тому поява в лікворі тварин, які перенесли електрошокові судоми, речовин з притаманною антиепілептичною дією пов'язана не власно з судомами, а обумовлена активацією утворень АЕС під час судом [255]. Підтвердженням цього є результати низки дослідів з попереднім руйнуванням верхніх горбиків чотирибугір'я - одного з важливих утворень АЕС: в лікворі таких тварин після перенесених судом антиепілептичні сполуки не з'являються [256]. Отже, як безпосередня, так і викликана самою епілептичною ПС активація утворень АЕС супроводжується змінами вмісту класичних нейромедіаторів, гормонів та накопиченням в мозку речовин, яким притамана антиепілептична активність. Природа їх, скоріше за все, опіодна, оскільки їх ефекти усувалися за допомогою налоксону. Можна вважати, що виділення та вплив цих речовин при судомному синдромі є одним із механізмів, який приймає участь в пригніченні судом та запобіганні повторних випадків. Останнє, ймовірно, реалізується за рахунок участі вказаних речовин в механізмах розвитку післянападу. Доказом цього можуть бути деякі поведінкові еквіваленти цього стану, відмічені у щурів за умов гіперактивації верхніх горбиків чотирибугір'я шляхом створення в них генератора ЕпА. Крім того, у кіндлінгових тварин налоксон також істотно скорочує тривалість післянападової депресії, тоді як морфій викликає розвиток протилежного ефекту.

Таким чином, наведені дані свідчать про те, що пригнічення судомного процесу є активним процесом, обумовленим активацією утворень АЕС. Можна вважати, що в реалізації ефектів АЕС беруть участь ендогенні фізіологічно активні речовини різної природи. Подальша ідентифікація і дослідження таких речовин є одним із аспектів теперішньої роботи. Його успішне рішення сприятиме розробці нових підходів в лікуванні епілепсії.

Одними з ймовірних гуморальних чинників, забезпечуючих взаємодію епілептичної і антиепілептичної систем, мають бути цитокіни (детальніше див. розділ 1.4). Відомо, що прозапальні цитокіни – ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП - вивільняються моноклеарними клітинами периферичної імунної системи у відповідь на патогенну дію. Показано, що рецептори до ФНП виявлені в ЦНС, і

синтез ІЛ-1 відбувається в нейрональних утвореннях. Рецептори до ІЛ-1 ідентифіковані в різних регіонах ЦНС з найбільшою концентрацією в гіпокампі [257]. Клітини гіпофіза також мають рецептори до ФНП і ІЛ-1, активація яких має регуляторне значення у вивільненні кортикотропіну і гормону росту. Активація гіпофізарно- надниркової вісі під впливом цитокінів пов'язана з підвищенням вивільнення кортикотропін-релізінг фактора, збільшенням синтезу простагландину E_2 в гіпоталамусі, збільшенням рівня кортикотропіну, α -MSH, β -ендорфіну і кортикостероїдних гормонів. Фармакологічні і поведінкові дослідження показали здатність ІЛ-1 і ФНП не лише змінювати нейроендокринні функції, але й метаболізм певних нейромедіаторів і модуляторів, а також змінювати поведінкові реакції тварин [258, 259].

Важливими є дані про взаємодію цитокінів і системи збудливих амінокислот. Так, в дослідженнях Vezzani A. et al. (1999) відзначалося значне збільшення рівня ІЛ-1 в 16 разів в утвореннях гіпокампу після внутрішньогіпокампального введення КК, а при кіндлінзі цей показник був вищий за контрольні значення в 30 разів [260]. Автори дійшли висновку, що при кіндлінзі активація системи збудливих амінокислот значною мірою спричиняє зростання рівня цитокінів в нейрональній тканині.

Отже, цитокіни можуть бути важливою патогенетичною ланкою у формуванні хронічних порушень контролю збудливості нейрональних утворень мозку і, зокрема, дія цитокінів, ймовірно, опосередкує ефекти епілептичної ПС. В той же час, активність АЕС, спрямована на блокування ефектів цитокінів, може розглядатися як своєрідний механізм протисудомної активності. В зв'язку з цим важливою є думка Vezzani A. et al. (2000) про те, що блокатори або антагоністи рецепторів ІЛ-1 розглядаються в якості нового класу протиепілептичних препаратів, високоефективних при найбільш фармакорезистивних експериментальних судомних синдромах, які індукуються застосуванням агоністів рецепторів збудливих амінокислот [282].

Отже, різні механізми епілептизації мозку, різні локалізації первинних детермінантних утворень та формування різних епілептичних ПС, скоріше за все, є патогенетичним підґрунтям різноманітних клінічних форм епілепсій.

Одне конкретне утворення мозку, ймовірно, нездатно забезпечити достатній протиепілептичний ефект (в тому числі й високий поріг судомної готовності), і для його здійснення потрібна сукупність різних ланок усіх утворень АЕС.

1. 4. Цитокін-індуковані механізми контролю хронічної епілептичної активності

Показано, що за умов різних моделей епілептичного синдрому, викликаних за допомогою електричної або хімічної стимуляції, в мозку тварин посилюється утворення цитокінів [95-106]. При цьому, спочатку значно зростає концентрація м-РНК цитокінів, а потім вже їх рівень [100, 261], повертаючись до первинних значень впродовж 2-5 діб з початку судом [100, 104]. Проте, вироблення прозапальних цитокінів під час судом водночас супроводжується синтезом протизапальних субстанцій (в особливості, білкової природи), що запобігає масивному пошкодженню мозку. Показано також, що після гострих судом, а також в умовах хронічної ЕпА спостерігалось посилення вироблення антагоністів рецепторів до цитокінів [262, 263].

Враховуючи наведені дані, ймовірно, що група низькомолекулярних субстанцій пептидної природи під назвою цитокіни, забезпечуючи переважно міжклітинний взаємозв'язок, спричиняє суттєвий вплив на перебіг експериментального судомного синдрому.

Відомо, що судоми можуть викликати значні зміни активності утворень головного мозку. Унаслідок судом відмічається гибель нейронів, посилення процесів нейрогенезу, аксональний спрутінг і реактивний гліоз [264-269]. Одним з ранніх наслідків судомних реакцій є селективна гибель нейронів гіпокампу [267, 269]. Через декілька тижнів після цього у людей і тварин відмічається розвиток реактивного гліозу, активація та проліферація залишкових астроцитів і мікроглії [270-272]. Паралельно з проліферацією глії відмічається посилення нейрогенезу в зубчатій звивині гіпокампу [273-276]. Відомі суперечливі дані про утворення нових нейронів у людини. Окрім цього, наявні клініко-експериментальні дані свідчать про ініціацію за даних умов

процесу «спрутінга» - розростання нервових клітин та волокон з утворенням нових функціональних зв'язків та, відповідно, нових нервових ланцюгів, підсиленням процесів синаптогенезу, тощо [103, 243, 271, 277].

Цитокіни і фактори росту (ФР) є природними кандидатами в опосередкування цих патологічних процесів, оскільки відома їх роль в регуляції розвитку і гибелі нейронів, а також у реорганізації нейрональних ансамблів [103].

Показано швидке зростання м-РНК ІЛ-1 в умовах гострих каїнат- і ПТЗ - викликаних судом з піком концентрації через 1,5 год після їх початку [278, 279]. Максимальна експресія ІЛ-1, як це було доведено й для інших цитокінів і ФР, відбувається нерівномірно та неодноразово в усіх утвореннях мозку. Через 1 год після в/очер введення КК збільшення вироблення цитокіну спостерігається тільки в гіпокампі, тоді як досягнення його максимальних концентрацій в корі великих півкуль, таламусі і гіпоталамусі відбувається пізніше. Концентрації ІЛ-1 у всіх структурах мозку, окрім гіпокампу, повертаються до нормальних показників через 24 год з моменту початку судом. Підвищення м-РНК ІЛ-1 спостерігається тільки протягом 72 год. Інша термінова характеристика вироблення ІЛ-1 спостерігається при ПТЗ-індукованих судамах, латентний період виникнення яких є коротшим, а тривалість поведінкових судомних реакцій – менша за таку порівняно з КК-викликаними судамами. За цих умов посилення вироблення ІЛ-1 починається вже через 30 хв після введення ПТЗ і повертається до контрольних значень протягом наступних 3 год [278, 279].

При кіндлінзі в префронтальній, піріформній та інших ділянках кори великих півкуль, а також в гіпокампі і мигдалику спостерігається істотне зростання активності ІЛ-1, антагоністів рецепторів до ІЛ-1 (ІЛ-1 га), а також ФНП з подальшою нормалізацією вказаних показників протягом 3 тижнів з моменту відтворення моделі. Таке зростання концентрації цитокінів може розглядатися як механізм підвищення судомної чутливості. Ці припущення підтверджуються результатами експериментальних досліджень і клінічних спостережень, в яких підкреслюється однаковий вплив цитокінів на ЕпА у щурів й людей. Один нанограм рекомбінантного ІЛ-1 людини, введений

внутрішньогіпокампально, підсилює вираженість КК-викликаних судом у щурів [280]. В той же час ефекти ІЛ-1 га, за сучасними даними, є протиепілептичними, а його застосування вважається перспективним напрямком застосування нового класу високоефективних протиепілептичних засобів [281, 282].

Проведені в нашій лабораторії сумісні дослідження разом з колегами з Наймегенського Католицького Університету (Нідерланди) виявили істотне збільшення концентрації ІЛ-1 мозку (у 4 рази) і плазмі крові (у 6,5 разів) у порівнянні з відповідними показниками в контрольних спостереженнях, відмічені через 24 год після останньої електричної стимуляції мигдалика [283].

При КК-викликаних судамах синтез ІЛ-1 збільшується переважно в нейрональних клітинах [284]. Можливо - це клітини, які входять до складу мікроглії, але, ймовірно, що це не астроцити. Подібне припущення підтверджує те, що рання фаза підвищення експресії ІЛ-1 відбувається в клітинах, які мають морфологічні характеристики мікрогліальних клітин: у них підвищення концентрації білка ІЛ-1 відбувається через 60 хв після введення конвульсанта [285].

Пригнічення синтезу ІЛ-1 протягом КК-викликаних судом захищає гіпокампальні нейрони від пошкодження й гибелі. В/шлун введення рекомбінантного ІЛ-1 га за 10 хв до й 10 хв після системного введення КК спричиняє залежну від дози захисну дію на всі нейрони гіпокампу [263]. Важливим є факт максимально вираженого нейропротекторного ефекту при введенні ІЛ-1 га мінімальною дозою - 10 мкг; але при введенні речовини більшою дозою - 40 мкг - відбувалася така ж сама гибель нейронів гіпокампу, як і в контрольних спостереженнях. Ці дані свідчать про виражену просудомну дію ІЛ-1 та опосередкування ним гибелі нейронів; дані про залежність від дози ефектів ІЛ-1 га показують, що механізми реалізації його ефектів ще не з'ясовані.

Аналіз ІЛ-1 α -імунореактивності в тканині скроневої ділянки мозку хворих на епілепсію після її резекції показав наявність в 3 рази більшої кількості ІЛ-1 α -позитивних клітин порівняно з аналогічними показниками тканини мозку здорових осіб [286]. ІЛ-1 α -позитивні клітини характеризувалися збільшеними розмірами, наявністю активованої мікроглії, інтенсивнішим

фарбуванням при гістоморфологічному дослідженні і більш вираженою інтенсивністю перебігу біохімічних процесів. Ці порівняльні дані дозволили з'ясувати взаємозв'язок між тимчасовим і просторовим виробленням цитокінів і супутньою нейропатологією мозку при епілепсії.

Одним з перших показаних ефектів ФНП було збільшення вироблення м-РНК ФНП в мозку дорослих щурів при КК-викликаних судомах [279]. Через 2-4 год після застосування КК в корі мозку, гіпокампі, стріатумі, таламусі й гіпоталамусі щурів відбувалося виражене збільшення вироблення ФНП [279]. В інших дослідах було показано посилення вивільнення ФНП переважно в гіпокампі щурів після гострих КК-викликаних судом [287]. Підвищена активність досліджуваного цитокіна була виявлена в зрізах гіпокампу, отриманих від щурів з внутрішньомигдаликовим введенням КК, впродовж 2-7 діб після припинення судом. Підвищена активність цитокіну та пов'язана з цим процесом цитотоксична активність спостерігалася в тканинах обох півкуль мозку, не дивлячись на унілатеральне введення епілептогена, що свідчить про те, що стимулом для підвищення вироблення ФНП, можливо, є генералізована ЕпА, але не локальне пошкодження тканини мозку [287].

Отримані результати про істотне підвищення рівня ФНП у кіндлінгових щурів відповідають даним про значне збільшення концентрації ФНП і м-РНК ІЛ-1 через 2 год після закінчення кіндлінгових судом у щурів [288]. Причому, концентрація ендогенного ФНП за цих умов майже в 2 рази перевищувала аналогічні показники в щурів після внутрішньогіпокампального введення КК [280]. Наведені дані, за думкою авторів, свідчать на користь того, що значення інтерлейкінів за умов кіндлінг-індукованої ЕпА полягає, ймовірно, в схильності щодо дії проепілептогенних чинників.

Просудомні ефекти вказаних цитокінів, скоріше за все, пов'язані з полегшенням процесу розповсюдження ЕпА, але не зі зниженням порогу виникнення судомного синдрому. Наші дані, що показали схожі концентрації ФНП за умов амігдалярного кіндлінгу в корі мозку і ділянках лімбічної системи, які відомі зниженим порогом ініціації судомних реакцій, а також в тканині мозочка [289, 290], свідчать, можливо, про залучення вказаних утворень мозку

до процесу формування кіндлінгових судом.

Висловлювалися припущення, що ФНП залучен до процесу розвитку й дозрівання ЦНС, тому що високі рівні цього цитокіну були виявлені в мозку ембріонів [291], а введення ембріонам антитіл до ФНП сприяло уповільненню їх зростання [292]. Проте, отримані в дослідях з мутантними мишами результати не підтверджують висловленого припущення. Так, у мишей без p55 і p75 рецепторів до ФНП не спостерігалось патології мозку і порушень поведінки [293]. З іншого боку, отримані в дослідях на мутантних мишах без p55 і p75 рецепторів до ФНП дані свідчать про нейропротективних ефекти ФНП за умов пошкодження мозку, викликаного ішемією та дією збуджуючих амінокислот, оскільки за цих умов триває посилення гибелі нейронів [293]. Показані нейропротекторні ефекти ФНП за умов травматичного пошкодження мозку [294]. Автори вважають, що незважаючи на ранню секрецію ФНП після пошкодження мозку, яка спричиняє патогенні ефекти, присутність цього цитокіну спричиняє довготривалі позитивні ефекти, сприяючи покращенню морфологічного й функціонального відновлення нейронів.

За уявленнями Г.М.Крижановського, ЕС утворюється внаслідок формування пулу нейронів з надмірною електричною активністю - ГППЗ в певній ділянці мозку, яка відіграє роль ПД [78, 79, 295, 296]. Доведено, що за умов хронічної ЕпА детермінантною структурою є гіпокамп [56, 71, 77, 79]. Патологічні зміни в гіпокампі, які виникають протягом декількох годин після тривалих і повторних судом, детермінують характер сформованого судомного синдрому [71, 79] і, як правило, зберігаються протягом тривалого часу. При цьому, введення діазепама тваринам із кіндлінгом сприяє зниженню інтенсивності поведінкових і електрографічних судом [71]. У всіх випадках в гіпокампі реєструвалася виражена ЕпА, тоді як в інших утвореннях мозку епілептичні потенціали були відсутні. Ці дані свідчать про те, що за умов кіндлінгу гіпокамп є першим утворенням, в якому формується ЕпА. Ймовірно, він грає роль ПД [79], з якою зв'язане подальше формування ПС, що викликає синдром генералізованої ЕпА [72, 79].

Спрощений опис суті патологічних змін в гіпокампі можна допустити у

вигляді 5 окремих, але послідовно взаємозв'язаних процесів: безпосередній початок судом → гибель нейронів → новоутворення нейронів → реактивний гліоз → спрутінг моховидних волокон. Ймовірно, що цитокіни і ФР впливають на всі відмічені процеси пов'язаної з судомами зміни активності гіпокампу.

Часто в експериментальній епілептології автори використовують можливість зміни електрофізіологічних властивостей нейронів гіпокампу під впливом цитокінів і ФР. Окремі з названих білків порушують процеси синаптичної передачі в умовах *in vitro* [297-299], розвитку довготривалої потенціації в умовах *in vitro* та *in vivo* [300]. Тобто, ці білки можуть спричиняти активний безпосередній вплив на функціонування нейронів гіпокампу, який вважається детермінантою хронічного епілептичного синдрому. Таким чином, багато цитокінів і ФР можуть впливати на судомну активність і через це значним чином модулювати характеристики активності гіпокампульних нейронів в умовах патології. Деякі з цих білків, включаючи фактор росту фібробластів (ФРФ), ІЛ-2 і ФНП, знижують судомний поріг гіпокампу і підсилюють тим самим поведінкові і ЕЕГ-кореляти судом [301-307]. Кислий ФРФ і гліальний нейротрофічний фактор (ГНФ), навпаки, зменшують інтенсивність і тривалість судом [304, 308]. Отже, різні представники цитокінів і ФР спричиняють впливи на генерацію судом в гіпокампі та на їх тривалість. Цікаво, що рівень цитокінів в тканині гіпокампу при судамах багато в чому зумовлює їх остаточний результат.

Раніше всього та найбільш виражені зміни після судом тривають в гіпокампі, де спостерігається гибель нейронів в ділянці поля СА₃ - цей процес відомий як гіпокампульний склероз [113, 266, 267, 309]. За умов експериментальних моделей судом гибель нейронів починається протягом декількох год з моменту початку судом і триває декілька діб. Протягом цього терміну значно зростає концентрація багатьох цитокінів і ФР, багато з них перешкоджають виживанню щонайменше декількох типів нейронів в умовах *in vitro* [102, 268, 310-313]. При екзогенному введенні ГНФ і кислого ФРФ зменшується гибель нейронів гіпокампу, оскільки вказані ФР знижують вираженість і тривалість судом [308, 314, 315]. Інші цитокіни - ФНП, ІЛ-1 α та ФРФ - покращують процес виживання нейронів при судамах, не впливаючи на

тривалість та інтенсивність судом, - отже, вони можуть виступати як трофічні або захисні фактори [263, 293, 303, 316]. В той же час показано, що за певних умов деякі цитокіни і ФР скоріше сприяють гибелі нейронів, ніж захищають від неї. Подібний ефект був відмічений для фактору росту нерву (ФРН), для якого величина співвідношення $p75/TrkA$ визначає його вплив на чутливу субпопуляцію нейронів [317-319].

Більшість всіх проведених дослідів по дослідженню ефектів цитокінів і ФР торкалися переважно вікового аспекту даної проблеми; проведені декілька експериментів на дорослих тваринах показали, що пов'язана з цитокінами й ФР нейротоксичність може виникати й впродовж судом. Показано, що гальмування синтезу ІЛ-1 вслід в/шл введення ІЛ-1 га до застосування КК сприяє мінімізації пов'язаної з судомами гибелі нейронів [263]. Автори зробили висновок про пряму участь ІЛ-1 в опосередкованій судомами гибелі нейронів. В іншій роботі було вивчено кореляцію експресії $p75$ -рецепторів і апоптозу нейронів за умов пілокарпін-викликаних судом. Встановлено, що $p75$ -рецептори при їх гіперекспресії локалізуються переважно в гіпокампі і корі [320]. Таким чином, синтезовані у великих кількостях під час судом цитокіни і ФР можуть спричиняти трофічну і токсичну дію.

Після інтенсивної гибелі нейронів унаслідок судом в гіпокампі посилюється процес утворення нових нейронів - нейрогенез [265, 269, 321, 322]. За умов пілокарпін-спричинених судом посилення нейрогенеза відбувається в субгранулярній ділянці зубчатої звивини впродовж з 3 по 13 доби після початку судом [269]. Саме в цей період часу посилюється вироблення деяких мітогенних білків, наприклад, збільшення вироблення одного з найбільш ефективних проліферативних ФР – ФРФ [323, 324] - в проліферативній ділянці гіпокампу ненабагато передуює часу посилення нейрогенеза унаслідок судом [100, 325-331]. Цитокіни й ФР впливають також на вироблення і диференціацію своїх попередників. Так, під впливом ФРФ деякі молекули-попередники демонструють більшою мірою диференціацію, аніж проліферацію [332]. Враховуючи, що багато цитокінів і ФР підсилюють вироблення нейрональних попередників в гіпокампі, можна висловити, що це свідчить про те, що дані

субстанції можуть підсилювати і уповільнювати вираженість проліферації. Для визначення індивідуального ефекту кожної з молекул необхідне проведення досліджень в умовах *in vitro*. Встановлений терапевтичний потенціал кожного з цитокінів і ФР сприятиме з'ясуванню ролі їх ендогенної дії в умовах *in vivo*.

Реакція глії у відповідь на судоми, що виникли, практично співпадає за часом із процесом прискореного нейрогенеза. Почавшись приблизно через 3 доби після початку ЕпА і практично відразу ж досягнувши максимуму, реакція астроцитів і мікроглії на судомну активність мозку є основним компонентом гіпокампального склерозу, який був показаний в клінічних спостереженнях і в експериментальних умовах [266, 267, 270, 309, 333-335]. Відповідь астроцитів на судомну активність полягає у формуванні патоморфологічних змін, прискоренні вироблення генів (генній експресії) і проліферації. Цитокіни спричиняють вираженого впливу на реактивну відповідь астроцитів [336, 337]. Багато аспектів астрогліозу можна відтворити в експерименті при екзогенному введення циліарного нейротрофічного фактора [314] або ІІ-1 β [338]. Показано, що основним фактором, який ініціює активацію астроцитів, є збільшення за умов судом вироблення кислого гліального фібрилярного білка під впливом фактора, який гальмує лейкемію [339].

Не дивлячись на те, що ще не до кінця вивчені всі наслідки активації астроцитів після судом, зрозуміло, що реактивний астрогліоз може надавати подвійну дію на коротко- і довготривалі післясудомні процеси. Вважається, що частина астроцитів в змозі запобігти розповсюдженню невритів, що вже регенерували, за допомогою вироблення т.з. «поверхневих гальмівних молекул» [340-342]. Даний аспект дії астроцитів є результатом аберантного зростання аксонів в зубчатій звивині гіпокампу відразу ж після закінчення гліальної відповіді [309]. Астроцити в ділянці СА₃ гіпокампу можуть бути т.з. «агресивним» оточенням, прискорюючи спрутінг моховидних волокон гіпокампу в зубчатій звивині, який, ймовірно, є більш вдалим [309]. При цьому показані відмінності у виробленні антигенів і швидкості проліферації астроцитів в цих двох ділянках, що свідчить про негомогенність гліальної реакції.

Реактивний астроцитоз безпосередньо ініціює підвищене вироблення

великої кількості цитокінів після пошкодження або ішемії мозку [337, 341]. Саме активація цитокінів астроцитами після судом є підґрунтям вироблення великої кількості нових субстанцій. Багато факторів, які виробляються астроцитами, включаючи циліарний нейротрофічний чинник, ІЛ-6, фактор росту пухлини-бета, фактора, який гальмує лейкемію, і ІЛ-1 [341, 343, 344] можуть діяти за аутокринним механізмом, порушуючи подальшу здібність астроцитів до проліферації, міграції й адгезії та змінюючи їх морфологію [337]. Багато цитокінів здатні функціонувати також за паракринним механізмом, модулюючи таким чином активність сусідніх нейронів гіпокампу [103, 300, 311, 345-350].

Після судом мікрогліальними клітинами змінюються процеси проліферації та вироблення генів [309, 351]. Протизажно до нейропротекторних субстанцій, які виробляються в астроцитах, фактори і молекули, які мають мікрогліальне походження, в умовах *in vitro* спричиняють нейротоксичні ефекти [314, 352]. Цитокіни і ФР можуть впливати на активацію мікроглії й на тип продукованих субстанцій [353, 354]. Наприклад, в умовах *in vivo* відповідь мікроглії на ЕпА практично відсутня за відсутності ФНП [293]. Таким чином, цитокін-індукована стимуляція астроцитів і мікроглії може ініціювати низку процесів, від кінцевого результату яких залежатиме функціонування або гибель поруч розташованих нейронів [355].

Одним із наслідків судом є аберантний «спрутінг», тобто розростання аксонів гранулярних зубчастих клітин гіпокампу всередині їх власних дендритичних ділянок [263, 269]. Пік вираженості даного процесу, названого «спрутінгом моховидних волокон», доводиться на 2-15 тижні після початку судом [356-358]. Враховуючи вплив цитокінів і ФР на морфологію нейронів і зростання невритів, вказані субстанції є кандидатами на участь в регуляції викликаного судомами процесу нейронального ремоделювання. Деякі з цих білків, наприклад, нейротрофічний фактор мозку та ФРФ, забезпечують процес аксонального спрутінга зубчастих гранулярних клітин за умов *in vitro* [359]. ФРН опосередкує процес спрутінга моховидних волокон при киндлінзі в умовах *in vivo*. Гальмування вироблення ФРН, відповідно, припиняє зростання аксонів [360-362]. Зрозуміло, що проблема реорганізації нейрональної

взаємодії після судом потребує більш ретельного дослідження.

Отже, наведені дані про внутрішньогіпокампальну патологію при судамах піднімають питання про необхідність переосмислення патофізіологічних механізмів хронічної епілепсії. Істотний вплив на це надають доведені факти залучення цитокінів і ФР до розвитку судомного синдрому. Значну користь в цьому сенсі надають дослідження ділянок тканин, які видаляють в пацієнтів з епілепсією при нейрохірургічних операціях: як правило в більшості описаних випадків відмічається склероз гіпокампу й активація мікрогліального оточення. Ймовірно, з моменту початку перших іктальних процесів в гіпокампі триває його нейрональна реорганізація, одним з наслідків якої є внутрішньоструктурне порушення балансу між гальмівними і збуджуючими процесами.

Наведені вище післясудомні процеси й, особливо, активація астроцитів представляється вирішальною в аспекті зміни нейрохімічних властивостей гіпокампу, оскільки може впливати не тільки на зниження порогу збудливості, але сприяти збільшенню вироблення глутамата, який надає нейротоксичних ефектів. Інакше кажучи, цілком зрозумілими є такі факти: 1) участь цитокінів та ФР в модуляції судомного синдрому; 2) гіпокамп унаслідок судом піддається серйозній внутрішній реорганізації і 3) результат внутрішньогіпокампальних змін впливає на характер судом і прогноз стосовно особливостей епілептогенезу. На все вказане, особливо, на патофізіологічні механізми хронічного судомного синдрому та його лікування фахівцям належить привернути найпильнішої уваги. Зараз активно досліджують взаємозв'язок внутрішньогіпокампального нейрогенезу та судомного синдрому [363], оскільки зрозуміло, що внутрішньогіпокампальний ріст нових нейронів зі збудливими властивостями, які формують надлишкові зв'язки між зубчастою звивиною та нижчерозташованою ділянкою СА₃ [364-369], значним чином змінить баланс збудливості цього утворення мозку, яке відіграє роль свого роду фільтру або «воронки» для розповсюдження ЕпА із гіпокампу [320]. Окрім цього, досить ретельно досліджується питання стосовно взаємозв'язку розвитку та виникнення судомного синдрому із запаленням мозку [370].

Більшість нейротропних ефектів цитокіни реалізують через взаємодію з

ЦНС, причому варіанти подібних взаємодій дуже різноманітні: при цьому абсолютно неважливе центральне або периферичне походження цитокінів.

Цитокіни проникають через гемато-енцефалічний бар'єр в місцях його ушкодження або за допомогою активного транспорту [363, 371]. При цьому цитокіни, які проникли до ЦНС, спричиняють прямі ефекти. Проте, якщо розглядати ефекти цитокінів, які вивільняються периферичними імунними органами внаслідок їх активації, слід зазначити, що вони побічно опосередковують деякі функції ЦНС, такі як нейроендокринні процеси, формування поведінки, підвищення температури і сон. Внаслідок активації цитокінів з ендотеліоцитів у великій кількості вивільняються і поступають до ЦНС вторинні месенджери, такі як оксид азоту, простагландини та ін. - цей біохімічний каскад є додатковим непрямим механізмом ушкодження ЦНС. Отже, циркулюючі цитокіни можуть опосередкувати альтерируючі ефекти на ЦНС, стимулюючи секреторну функцію ендотеліальних клітин судин.

Окрім судинних шляхів «доставки» сигналів в ЦНС, при активації периферичних відділів нервової системи сигнали можуть поступати в ЦНС безпосередньо по периферичних нервах. Показана стимуляція вироблення кортикотпорін-релізінг гормону гіпоталамусом і АКТГ гіпофізом під впливом цитокінів, що знаходяться поза межами ЦНС. АКТГ, що виділився при цьому, стимулює синтез глюкокортикоїдів наднирковими залозами, які в свою чергу спричиняють протизапальні ефекти [336, 355, 359]. Показано, що за умов *ex vivo* гліальні клітини здатні продукувати велику кількість цитокінів – ІЛ-1, ІЛ-6, ІФ- α , ФНП і трансформуючий фактор росту-бета (ТФР) [134]. Подібна регуляторная вісь «гіпоталамус-гіпофіз-наднирники» імунних відповідей працює за механізмом «зворотнього зв'язку» між ЦНС та імунною системою, забезпечуючи функціонування імунних механізмів за фізіологічних умов. Дизрегуляція активності цієї вісі, скоріше за все, спричиняє розвиток патогенних ефектів цитокінів та ФР за умов патології.

Клінічне застосування цитокінів є обмеженим. У медичній практиці вдало застосовується ІФ- γ при лікуванні розсіяного склерозу, незважаючи на остаточно невстановлений механізм дії цього цитокіну [362]. Застосування

деяких ФР (гліальний фактор росту, мозковий фактор росту і ФРН) невдало було випробуване при гострих і хронічних захворюваннях ЦНС.

У клінічній практиці з нейропротекторною метою може бути корисним використання ТФР, ІЛ-6 і ФЛ-10, проте їх прозапальні ефекти (особливо такі у ТФР і ІЛ-6) можуть викликати небажані побічні реакції. В експерименті при інсульті показані позитивні ефекти блокади вивільнення ФНО, проте перспектива використань в клініці подібної схеми лікування є сумнівною.

Дещо ясніша картина ефектів ІЛ-1, який за умов ішемії у гризунів редукує вираженість загибелі нейронів при ушкодженнях мозку, запобігає розвитку набряку і активації глії. Застосування рекомбінантного ІЛ-1га покращує прогноз захворювання - це найбільш досліджений в експерименті аспект перспективного клінічного застосування цього цитокіну. Добровольцям з сепсисом одноразово, а пацієнтам з ревматоїдним артритом багаторазово вводили рекомбінантний ІЛ- 1га: відмічено поліпшення клінічного стану пацієнтів без розвитку побічних ефектів [263].

Введений мишам ІЛ- 1га проникає в мозок, проте в незначних концентраціях і індукує нейропротекторні ефекти в умовах деяких форм ушкоджень ЦНС [96]. Отже, застосуванням ІЛ- 1га може бути перспективним при гострих нейродегенеративних захворюваннях.

Клінічні випробування усіх інших нейропротекторних сполук виявилися невдалими. Причиною цього вочевидь є побічні ефекти цитокінів. При блокаді вироблення ІЛ-1 у тварин і у людей не було показано розвитку побічних ефектів. Отже, основним перспективним завданням є визначення ефективних концентрацій цитокінів і чинників зростання для їх застосування в умовах ішемічного або травматичного ушкодження мозку.

Резюмуючи, не слід «універсалізувати» ефекти цитокінів і ФР та обернути дані так, що саме ці молекули «відповідальні» за всі патологічні процеси в ЦНС. Навпаки, цитокіни залучені до регуляції більшості фізіологічних процесів за нормальних умов. Проте, подібна мультифункціональність ефектів має свій негативний бік: цитокіни і ФР у великих кількостях швидко вивільняються після ушкоджень або інших

патологічних процесів в ЦНС і опосередкують альтераційні та захисні ефекти.

Як правило, патогенні ефекти цитокінів розвиваються переважно при їх масивних вивільненнях, при їх дії в незначних кількостях відзначається розвиток нейропротективних ефектів. Наявні дані клінічних спостережень і лабораторних досліджень не дозволяють виявити механізми реалізації нейротропних ефектів цитокінів, причому результати безлічі досліджень дозволяють сформулювати загальний висновок про їх модулюючий вплив на течію процесів в ЦНС.

З урахуванням викладених даних про роль цитокінів в опосередкуванні судом можна підсумувати таким чином: цитокіни та ФР модулюють процеси виникнення, розвитку та припинення різних форм судомної активності. Окрім цього, вони значним чином змінюють активність утворень головного мозку, зокрема гіпокампу та окремих ділянок кори великих півкуль, а також є речовинами, які можуть стати в перспективі основою фармакологічного лікування судомного синдрому.

Таким чином, сучасній дані в науковій літературі свідчать про наявність достанької кількості фактів стосовно патогенетичних механізмів гострих та хронічних судом, про взаємозв'язок різних патогенетичних ланок в механізмах хронічного судомного синдрому, про залучення різних утворень мозку, які модулюють активність епілептогенної ЕС та АЕС, до опосередкування процесів розповсюдження надмірної електричної активності або пригнічення вказаного процесу, тощо. Проте, при ретельному аналізі результатів переважної кількості експериментальних досліджень та клінічних спостережень, які викладені вище, можна виявити неостаточно вивчені та досліджені нейропатологічні механізми хронічного судомного синдрому з точки зору системного підходу та концепції дизрегуляційної патології, суперечливі результати стосовно просудомних та протисудомних ефектів окремих ендогенних сполук з намаганнями дослідити їх нейропротекторні ефекти та розробити схему комплексної патогенетично обґрунтованої терапії хронічної ЕпА, неперевірені припущення стосовно патологічної дизрегуляційної інтеграції різних систем організму при епілептогенезі, бажаність перевірки динамічного балансу поміж епілептичною ПС та АЕС як показника потужності хронічної судомної

активності стали передумовою проведення цієї експериментальної роботи. Окремим важливим аспектом постає вкрай незрозуміла роль імунної системи, дезрегуляція функціональної активності якої, безумовно, має певний вплив на модуляцію судомної активності. Для вирішення вказаних суперечливих моментів будуть проведені заплановані в межах цієї дисертаційної роботи експериментальні дослідження, результати яких мають внести ясність та конкретику щодо патофізіологічних механізмів хронічної ЕпА.

За матеріалами даного розділу були опубліковані такі роботи:

1. Вастьянов Р. С. Нейротропные эффекты цитокинов и факторов роста / Р. С. Вастьянов, А. А. Олейник // Успехи физиологических наук. – 2007. – Т. 38, № 1. – С. 39 - 54.
2. Вастьянов Р. С. Вплив фактора некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-1-бета на експериментальний судомний синдром / Р. С. Вастьянов, О. А. Шандра // Вісник психіатрії та психофармакології. – 2007. - № 2 (12). – С. 30 - 38.
3. Вастьянов Р. С. Рецепторы и механизмы реализации нейротропных эффектов цитокинов и факторов роста / А. А. Олейник, Р. С. Вастьянов // Успехи физиологических наук. – 2008. – Т. 39, № 2. – С. 47 - 57.
4. Вастьянов Р. С. Вивчення патофізіологічних механізмів хронічної епілептичної активності як можливий шлях розробки патогенетично обґрунтованої комплексної терапії судомного синдрому / Р. С. Вастьянов // Вісник Української медичної стоматологічної академії : Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2008. – Т. 8, Вип. 4 (24), Ч. 1. – С. 191 - 197.
5. Vastyanov R. S. Epileptic and antiepileptic systems interrelation as the systemic indicator of the complexity of epileptic activity manifestation / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov // Pan-Brain Abnormal Neural Network in Epilepsy / Ed. by Feng Ru Tang/. – Singapore : Research Signpost, 2009. – P. 99-120.
6. Вастьянов Р. С. Роль детерминантных структур гиппокампа в развитии хронической эпилептической активности / А. А. Шандра, Г. Н. Крыжановский, Р. С. Вастьянов, М. В. Савченко, Е. В. Березовская // Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині : міжнар. наук.-практ. конф., Одеса, грудень 2003 р. : матеріали. – Одеса : Астропринт, 2003. – С. 8.

7. Вастьянов Р. С. Разработка комплексных методов патогенетически обоснованной терапии хронического судорожного синдрома на основании изучения его патофизиологических механизмов / Р. С. Вастьянов // Актуальные проблемы клинической неврологии : Всероссийская Юбилейная научно-практическая конференция, посвященная 85-летию профессора Лобзина В. С., Санкт-Петербург, Россия, 29-30 сентября 2009 : тез. докл. – С-Пб : Изд-во «Человек и его здоровье», 2009. – С. 213–214.

РОЗДІЛ 2.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Експериментальні тварини

У дослідженнях, присвячених механізмам виникнення, розвитку й припинення епілептиформної активності при експериментальних моделях хронічної ЕпА переважним об'єктом дослідження є мозок щура [372, 373]. Відомо також, що основні закономірності епілептизації мозку в умовах кіндлінгу були виявлені також у тварин інших видів, у тому числі на кішках [374, 375]. Таким чином, враховуючи зазначене вище, а також ґрунтуючись на цілях і задачах дослідження, у даній роботі експериментальними тваринами в переважній більшості були обрані щури-самці. В окремій серії досліджень по вивченню патофізіологічних механізмів ЕС були застосовані кішки.

Робота з експериментальними тваринами провадилася у відповідності до вимог, викладених у вітчизняних та міжнародних рекомендаціях, нормах і вимогах стосовно використання лабораторних тварин у експериментальних дослідженнях (Конвенція Ради Європи, 1986; Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006, №3447-IV). Утримання експериментальних тварин зовні дослідів, а також протягом дослідів відповідало зауваженням, викладеним у «Письме комісії по проблеме этики отношения к животным» [376]. Евтаназію тварин здійснювали з урахуванням положень, регламентованих додатком №8 ("Правила гуманного обігу з лабораторними тваринами") "Санітарних правил по обладнанню, устаткуванню й змісту експериментально-біологічних клінік (віваріїв)" (№1045-73) [377].

Теперішню роботу було ухвалено комісією ОНМедУ по етичному проведенню експериментальних досліджень (протокол № 28 Д від 09 листопада 2012 р.).

Експериментальні дослідження проводилися за умов хронічного експерименту на 1345 щурах-самцях ліній Вістар, Long-Evance, WAG/Rij, ACI

молодого (20-денні, масою від 30 до 40 г) і статевозрілого (понад 6 місяців, масою від 180 до 320 г) віку (табл. 2.1), а також на 4 безпородних кішках віком 1,0-1,5 роки та масою 2,0-3,5 кг, які утримувалися за умов віварію ОНМедУ.

Таблиця 2.1

Кількість щурів та їх розподіл за експериментальними серіями досліджень

Дослідні групи щурів за умов наступних моделей епілептогенезу	Кількість тварин
1. Електростимуляційний кіндлінг	228
2. Фармакологічний кіндлінг	228
3. Посткіндлінг	168
4. Епілептичний статус	93
5. Пілокарпін-індуковані судоми	108
6. Абсансні судоми	126
7. Тестування ефектів пептидів	394
Загалом:	1345

З метою приручення тварин і відсутності у них стресової реакції у відповідь на взяття їх корнцангом, щурів перед початком експерименту тримали в руках по 2-3 хв. протягом 5 днів, що полегшувало подальші експериментальні дослідження з тваринами [377].

В окремих серіях досліджень цереброспінальну рідину (ЦСР) отримували в котів шляхом субокципітальної пункції тупокінцевою голкою. З кожної кішки отримували $1,0 \pm 0,1$ мл ЦСР.

2.2. Моделі судомного синдрому, які було застосовано в роботі

Відповідно до мети роботи та сформульованим завданням в експерименті було відтворені епілептичний синдром. Застосовували наступні моделі хронічного епілептичного синдрому: електричний кіндлінг, фармакологічний кіндлінг, посткіндлінг, ЕС, пілокарпін-індуковані судоми, пілокарпін-

індуковані спонтанні відстрочені судоми, а також модель абсансної генералізованої епілепсії.

Електростимуляційний кіндлінг відтворювали, застосовуючі електричні подразнення мигдалику крізь металеві ніхромові біполярні електроди (діаметр 0,10-0,15 мм; міжелектродна відстань 0,20-0,30 мм), які завчасно імплантували щурам із використанням стереотаксичної методики [134, 135]. Імплантацію електродів робили таким чином: тварин, фіксованим за умов ефірного рауш-наркозу в стереотаксичному апараті, здійснювали розріз шкіри і м'яких тканин, видалення окістя і трепанацію кісток черепа за допомогою стоматологічної бор-машини БЕПБ-06М.

Перед фіксацією електродів поверхня черепа оброблялася 5,0 % розчином перекису водню. Електроди кріпили до черепа зубним цементом "Palavit-55" (Німеччина). З метою запобігання розвитку інфекції твариною протягом післяопераційного періоду (7-10 днів) внутрим'язово вводили натрієву сіль бензилпеніциліну (40000 МО/кг) чи біцилін-3 (50000 МО/кг).

Електричні подразнення мигдалика (частота 60 Гц, сила струму 20-40 мкА, тривалість прямокутного імпульсу 0,25 с, тривалість стимуляції – 1 с) починали здійснювати через 7-10 днів після вживлення електродів за умов вільної поведінки тварин. Інтенсивність подразнення підбирали індивідуально для кожної тварини, починаючи з 20 мкА і збільшуючи силу струму на 20 % від первісної величини доти, поки в зоні електричного подразнення не починав реєструватися післерозряд тривалістю більш 5 с. Сила струму, що викликала післерозряд, вважалася підпороговою. Надалі електричне подразнення робили щодня два рази на день підбраною інтенсивністю стимуляції. Тварин, яким електричне подразнення наносили силою струму більш 40 мкА, виключали з досліджень.

В аналогічних умовах тваринам контрольної групи вживляли біполярні електроди, з'єднували з електростимулятором у відсутності подачі електричного струму. Джерелом прямокутних імпульсів був електростимулятор ЕСУ-2. По закінченні експерименту здійснювали

коагуляцію тканини в області стимулюючих електродів, що дозволяло проводити гістологічну верифікацію їхнього розташування, для чого пропускали постійний струм силою 30 мА протягом 5 с, катодом служила рама стеротаксичного приладу.

Судомні прояви оцінювали за шкалою, запропонованою Racine R. (1972): 0 балів - відсутність судорожної реакції; 1 бал - міоклонічні здригання голови чи тулуба; 2 бали - клонічні судороги м'язів тулубу і кінцівок; 3 бали - клонуси м'язів однієї передньої кінцівки; 4 бали - білатеральні клонічні судороги передніх кінцівок, підйом тварин на задні кінцівки ("поза кенгуру"); 5 балів - генералізовані судороги з падінням тварин убік [378].

Фармакологічний кіндлінг відтворювали шляхом щоденних внутрішньоочеревинних (в/очер) введень пікротоксину ("Sigma", США) або ПТЗ (коразолу; "Sigma", США) підпороговою дозою (0,9-1,1 мг/кг для пікротоксину та 20-25 мг/кг для коразолу) [69, 70, 72, 81]. Епілептогени вводили об'ємом 0,10-0,20 мл в однакових умовах (у той самий час доби, у лабораторії з однаковою освітленістю, вологістю, температурою і шумовим фоном). Після ін'єкції конвульсантів щурів поміщали в індивідуальні прозорі пластмасові камери (10 см x 25 см x 30 см) і спостерігали протягом 60 хв. Тваринам контрольних груп в аналогічних умовах вводили однакову кількість 0,9 % фізіологічного розчину NaCl (pH=7,4).

Судоми визначали візуально й оцінювали в такий спосіб: 0 балів - відсутність судорожної реакції; 1 бал - міоклонічні здригання голови чи тулуба; 2 бали - клонічні судороги м'язів тулубу 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 бік, вегетативними розладами і післяпиступною депресією; 5 балів - смертельні судоми або повторні генералізовані клоніко-тонічні напади [69, 81].

Крім того, визначали латентний період перших судомних проявів, латентний період генералізованих клоніко-тонічних нападів, а також число тварин з генералізованими судомними нападами. Подальші дослідження

здійснювали тільки на тих тваринах, у яких до 20-24 ін'єкцій пікротоксину відзначалися судоми 3-4 стадії.

Поведінку тварин та їхню судомну активність досліджували за умов моделі посткіндлінгу, яка характеризувалась 14-денним вільним від введення конвульсанту періодом з моменту останнього введення пікротоксину [150].

Епілептичний статус відтворювали в котів та щурів. В котів ЕС відтворювали шляхом електричного подразнення вентрального гіпокампу через завчасно стереотаксично імплантовані біполярні константанові електроди.

Епілептичний статус у щурів відтворювали двома способами. Перший метод – внутрішньошлуночкове (в/шлун) введення агоніста метаботропних глутаматергічних рецепторів – КК (0,75 мкг; “Sigma”, США) в об'ємі 1,0 мкл, розчиненої у фізіологічному розчині, яку вводили стереотаксично об'ємом 1-2 мкл за допомогою мікроін'єктора "Hamilton" ("SGE", Австралія), зі швидкістю 0,5-1,0 мкл/хв. Другий метод – в/очер введення пілокарпіна гідрохлориду (“Sigma”, США; з порошку готували 20 % розчин), розчиненого у фізіологічному розчині NaCl, дозою 280 мг/кг.

При дослідженні способу моделювання ЕС каїнову кислоту вводили в різні утворення мозку, внаслідок чого було розроблено та запатентовано спосіб зниження рухової активності тварини в експерименті, який заключався у білатеральному введенні КК (0,75-1,0 мкг в об'ємі 1,0 мкл фосфатного буферного розчину) в передній гіпоталамус (Патент СРСР № 1807514 А1).

Хронічну епілептичну активність індукували в/очер введенням пілокарпіну (280 мг/кг). При цьому виділяли гостру стадію пілокарпін-індукованих судом – безпосередньо ЕС, який потім трансформувався у стан хронічної судомної активності.

Інтервал часу від закінчення гострої стадії (епілептичного статусу) до початку пілокарпін-спричинених спонтанних судом визначали в якості інтеріктального періоду, протягом якого проводили реєстрацію ЕЕГ та дослідження несудомної поведінки тварин.

Пілокарпіна гідрохлорид готували в розчині NaCl ($p=7,4$) безпосередньо перед початком досліджень. За 30 хв до цього тваринам з метою запобігання розвитку периферичних холіноміметичних ефектів пілокарпіна гідрохлориду, пов'язаних з гіперактивацією холінергічної системи (бронхоспазм та посилене слизеутворення в бронхах) вводили М-скополамін (1,0 мг/кг; п/к). Тваринам контрольної групи вводили еквівалентний об'єм фізіологічного розчину.

Час спостереження за щурами після введення пілокарпіна гідрохлориду складав 3 год. Судоми у щурів спостерігали в середньому протягом 2-3 год. Гострі пілокарпін-викликані генералізовані судоми розвивалися, як правило, протягом 20 хв і тривали протягом 2 годин (цей часовий інтервал складав іктальний період. Потім з латентним періодом, у середньому, 30 хв розвивалися мимовільні судоми, що дозволило нам цей інтервал часу (30 хв оцінити як інтеріктальний період.

В окремій серії дослідів за 3 хв до введення пілокарпіну щурам в/очер вводили атропін дозою 50 мг/кг.

Спонтанні судоми реєструвалися в середньому через 45 діб з моменту введення пілокарпіна гідрохлориду [379]. Дослідження судомної активності й поведінки щурів здійснювали за 1, 5, 10, 15, 20, 25 і 45 діб з моменту введення пілокарпіну, зважаючи на те, що на 45 добу спонтані судоми були вже сформовані у 100 % тварин.

Для зменшення летальності тварин за 30-45 хв з моменту розвитку гострих пілокарпін-спричинених судом щурам в/очер вводили діазепам (10 мг/кг; "Gedeon Richter, Угорщина).

Судомні реакції, реєстрацію ЕЕГ, поведінку тварин та вміст прозапальних цитокінів (фактор некрозу пухлини-альфа та інтерлейкн-1-бета) досліджували за умов генетично детермінованої абсансної генералізованої епілепсії на щурах лінії WAG/Rij різного віку (ці дослідження проводили в лабораторії нейрофізіології Центру Свідомості Католицького Університету (зараз – Університет Дондерса) м. Наймегену (Нідерланди). В якості контролю застосовували щурів лінії ACI різного віку.

Післятравматичний судомний синдром відтворювали моделюванням в щурів механічної черепно-мозкової травми за методом, що описаний в дослідженнях [380]. Щурам, зафіксованим в стереотаксичному приладі, наносили механічний удар вантажем масою 5 г і 10 г. Травматичні дії здійснювали на тім'яно-потиличну область. При цьому, у момент нанесення безпосереднього пошкодження, голову тварини короткочасно притискували до поролонової прокладки, чим добивалися горизонтального розташування поверхні своду черепа до торцевої ділянки вантажу, що був пластмасовим циліндром, заповненим дробом і опускався з висоти 50 см. Площа ударної частини при цьому складала приблизно 3,5 см². За тваринами спостерігали протягом 24 годин з моменту нанесення ЧМТ, після чого тестували їх судомну готовність, яку, згідно із завдань роботи, індукували пікротоксином.

При проведенні дослідів було вдосконалено методику відтворення хронічного судомного синдрому через моделювання резистивної форми епілепсії (Патент України № 30942 А). Основа методики полягає в тому, що першому етапі дослідів відтворювали хронічну форму епілепсії шляхом повторного застосування підпорогової дози пікротоксину, а потім індукували генералізовану форму судом шляхом в/шлун введення агоністу рецепторів збуджуючих амінокислот КК дозою 5,0 мкг. За умов відтворення оригінальної моделі резистивної епілепсії ED₅₀ фенобарбіталу збільшувалась в 8,3 разів, ED₅₀ дифеніну - в 5,7, ED₅₀ вальпроата натрію - в 2,5 рази, ED₅₀ карбамазепіну в 7 разів, ED₅₀ діазепаму - в 3,5 рази. Таким чином, було розроблено та запатентовано універсальну модель експериментального хронічного судомного синдрому, резистивну до фармакотерапії (Патент України № 30942 А).

Для відтворення гострого генералізованого судорожного синдрому і нейротоксичних ефектів в роботі використовували агоніст рецепторів збуджуючих амінокислот - КК, яка викликає глибокі метаботропні зміни в нейронах [381, 382]. Характерною ознакою нейротоксичної дії КК є розвиток стійкої деполяризації мембрани нейронів, що передуює їх загибелі. При цьому у

тварин спостерігаються характерні судомні прояви у вигляді типових клонічних судом і тонічної екстензії передніх кінцівок [381, 383].

Генералізовані судоми викликали за допомогою КК в дозах 5, 8, 10 і 15 мг/кг. Препарат для цього розчиняли в 0,9 % фізіологічному розчині NaCl і вводили в/очер, розчини готувалися безпосередньо перед уведенням.

Для індукції генералізованих судом використовували також коразол (в дозах 5, 15, 30 і 45 мг/кг, в/о) і пікротоксин (0,1, 0,5, 1,0, 1,5 і 2,0, в/о), конвульсивні ефекти яких пов'язані з компрометацією ГАМК-ергічного гальмування [384]. Ефекти конвульсантів реєструвалися візуально протягом 30 хвилини після їхнього застосування. Інтенсивність судомних проявів оцінювали в балах, прийнявши таку оцінку ознак: 0 балів - відсутність судомних реакцій; 1 бал - міофасціальні здригання або стрімкі пробіжки (при застосуванні КК - чухальні рухи); 2 бали - клонічні судоми; 3 бали - клоніко-тонічні судомні напади з падінням тварини на бік, фазою тонічної екстензії кінцівок; 4 бали - повторні клоніко-тонічні судомні напади і/або загибель тварин.

За високої інтенсивності судом застосовували більш інформативну шестибальну оцінку ознак, описану вище.

2.3. Дози та терміни введення нейропептидів та протиепілептичних препаратів

При введенні препаратів за умов кіндлінгу та посткіндлінгу витримували такі умови: фенобарбітал ("Sigma", США) дозами 1,0, 5,0 та 10 мг/кг (в/очер) та дифенілгідантоїн ("Sigma", США) дозами 50, 100 та 125 мг/кг (в/очер) розчиняли в 5 % розчині метилцелюлози (Methocel, "Serva", Німеччина) та вводили за 60 хв до тестуючої ін'єкції пікротоксину.

При дослідженні ефективності пригнічення судомних проявів за умов каїнат-спричиненого епілептичного статусу застосовували німотоп (1,5 мг/кг та 2,0 мг/кг, в/очер; "Bayer Schering Pharma AG", Німеччина), вальпроєву кислоту (100 мг/кг та 150 мг/кг, в/очер; "Sigma", США), кетамін (10 мг/кг, в/очер;

“Sigma”, США) та дельта-сон індукуючий пептид (ДСП; 0,1 мг/кг, в/очер; синтезований в лабораторії хімії пептидів НДІ біоорганічної хімії ім. М. М. Шемякіна АН Російської Федерації), ріодипін (ЗАО ННПЦ «Борщаговський», Україна) та карбамазепін (“TEVA Operations”; 20 мг/кг) вводили за 15 хв до в/шлун мікроін’єкції КК.

Кіндлінговим щурам ДСП, а також його структурні аналоги (ДСП-1-4, 9-14) вводили внутрішньомозково (в бокові шлуночки мозку, в ретикулярну частину чорної речовини та вентральний гіпокамп) в дозі 10 нмоль за 30 хв до тестуючого введення епілептогену. Застосовували системне введення пептидів (100 мкг/кг) при вивченні їх впливу на захоплення радіоактивного [³H]триптофану за 30 хв до в/очер введення вказаної сполуки (400-1000 мкКю/кг; специфічна активність 55,8 кКю/моль; виробництво НВО «Ізотоп», Російська Федерація). По закінченні дослідів після евтаназії тварин (фенобарбітал 100 мг/кг) отримували тканину мозку, в якій підраховували показник радіоактивності за допомогою тритон-толуолового лічильника 1219-Rackbeta в розрахунку на кількість напіврозпадів за сек (Беккерель) на 1 мг тканини мозку тварин.

За умов гострих генералізованих пікротоксин-, коразол- та стрихнін-провокованих судом ДСП також вводили в/очер дозою 100 мкг/кг за 30 хв до ін’єкції вказаних препаратів з метою дослідження превентивного впливу ДСП на розвиток кіндлінгу препарат вводили в/очер (100 мкг/кг) за 30 хв до введення конвульсанту.

З метою вивчення нейропротекторного ефекту ДСП при гіпоксії мозку при білатеральній оклюзії загальної сонної артерії пептид вводили в/очер (100 мкг/кг) за 1, 24 та 48 год до початку дослідів.

Внутрішньомозкові введення соматостатину та нейротензину (НВО «Вектор», Новосибірськ, Російська Федерація) робили стереотаксично в бокові шлуночки, ретикулярну частину чорної речовини та вентральний гіпокамп в кількості 10 мкг в 2,0 мкл 0.9 % фізіологічного розчину.

В окремих серіях дослідів для пригнічення спонтанних судом щурам в/очер вводили діазепам дозами 5, 7,5, 10 і 15 мг/кг, фенобарбітал дозами 1,0, 5,0, 10, 15 і 20 мг/кг, вальпроєву кислоту (“Sigma”, США) дозами 100, 150, 200 і 250 мг/кг, дифенілгідантоїн дозами 50, 75, 100 и 150 мг/кг і карбамазепін дозами (“Sigma”, США) 5,0, 10, 15 і 20 мг/кг. Антиепілептичні препарати вводили одноразово. Діазепам і вальпроєву кислот вводили за 30 хв, фенобарбітал, дифенілгідантоїн і карбамазепін – за 60 хв перед введенням пілокарпіну. Такі термінові інтервали введення кожного із антиконвульсантів були обрані с урахуванням максимальної їх протисудомної ефективності за умов інших моделей епілепсії [150, 385-389].

В окремих серіях дослідів щурам вводили кіоторфін, неокіоторфін та d-ser-2-неокіоторфін (лабораторія синтезу пептидів НДІ біоорганічної хімії ім. М. М. Шемякіна АН Російської Федерації), внутрішньошлуночково, внутрішньонігрально та внутрішньогіпокамально в дозах 2,5, 5,0 та 10 нмоль за 30 хв до індукції судом.

Для з’ясування ролі бензодіазепінових рецепторів в механізмах судомного синдрому білок – інгібітор зв’язування діазепаму (DBI) людини (НВО «Вектор», Новосибірськ. Російська Федерація) вводили зза 20 хв, а діазепам – за 15 хв до відтворення судомного синдрому.

Нами було запатентовано спосіб лікування резистентної форми епілепсії (патент України № 32868 А). Підвищення ефективності лікування досягається на основі комбінованого застосування протиепілептичних препаратів (згідно принципу монотерапії) та пентоксіфіліну [ПТФ;3,7- диметил-1-(5-оксигексил)ксантин], який широко застосовується для лікування судинних захворювань. Застосування данного препарату є доцільним з точки зору встановлених останнім часом даних щодо ролі цитокінів в патогенетичних механізмах виникнення та розвитку епілепсії. З іншого боку, відомо, що ПТФ має здатність знижувати продукцію цитокінів [390, 391]. Позитивний терапевтичний ефект ПТФ при його комбінуванні з протиепілептичними препаратами пояснюється також здатністю препарату покращувати реологічні

властивості крові, що має значення і міжприступному періоді для кращого насичення зони епілептогенезу протиепілептичними препаратами, а також за рахунок здатності ПТФ сприяти виведенню надлишку калію назовні з клітин. Остання властивість нагадує дію блокаторів кальцієвих каналів, комбінування яких з більшістю антиепілептичних препаратів викликає потенційований протиепілептичний ефект [392].

2.4. Операційна підготовка тварин: імплантація електродів для реєстрації електричної активності і канюль для внутрішньомозкових уведень. Реєстрація біоелектричної активності мозку. Внутрішньомозкові введення препаратів. Методика отримання цереброспинальної рідини

Імплантацію електродів і канюль робили за методикою, яка викладена в літературі [372, 377]. Для реєстрації біоелектричної активності структур головного мозку використовували ніхромову або константанову проволочку в лаковій ізоляції з діаметром кінчика 0,10-0,15 мм. Канюлі являли собою електrolітично заточені голки з нержавіючої сталі із зовнішнім діаметром 0.6 мм; довжина канюлі залежала від локалізації структури і складала, в середньому, від 5.0 до 9.0 мм. Для вживляння електродів або імплантації канюль тварин наркотизували за допомогою внутріочеревинних ін'єкцій нембутала (30-35 мг/кг) або гексенала (100 мг/кг) і фіксували в стереотаксичному апараті Ковача (Угорщина).

Після фіксації голови тварини здійснювали інфільтрацію м'яких тканин голови та області зовнішнього слухового проходу 0.5 % розчином новокаїну. Стереотаксичну імплантацію електродів і канюль через висвердлені за допомогою бор-машини БЕМ-06М трепанаційні отвори проводили у відповідності до атласу L.Kruger (1995) по таких координатах [393]: 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; чорна речовина - AP=-4,8; L=2,5; H=8,0; вентральний гіпокамп - AP=-4,8; L=4,5; H=7,0; мигдалик - AP=-2,5; L=5,0; H=8,0; хвостате ядро - AP=+0,8; L=3,0; H=4,5; вентромедіальний таламус - AP=-3,8; L=0,7; H=6,3.

Реєстрацію електричної активності, внутрішньомозкові введення препаратів і вивчення поведінкових реакцій здійснювали через 7-10 днів після стереотаксичних втручань. Термін реєстрації ЕЕГ був однаковий для всіх тварин – з 10.00 до 16.00.

Для оцінки ЕЕГ використовувалася частота опитування 256 імпл/с за допомогою АЦП (National Instruments, USA). Дані відображались на екрані і записували на твердий диск для наступної off-line обробки. Частотний діапазон сигналів склав 0,5-40 Гц. 16-секундні епохи запису ЕЕГ піддавали аналізу Фур'є ("Labview-5,0", США). При цьому на основі візуального аналізу виключали ділянки ЕЕГ, що містили артефакти і визначали показники загальної і спектральної потужності ЕЕГ (μV^2), досліджувані показники представляли у виді відносні величини (контроль – 100 %). Частотні діапазони класифікували в такий спосіб: 0,5-4, 4-8, 8- 12, 12-25, 25- 40 Гц.

Внутрішньомозкові введення препаратів здійснювали с допомогою мікроін'єктора "Hamilton" ("SGE", Австралія), з'єданого за допомогою поліхлорвінілової трубки діаметром 800 мкм з ін'єкційною, електролітично заточеною голкою зовнішнім діаметром 400 мкм. Фармакологічні препарати вводили в об'ємі 0,5-2,0 мкл 0,9 % фізіологічного розчину NaCl (pH=7,4) зі швидкістю 1,0 мкл/хв.

В окремих серіях дослідження для отримання цереброспинальної рідини були взяті 4 безпородні кішки, які утримувалися за умов віварію. Цереброспинальну рідину в них отримували шляхом субокципітальної пункції тупокінцевою голкою [56]. З кожної кішки отримували в середньому 1.0 ± 0.1 мл цереброспинальної рідини.

2.5. Визначення концентрації фактору некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-1-бета в крові та тканині мозку щурів

Дослідження вмісту фактору некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-1-бета проводили в крові та тканині мозку щурів ліній WAG/Rij (26 щурів) та ACI (25 щурів), використовуючи метод імуноферментного аналізу (ELISA метод).

Перед цим щури підлягли евтаназії, в них збирали кров, а також мозок при температурі 4°C. Кров центрифугували протягом 10 хв при 15000 об/хв для отримання плазми, в якій визначали вміст досліджуваних антитіл. Для підрахунку вмісту цитокінів брали 100 мкл плазми крові двічі, другий раз - для проведення контрольних вимірювань.

Мозок швидко заморожували, застосовуючи твердий лід, в окремих серях досліджень – рідкий азот. Тканини мозку зважували та гомогенізували в присутності фосфатного буфера (5 мг/мл) із застосуванням гомогенізатора Поттера (10 циклів, 1000 об/хв). Отримані гомогенати тканин потім центрифугували протягом 10 хвилин (при температурі 4°C, 5000 об/хв). Для підрахунку вмісту цитокінів брали 100 мкл супернатанту двічі, другий раз - для проведення контрольних вимірювань.

Для визначення вмісту фактору некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-1-бета застосовували селективні антитіла системи “Biotrak” (Amersham Pharmacia Biotech, USA). Процедура визначення відповідає інструкціям фірми-виробника, згідно з чим кожне визначення проводили двічі. Абсорбція антитіла проводили при довжині хвилі 405 нм. Мінімально визначний рівень дорівнював 4,0 пг/мл.

При кожному дослідженні вмісту інтерлейкіну-1-бета застосовували 0,416 мг тканини в 50 мкл досліджуваного розчину. При дослідженні вмісту фактору некрозу пухлини-альфа об'єм застосованої тканини був в 10 разів менший.

2.6. Поведінкові тести

Спонтанну рухову активність тварин досліджували в тесті «відкритого поля» за методикою, описаною в роботах [394-396]. Для цього кожного щура поміщали до скляного циліндру, з якого потім плавно висаджували до центра відкритого поля. Спонтанну рухову активність тварин досліджували протягом 2 хв (Рис. 2.1).



Рис. 2. 1. Щур, що знаходиться в центрі «відкритого поля». Видно підлогу «відкритого поля», яка розділена на центральні й периферичні квадрати.

Визначали число пересічених квадратів відкритого поля (Рис. 2.1), число вертикальних стійок, а також число зазирань в отвори в підлозі відкритого поля. Крім цього, визначали число елементів стереотипної поведінки і болюсів при перебуванні в «відкритому полі».

Виразність агресивно-оборонної поведінки оцінювали за характером поведінкової відповіді тварин на спробу взяття в руку і виражали в балах за шкалою, запропонованою R. M. Post (1981) [396] (Рис. 2.2): 0 балів - при спробі взяття в руку, а також при захопленні рукою тварина не робить опору; 1 бал - при спробі взяття в руку щур ухиляється, тікає, однак, при захопленні рукою не пручається; 2 бали - при спробі взяття в руку тварина тікає, при захопленні пручається, намагається вирватися; 3 бали - побачивши руки експериментатора тварина приймає оборонну позу - піднімається на задні лапи і відбивається передніми; 4 бали - при спробі взяття в руку щур приймає оборонну позу, при взятті в руку виривається і кусається. Враховували середню виразність

агресивно-оборонних реакцій, а також кількість щурів з активно-оборонними реакціями (Рис. 2.2).

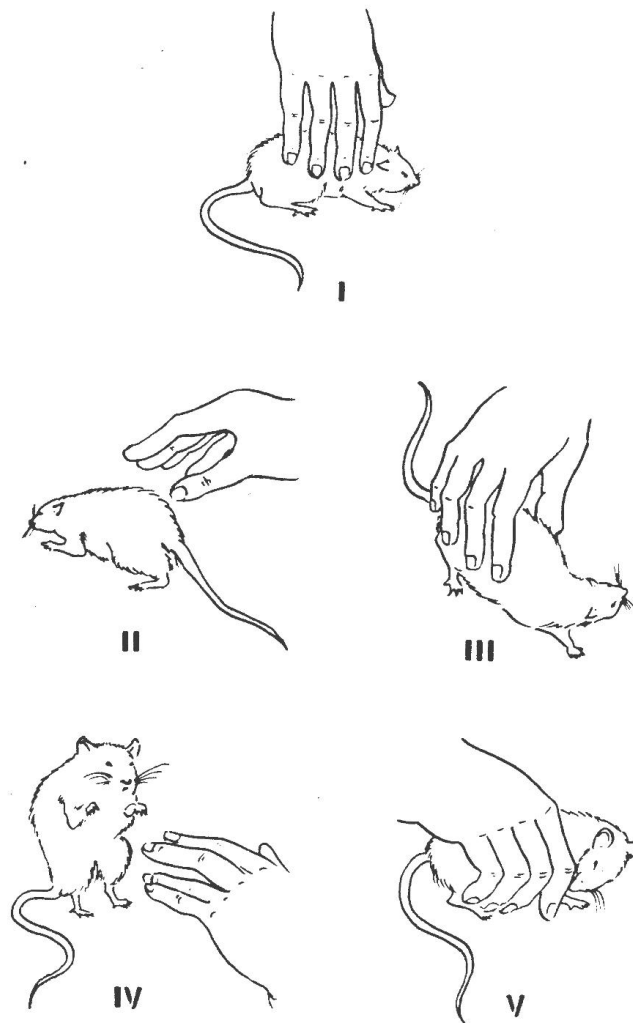


Рис. 2. 2. Агресивно-захисні поведінкові реакції в щурів при намаганні узяття їх до рук або при захваті долонею

I – відсутність агресивно-захисних поведінкових реакцій у відповідь (0 балів); II-V - агресивно-захисні поведінкові реакції вираженістю 1-4 бали, відповідно.

Показано, що вивчення пасивно-адаптивних плавальних елементів у тварин показує здатність формувати рухові програми в умовах відсутності обстановочних аферентацій, що детерміновано структурами хвостатих ядер [397, 398]. При цьому, типовим змінам елементів плавання відповідає зміна нейромедіаторних механізмів у стріатумі, що може бути використане для непрямой ідентифікації нейромедіаторних порушень в даній структурі при визначених функціональних станах.

Вивчення плавальної поведінки здійснювалося за методом, який був запропонований Vrijmoed-de Vrles, Cools (1986) [397]. Басейн для дослідження плавальної поведінки являв собою скляний циліндр висотою 45 см, діаметром 30 см, наповнений на 2/3 водою температурою 37 °С. Метод полягав у спостереженні характеру плавання тварин протягом 6 хв після їх розміщення в басейн. Відразу після їх розміщення до води протягом 2-4 хв у щурів виникали рієнтовно-дослідницькі реакції, а також спроби вибратися з води, що являло собою, відповідно до представлень [397], обумовлену зовнішніми стимулами або активно-адаптивну поведінку.

Протягом наступного періоду спостереження у тварин реєструвалися елементи плавальної поведінки пасивно-адаптивного характеру: плавання уздовж стінки, плавання колами удалині від стінки, «тупцювання» води в центрі басейну - безладне перебирання лапами, не спрямоване на вихід з води, «тупцювання» води, дотримуючи стінки, нерухоме занурення під воду з головою і «завісання» - нерухоме положення тварини без занурення.

При дослідженні плавальної поведінки нами було розроблено та запатентовано «Спосіб моделювання втоми» (Патент СРСР № 1817129 А1), суть якого полягала саме в тому, що психофізіологічна втома експериментальних тварин протягом плавання в басейні розвивалася саме на момент початку демонстрації ними пасивно-адаптивних елементів плавальної поведінки.

2.7. Електрична стимуляція та електричне руйнування структур мозку. Методика мікроелектростимуляції

У окремих серіях дослідів з метою виявлення утворень мозку, відповідальних за виникнення хронічних пілокарпін-спричинених спонтанних судом, здійснювали активацію і деструкцію деяких структур мозку.

Для цього серединні ядра таламусу (медіодорзальне – *mediodorsal thalamic nucleus* - і сполучне – *reunions thalamic nucleus*), а також фронтальні відділи кори мозку щурів піддавали білатеральній локальній деструкції введенням іботенової кислоти (2,0 мкл) під кетаміновою анестезією за

координатами стереотаксичного атласу [*mediodorsal thalamic nucleus* AP=-3,8; L=0,5; H=6,2; *reunions thalamic nucleus* AP=-1,3; L=0,5; H=6,7], а також електричноум подразненню постійним струмом з такими параметров – частота 60 Гц, 0,1 мс, 400-450 μ А, тривалість - 1 с.

В контрольних групах у вказані утворення мозку стереотаксично вводили 2,0 мкл фізіологічного розчину, а також імплантували електроди без нанесення електричного подразнення.

В окремих серіях досліджень після завершення фармакологічного кіндлінгу, а також після навчання щурів застосовували мікроелектростимуляцію (МЕС) V шару моторної дялінки неокортексу [400].

Після анестезії щурів за допомогою кетаміну та ксилазіну робили краніотомію розмірами 6x5 мм в лівій півкулі кори контралатерально до кінцівок, за якими намагалися спостерігати. Віконце, яке було висвердлене, охоплювало ділянку від 2 мм позаду брегми до 4 мм попереду брегми та сягало 5 мм латерально від брегми. Для зменшення внутрішньокраніального тиску робили пункцію великої цистерни.

МЕС (частота 333 Гц; монофазний струм; тривалість імпульсу 200 μ с; затримка імпульсу 5 μ с) проводили ізольованим стимулятором за допомогою ніхромових електродів з імпедансом від 1 до 5 М Ω . Щільність стимуляції становила 500 μ м на глибині 1500 μ м від поверхні кори – за координатами стереотаксичного атласу подібна відстань відповідала V шару кори півкуль.

В кожній penetрації спочатку застосовували мінімальну силу струму для ініціації рухів (за звичай, 10 μ А), яку потім збільшували до 60 μ А для визначення порогу ініціації рухів. На підставі зареєстрованих рухів суглобів передніх та задніх кінцівок, вібрис, шиї, рота, хвоста або повній відсутності ініціації рухів створювали карти кортикальної репрезентації відповідних рухів у тварин.

Кожній тварині сеанси МЕС робили впродовж максимум 7 год, після чого їх виводили з досліду та проводили верифікацію місць розташування електродів.

2.8. Препарати, які застосовувалися в роботі

У роботі використовували такі препарати: пікротоксин (“Sigma”, США), ПТЗ (коразол, “Sigma”, США), КК (“Sigma”, США), бікукулін (“Sigma”, США), атропін, іботенова кислота (“Sigma”, США), діазепам (“Gedeon Richter, Угорщина), натрієва сіль бензилпеніциліну, хлорид натрію - ізотонічний розчин, нембутал, кетамін (“PanFarma”, Франція), ксилазин (“Alfasan International B.V.”, Нідерланди), ефір, гексенал, біцилін, новокаїн, вальпроат натрію, (“Sigma”, США), карбамазепін, дифенілгидантоїн.

2.9. Гістологічна верифікація зон введення препаратів, канюль і електродів

Для евтаназії тварин використовували в/очер введення нембуталу (100 мг/кг). Тварин декапітували, після чого видаляли головний мозок зі стовбуром і мозочком, що зберігали в розчині формаліну. Після фіксації тканини мозку готували фронтальні зрізи завтовшки 500 мкм.

Локалізацію введень препаратів, канюль і електродів визначали за треком голки мікроін'єктора, порівнюючи зрізи із зображеннями в стереотаксичному атласі [393] і мікрофотографіями.

2.10. Статистична обробка результатів досліджень

Всі отримані результати обробляли за допомогою загальноприйнятих у медико-біологічних дослідженнях параметричних і непараметричних методів статистичного аналізу [401, 402].

При обробці даних, отриманих протягом експериментальних досліджень, були використані загальновідомі статистичні параметри: середнє арифметичне, дисперсія, стандартне квадратичне відхилення, очікувана помилка й достовірний інтервал.

Середнє арифметичне (M) визначали за формулою:

$$M = \frac{a_1 + a_2 + a_3 + a_4 + \dots + a_n}{n}, \text{ де} \quad (2.1)$$

- а – абсолютні величини ряду спостережень, який підлягає аналізу;
 n – кількість спостережень в даному ряді.

Середнє квадратичне відхилення (δ) визначали за формулою:

$$\delta = \pm \sqrt{\frac{Ed^2}{n-1}}, \text{ де} \quad (2.2)$$

Ed^2 - сума квадратів відхилення кожного числа від середнеарифметичного ряду;

- n – кількість спостережень в даному ряді..

При кількості спостережень менше ніж 30, а також при аналізі вмісту фактору некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-1-бета для обчислення середнього квадратичного відхилення використали наступну формулу:

$$\delta = \pm \sqrt{\frac{Ed}{n-1}} \quad (2.3)$$

Величину середньої очікуваної помилки для абсолютних величин визначали по формулах:

$$m = \pm \frac{\delta}{\sqrt{n}}, \text{ у випадках, коли кількість спостережень} \\ \text{перевищувала 30;} \quad (2.4)$$

$$m = \pm \frac{\delta}{\sqrt{n-1}}, \text{ у випадках, коли кількість спостережень} \\ \text{була менше 30,} \quad (2.5)$$

- де δ – середнє-квадратичне відхилення,
 n – кількість спостережень у даному ряді показників

Для визначення середньої очікуваної помилки відносних величин в усіх проведених статистичних аналізах використали наступну формулу

$$m = \pm \sqrt{\frac{P - (100 - P)}{n}}, \text{ де} \quad (2.6)$$

- P – показник відносної величини в %,
 n – кількість спостережень.

Для визначення вірогідності інтервальних значень (латентний період перших і клоніко-тонічних судорог, амплітуда, частота розрядів, концентрація цитокінів в крові та тканині мозку. тощо) використовували пара-метричний критерій ANOVA, що супроводжувався у випадку відповідності критеріям вірогідності тестом Neuman-Keuls. У випадку нерівномірного розподілу ознак вірогідність визначали з використанням непараметричного тесту Манна-Уїтні. Для визначення вірогідності ординальних (середня інтенсивність судом) і номінальних значень (число тварин без судом і з генералізованими нападами) використовували непараметричний критерій Kruscall-Wallis.

Статистичну обробку робили за допомогою персонального комп'ютера за допомогою програми статистичного аналізу "Primer Biostatistics". Мінімальну статистичну вірогідність визначали при $P < 0,05$.

За матеріалами даного розділу були опубліковані такі роботи:

1. Патент № 1807514 А1, СССР, МПК G 09 В 23/28, А 61 К 31/185 Спосіб зниження двигательної активності в експерименте / Шандра А. А., Годлевский Л. С., Мазарати А. М., Лупенко В. М., Тычина Д. Н., Вастьянов Р.С., Вишневский Б. С. ; заявник та патентовласник Одес. мед. ін-т ім. М. І. Пирогова. - № 48077971 ; заявл. 28.03.1990 ; опубл. 07.04.1993, Бюл. № 13. – 2 с.
2. Патент № 1817129 А1, СССР, МПК G 09 В 23/28 Спосіб моделювання утомлення / Шандра А. А., Годлевский Л. С., Мазарати А. М., Вастьянов Р.С. ; заявник та патентовласник Одес. мед. ін-т ім. М. І. Пирогова. - № 4840646/14 ; заявл. 18.06.1990 ; опубл. 23.05.1993, Бюл. № 19. – 2 с.
3. Пат. 30942 А Україна, МПК (2000) 6 А 61В 5/06 Спосіб моделювання резистивної форми епілепсії / Брусенцов О. І., Шандра О. А., Годлевський Л. С., Вастьянов Р. С., Мороз В. В., Супрун С. О., Помазанова Т. М., Жуковський В. І., Сохань С. Є. ; заявник та патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. - № 98063261 ; заявл. 23.06.1998 ; опубл. 15.12.2000, Бюл. № 7-II. – 2 с.
4. Пат. 32868 А Україна, МПК (2001) 6 А 61В 5/06, А 61В 17/24 Спосіб лікування резистивної форми епілепсії / Брусенцов О. І., Шандра О. А., Годлевський Л. С., Вастьянов Р. С., Мороз В. В., Супрун С. О., Помазанова Т. М., Жуковський В. І., Сохань С. Є., Полясний В. О. ; заявник та патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. - № 98063260 ; заявл. 23.06.1998 ; опубл. 15.02.2001, Бюл. № 1. – 2 с.

РОЗДІЛ 3

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ХРОНІЧНОЇ ЕПІЛЕПТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ

3. 1. Формування хронічного судомного синдрому при повторних введеннях пікротоксину (1,0 мг/кг)

В першій частині досліду (20 тварин) досліджували формування хронічного судомного синдрому протягом повторних уведень пікротоксину в підпороговій дозі (1,0 мг/кг). З цією метою визначали динаміку судомних розвитку поведінкових порушень та інтенсивність судом

Перші 2-4 ін'єкції пікротоксину підпороговою дозою (1,0 мг/кг) не призводили до розвитку в щурів яких-небудь змін поведінки. Через 5-8 хв після 3-5 введення пікротоксину в щурів виникали судомні реакції у вигляді міоклонічних здригань, які через 4-8 хв після їх розвитку переходили до повторних клонічних судом усього тулуба. Клонічні судомні реакції спостерігалися у всіх щурів після 6-10 уведень конвульсанту. Середня інтенсивність судом після 6 введення пікротоксину дорівнювала $1,6 \pm 0,2$ бали за загальноприйнятою шкалою оцінки інтенсивності судом.

Починаючи з 7-го введення пікротоксину в 55 % частини щурів відмічалися також клонічні судомні м'язів передніх кінцівок. Після 8-го введення пікротоксину в 25 % тварин клонічні судомні змінювалися розвитком генералізованих клоніко-тонічних судомних нападів. Судомні приступи розвивалися через 18-30 хв. після тестуючого введення пікротоксину. Середня інтенсивність судом після 8 введення пікротоксину дорівнювала $2,1 \pm 0,2$ бали.

Протягом подальших уведень конвульсанту відбувалося зростання числа тварин з генералізованими клоніко-тонічними судомними нападами. Після останнього, 20-24-го введення пікротоксину вказані вище порушення поведінки спостерігалися в 75 % щурів. В решти тварин у відповідь на введення

пікротоксину розвивалися міоклонічні здригання (2 щури) або повторні клонічні судоми усього тулубу (або передніх кінцівок – 1 шур). Середня інтенсивність судом по закінченні відтворення кіндлінгу становила $3,7 \pm 0,3$ бали.

Таким чином, проведені дослідження показали, що повторне введення пікротоксину у спочатку підпороговій дозі призводить до виникнення та прогресивного наростання інтенсивності судомних поведінкових проявів від окремих міоклонічних здригань до генералізованих судомних клніко-тонічних нападів. За даними наших попередніх робіт [61, 71, 78, 79] показано, що стан підвищеної судомної готовності, яке сформувалося, зберігається протягом тривалого (до 1,5 місяців) терміну після завершення введень пікротоксину. Відновлення повторних введень конвульсанту супроводжується бистрішим виникненням та наростанням інтенсивності судомної активності. Ці дані дозволяють зробити висновок стосовно формування фармакологічного кіндлінгу внаслідок повторних введень пікротоксину в підпороговій дозі.

3. 2. Формування моделі посткіндлінгу як стану хронічного судомного синдрому, резистивного щодо дії протиепілептичних препаратів

Завданням наступної серії дослідів було вивчення поведінкових корелятивів пікротоксिनних судом, які ініціювали у кіндлінгових щурів після 14-денного так званого «тихого» періоду, тобто періоду без уведення конвульсанту.

По закінченні формування кіндлінгу, після 20-го введення пікротоксину в 73,0 % щурів розвивалися генералізовані клоніко-тонічні судомні напади з вегетативними розладами, післяприступною депресією. Інтенсивність судом в цих щурів була максимальною, дорівнювала 4-5 балам (Рис. 3.1).

В 15,8 % щурів кіндлінгові судоми характеризувалися клоніко-тонічними скороченнями м'язів передніх та задніх кінцівок, а також тулубу з підніманням тварин на задні кінцівки («поза кенгуру»). В 2,0 % щурів судоми були відсутні. В 9,4 % щурів інтенсивність судом становила 1-2 бали (Рис.3.1).

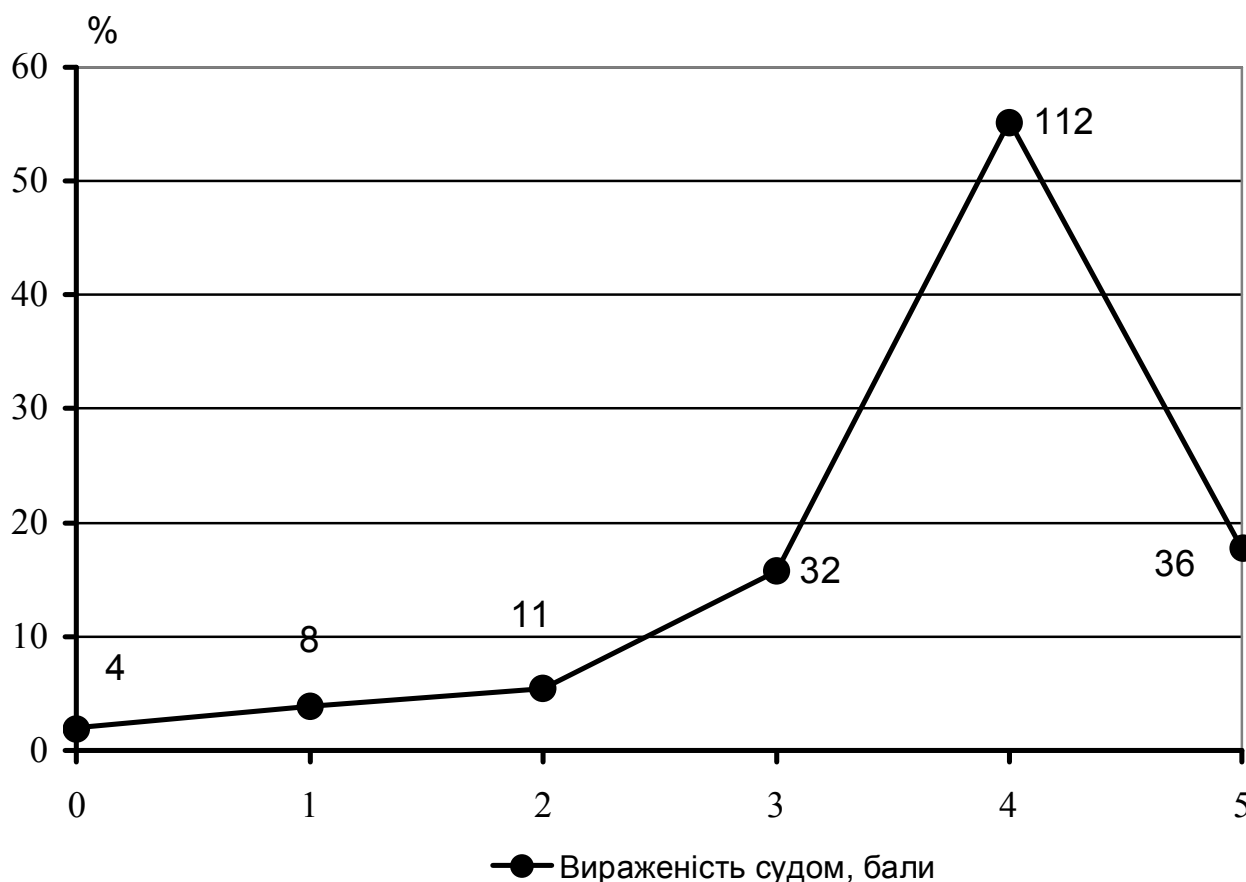


Рис. 3.1. Розподіл тварин із судомами інтенсивністю в 0-5 балів по завершенню формування пікротоксинового кіндлінгу.

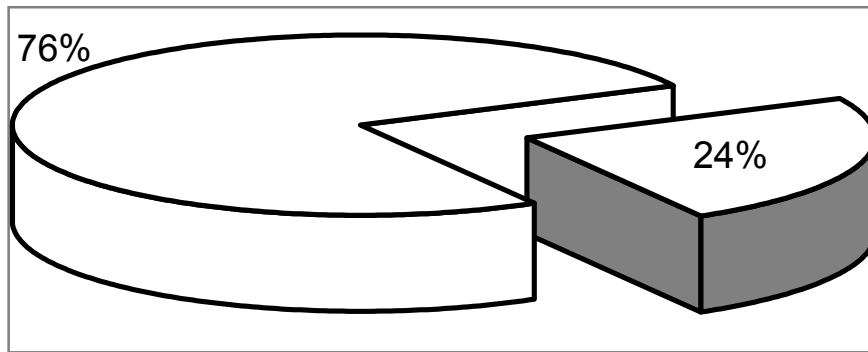
Позначення: за віссю абсцис – інтенсивність судом після 20-го введення пікротоксину, бали.

За віссю ординат – число щурів із судомами визначеної інтенсивності по відношенню до загального числа щурів із пікротоксиновим кіндлінгом (в %)

Отже, по закінченні кіндлінгу, інтенсивність судом в 76 % щурів дорівнювала 4 балам, в 24 % щурів – 5 балам (Рис. 3.2, А).

По закінченню 14-денного інтервалу часу після завершення кіндлінгу тестуюче введення пікротоксину індувало судоми інтенсивністю в 4 бали у 58 щурів (39 % всіх тварин). При цьому введення конвульсанту не викликало появу судом у щурів, в яких по завершенню кіндлінгу інтенсивність судом становила 0-3 бали. Повторні генералізовані клонімо-тонічні напади, за падінням тварин на бік, вегетативними розладами та післяприступною

депресією інтенсивністю в 5 балів розвивалися у 90 щурів (61 % всіх тварин; Рис. 3.2, Б).

А

□ Стадія 4

□ Стадія 5

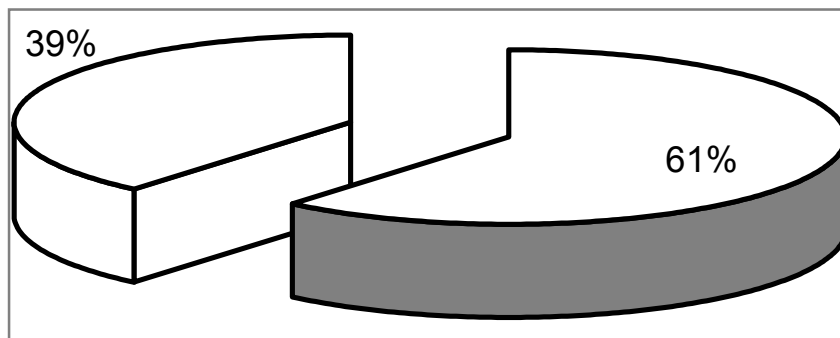
Б

Рис. 3.2. Розподіл тварин з судомами інтенсивністю в 4 та 5 балів у кіндлінгових щурів (фрагмент А) та у щурів з післякіндлінгом (фрагмент Б).

Таким чином, введення пікротоксину через 14-денний інтервал після формування кіндлінгу сприяло розвитку генералізованих судом максимальної інтенсивності лише в тих кіндлінгових тварин, які раніше демонстрували судоми інтенсивністю 4-5 балів. При цьому суттєво збільшилася кількість тварин з повторними генералізованими клоніко-тонічними судомами інтенсивністю в 5 балів за рахунок щурів, в яких судоми мали характер генералізованих клоніко-тонічних з падінням на бік, вегетативними розладами та постнападовою депресією. Це дозволило припустити, що наявність генералізованих клоніко-тонічних судом є обов'язковим для формування стану підвищеної судомної чутливості за умов кіндлінгу та післякіндлінгової моделі хронічної судомної активності.

3. 3. Патофізіологічні механізми хронічної судомної активності за умов відтворення епілептичного статусу

При проведенні цієї частини роботи ми виходили з відомої ролі системи збуджуючих амінокислот у виникненні ЕпА та у формуванні ЕС. Метою даної серії роботи було дослідження ефективності застосування за умов каїнат-індукованого ЕС блокатору рецепторів збуджуючих амінокислот кетаміну, вальпроєвої кислоти (ВК), блокатору L-типу кальцієвих каналів німотопу та дельта-сон індукуючого пептиду (ДСІП).

Для відтворення ЕС ми застосовували агоніст збуджуючих рецепторів КК (0,75 мкл), яку вводили щурам лінії Вістар за умов вільної поведінки крізь завчасно внутрішньошлуночково імплантовані канюлі. Контрольним тваринам вводили аналогічні обсяги 0,9 % розчину NaCl.

В першій серії дослідів досліджували релевантність відтворення моделі каїнат-індукованого ЕС за умов введення препарату внутрішньошлуночково, внутрішньогіпокампульно та у базолатеральний мигдалик.

Поведінкові прояви ЕС, який ми відтворювали шляхом введення КК у вентральний гіпокамп, практично не відрізнявся від таких при ЕС, який ми відтворювали внутрішньошлуночковим та внутрішньомигдаликовим введенням

каїнату. В середньому в різних групах за 40-90 секунд з часу припинення введення КК в щурів розпочиналися судомні реакції, які поступово з підступних патологічних розчухувань (які ми оцінювали як розвиток клонічних судом) перетворювались до тривалих клоніко-тонічних приступів із виразною екстензією задніх та флексією передніх кінцівок (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Відтворення каїнат-індукованого ЕС в щурів за умов різних способів введення каїнової кислоти

Групи щурів, уведені препарати (دوزи)	Число щурів	Число щурів з ЕС	Латентний період ЕС, хв.	Тривалість ЕС, год.	Розвиток спонтанних судом
Каїнова кислота в/шлун (0.75 мкг)	37	32 (86 %)	0,88±0,07	5,1±0,7	+
Каїнова кислота в/гіпокампально (0.75 мкг)	29	25 (86 %)	0,79±0,08	5,6±0,6	+
Каїнова кислота в/мигдалик. (0.75 мкг)	26	21 (81 %) #	0,93±0,08	6,2±0,7	+

Тривалість ЕС варіювала від 4,5 до 7 годин та ці показники не відрізнялися в трьох дослідних групах щурів ($P > 0,05$; табл. 3.1). Протягом наступних 10-14 діб ми зареєстрували розвиток відстрочених спонтанних судом. Загалом, ЕС було відтворено у 86 % щурів при внутрішньошлуночковому введенні КК, у 86 % щурів при внутрішньогіпокампальному введенні КК та у 81 % щурів при введенні КК в мигдалик.

Виходячи з цього, подальші серії дослідів ми проводили на моделі ЕС, який відтворювали в/шлун введенням каїнату. За таких умов введення за 15 хв. до індукції ЕС німотоп дозою 1.5 мг/кг захистив від індукції патологічного

стану лише 4 щурів із 11 (табл. 3.2). Латентний період ЕС за цих умов дорівнював $1,11 \pm 0,12$ хв, його тривалість становила $3,4 \pm 0,5$ год, що було співставно з відповідними контрольними показниками.

За умов введення німотопу дозою 2,0 мг/кг від розвитку ЕС вдалося захистити 7 щурів із 11, що було більше, ніж у групі щурів без введення німотопу ($P < 0,05$). Латентний період ЕС при цьому дорівнював $2,33 \pm 0,13$ хв, його тривалість становила $2,9 \pm 0,4$ год, що виявилось значно менше порівняно з відповідними контрольними показниками ($P < 0,05$).

В разі введення ВК дозою 100 мг/кг від розвитку ЕС вдалося захистити 8 щурів із 13, що було більше, ніж у групі щурів без введення ВК ($P < 0,05$). Латентний період ЕС при цьому дорівнював $2,19 \pm 0,11$ хв, його тривалість становила $2,0 \pm 0,5$ год, що виявилось в 2,2 рази та в 2,5 рази менше, відповідно, при порівнянні з такими показниками в щурів контрольної групи ($P < 0,05$).

Після введення ВК дозою 150 мг/кг від розвитку ЕС вдалося захистити 11 щурів із 16, що було більше, ніж у групі щурів без введення ВК ($P < 0,01$). Латентний період ЕС при цьому дорівнював $3,78 \pm 0,14$ хв, його тривалість становила $1,6 \pm 0,4$ год, що виявилось в 4,3 рази та в 3,2 рази менше, відповідно, при порівнянні з такими показниками в щурів контрольної групи ($P < 0,05$).

За умов введення кетаміну (10 мг/кг) від розвитку ЕС вдалося захистити 5 щурів із 9, що не відрізнялося від такого показника в групі щурів без введення препарату. Латентний період ЕС при цьому дорівнював $5,37 \pm 0,33$ хв, його тривалість становила $1,8 \pm 0,4$ год, що виявилось значно менше порівняно з відповідними контрольними показниками ($P < 0,05$; табл. 3.2).

Після введення ДСПІ (0,1 мг/кг) від розвитку ЕС вдалося захистити 13 щурів із 17, що було більше, ніж у групі щурів без введення пептиду ($P < 0,01$). Латентний період ЕС при цьому дорівнював $3,93 \pm 0,27$ хв, його тривалість становила $1,5 \pm 0,3$ год, що виявилось в 4,5 рази та в 3,3 рази менше,

відповідно, при порівнянні з такими показниками в щурів контрольної групи ($P < 0,05$; табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Вплив німотопу, вальпроєвої кислоти (ВК), кетаміну та дельта-сон індукуючого пептиду на прояви каїнат-індукованого ЕС в щурів

Групи щурів, уведені препарати (دوزи)	Число щурів	Число щурів з ЕС	Латентний період ЕС, хв.	Тривалість ЕС, год.	Розвиток спонтанних судом
Каїнова кислота в/шлун (0.75 мкг)	23	20 (87 %)	0,88±0,07	5,1±0,7	+
Німотоп (1.5 мг/кг)	11	7 (64 %)	1,11±0,12	3,4±0,5	+
Німотоп (2.0 мг/кг)	11	4 (36 %) #	2,33±0,13*	2,9±0,4*	-
ВК (100 мг/кг)	13	5 (38 %) #	2,19±0,11*	2,0±0,5*	-
ВК (150 мг/кг)	16	5 (31 %) ##	3,78±0,14*	1,6±0,4*	-
Кетамін (10 мг/кг)	9	4 (44 %)	5,37±0,33*	1,8±0,4*	-
Дельта-сон індукуючий пептид (0.1 мг/кг)	17	4 (24 %) ##	3,93±0,27*	1,5±0,3*	-

Примітки: * - $P < 0,05$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях (АНОВА+Ньюман-Кулз тест).

- $P < 0,05$ і ## - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях (критерій Крушквал-Валліс).

Таким чином, отримані дані виявили залежну від дози протисудомну дію німотопу за умов каїнат-викликаного ЕС, яка проявлялась у захисті щурів від розвитку даної форми хронічного судомного синдрому, скороченням латентного періоду його розвитку та тривалості, а також запобіганням розвитку спонтанних

судом. Цікаво також те, що протисудомний ефект німотопу співставний з відповідним ефектом ВК в дозі 100 мг/кг, зважаючи на перспективи клінічного тестування його протисудомної активності.

Отримані дані переконливо свідчать на користь вираженої антиепілептичної дії за таких модельних умов блокатору рецепторів збуджуючих кислот кетаміну та ДСП, що, окрім з'ясування патофізіологічних механізмів ЕС – за механізмами опосередкування системи збуджуючих амінокислот, - висвітлює ще один перспективний механізми протективної дії ДСП, якого можливо застосовувати в якості складового компоненту при комплексному лікуванні судомного синдрому.

Резюмуючи, інтерес викликає можливість якомога підвищення ефективності експериментального пригнічення ЕС, що ми намагалися виконати за умов сумісного введення блокатору кальцієвих L-типу каналів ріодипіну та протисудомного препарату карбамазепіну.

За умов застосування ріодипіну препарат захистив від розвитку ЕС 5 щурів із 12, що виявилось краще, ніж в контрольній групі щурів ($P < 0,05$, табл. 3.3). Латентний період ЕС при цьому дорівнював $1,06 \pm 0,09$ хв, його тривалість становила $4,1 \pm 0,5$ год, що виявилось співставними показниками з такими в контролі ($P > 0,05$). У щурів розвивалися відстрочені спонтанні судоми.

При роздільному введенні карбамазепіну за умов каїнат-індукованого ЕС препарат захистив від розвитку ЕС лише 2 щури із 12 ($P > 0,05$). Латентний період ЕС при цьому дорівнював $1,32 \pm 0,11$ хв, що було в 1,5 рази більше, ніж в контролі ($P < 0,05$). Проте, тривалість ЕС за цих умов дорівнювала $4,5 \pm 0,4$ год, що виявилось співставними показниками з такими в контролі ($P > 0,05$). У щурів також розвивалися відстрочені спонтанні судоми.

За умов сумісного введення ріодипіну та карбамазепіну від розвитку ЕС вдалося захистити 12 щурів із 17, що було більше відповідних показників в контрольній групі щурів, а також у щурів із роздільним введенням ріодипіну та карбамазепіну ($P < 0,05$). Латентний період ЕС при сумісному введенні

ріодипіну та карбамазепіну дорівнював $1,61 \pm 0,15$ хв, його тривалість становила $2,3 \pm 0,4$ год, що виявилось значно менше порівняно з відповідними контрольними показниками, а також при роздільних введеннях ріодипіну та карбамазепіну ($P < 0,05$; табл. 3.3). За умов сумісного введення цих двох препаратів в щурів не реєструвалися випадки розвитку спонтанних судом.

Таблиця 3.3

Вплив роздільного та сумісного введення ріодипіну та карбамазепіну на прояви каїнат-індукованого ЕС в щурів

Групи щурів, уведені препарати (دوزи)	Число щурів	Число щурів з ЕС	Латентний період ЕС, хв.	Тривалість ЕС, год.	Розвиток спонтанних судом
1. Каїнова кислота в/шлун (0.75 мкг)	37	32 (86 %)	$0,88 \pm 0,07$	$5,1 \pm 0,7$	+
2. Ріодипін (1.0 мг/кг)	12	7 (58 %) #	$1,06 \pm 0,09$	$4,1 \pm 0,5$	+
3. Карбамазепін (20 мг/кг)	12	10 (83 %)	$1,32 \pm 0,11^*$	$4,5 \pm 0,4$	+
4. Ріодипін + карбамазепін	17	12 (71 %) ## $P_2-P_4 < 0,05$ $P_3-P_4 < 0,05$	$1,61 \pm 0,15^*$ $P_2-P_4 < 0,05$ $P_3-P_4 < 0,05$	$2,3 \pm 0,4^*$ $P_2-P_4 < 0,05$ $P_3-P_4 < 0,05$	-

Примітки: * - $P < 0,05$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях (АНОВА+Ньюман-Кулз тест).

- $P < 0,05$ і ## - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях (критерій Крушквал-Валліс).

Таким чином, отримані дані свідчать про особливості протисудомної дії карбамазепіну та рідипіну за умов моно- і політерапії хронічної епілептичної активності. Виявлена ефективність сумісного введення рідипіну та карбамазепіну в аспекті пригнічення кайнат-індукованої хронічної епілептичної активності.

3. 4. Залучення імунної системи до патофізіологічних механізмів хронічної епілептичної активності

Відомі дані стосовно взаємозв'язку дисфункції імунної системи та розвитку епілепсії. Результати клінічних спостережень свідчать про активацію або дисфункцію імунної системи у хворих з енцефалітом Расмусена [403] та з синдромом Леннокса-Гасто [404]. У пацієнтів з епілепсією після клоніко-тонічних нападів в ЦСР були виявлені підвищені концентрації інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) [405], йдеться також про зростання концентрації антагоністів щодо рецепторів к інтерлейкіну-1 (ІЛ-1) [406].

Експериментально відтворений кайнат-індукований ЕС спричиняв зростання внутрішньогіпокампулярної експресії мРНК ІЛ-1, ФНП та інших цитокінів [259, 407]. Показано також, що уведення ІЛ-1 подовжувало термін маніфестації кайнат-індукованих судом [408]. Обидва цитокіни – ФНП та ІЛ-1 підсилювали вираженість пентилентетразолових судом в мишей [281].

Ймовірно, що цитокіни здатні модулювати процеси збудливості головного мозку, а також регулювати розвиток судом, розвиток та гибель нейронів, реактивний гліоз та процеси «спрутінгу» нервових волокон [243-248, 270-272, 275-279, 289-292, 300, 301, 304-310, 2312-314, 316, 320, 335-337, 339-341].

Зважаючи на дані, наведені вище, ми провели низку дослідів, присвячених визначенню ролі цитокінів в умовах генетичної моделі абсансної епілепсії та кіндлінг-спричиненої хронічної судомної активності.

Завданням початкової серії досліджень було визначення впливу екзогенного введення ФНП та ІЛ-1 на вираженість та частоту генерації спайк-

хвильових потенціалів (СХП) у щурів лінії WAG/Rij (з генетично детермінованою абсансною епілепсією).

Через 1 год після в/очер уведення фізіологічного розчину тривалість генерації СХП щурами лінії WAG/Rij дорівнювала 161 ± 12 с, через 2 год цей показник становив 184 ± 14 с, після чого реєструвалося зменшення досліджуваного показника, і на 6-й годині дослідження його величина становила 100 ± 9 с (Рис. 3.3). Протягом подальшого теміну спостереження (світлої частини доби) тривалість генерації СХП не змінювалася суттєво та була в межах від 35 ± 4 с до 85 ± 9 с.

Після введення ІЛ-1 протягом темного періоду часу спостереження спостерігалось суттєве зростання досліджуваного показника. При цьому через 1 год після введення цитокіну тривалість генерації СХП щурами лінії WAG/Rij дорівнювала 235 ± 22 с, що виявилось на 46 % більше порівняно з аналогічним показником в щурів контрольної групи ($P < 0,05$). Через 2 год спостереження величина досліджуваного показника була максимальною та становила 360 ± 38 с, що виявилось на 96 % більше порівняно з таким показником в щурів WAG/Rij, яким ввели фізіологічний розчин ($P < 0,001$).

Протягом подальшого спостереження тривалість генерації СХП в щурів, яким увели ІЛ-1, суттєво перевищувала відповідні показники в щурів контрольної групи на 3-й год (в 2,3 рази, $P < 0,01$), 4-й год (в 4,2 рази, $P < 0,01$), 5-1 год (в 2,6 разів, $P < 0,001$) досліду (рис. 3.3).

На 6-й годині досліду величина досліджуваного показника виявилася на 5 % менше, ніж у щурів контрольної групи, що не мало статистичної розбіжності поміж тваринами обох груп ($P > 0,05$). В подальшому, з 7-ї по 18-у години досліду досліджувані показники в щурів обох груп розрізнялися лише на 2-11 % ($P > 0,05$).

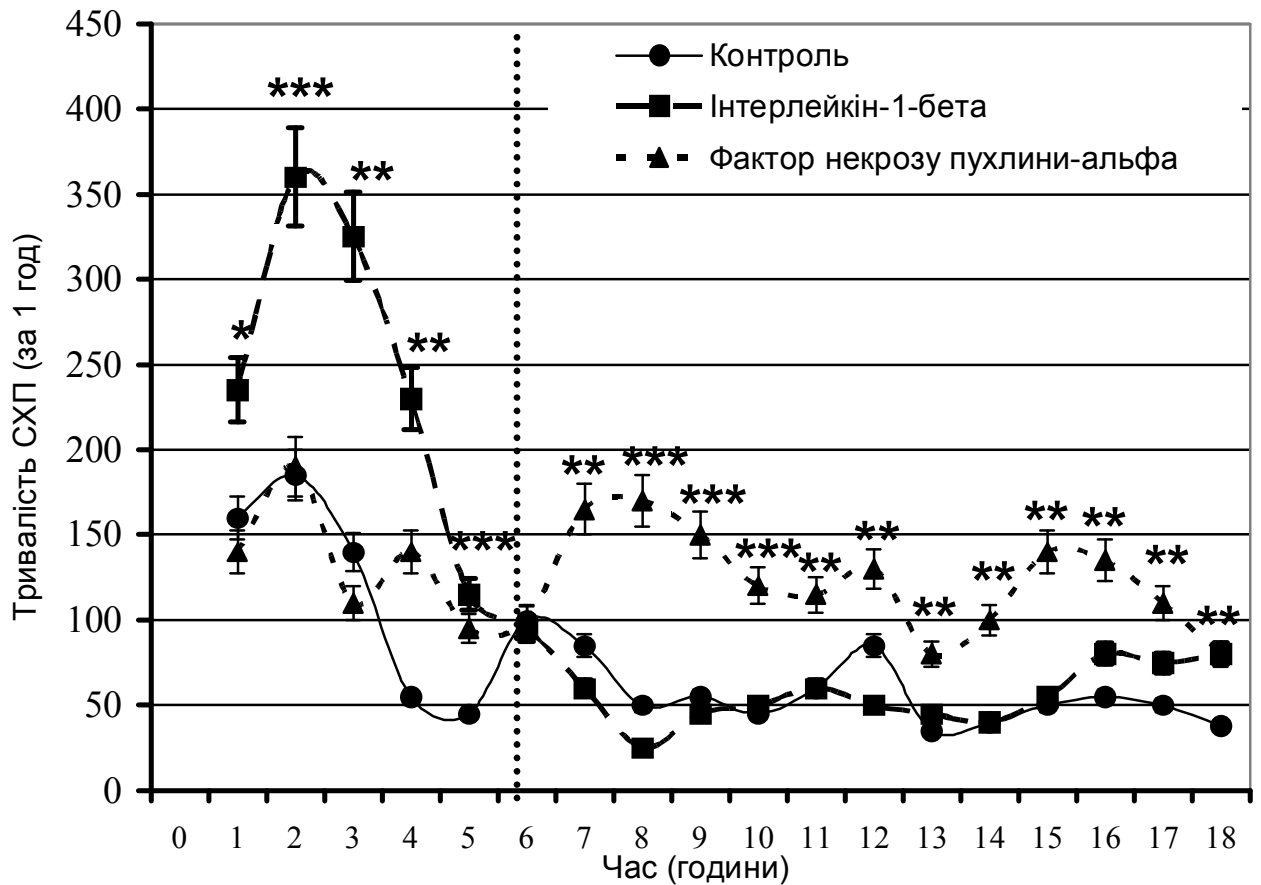


Рис 3.3. Вплив ФНП та ІЛ-1 на тривалість генерації спайк-хвильових потенціалів (СХП) в щурів з абсансною генетично детермінованою епілепсією

Примітки: вертикальна штрихова лінія відокремлює темний час доби (перші 6 годин спостереження) від світлого терміну доби (решта 12 год спостереження після ін'єкції цитокінів).

* - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$ та *** - $P < 0,001$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у щурів контрольної групи (статистичний подвійний критерій АНОВА).

Протягом перших 6 годин спостереження після введення ФНП (темний період досліду) тривалість генерації СХП щурами обох груп також не розрізнялася суттєво ($P > 0,05$). Але через 7 год після введення цитокіну тривалість генерації СХП щурами лінії WAG/Rij дорівнювала 165 ± 18 с, що виявилось на 66 % більше порівняно з аналогічним показником в щурів контрольної групи ($P < 0,01$). Через 8 год та 9 год спостереження величини досліджуваного показника становили 171 ± 19 с та 152 ± 16 с, що виявилось в 3,4 рази та в 2,7 разів, відповідно, більше порівняно з таким показником в щурів WAG/Rij, яким ввели фізіологічний розчин (в обох випадках $P < 0,001$).

Протягом подальшого спостереження (з 10-ї до 18 год, світлий термін досліду) тривалість генерації СХП в щурів, яким увели ФНП, значно перевищувала відповідні показники в щурів контрольної групи в середньому в 1,5 рази (12-а год, $P < 0,01$) – 2,7 разів (10-а год, $P < 0,01$; Рис. 3.3).

При реєстрації тривалості СХП протягом 2-ї доби та 3-ї доби після введення досліджуваних цитокінів отриманий протягом першої доби ефект продовжував існувати (Рис. 3.4), що засвідчило не випадковівість зареєстрованих нами протягом першої доби динаміки змін тривалості спайк-хвильових потенціалів в щурів лінії WAG/Rij після введення ІЛ-1 та ФНП.

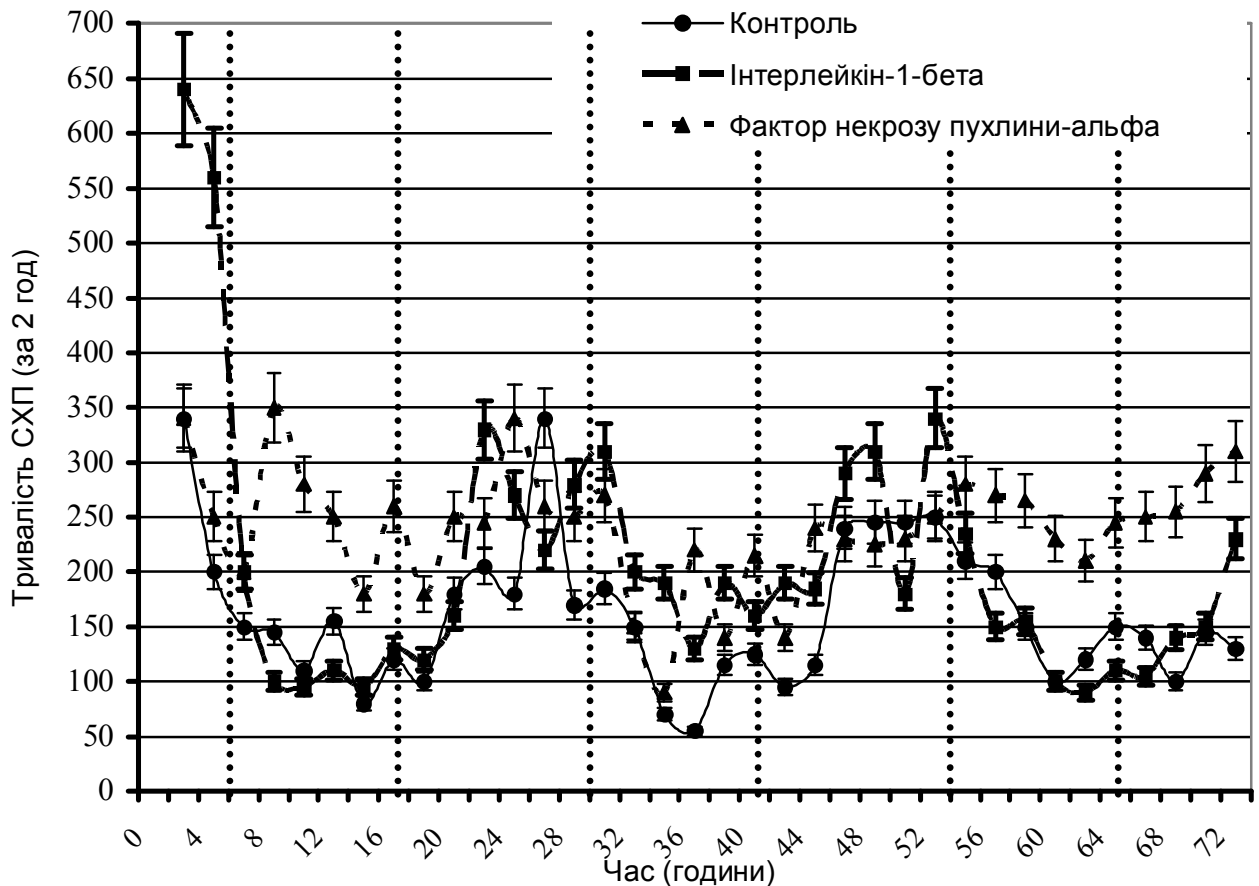


Рис 3.4. Тривалість генерації СХП (усереднена, за 2 год) протягом 72 годин після введення ФНП та ІЛ-1 щурам лінії WAG/Rij

Примітки: вертикальні штрихові лінії відокремлюють темні часи доби (перші 6 годин спостереження протягом доби) від світлого терміну доби (з 7-ї по 18-у доби спостереження).

В подальшому, зважаючи на патофізіологічні механізми абсансної форми епілепсії, були простежені та обраховані середні показники частоти генерації СХП в щурів лінії WAG/Rij залежно від віку. Показано, що в 2-3 місячних щурів лінії WAG/Rij середня кількість СХП становила $2,2 \pm 1,1$, а їх тривалість дорівнювала в середньому $11,6 \pm 2,5$. В контрольній групі спостережень (сірі щури лінії ACI аналогічного віку) спайк-хвильові потенціали зареєструвати не вдалося (Рис. 3.5).

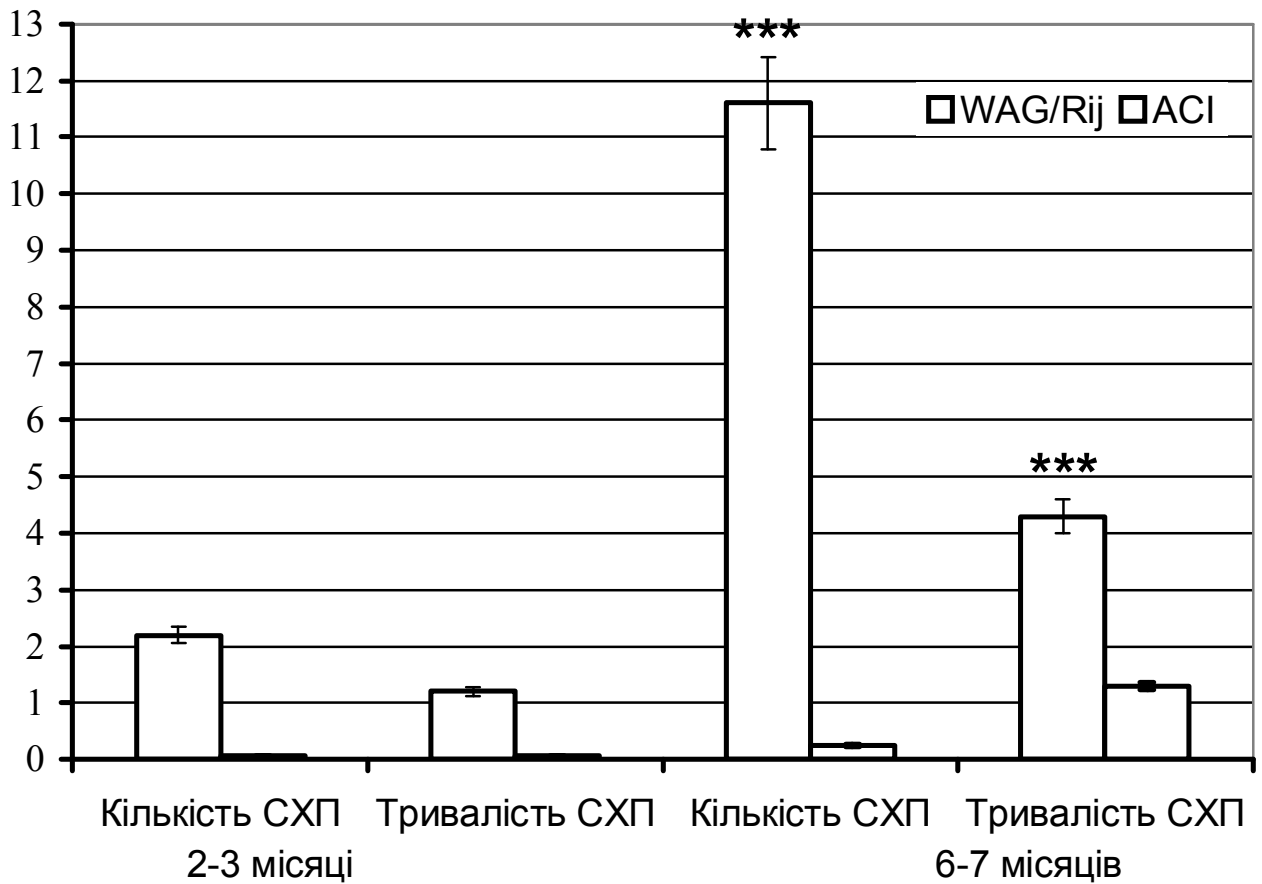


Рис 3.5. Кількість СХП та їхня тривалість (за сек) в щурів лінії WAG/Rij різного віку

Примітка: *** - $P < 0,001$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у щурів лінії WAG/Rij віком 2-3 місяці (статистичний критерій АНОВА + Ньюман-Кулз).

При цьому в 6-7 місячних щурів лінії WAG/Rij середня кількість СХП дорівнювала $11,6 \pm 2,5$, що виявилось значно більше (в 5,3 рази, $P < 0,001$) порівняно з таким показником у щурів лінії WAG/Rij віком 2-3 місяці.

Тривалість СХП в 6-7 місячних щурів лінії WAG/Rij дорівнювала в середньому $4,3 \pm 0,2$ за сек, що було в 3,6 рази більше, ніж відповідний показник у таких щурів віком 2-3 місяці ($P < 0,001$). У щурів лінії ACI величини досліджуваних показників були мінімальними та дорівнювали $0,25 \pm 0,03$ та $1,3 \pm 0,2$ за сек, відповідно (Рис. 3.5). Отже, отримані дані свідчать на користь того, що активність СХП зростає з віком переважно в щурів лінії WAG/Rij.

Завданням наступної серії дослідів було визначення концентрації ФНП та ІЛ-1 в тканині мозку та крові щурів з абсансною формою епілепсії. Отримані дані наведені в таблиці 3.4, аналізуючи які можна простежити таке.

В крові щурів лінії WAG/Rij віком 2 місяці вміст ФНП та ІЛ-1 становив $6,31 \pm 2,00$ пг/мл та $1,59 \pm 0,78$ пг/мл, відповідно. Отримані показники були в 10,3 рази більше ($P < 0,01$) та на 11,2 % менше ($P > 0,05$) аналогічних результатів в контрольних серіях досліджень. У мозку 2-місячних щурів лінії WAG/Rij концентрація обох досліджуваних цитокінів дорівнювала $63,8 \pm 2,6$ пг/мг та $27,0 \pm 2,8$ пг/мг, відповідно, що відрізнялося від аналогічних результатів у щурів контрольної групи на 9,3 % та на 12,6 % ($P > 0,05$).

В крові щурів лінії WAG/Rij віком 4 місяці вміст ФНП та ІЛ-1 становив $2,47 \pm 0,89$ пг/мл та $2,58 \pm 0,74$ пг/мл, відповідно. Ці дані виявилися на 30 % менше ($P > 0,05$) та на 31,6 % більше ($P > 0,05$) аналогічних результатів в контрольних серіях досліджень. У мозку 4-місячних щурів лінії WAG/Rij вміст ФНП дорівнював $78,7 \pm 8,4$ пг/мг, що на 26,6 % перевищувало такі дані в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$). Вміст ІЛ-1 в мозку у щурів цієї групи дорівнював $35,2 \pm 3,8$ пг/мг, що відрізнялося від аналогічних результатів у щурів контрольної групи на 11 % ($P > 0,05$).

В крові 6-місячних щурів лінії WAG/Rij концентрація ФНП та ІЛ-1 становила $1,84 \pm 0,94$ пг/мл та $1,04 \pm 0,53$ пг/мл, відповідно. Ці дані виявилися на 44,9 % більше та на 32,5 % менше таких результатів в контрольних серіях досліджень (в обох випадках $P > 0,05$). У мозку 6-місячних щурів лінії WAG/Rij вміст обох досліджуваних цитокінів становив $67,3 \pm 3,2$ пг/мг та $25,8 \pm 1,7$ пг/мг,

відповідно, що відрізнялося від аналогічних результатів у щурів контрольної групи на 8 % та на 11,6 % (в обох випадках $P > 0,05$, табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Концентрація ФНП та ІЛ-1 в крові та мозку щурів з абсансною формою епілепсії

Щури	Цитокін, об'єкт дослідження	Вік та число щурів (міс.)		
		2	4	6
WAG/Rij	ФНП, кров (пг/мл)	6,31±2,00 ** (n=12)	2,47±0,89 (n=13)	1,84±0,94 (n=12)
	ФНП, мозок (пг/мг)	63,8±2,6 (n=11)	78,7±8,4 * (n=11)	67,3±3,2 (n=12)
	ІЛ-1, кров (пг/мл)	1,59±0,78 (n=12)	2,58±0,74 (n=12)	1,04±0,53 (n=12)
	ІЛ-1, мозок (пг/мг)	27,0±2,8 (n=11)	35,2±3,8 (n=11)	25,8±1,7 (n=11)
АСІ	ФНП, кров (пг/мл)	0,61±0,34 (n=12)	3,53±1,50 (n=12)	1,27±0,53 (n=13)
	ФНП, мозок (пг/мг)	70,3±3,3 (n=11)	62,2±4,2 (n=11)	62,3±2,6 (n=11)
	ІЛ-1, кров (пг/мл)	1,79±0,78 (n=12)	1,96±1,07 (n=12)	1,54±0,73 (n=12)
	ІЛ-1, мозок (пг/мг)	30,9±2,8 (n=11)	31,7±2,7 (n=10)	29,2±1,8 (n=12)

Примітка: * - $P < 0,05$ та ** - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у щурів лінії АСІ відповідного віку (статистичний критерій двоваріантна АНОВА + Ньюман-Кулз).

Таким чином, підсумовуючи, ми довели 10-разове зростання концентрації ФНП в крові 2-місячних щурів з абсансною формою епілепсії, а також суттєве зростання вмісту цього цитокіну в мозку щурів віком в 4 місяці. Термін зростання концентрації ФНП в крові щурів лінії WAG/Rij (молоді щури, віком 2 місяці) передує терміну активації СХП. Проте, зростання вмісту

цього цитокіну в мозку більш зрілих щурів (віком 4 місяці) свідчить на користь можливого захистного впливу ФНП на генерацію СХП, що узгоджується з думкою [267] стосовно адаптаційної ролі цитокінів за умов хронічної судомної активності з їх можливою нейропротективною ефективністю.

Для перевірки залучення цитокінів у механізми розвитку хронічної ЕпА за умов моделі електрстимуляційног кіндлінгу мигдалика, ми провели наступні серії дослідів, в яких було застосовано екзогенне введення ФНП.

Поведінка кіндлінгових щурів після уведення їм ФНП (в/очер, 5,0 мкг/кг) в тесті «відкрите поле» характеризувалася тим, що щури перетнули $21,3 \pm 3,4$ квадратів, що було на 13,8 % менше відповідного показника в контрольній серії тварин (кіндлінгові щури за 60 хв до тестуючої електричної стимуляції мигдалика, яким в/очер вводили такий же самий об'єм фізіологічного розчину; $P > 0,05$; табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Вплив внутрішньоочеревинного введення ФНП (5,0 мкг/к) на поведінку кіндлінгових щурів в тесті “відкрите поле”

Досліджувані показники	Абсолютні величини у щурів, $M \pm m$	
	Щури із кіндлінгом мигдалика + уведення фізіологічного розчину, n=11	Щури із кіндлінгом мигдалика 23 год після уведення ФНП, n=9
Число пересічених квадратів	$24,7 \pm 2,9$	$21,3 \pm 3,4$
Число стійок на задніх кінцівках	$2,3 \pm 0,4$	$2,1 \pm 0,3$
Число заглядань в отвори в підлозі	$1,1 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,3$
Число епізодів грумінга	$4,1 \pm 0,7$	$3,6 \pm 0,5$
Число дефекацій	$2,9 \pm 0,4$	$2,7 \pm 0,6$

Примітка: статистичну вірогідність обчислювали із застосуванням статистичного критерію АНОВА з пост-хок тестом Ньюман-Кулза.

Кіндлінгові щури після введення ФНП на поверхні «відкритого поля» демонстрували в середньому $2,1 \pm 0,3$ стійок на задніх ногах та $1,3 \pm 0,3$ заглядань в отвори в підлозі. Отримані результати були на 8,7 % менше та на 18 % більше аналогічних результатів в контрольній серії спостережень (в обох випадках $P > 0,05$).

Число епізодів грумінга в кіндлінгових щурів після введення ФНП дорівнювало $3,6 \pm 0,5$, а число дефекацій - $2,7 \pm 0,6$, що не відрізнялося суттєво від таких показників в кіндлінгових щурів без уведення цитокіну (в обох випадках $P > 0,05$, табл. 3.5).

Судомні реакції в щурів, індуковані тестуючою електричною стимуляцією мигдалика через 24 год після уведення ФНП мали характер генералізованих клоніко-тонічних нападів, розвитком післяприступної депресії та вегетативних розладів (табл. 3.6).

Таблиця 3.6.

Вплив внутрішньоочеревинного введення ФНП (5,0 мкг/к) на судомні реакції щурів з електричним кіндлінгом мигдалика

Пептиди	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем	Тривалість кіндлінг-індукованої епілептиформної активності, $M \pm m$, сек.
	0	1	2	3	4	5		
Кіндлінг, n=11	0	0	0	0	7	4	-	$47,3 \pm 5,3$
Кіндлінг + ФНП, n=9	0	0	0	0	2#	7#	<0,05	$92,5 \pm 10,5^{***}$

Примітки: вірогідні розбіжності інтенсивності судом обраховували за допомогою статистичного критерію Крушкар-Валліс.

- $P < 0,05$ - вірогідні розбіжності досліджуваного показника порівняно з такими даними в кіндлінгових щурів без уведення ФНП (статистичний критерій Крушкар-Валліс).

*** - $P < 0,001$ - вірогідні розбіжності досліджуваного показника порівняно з такими даними в кіндлінгових щурів без уведення ФНП (статистичний критерій АНОВА).

У 7 із 9 щурів цієї групи генералізовані клоніко-тонічні напади відзначалися повторно.

Дослідження судомної активності в кіндлінгових щурів виявило, що генералізовані клоніко-тонічні напади реєструються також у всіх щурів, причому лише у 4 із 11 щурів вони відзначалися повторно. Отже, середня інтенсивність судом в кіндлінгових щурів після уведення ним ФНП була суттєво більше, ніж такий показник в кіндлінгових щурів, яким цей цитокін не вводили ($P < 0,05$). Число щурів з повторними генералізованими клоніко-тонічними нападами в групі кіндлінгових щурів після уведення ФНП було суттєво більше, ніж такий показник в групі кіндлінгових щурів без застосування ФНП ($P < 0,05$).

Середня тривалість кіндлінг-спричиненої епілептиформної активності на ЕЕГ кіндлінгових щурів дорівнювала $47,3 \pm 5,3$ сек. Цей показник у кіндлінгових щурів після уведення ФНП був удвічі більшим ($P < 0,001$, табл. 3.6). При реєстрації ЕЕГ в ній переважали післярозряди, які генерувалися в мозку кіндлінгових щурів до (Рис. 3.6, фрагмент А) та за умов введення ФНП (Рис. 3.6, фрагмент Б).

Амплітудно-частотний аналіз електричних процесів у досліджуваних структурах мозку (лівий мигдалик, права лобова кора, ліва окципітальна кора, правий вентральний гіпокамп) в кіндлінгових щурів до та після введення ФНП довів, що до застосування цитокіну на ЕЕГ кіндлінгових щурів переважали хвилі δ -ритму. Після введення цитокіну активність хвиль δ -діапазону зросла в лівому мигдалику на 4,7 % ($P > 0,05$), у правій лобовій корі на 10,8 % ($P > 0,05$), у лівій окципітальній корі на 7 % ($P > 0,05$) та лише у правому вентральному гіпокампі вона зменшилася на 22,2 % порівняно з такими показниками потужності у кіндлінгових щурів до введення ФНП ($P < 0,05$; табл. 3.7).

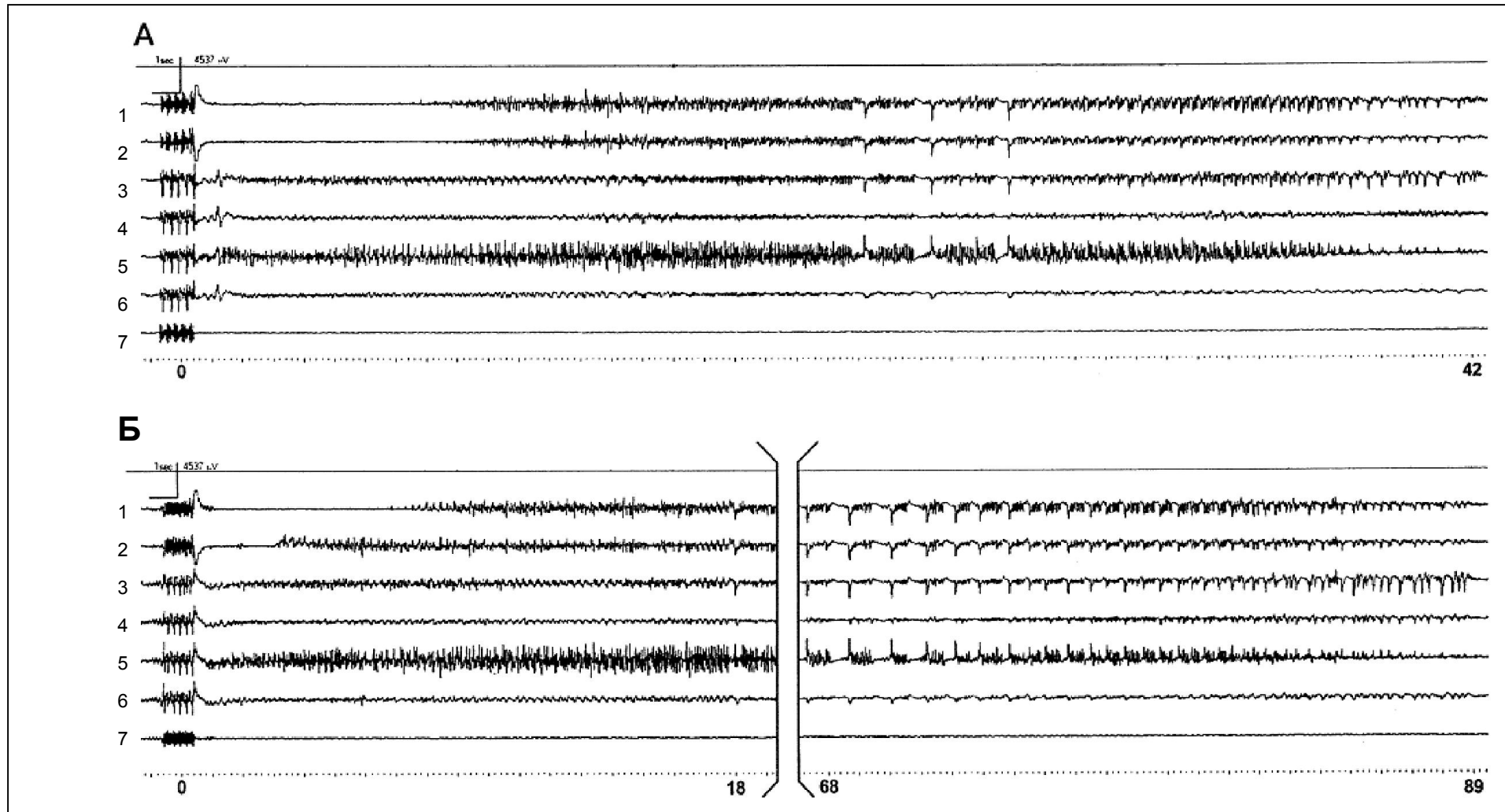


Рис. 3.6. Зразок ЕЕГ щура №4 з електричним кіндлінгом мигдалика після тестуючої електричної стимуляції (фрагмент А) та щура №7 з амігдалярним кіндлінгом після в/очер уведення ФНП (5,0 мкг/кг; (фрагмент Б).

Позначення: 1-7, відповідно, ліва окципітальна кора, ліва лобова кора, лівий мигдалик, правий мигдалик, правий гіпокамп, біполярне відведення (лівий мигдалик-правий гіпокамп), біполярне відведення (окципітальна-лобова кора).

На фрагменті Б вирізаний участок ЕЕГ з постійною 50-с ЕпА, її середня потужність була така, що й за 3 с до цього. Відмітка часу - 1 с. Калібровка: 4537 мкВ/см.

Таблиця 3.7.

Вплив внутрішньоочеревинного введення ФНП (5,0 мкг/к) на потужність електричних хвиль різних спектрів в ЕЕГ кіндлінгових щурів

Групи тварин	Потужність ритмів ЕЕГ, $M \pm m, \mu V^2$			
	Мигдалик (лівий)	Лобова кора (права)	Окципіталь- на кора (ліва)	Вентральний гіпокамп (правий)
δ -ритм				
Кіндлінг, n=7	62,3 \pm 2,6	58,2 \pm 4,1	61,0 \pm 4,2	57,3 \pm 3,1
Кіндлінг + ФНП, n=8	65,2 \pm 3,7	64,5 \pm 5,4	65,3 \pm 6,9	44,6 \pm 2,2*
θ -ритм				
Кіндлінг, n=7	31,4 \pm 2,4	21,5 \pm 1,8	34,0 \pm 4,4	27,5 \pm 1,8
Кіндлінг + ФНП, n=8	43,7 \pm 3,3*	48,7 \pm 5,8 **	55,3 \pm 6,4*	31,4 \pm 3,5
α -ритм				
Кіндлінг, n=7	14,7 \pm 1,2	11,3 \pm 0,8	16,4 \pm 1,6	13,9 \pm 1,2
Кіндлінг + ФНП, n=8	21,5 \pm 2,1*	24,6 \pm 2,5 **	25,6 \pm 3,1*	17,8 \pm 2,2
β -ритм				
Кіндлінг, n=7	24,6 \pm 2,7	21,7 \pm 2,3	28,5 \pm 3,2	24,1 \pm 3,2
Кіндлінг + ФНП, n=8	31,9 \pm 4,7	33,6 \pm 4,2*	34,1 \pm 3,6	32,7 \pm 3,9
γ -ритм				
Кіндлінг, n=7	8,8 \pm 0,7	9,3 \pm 0,8	9,9 \pm 0,6	10,9 \pm 0,8
Кіндлінг + ФНП, n=8	14,5 \pm 1,4*	10,7 \pm 1,0	11,2 \pm 1,1	16,0 \pm 1,3*

Примітка: * - $P < 0,05$ та ** - $P < 0,01$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими даними в кіндлінгових щурів без уведення ФНП (статистичний критерій АНОВА + Ньюман-Куллз).

У мигдалику кіндлінгових щурів після уведення ФНП на 39,2 % зросла активність електричних потенціалів θ -діапазону ($P < 0,05$). Величина досліджуваного показника після уведення ФНП суттєво збільшилася в лобовій корі (в 2,3 рази, $P < 0,01$) та окципітальній корі (в 1,6 рази, $P < 0,05$). Потужність

хвиль θ -діапазону у вентральному гіпокампі збільшилася 14,2 %, що не мало вірогідної розбіжності порівняно з такими показниками в кіндлінгових щурів до уведення цитокіну ($P > 0,05$; табл. 3.7).

Аналогічним чином у всіх досліджуваних утвореннях після уведення ФНП відзначалося посилення потужності хвиль α -ритму. Величина досліджуваного показника при цьому значно зросла в мигдалику (в 1,5 рази, $P < 0,05$), лобовій (в 2,2 рази, $P < 0,01$) та окципітальній корі (в 1,6 рази, $P < 0,05$). Потужність хвиль α -діапазону у вентральному гіпокампі збільшилася 28,1 %, що не мало вірогідної розбіжності порівняно з такими показниками в кіндлінгових щурів до уведення цитокіну ($P > 0,05$; табл. 3.7).

У лобовій корі кіндлінгових щурів після уведення ФНП на 54,8 % зросла активність електричних потенціалів β -діапазону ($P < 0,05$). Величина досліджуваного показника після уведення ФНП в решті досліджуваних утворень мозку порівняно з такими показниками в кіндлінгових щурів до уведення цитокіну змінилася незначним чином – від 19,6 % (в окципітальній корі, $P > 0,05$) до 35,7 % (у вентральному гіпокампі, $P > 0,05$).

Амплітудно-частотний аналіз змін потужності хвиль γ -діапазону виявив найбільше їх зростання після уведення ФНП у мигдалику та вентральному гіпокампі – на 64,7 % та 46,8 %, відповідно (в обох випадках $P < 0,05$, табл. 3.7).

Підсумовуючи, зазначимо, що після введення ФНП суттєво змінилась амплітудно-частотна характеристика електричної активності досліджуваних утворень мозку (Рис. 3.7). Так, в гіпокампі щурів суттєво (на 22,2 %, $P < 0,05$) зменшилась активність хвиль δ -діапазону.

Потужність θ -активності в гіпокампа за цих умов не зазнала змін ($P > 0,05$), проте в решті досліджуваних утвореннях мозку її амплітуда зросла, найбільшим чином (в 2,3 рази, $P < 0,01$) - в лобовій корі (табл. 3.7).

Введення ФНП спричинило суттєве зростання потужності α -активності та β - активності, найбільша вираженість якої реєструвалася також в лобові корі (в 2,2 рази, $P < 0,01$ та в 1,5 разів, $P < 0,05$, відповідно). Активність хвиль γ -діапазону

після введення ФНП зазнала максимального зростання в мигдалику та вентральному гіпокампі ($P < 0,05$).

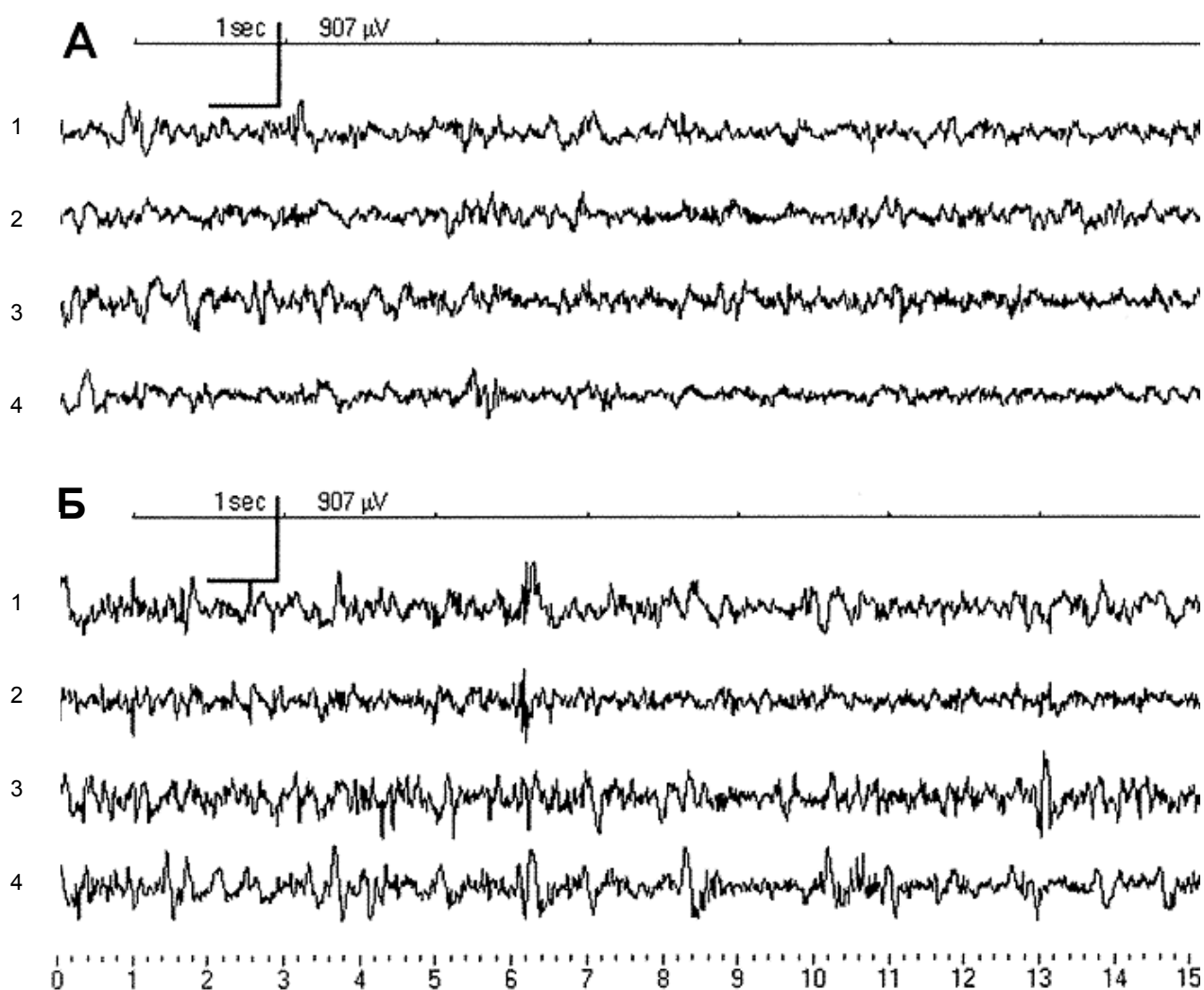


Рис. 3.7. Зразок ЕЕГ щура №1 з електричним кіндлінгом мигдалика до (фрагмент А) та після в/очер уведення ФНП (5,0 мкг/кг; (фрагмент Б).

Позначення: 1-4, відповідно, ліва окципітальна кора, ліва лобова кора, лівий мигдалик, правий гіпокамп.

Відмітка часу - 1 с. Калібровка: 907 мкВ/см.

При дослідженні динаміки концентрації ФНП в крові та тканині мозку кіндлінгових щурів до та після екзогенного уведення досліджуваного цитокіну виявилось його суттєве зростання в крові з $1,9 \pm 1,5$ пг/мл до $12,7 \pm 3,8$ пг/мл (в 6,3 рази, $P < 0,01$, Рис. 3.8, фрагмент А). Введення ФНП супроводжується значним (в 1,9 разів, $P < 0,01$) зростанням його вмісту в тканині мозку з $56,8 \pm 6,0$ пг/мг до $109,2 \pm 6,0$ пг/мг (Рис. 3.8, фрагмент Б).

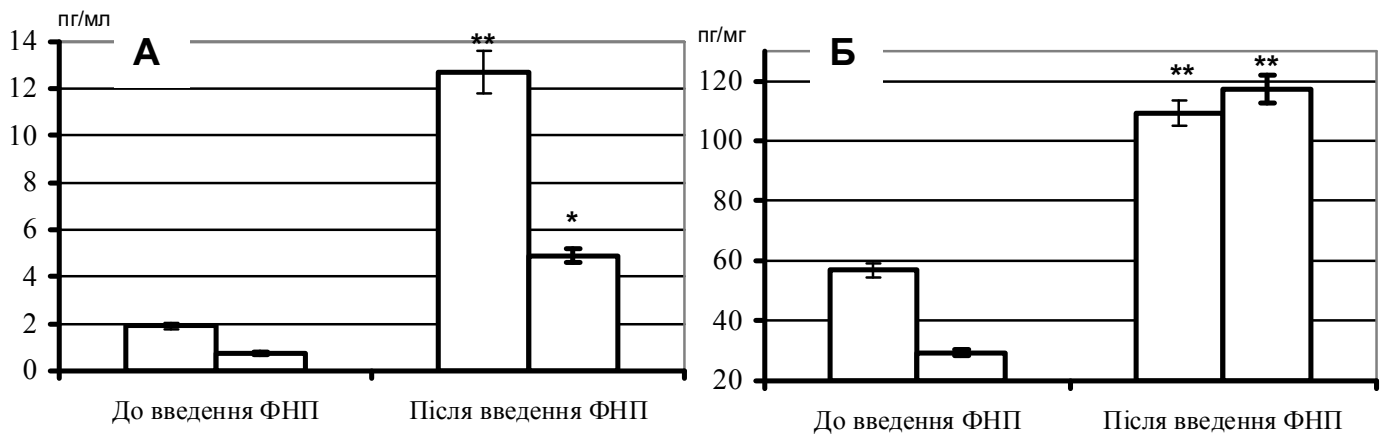


Рис. 3.8. Вплив в/очер введення ФНП (5,0 мкг/кг) на вміст ФНП та ІЛ-1 в крові (фрагмент А) та тканині мозку (фрагмент Б) кіндлінгових щурів.

Примітка: * - $P < 0,05$ та ** - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у кіндлінгових щурів до введення ФНП (статистичний критерій АНОВА + Ньюман-Кулз).

Аналогічну динаміку змін концентрації ІЛ-1 в крові та мозку кіндлінгових щурів ми виявили за досліджуваних умов. Так, після введення ФНП вміст ІЛ-1 в крові кіндлінгових щурів збільшився з $0,8 \pm 0,1$ пг/мл до $4,9 \pm 0,8$ пг/мл (в 6,5 разів, $P < 0,05$, Рис. 3.8, фрагмент А). Введення ФНП супроводжується значним (в 4 рази, $P < 0,01$) зростанням його вмісту в тканині мозку з $29,3 \pm 4,2$ пг/мг до $117,3 \pm 11,7$ пг/мг (Рис. 3.8, фрагмент Б).

Таким чином, введення ФНП щурам із електричним кіндлінгом мигдалика спричиняє розвиток щонайменше трьох ефектів: зростання інтенсивності поведінкових судомних реакцій, підвищення концентрації ФНП в крові та мозку щурів, а також модуляція частотно-амплітудного спектру фонові електричної активності в мозку тварин. Отже, можливо говорити про просудомний вплив досліджуваного цитокіну за умов кіндлінг-спричиненої хронічної судомної активності. Можливо припускати вплив ФНП на центральні механізми епілептогенезу, а також говорити про взаємні просудомні підсилюючі впливи ФНП та ІЛ-1 за умов кіндлінг-індукованої хронічної судомної активності. При цьому варто звернути увагу на зростання вмісту ФНП в крові та мозку щурів

лінії WAG/Rij з генетично детермінованою формою епілепсії, що також підтверджує залучення системи цитокінів до опосередкування розвитку та підтримання сталих форм хронічної судомної активності.

Введення ФНП змінювало також патерн генерації ЕЕГ кіндлінгових тварин, що дозволяє припустити наступне. Найбільшим чином зростала потужність хвиль α -діапазону у всіх досліджуваних утвореннях, при цьому потужність θ -ритму зростала у всіх досліджуваних утвореннях за виключенням гіпокампу. Активність хвиль β - та γ -діапазонів була менше виражена, а потужність δ -активності в гіпокампі знизилася. Підсилення активності хвиль високої частоти можливо пояснити прямим впливом ФНП на генерацію ЕЕГ, оскільки процеси десинхронізації ЕЕГ визначаються активацією висхідної ретикулярної формації мозку за умов зменшення судомної чутливості. Вивявлені антагоністичні ефекти редукції δ -активності та підсилення α -активності під впливом ФНП можливо пояснити їхнім загальним взаємним антагонізмом, який, ймовірно, послаблюється під непрямим впливом цитокіну на процесу біоелектрогенезу. Не слід також виключати прямих впливів ФНП на пейсмейкери різних типів активності. Якщо до цього додати також інтенсифікацію вивільнення ФНП та ІЛ-1 за досліджуваних, можливо припустити наявність ФНП-сприченного самопідтримуючого механізму епілептогенезу за умов кіндлінг-індукованої хронічної судомної активності.

3. 5. Формування фармакологічного кіндлінгу у щурів в постнатальному періоді

Завданням цієї частини досліджень стало вивчення особливостей формування хронічної ЕпА у щурів в ранньому постнатальному віці. Додатковим завданням дослідів було порівняльне дослідження патофізіологічних механізмів розвитку кіндлінгу у дорослих щурів. З цією метою 20-денним щурятм одноразово щодня вводили пікротоксин у підпороговій (в діапазоні від 0,8 до 0,9 мг/кг) дозі протягом 24 діб.

Помітних судомних реакцій у 20 денних щурів після перших 2 ін'єкцій пікротоксину не відмічено. Після 3 введення пікротоксину у 15 % тварин спостерігалось, в епізодах, завмирання, слабкий тремор голови і короткочасні здригання м'язів морди.

Після 4 введення конвульсанту в 11 з 12 щурів реєструвалися міоклонічні здригання м'язів морди, які потім, упродовж подальших 6-8 хвилин, трансформувалися у 8 щурів в міоклонічні скорочення м'язів передніх кінцівок. Середня інтенсивність судомних реакцій за таких умов становила $1,0 \pm 0,2$ бала (Рис. 3.9).

Після 6 введення пікротоксину в усіх щурів віком 20 днів розвивалися клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок.

Після 9 введення конвульсанту у 100 % тварин відбуваються численні міоклонічні скорочення м'язів тулуба і кінцівок. Середня інтенсивність судомних реакцій за таких умов дорівнювала $2,8 \pm 0,5$ бала, що в 2 рази перевищувало аналогічні показники на 9 добу в процесі відтворення кіндлінгу у дорослих щурів ($P < 0,05$; Рис. 3.9).

Надалі вираженість судомних реакцій також продовжувала наростати у відповідь на повторні введення пікротоксину, що спонукало нас зменшити дозу конвульсанту, що вводився. Прогресивне формування хронічної ЕпА у відповідь на 12 введення пікротоксину, незрілим щурам, виражалося на ЕЕГ загальним посиленням потужності біоелектричної активності у всіх досліджуваних структурах мозку. Так, зокрема, після 12 застосування епілептогену інтенсивність судом у 20 денних щурів становила $3,1 \pm 0,4$ бали, що було на 71 % більше порівняно з відповідними контрольними показниками ($P < 0,05$; Рис. 3.9).

Після 15 ін'єкції епілептогену у 85 % тварин реєструвалися генералізовані клоніко-тонічні напади з падінням тварин на бік, втратою рівноваги, вегетативними розладами і післянападовою депресією ($P < 0,01$; Рис. 3.9).

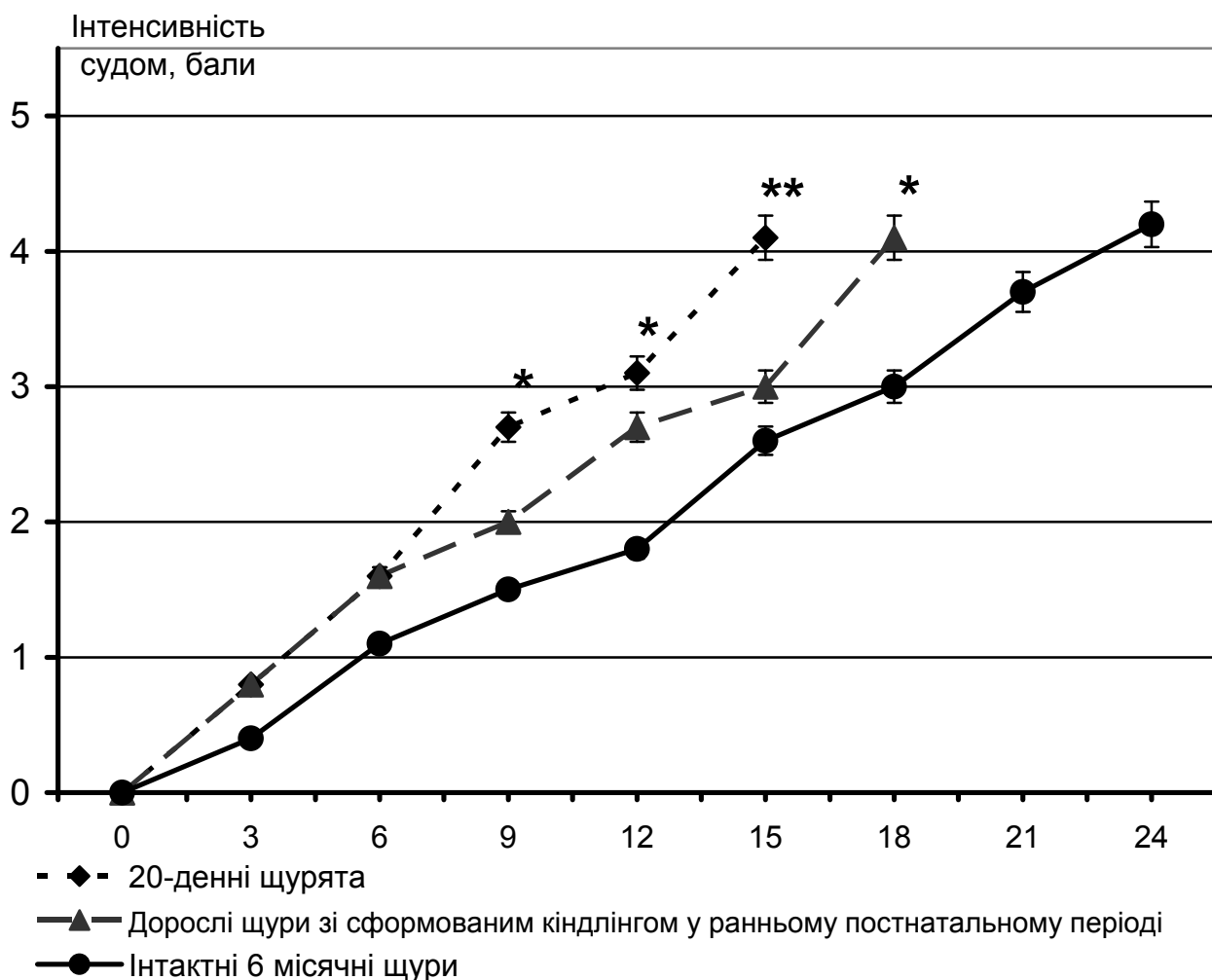


Рис. 3.12. Розвиток пікротоксин-індукованого кіндлінгу в щурів різного віку за різних умов його відтворення

Позначення: за віссю абсцис - 0-24 - дні введення пікротоксину.

Примітка: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у інтактних 6 місячних щурів (АНОВА критерій).

На момент завершення пікротоксिनного кіндлінгу середня інтенсивність судом у 20 денних молодих дорівнювала $4,1 \pm 0,4$ бала.

Перші 2-3 ін'єкції конвульсанту в підпороговій дозі (0,8-0,9 мг/кг) 6 місячним щурам не призводили до розвитку яких-небудь судомних реакцій. Після 4 введення пікротоксину у 10 щурів з 14 фіксувалися епізоди завмирання і слабого тремора голови, що супроводжуються міоклонічним подригуванням м'язів морди. Потім ще у 6 щурів реєстрували епізоди міоклонічних здригань

м'язів передніх кінцівок. Середня інтенсивність судомних реакцій за таких умов становила $0,5 \pm 0,1$ бала.

В усіх щурів віком в 6 місяців після 6 введення епілептогену було зареєстровано міоклонічні скорочення м'язів морди, які через 3-6 хв трансформувалися в клонічні здригання м'язів передніх кінцівок.

Після 9-го уведення конвульсанту у тварин відзначалися міоклонічні скорочення м'язів тулуба і передніх кінцівок. Середня інтенсивність судомних реакцій в цей період дорівнювала $1,5 \pm 0,3$ бала. В подальшому, при наступних введеннях підпорогової дози пікротоксину в щурів наростала вираженість судомних реакцій (Рис. 3.9).

Після 18 тестуючого введення конвульсанту в 11 щурів із 14 спостерігалися клонічні скорочення м'язів тулуба, передніх і задніх кінцівок, підняття на задні лапи («поза кенгуру»). За таких умов середня інтенсивність судом дорівнювала $3,2 \pm 0,4$ бала

У відповідь на 21 введення пікротоксину в 7 щурів із 14 реєстрували розвиток генералізованих клоніко-тонічних нападів з падінням тварин на бік, втратою рівноваги, вегетативними розладами і післянападовою депресією .

Після 24 ін'єкції конвульсанту генералізовані клоніко-тонічні судомні напади реєструвалися у 12 щурів із 14. Середня інтенсивність судомних реакцій в дорослих щурів в цей терміновий інтервал становила $4,2 \pm 0,4$ бали (Рис. 3.9).

В наступному було досліджено патофізіологічні механізми хронічної ЕпА у щурів в ранньому постнатальному періоді. Для цього в порівняльному аспекті досліджували відтворення пікротоксин-викликаного кіндлінгу у дорослих (шестимісячних) інтактних щурів ($n=14$), а також у дорослих щурів, в яких, починаючи з 20 денного віку був сформований пікротоксиновий кіндлінг ($n=10$).

У відповідь на перші 2-3 ін'єкції пікротоксину ($0,8-0,9$ мг/кг), який було застосовано інтактним 6 місячним щурам, не було відзначено розвитку судомних реакцій. У відповідь на 4 введення конвульсанту в 10 щурів

реєстрували слабкий тремор морди та міоклонічні здригання м'язів морди. Згодом у 6 щурів відзначали міоклонічні скорочення м'язів передніх кінцівок. За таких умов середня інтенсивність судомних реакцій дорівнювала $0,4 \pm 0,1$ бала (Рис. 3.9).

Після 6 застосування пікротоксину в 14 щурів реєстрували міоклонічні скорочення м'язів морди, які через 3-6 хв трансформувалися в клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок.

Після 9 введення епілептогену щури демонстрували міоклонічні скорочення м'язів тулуба і передніх кінцівок. При цьому середня інтенсивність судомних реакцій дорівнювала $1,5 \pm 0,3$ бали. Вираженість судомних реакцій наростала у відповідь на повторні введення пікротоксину в підпороговій дозі, унаслідок чого ми дещо знизили дози уводжувального конвульсанту.

Після 18-ї ін'єкції пікротоксину переважна більшість щурів демонстрували клонічні скорочення м'язів тулуба, передніх і задніх кінцівок, підняття на задні лапи («поза кенгуру»), що відповідало середній інтенсивності судом в $3,2 \pm 0,4$ бали.

Після 21 введення пікротоксину в 7 щурів реєстрували розвиток генералізованих клоніко-тонічних нападів з падінням тварин на бік, втратою рівноваги, вегетативними розладами та післянападовою депресією. Внаслідок наступних застосувань епілептогену було відзначено збільшення числа щурів з генералізованими клоніко-тонічними нападами. У відповідь на 24 введення пікротоксину генералізовані клоніко-тонічні напади реєструвалися у 12 щурів із 14 в групі. Середня інтенсивність судом у дорослих щурів по завершенню пікротоксинового кіндлінгу дорівнювала $4,2 \pm 0,4$ бали (Рис. 3.9).

В щурів останньої дослідної групи (6-місячні щури, в яких у ранньому постнатальному періоді вже був сформований пікротоксиновий кіндлінгу) після перших 2 ін'єкцій пікротоксину реєстрували тремор голови і короткочасні епізоди завмирання. Після 3 введення пікротоксину у 2 щурів відмічалися тремор голови і короткочасні здригання м'язів морди.

У відповідь на 4 застосування конвульсанту в 10 щурів реєструвалися міоклонічні здригання м'язів морди, які протягом наступних 5-7 хв трансформувалися у 7 щурів в міоклонічні скорочення м'язів передніх кінцівок. Середня інтенсивність судомних реакцій після 4 введення епілептогену дорівнювала $1,1 \pm 0,3$ бали.

Після 6 введення епілептогену в усіх щурів розвивалися міоклонічні здригання м'язів голови, а також клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок. Починаючи з 9 ін'єкції пікротоксину, у 100 % тварин відбуваються численні міоклонічні скорочення м'язів тулуба і кінцівок. Середня інтенсивність судомних реакцій становила $2,0 \pm 0,4$ бали.

В наступному у відповідь на введення пікротоксину вираженість судомних реакцій зростала. Так, після 12 введення конвульсанту середня інтенсивність судом у дорослих щурів дослідної групи дорівнювала $2,8 \pm 0,4$ бали, що було співставно з відповідними показниками в інтактних дорослих щурів ($P > 0,05$). У 90 % тварин після 18 введення пікротоксину реєструвалися генералізованні клоніко-тонічні напади з падінням тварин на бік, втратою рівноваги, вегетативними розладами і післянападовою депресією. Середня інтенсивність судом при цьому дорівнювала $4,1 \pm 0,3$ бала (Рис. 3.9).

Отже, результати, які було одержано, свідчать про більш раннє та прогресивне формування пікротоксинового кіндлінгу в молодих щурів, що, за даними наших колег, мало також ЕЕГ-кореляції у вигляді посилення потужності і вираженості епілептиформної картини в областях вентрального гіпокампа, а також лобової і тім'яної кори великих півкуль.

Наші дані довели, що повторні введення пікротоксину в підпороговій дозі дорослим щурам призводять до виникнення і прогресивного наростання інтенсивності судомних проявів від окремих міоклонічних здригань до генералізованих клоніко-тонічних судомних нападів. У дорослих щурів пікротоксин-індукований кіндлінг формується протягом 24 тестуючих введень конвульсанту. Проте, у 20 денних щуренят повторні введення конвульсанту в підпороговій дозі сприяють формуванню фармакологічного кіндлінгу вже

після 15 застосування пікротоксину. Таким чином, йдеться про більш швидкий розвиток пікротоксинового кіндлінгу у щурів в ранньому постнатальному періоді.

Отримані результати співпадають з результатами [256], які показали, що саме другий і третій тижні розвитку є періодом підвищеної чутливості до дії судомних чинників. Враховуючи механізм судомної дії пікротоксину, який пов'язаний з компрометацією ГАМК-ергічного гальмування, наші результати підтверджують попередньо висловлене припущення про недосконалість гальмівних механізмів ГАМК-опосередкованого гальмування в недиференційованому мозку.

Доведено також, що у щурів, у яких в ранньому постнатальному періоді вже був сформований пікротоксиновий кіндлінг, в дорослому віці відмічається прискорене його формування. Враховуючи тимчасові рамки експерименту, дослідна група щурів знаходиться в тому тимчасовому інтервалі, протягом якого після формування кіндлінг-викликаного судомної активності відмічається стан підвищеної судомної готовності до дії епілептогенних стимулів. По-друге, нам вдалося прослідкувати і показати, що пошкоджуючі/судомні впливи на недиференційований мозок щурів, в ранньому постнатальному періоді сприяють, незважаючи на тривалі процеси диференціювання мозку і механізми пластичності, утворенню стійкого патологічного стану, результатом якого є полегшене/прискорене формування пікротоксинового кіндлінгу в більш пізньому віці. І, по-третє, виходячи з методологічної побудови дослідів, відтворення пікротоксин-викликаного кіндлінгу у щурів, у яких він вже був сформований раніше, приходиться на 2-3-тижневий інтервал, тобто на стан посткіндлінгу або рекіндлінгу, що характеризується більш вираженою стійкістю до дії судомних чинників [72, 150, 409].

Ми вважаємо, що також співпадає з думкою деяких авторів, в цьому може полягати аспект «резистентності» судомної активності до лікування. Іншими словами, епілептогенне пошкодження мозку в ранньому постнатальному періоді є одним з чинників, що сприяють формуванню

підвищеної судомної готовності такого мозку в майбутньому до дії просудомних чинників.

3. 6. Патофізіологічні механізми післятравматичної судомної активності

Інтересним є також дослідження характеру пілокарпін-спричинених судомних реакцій, відтворених на інших моделях ЕпА. У цьому аспекті цікавою є модель післятравматичної судомної активності, оскільки часто черепно-мозкова травма (ЧМТ) є ініціюючим механізмом порушення регуляторних процесів функціонування головного мозку і ЦНС. Показано, що після ЧМТ в мозку розвиваються незворотні дистрофічні процеси, що виявляються морфологічно у вигляді ділянок мікронекрозу і мають важливе значення в генезі нейрологічних й нейропсихологічних симптомокомплексів, які виникають у різні тимчасові інтервали посттравматичного періоду [410, 411].

Одним з важких ускладнень ЧМТ є формування післятравматичного судомного синдрому [380, 412-414]. З огляду на це, становило інтерес дослідити особливості судомних реакцій у щурів у післятравматичному періоді у випадку їхньої індукції пілокарпіном, а також іншими конвульсантами з іншим механізмом реалізації судомної дії. Дослідження проводилися на 30-денних і 2-місячних щурах з метою виявлення онтогенетичних особливостей судомних реакцій.

Пілокарпін-спричинені судомні реакції в інтактних щурах характеризувалися розвитком у 2 щурів з 10 клонічних скорочень м'язів тулуба і передніх кінцівок, у 3 - клонічних скорочень м'язів тулубу, а також передніх і задніх кінцівок. В інших 5 щурів відзначалися генералізовані клоніко-тонічні судомні приступи, причому у 1 - повторні (табл. 3.8).

Пілокарпін-спричинені судомні реакції в молодих щурів із ЧМТ виявлялися в 2 щурів з 8 клонічними скороченнями м'язів тулубу, передніх і задніх кінцівок. В інших 6 тварин відзначалися генералізовані клоніко-тонічні судомні приступи, причому, у 3 щурів – повторні. Середня інтенсивність

судомних реакцій в даній групі щурят не відрізнялася від такої в щурят у контрольних спостереженнях. Латентний період перших пілокарпін-індукованих судомних реакцій в щурят із ЧМТ становив $12,1 \pm 1,9$ хв і не розрізнявся з аналогічним показником у щурят контрольної групи ($P > 0,05$; табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Виразність гострих генералізованих судом, індукованих за допомогою пілокарпіну в щурів різного віку після нанесення ЧМТ

Дослідні групи	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем	Латентний період судом, $M \pm m$, хв.
	0	1	2	3	4	5		
Пілокарпін (в/очер) 30-денні щури + фізіол. розчин NaCl	0	0	2	3	4	1	-	$16,0 \pm 2,4$
Пілокарпін (в/очер) 30-денні щури + ЧМТ	0	0	0	2	3	3	$>0,05$	$12,1 \pm 1,9$
Пілокарпін (в/очер) дорослі щури + фізіол. розчин NaCl	0	0	1	3	6	0	-	$18,6 \pm 2,5$
Пілокарпін (в/очер) дорослі щури + ЧМТ	0	0	0	0	7	3	$=0,010$	$11,6 \pm 2,0^*$

Примітки: * - $P < 0,05$ – вірогідні розбіжності порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях (АНОВА+Ньюман-Кулз тест).

Вірогідність показників інтенсивності судорог розраховувалися за допомогою критерію Крушквал-Валіса.

Пілокарпін-спричинені судомні реакції в інтактних 2-місячних щурів характеризувалися розвитком у 3 тварин з 10 клонічних скорочень м'язів тулубу, передніх й задніх кінцівок. У 6 щурів розвивалися генералізовані клоніко-тонічні судорожні приступи.

Латентний період перших пілокарпін-індукованих судомних реакцій у

дорослих щурів із ЧМТ був на 38 % коротший за аналогічного показника в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$). У цих умовах пілокарпін-спричинені судомні реакції у всіх щурів виявлялися у вигляді генералізованих клоніко-тонічних судорожних приступів, причому у 6 щурів – повторно. Середня інтенсивність судомних реакцій була більш вираженою порівняно з таким показником у щурів контрольної групи ($P < 0,05$; табл. 3.8).

Перші пікротоксин-спричинені судомні реакції у щурят контрольної групи відзначалися в середньому через $8,2 \pm 0,5$ хв після введення конвульсанту. Судомні реакції у тварин цієї групи характеризувалися розвитком клонічних судом передніх кінцівок у 1 тварини з 10, клонічних судорог усього тулуба, передніх й задніх кінцівок у 5, а також генералізованих судорожних приступів у 4 тварин. Після введення пікротоксину щурят із ЧМТ перші судомні прояви виникали через $7,6 \pm 0,6$ хв, що не розрізнялося значно з аналогічними даними в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$; табл. 3.9).

Судоми в 4 щурят цієї групи мали характер клонічних скорочень м'язів тулубу, передніх й задніх кінцівок. Ще в 4 тварин судороги виявлялися у вигляді генералізованих клоніко-тонічних реакцій. При цьому середня інтенсивність судомних реакцій не розрізнялася з відповідним показником у контролі (табл. 3.9).

Судомні пікротоксин-спричинені реакції в дорослих 2-місячних щурів мали характер клонічних скорочень тулубу, передніх й задніх кінцівок у 1 тварини з 10, а також генералізованих судорожних приступів у 8 тварин. Після введення пікротоксину 2-місячним тваринам із ЧМТ перші судомні прояви виникли в середньому через $9,8 \pm 1,8$ хв, що було на 40 % менше стосовно аналогічних результатів у контрольних спостереженнях ($P < 0,05$). Судоми у всіх щурів цієї групи виявлялися у вигляді генералізованих клоніко-тонічних реакцій, причому в 6 тварин генералізовані приступи реєструвалися повторно. Середня інтенсивність судомних реакцій перевищувала аналогічний контрольний показник ($P < 0,05$; табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Виразність гострих генералізованих судом, індукованих за допомогою пікротоксину в щурів різного віку після нанесення ЧМТ

Дослідні групи	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем	Латентний період судом, M±m, хв.
	0	1	2	3	4	5		
Пікротоксин (в/очер) 30-денні щури + фізіол. розчин NaCl	0	0	1	5	4	0	-	8,2±0,5
Пікротоксин (в/очер) 30-денні щури + ЧМТ	0	0	0	4	4	0	>0,05	7,6±0,6
Пікротоксин (в/очер) дорослі щури + фізіол. розчин NaCl	0	0	0	2	6	2	-	16,3±2,4
Пікротоксин (в/очер) дорослі щури + ЧМТ	0	0	0	0	4	6	<0,05	9,8±1,8*

Примітки: * - P<0,05 – вірогідні розбіжності порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях (АНОВА+Ньюман-Кулз тест).

Вірогідність показників інтенсивності судом розраховувалися за допомогою критерію Крушквал-Валіса.

Перші каїнат-спричинені судомні реакції в 30-денних щурят контрольної групи розвивалися в середньому через 7,6±0,7 хв. Судомні реакції у тварин цієї групи характеризувалися розвитком міофасціальних здригань у 4 щурів, клонічних судом тулубу й передніх кінцівок у 4 тварин, клонічних судом усього тулубу, передніх й задніх кінцівок у 1, а також генералізованого судорожного випадку в 1 тварини. При введенні КК 30-денним щурят, яким попередньо нанесли ЧМТ, латентний період перших судом був на 35 % менше відповідного показника в контрольній серії експериментів (P<0,05; табл. 3.10). У 5 з 7 тварин цієї групи судоми мали генералізований характер, ще в 1 тварини клоніко-тонічні судомні випадки реєструвалися повторно.

Судомні каїнат-спричинені реакції в дорослих інтактних щурів мали характер клонічних судом тулубу, передніх й задніх кінцівок у 2 щурів з 10, а також генералізованих судомних приступів у 8 тварин, причому в 3 - повторно. Після введення КК дорослим щурам із ЧМТ перші судомні прояви виникали в середньому через $4,4 \pm 0,5$ хв; латентний період перших судом був у 2,1 рази коротшим стосовно такого показника в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$). Судоми у всіх щурів цієї групи виявлялися у вигляді генералізованих клоніко-тонічних реакцій, причому в 7 тварин генералізовані приступи реєструвалися повторно. Середня інтенсивність судомних реакцій перевищувала аналогічний контрольний показник ($P < 0,05$; табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Виразність гострих генералізованих судом, індукованих каїновою кислотою в щурів різного віку після нанесення ЧМТ

Дослідні групи	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем	Латентний період судом, $M \pm m$, хв.
	0	1	2	3	4	5		
Каїнова кислота (в/очер) 30-денні щури + фізіол. розчин NaCl	0	4	4	1	1	0	-	$7,6 \pm 0,7$
Каїнова кислота (в/очер) 30-денні щури + ЧМТ	0	0	0	2	4	1	$< 0,01$	$4,9 \pm 0,4^*$
Каїнова кислота (в/очер) дорослі щури + фізіол. розчин NaCl	0	0	0	2	5	3	-	$9,2 \pm 1,6$
Каїнова кислота (в/очер) дорослі щури + ЧМТ	0	0	0	0	3	7	$< 0,05$	$4,4 \pm 0,5^*$

Примітки: * - $P < 0,05$ – вірогідні розбіжності порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях (АНОВА+Ньюман-Кулз тест).

Вірогідність показників інтенсивності судом розраховувалися за допомогою критерію Крушквал-Валіса.

Таким чином, результати даної частини експериментальних досліджень свідчать про те, що травматичне ушкодження мозку в дорослих щурів сприяє зростанню інтенсивності судом, викликаних пілокарпіном. Подібного потяжчання пілокарпінових судом не реєструвалося в щуренят. Проведені порівняльні експериментальні спостереження в даній частині досліджень, в яких післятравматичну судомну активність провокували пікротоксином й КК – речовинами з різними механізмами реалізації конвульсивного ефекту – показали, що в щурів у зрілому віці ЧМТ сприяє істотному утяжелінню пікротоксин- й кайнат-спричинених судомних реакцій.

Відзначене, на наш погляд, може свідчити про викликаний травматичним ушкодженням головного мозку загальний дизрегуляторний ефект, який має, ймовірно, адаптаційний характер (з огляду на легкий ступінь ЧМТ у нашому експерименті) і виражається компрометацією активності холін- та ГАМК-ергічних нейромедіаторних систем і системи збуджуючих амінокислот.

Характер післятравматичних судомних реакцій у молодих щурів показав їх повну невідповідність таким станам у дорослому віці. Слід зазначити, що виразність післятравматичних гострих генералізованих судом була більшою у випадку їх індукції за допомогою КК, механізм судомної дії якої реалізується за допомогою активації системи збуджуючих амінокислот [381]. Можливо припустити, що в мозку молодих щурів функціональна активність системи збуджуючих амінокислот перевищує таку в ГАМК- і холінергічної систем, що певним чином відповідає результатам досліджень [415].

Отримані дані дозволяють висловити припущення про недосконалість системи ГАМК-ергічного гальмівного контролю, а також про недостатню активність холінергічної нейромедіаторної системи в мозку молодих щурів, що відповідає результатам досліджень, проведених співробітниками нашої кафедри [413, 416]. У той же період онтогенетичного розвитку активність системи збуджуючих амінокислот знаходиться на оптимальному рівні, та її активація сприяє формуванню судомних реакцій. Як видно, в основі розвитку судомних реакцій у ранньому постнатальному періоді і формування підвищеної судомної чутливості до дії епілептогенних факторів полягає

гіперактивація системи збуджуючих амінокислот, що потім «запускає» порочне коло патологічних процесів, які торкаються як механізмів нейромедіаторного забезпечення процесів збудливості, так і поміжсинаптичних взаємодій. Це є важливим у дослідженні патогенетичних механізмів збереження підвищеної судомної готовності в наступних вікових інтервалах часу і, що саме головне, формування фармакологічної резистентності до лікування епілепсії.

3. 7. Патофізіологічні механізми відстрочених спонтанних судом

Завданням цього розділу роботи стало відтворення моделі спонтанних судом у відстроченому періоді пілокарпін-індукованого ЕС, а також дослідження термінових і електрофізіологічних особливостей моделі хронічної епілепсії. В якості можливих критеріїв, що визначають розвиток спонтанних судомних нападів, були узяті тривалість ЕС, інтенсивність судом впродовж ЕС, кількість і типи епілептичних нападів протягом ЕС, тощо. Для цього було взято 50 щурів.

Впродовж перших 2-5 хв після застосування пілокарпіну у 46 щурів з 50 переважали вегетативні порушення, які проявлялися у вигляді гіперсалівації, підвищеного занепокоєння, посилення грумінга, обнюхування, посилення рухової активності, почастишання дихання, посилення дефекації (Рис 8.1). Вказані зміни поведінки обумовлені впливами пілокарпіну на центральну та периферичні відділи нервової системи. У решти 4 тварин відмічені вище вегетативні реакції були виражені незначно, з переважанням епізодів завмирання і посилення дефекації.

У всіх 50 щурів дослідної групи в середньому через 17-25 хв після введення пілокарпіну розвивалися судоми, які спочатку мали характер міоклонічних здригань і тремора м'язів морди, голови і передніх кінцівок. Впродовж подальших 15-20 хв в усіх тварин ці судоми трансформувалися у клонічні скорочення м'язів тулуба, передніх і задніх кінцівок, після чого в усіх тварин розвивалися генералізовані клоніко-тонічні напади.

Після 1-6 генералізованих нападів у тварин розвивався ЕС, який характеризувався розвитком гіперсалівації у 38 щурів. Окрім цього, в усіх щурів розвивалися інтенсивні тривалі судомні напади. Тривалість ЕС склала в середньому 70-90 хв.

В 2 % щурів тривалість пілокарпін-індукованого ЕС дорівнювала 13,7 хв. У 6 % щурів його тривалість не перевищувала 30 мін і склала в середньому $23,6 \pm 3,2$ хв (Рис. 3. 13). У 34 % щурів пілокарпін-індукований ЕС тривав протягом від 31 до 60 хв, у 58 % тварин - понад 61 хв. Протягом ЕС померли 16 % тварин.

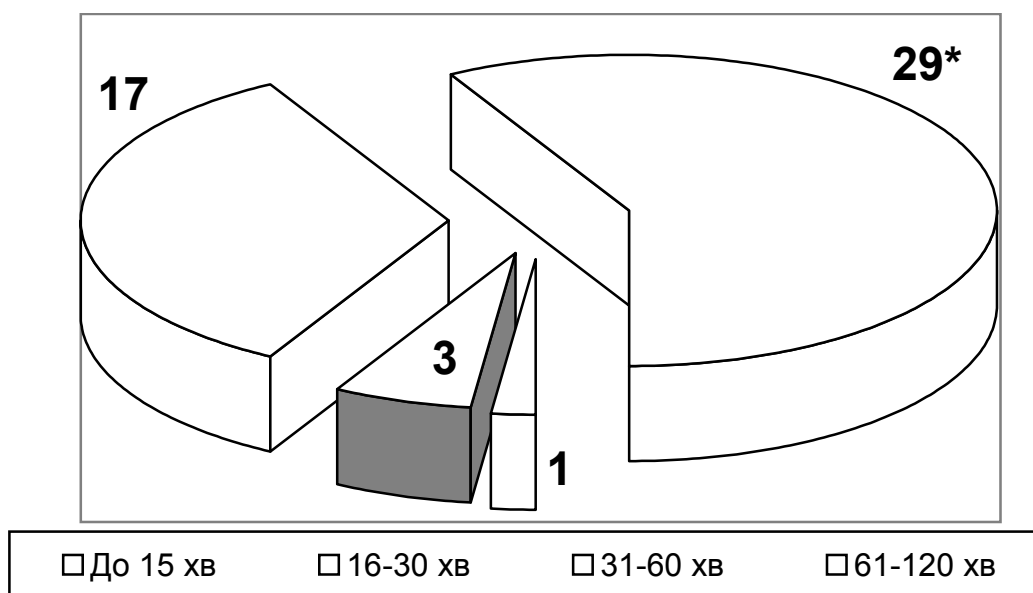


Рис. 3. 13. Середня тривалість пілокарпін-індукованого ЕС в щурів

Примітки: цифри вказують на кількість щурів з відзначеною тривалістю судом.

* - Було відзначено гибель тварин.

У 74 % щурів спостерігалися повторні судомні напади, що характеризувалися переважними клонічними скороченнями м'язів передніх кінцівок, що відповідало 2 балам за загальноприйнятою шкалою оцінки тяжкості судомних реакцій (до їх числа входять й померлі тварини). В 22 % щурів відзначалися здригання м'язів морди і рота, тремтіння вібрис, що було оцінено в 1 бал. Судомні прояви у 4 % тварин відзначалися у вигляді клонічних

скорочень м'язів передніх і задніх кінцівок і підйомом щурів на задні лапи, що відповідало 3 балам (Рис. 3. 14). У подальших експериментах з 50 узятих спочатку тварин залишалися 42 щури.

На 26-й день досліду судомні реакції були відсутні у усіх тварин. У 92,9 % щурів, які вижили після ЕС, впродовж подальших після нього 20-25 діб реєструвалися інтенсивні дослідницькі реакції, посилення грумінга, незначне збільшення горизонтальної рухової активності. У 7,1 % щурів відзначалася гіподинамія, вони були знерухомлені та загальмовані.

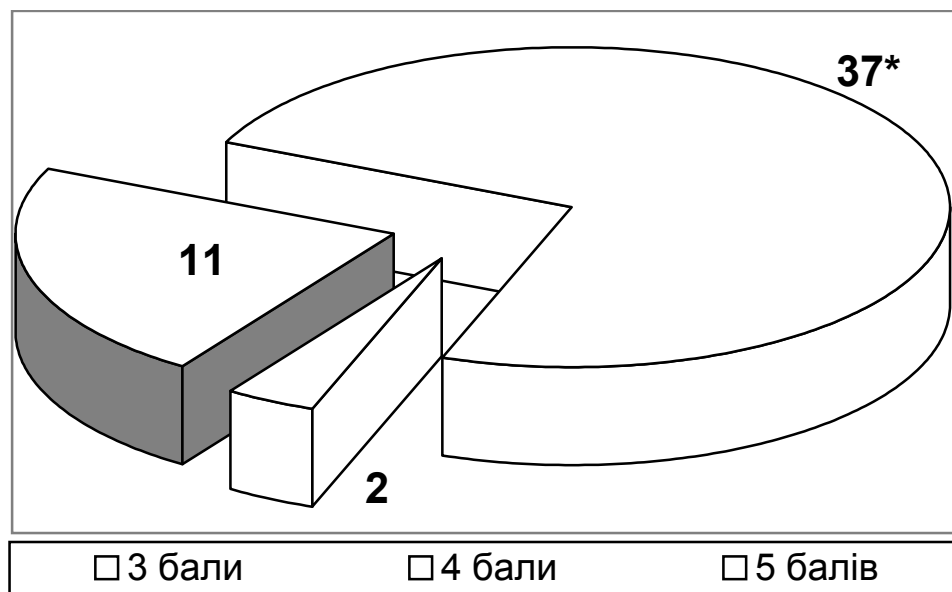


Рис. 3. 14. Вираженість судом в щурів із пілокарпін-індукованим ЕС

Примітки: цифри вказують на кількість щурів з вказаною інтенсивністю судом.

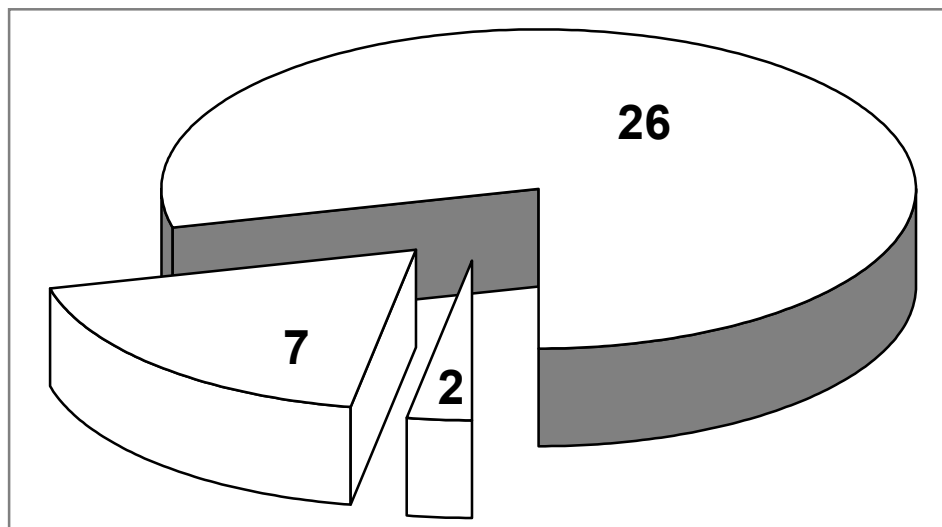
* - Було відзначено гибель тварин.

На 26-у добу після ЕС в 83,3 % щурів (рис. 3.24) розвинулися спонтанні судомні реакції (ССР), які спочатку мали вигляд незначних міофасціальних здригань та здригань морди. В 16,7 % щурів ССР були відсутні впродовж усього часу спостереження (49 діб після ЕС) - до 74 доби з початку досліду.

Спонтанні судоми проявлялися у вигляді незначних за вираженістю, дрібноамплітудних міоклонічних здригань м'язів передніх кінцівок, які реєструвалися у 74,3 % щурів (Рис. 3.15). З числа цих тварин у 80,8 % щурів

реєструвалися міоклонуси передніх лап, у 19,2 % щурів - монолатеральні міоклонічні здригання.

У 5,7 % щурів спонтанні судоми відзначалися у вигляді міоклонічних скорочень м'язів передніх і задніх кінцівок з переважанням м'язової активності м'язів передніх кінцівок. У 20 % щурів впродовж усього періоду спостереження реєструвалися незначні за вираженістю міофасціальні здригання й оральні автоматизми (Рис. 3.25).



- Міофасціальні здригання та автоматизми
- Міоклонуси передніх кінцівок
- Міоклонуси передніх та задніх кінцівок

Рис. 3. 15. Поведінкові характеристики спонтанних судом в щурів після введення пілокарпіну.

Примітки. Цифри вказують на кількість щурів з відзначеною інтенсивністю спонтанних судом

Спонтанні судоми вказаної інтенсивності реєструвалися в щурів впродовж 40 діб з моменту їх ініціації (тобто, до 66-ї доби з моменту початку спостережень). Потім, впродовж 8 діб (з 67-ї до 74-ї доби з моменту початку експериментальних спостережень) відзначався регрес судомних проявів - знижувалася їх інтенсивність, частота реєстрації, у більшості щурів судоми не розвивалися. На 49-й добі з моменту ініціації спонтанних судом, що відповідає 75-й добі досліджу, спонтанні судоми були відсутні в усіх тварин.

Подібна тривалість спостереження за епізодами ССР в щурів (40-49 діб) пояснюється реальною реєстрацією відстрочених спонтанних судом і у тому числі відповідала аналогічним даним в літературі [417-419]. Відносно термінового інтервалу реєстрації судом відзначимо тривалі дискусії, викликані тим, що деякі автори реєстрували спонтанні судоми впродовж триваліших інтервалів часу, аж до 80 і 120 днів з моменту їх виникнення.

Протягом подальших спостережень ми досліджували вплив тривалості пілокарпін-індукованого ЕС у кожного щура окремо на вірогідність розвитку спонтанних судомних реакцій.

Аналіз кореляції між тривалістю і інтенсивністю ЕС й частотою розвитку ССР показав, що якщо ЕС припиняли за 15 хв після його початку, то ССР не реєструвалися (Рис. 3.16). Подібного ми не спостерігали в дослідах.

У 4 щурів в наших спостереженнях середня тривалість ЕС дорівнювала $22,7 \pm 3,2$ хв, в 11 щурів цей показник склав $47,2 \pm 5,3$ хв і у 20 щурів - $98,6 \pm 10,1$ хв. В цих групах тварин, які були виділені нами відповідно до тривалості ЕС, - до 30 хв, до 1 і 2 год, відповідно, - відзначалося прогресивне збільшення кількості тварин зі ССР від 11,4 % до 31,4 % і 57,2 % (Рис. 3.16).

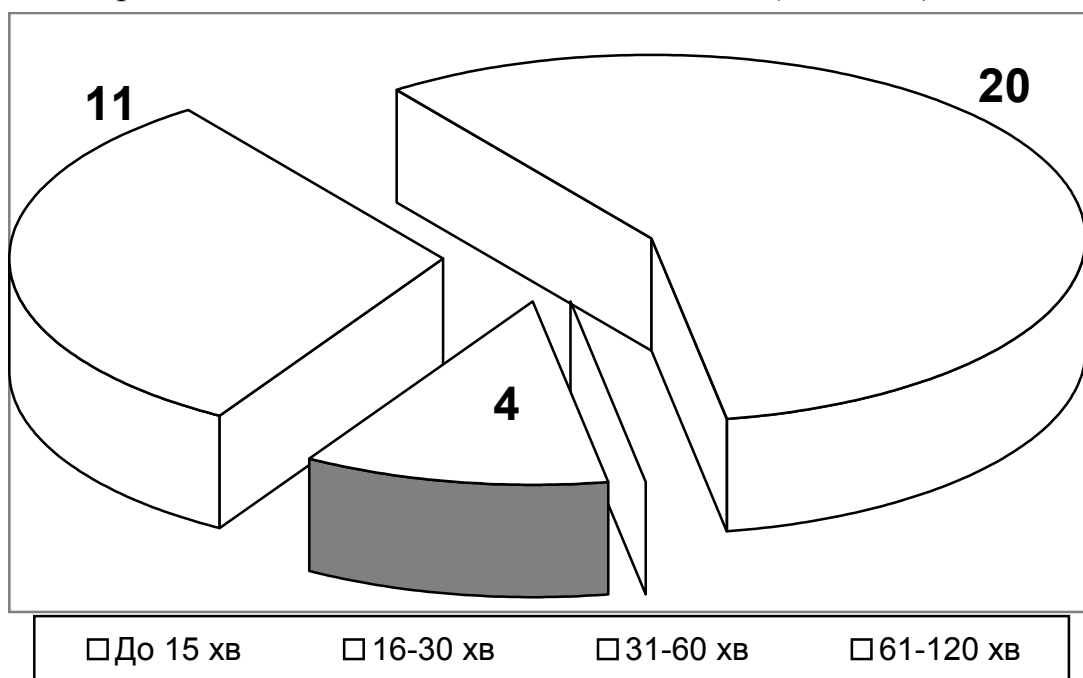


Рис. 3.16. Кількість щурів з пілокарпін-спричиненою спонтанною судомною активністю залежно від тривалості пілокарпін-індукованого ЕС.

Примітки. Цифри вказують на кількість щурів з ССР.

При статистичній обробці отриманих результатів коефіцієнт рангової кореляції Спірмена дорівнює 0,77, що показує високий ступінь кореляції досліджуваних явищ.

Максимальна кількість епізодів ССР впродовж першої доби спостереження - 12 - ми спостерігали у одного щура. Тривалість ЕС в нього дорівнювала 107 хв.

По 10 і 11 епізодів ССР в першу добу спостереження були зареєстровані у 8 і 4 щурів, відповідно. Тривалість пілокарпін-індукованого ЕС у цих тварин склала $76,1 \pm 6,9$ хв. і $83,0 \pm 7,4$ хв., відповідно. У 7 щурів було зареєстровано 9 епізодів ССР, причому середня тривалість ЕС у них склала $70,7 \pm 7,1$ хв. 4 щури демонстрували 6 і 7 епізодів ССР - в цих спостереженнях середня тривалість пілокарпін-індукованого ЕС у них дорівнювала $49,3 \pm 3,9$ хв. і $54,1 \pm 4,4$ хв., відповідно.

В 3 щурів ми відзначали 5 епізодів розвитку спонтанних судом - раніше пілокарпін-спричинений ЕС у них тривав впродовж $42,5 \pm 4,3$ хв. І ще у 2 тварин з середньою тривалістю ЕС протягом $25,1 \pm 2,7$ хв. були зареєстровані 3 епізоди ССР.

Мінімальна кількість епізодів мимовільних відстрочених судом також була відмічена у 1 тварини, ЕС у цього щура тривав 21,5 хв.

Отже, простежується тенденція прямої залежності кількості епізодів ССР від тривалості пілокарпін-спричиненого ЕС. Коефіцієнт рангової кореляції Спірмена в цих спостереженнях склав 0,68, що свідчить про помірно виражений зв'язок досліджуваних явищ.

При реєстрації спонтанних судом у щурів після введення їм пілокарпіну ми керувалися думкою Goffin et al. (2007) про циклічний характер розвитку спонтанних судом з періодичністю в 5-8 днів. При такому підході впродовж 40 днів реєстрації ССР ми спостерігали у щурів в середньому від 5 до 8 циклів демонстрації спонтанних відстрочених судом.

Додатково підраховували кумулятивну кількість епізодів відстрочених судом в усіх щурів в групі щоденно впродовж усього періоду їх реєстрації (40-

48 діб, що відповідає 66-74 добам з моменту початку досліджу). Кумулятивна кількість епізодів відстрочених судом впродовж першої доби реєстрації ССР склала 63 (Рис. 3.17).

На 2-у добу з моменту появи кількість епізодів ССР дорівнювала 77. На 3-й добі - 94,5, на 4-й добі - 87,5 з досягненням кількості 87 епізодів ССР в групі на 7-у добу спостереження. Надалі, на 8-у добу досліджу (з моменту формування спонтанних судом) досліджуваний показник дорівнював 77 з поступовим його збільшенням до 105, 115,5 і 126 впродовж 9-11 діб (Рис. 3.17).

Помітно, що кумулятивна кількість епізодів ССР, зазвичай, не перевищувала усередненого внутрішньогрупового показника в 140 (на 21-у добу) протягом 40 діб спостереження і складала мінімум 38,5 (на 40-у добу).

В наших спостереженнях простежується періодичність в динаміці загальної кумулятивної кількості спонтанних судом під час спостереження з середньою тривалістю періоду в 7-10 діб (Рис. 3.17).

Епізоди ССР в 3 щурів ми спостерігали впродовж подальших 8 діб - в цілому тривалість генерації ССР у них складала 48 діб, - проте, їх вираженість була мінімальною за поведінковими критеріями і тривала впродовж декількох секунд. На 49-у добу з моменту появи перших спонтанних судом (75 доба з моменту введення пілокарпіну) поведінка усіх тварин характеризувалася спокійним пересуванням по клітині і відкритій поверхні впродовж денного часу спостереження і відсутністю візуальної судомної активності.

До завдання наступної частини спостережень входила реєстрація електрографічної активності деяких утворень мозку і ділянок кори під час генерації спонтанної судомної активності.

Під час латентного (прихованого) періоду, характерного для пілокарпін-індукованого ЕС, тобто через 22 доби після введення конвульсанта, на ЕЕГ щуру №4 реєструвалася асинхронна активність, яка характеризувалася низькоамплітудними асинхронно виникаючими спайковими потенціалами з амплітудою не вище 180 мкВ в правій і лівій лобовій корі і 250-300 мкВ, - в правому і лівому гіпокампі (Рис. 3.18, А).

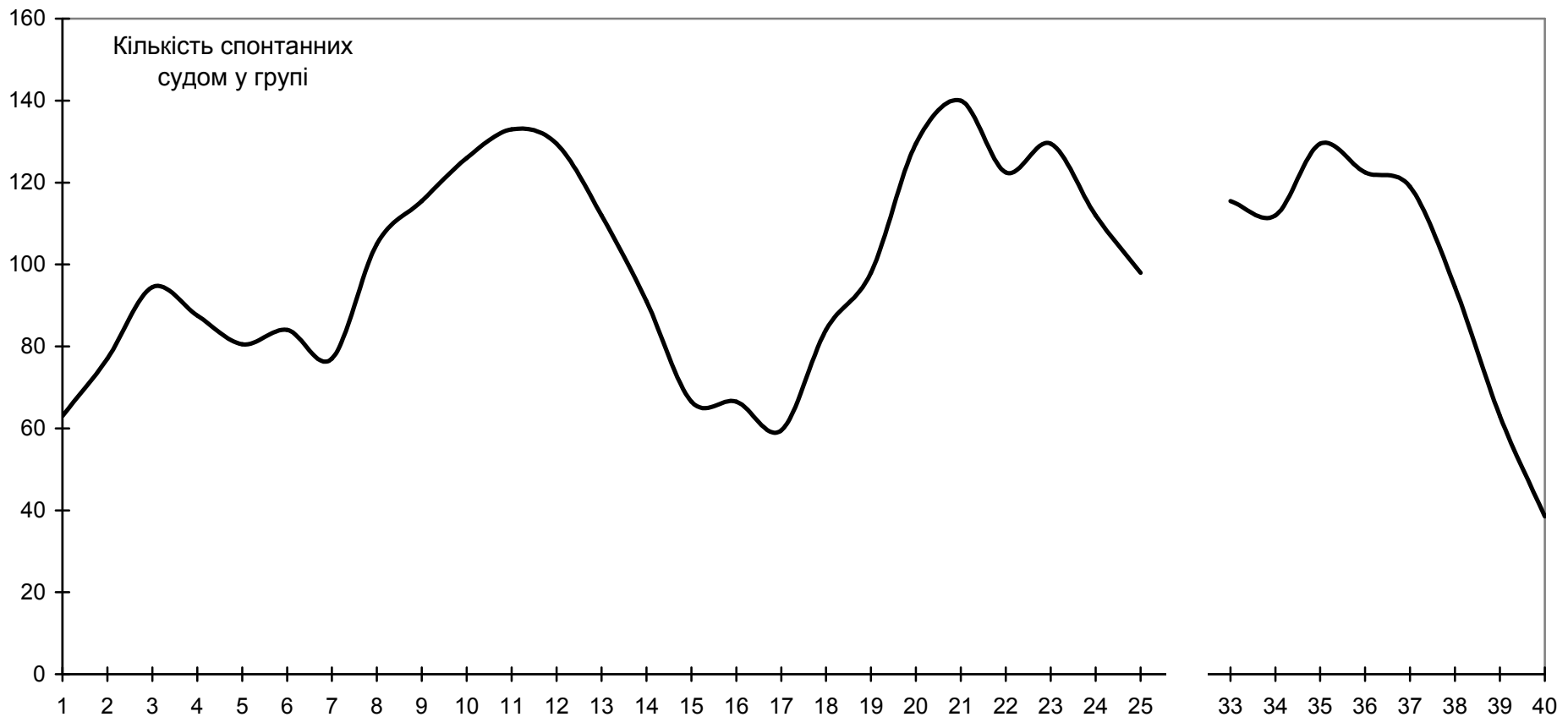


Рис. 3.17. Кумулятивна кількість спонтанних судом в групі щурів з пілокарпін-індукованою спонтанною судомною активністю впродовж 40-денного періоду спостереження.

За віссю абсцис – доби спостереження з моменту реєстрації ССР.

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

Впродовж часу, що передував розвитку ССР, тобто, за 2 хв. до спонтанних судом, в усіх досліджуваних утвореннях на ЕЕГ цього щура відзначалася переважно синхронізована високоамплітудна активність з частотою потенціалів до 7-9 за хв. (Рис. 3.18, Б).

Під час розвитку ССР на ЕЕГ щура №4 суттєво зросла амплітуда спайкових потенціалів, які генерувалися з частотою до 11-13 за хв. в обох гіпокампах (Рис. 3.18, В). У неокортексі частота потенціалів складала 8-9 за хв. Амплітуда потенціалів в лобовій корі і гіпокампі складала 1,2-1,6 мВ.

Тривалість ССР становила в середньому 50-70 сек і характеризувалася появою на ЕЕГ високочастотної спайкової активності, яка спостерігалася незалежно лише в одному гіпокампі або в обох одночасно з розрядами в неокортексі (Рис. 3.19 Б, В). Після закінчення цього періоду спостереження в щура дослідної групи відзначалася трансформація ЕЕГ, що видно на наступній ділянці електроенцефалограми. Помітимо, що схожий варіант ЕЕГ був домінуючим у більшості тварин, його реєстрували у 23 щурів з 35 (65,7 %).

У частини щурів високоамплітудна активність на ЕЕГ, пов'язана з розвитком ССР, впродовж 1 міни трансформувалася у гострі спайкові потенціали з частотою 11-13 за хв. і амплітудою до 1,6-1,7 мВ (Рис. 3.18, Г), що за поведінковою тварин відповідало дрібноамплітудним скороченням м'язів морди, голови і передніх кінцівок (2 бали за прийнятою шкалою оцінки тяжкості судом).

В решті щурів ЕЕГ-картина була іншою. На прикладі ЕЕГ, зареєстрованої в щура №17, видно, що після фонові активності (Рис. 3.29, А), тривалість якої становила 26 діб після введення пілокарпіну, яка трансформувалася в епілептиформну активність (Рис. 3.29, Б), остання на ЕЕГ в усіх досліджуваних утвореннях мозку різко припинялася і змінювалася низькоамплітудною повільною активністю, ідентичною такої до початку ССР з переважанням повільно-хвильових комплексів, найбільша амплітуда яких 20-30 мкВ) відзначалася в неокортексі (Рис. 3.19, В).

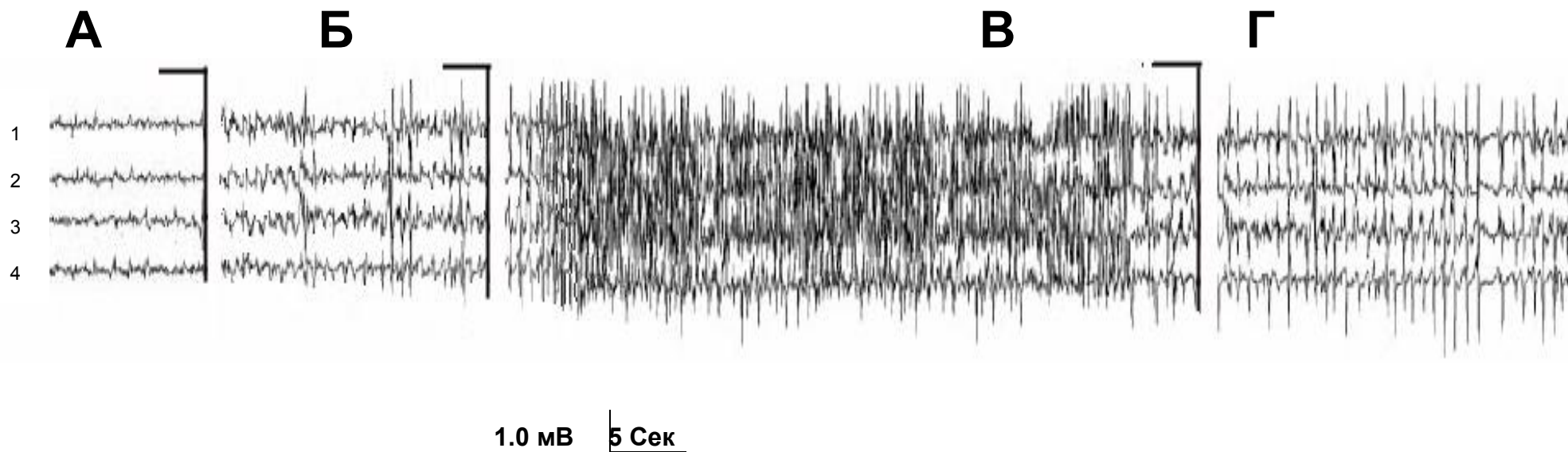


Рис. 3.18. Зразок ЕЕГ щура за умов пілокарпін-індукованих спонтаних судом.

Фрагмент А – фоновая активність, за 22 доби після введення пілокарпіну

Фрагмент Б – за 9 хв після А.

Фрагмент В – за 11 хв. після А.

Фрагмент Г – за 12 хв. після А.

Позначення: 1-4, відповідно, права лобова кора, ліва лобова кора, правий вентральний гіпокамп, лівий вентральний гіпокамп.

Позначка часу – 5 сек, калібрровка сигналу – 1,0 мВ.

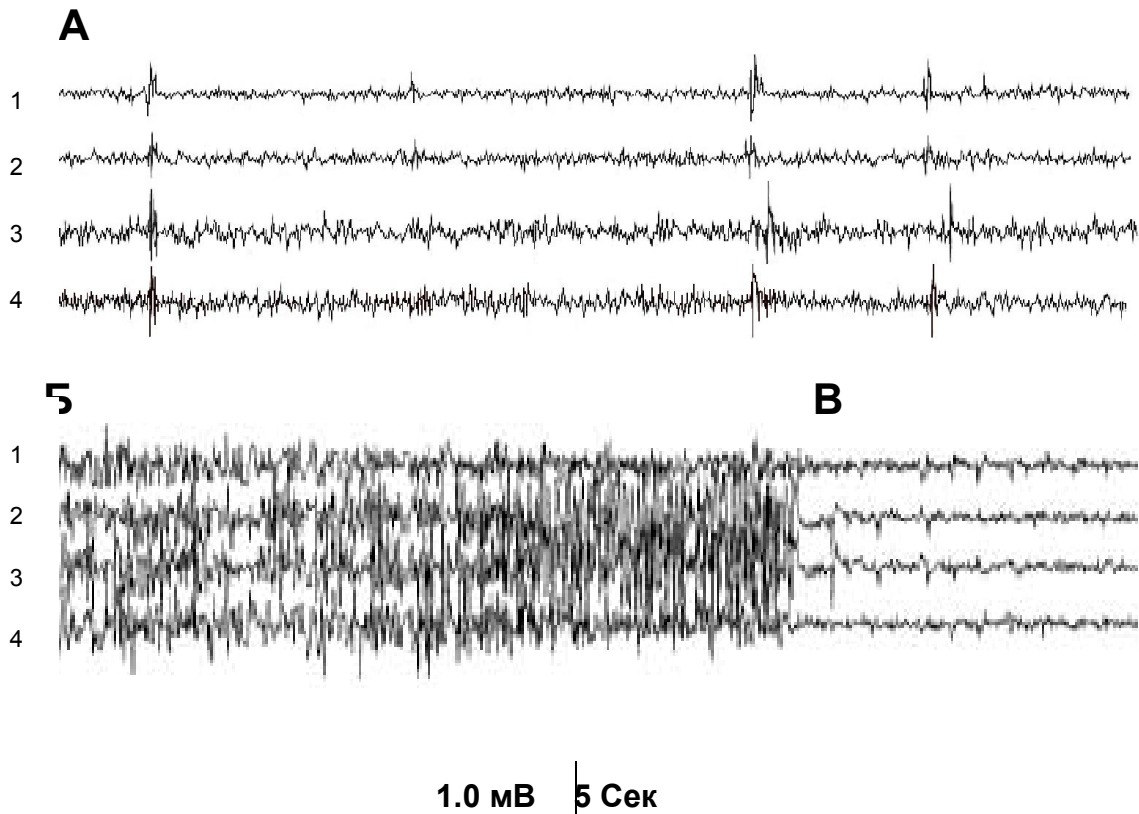


Рис. 3.19. Фрагмент ЕЕГ щура №17 за умов пілокарпін-індукованої судомної активності.

Фрагмент А – фонова активність, за 26 діб після введення пілокарпіну.

Фрагмент Б – за 6 хв. після А

Фрагмент В – за 8 хв. після А

Позначення: 1-4, відповідно, права лобова кора, ліва лобова кора, правий вентральний гіпокамп, лівий вентральний гіпокамп.

Позначка часу – 5 сек, калібровка сигналу – 1,0 мВ.

У патофізіологічному аспекті важливим видавалося з'ясування пріоритетності/черговості генерації ЕпА утвореннями мозку. Наші результати дозволяють припустити, що, вочевидь, у більшій частині випадків перші епілептиформні розряди генерують нейрони гіпокампу, після яких з незначним відставанням починають генерувати активність нейрони кори мозку. Такий характер ініціації ССА був виявлений у 13 щурів з 35 (37,1 %).

У 9 щурів (25,8 %) ЕЕГ активність, яка передувала розвитку спонтанних судом, характеризувалася більше раннім залученням до генерування ЕпА кори мозку. За таких умов чітко простежується, що

повільні СХП і наступні за ними загострені спайкові потенціали раніше генеруються нейронами лівої півкулі кори мозку.

Відзначимо, що в решти 13 щурів (37,1 %) при реєстрації ЕЕГ-активності не вдалося виявити переважання активності ані нейронів гіпокампу, ані кори мозку. Досліджувані утворення синхронно починали генерувати надмірну електричну активність, що передувала розвитку спонтанних судом.

Отримані результати дозволяють вважати, що одними з основних критеріїв, що спричиняють розвиток спонтанних судом за умов пілокарпін-індукованої хронічної судомної активності, є розвиток у щурів пілокарпін-індукованого ЕС, його значна тривалість (впродовж 16-120 хв.), а також посилення електричної активності в гіпокампі і в лобовій корі головного мозку з деяким випередженням в утвореннях гіпокампу.

Завданням наступної частини роботи було вивчення патофізіологічних механізмів розвитку відстрочених спонтанних судомних реакцій після введення щурам пілокарпину. В зв'язку з цим нашу увагу привернули серединні ядра таламусу (медіодорзальное і сполучне) і фронтальні відділи кори мозку.

Серединні ядерні утворення таламусу 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-спайковій епілепсії [459]. Відомо, що рекрутуючі таламо-кортикальні впливи модулюють осередкові та генералізовані судомні реакції [460]. Відомо, нарешті, що проєкції специфічних й неспецифічних ядер таламусу закінчуються в IV і I шарах лобової кори, відповідно, що, на думку авторів, повинно припускати опосередкування фронтальною корою епілептиформних реакцій.

Для дослідження ролі серединних ядер таламусу (*n.n. mediodorsal* і *reuniens*) і фронтальних ділянок кори в патофізіологічних механізмах пілокарпін-індукованих спонтанних судом ми здійснювали хімічну

деструкцію і електричну активацію вказаних утворень мозку за модельних умов.

Впродовж перших 2-5 хв. після введення пілокарпіну у більшості щурів контрольної групи (введення щурам пілокарпіну без попереднього руйнування або активації досліджуваних ядерних утворень таламусу) відзначалися вегетативні порушення - гіперсаливація, підвищене занепокоєння, посилення грумінгу, посилене обнюхування, посилення моторної активності, почастищення дихання та епізодів дефекації. В середньому через 12-15 хв. після введення конвульсанту у тварин розвивалися міоклонічні скорочення м'язів морди, голови і передніх кінцівок. Впродовж подальших 7-15 хв. ці епілептиформні прояви трансформувалися в клонічні скорочення м'язів тулуба, передніх і задніх кінцівок, після чого в усіх тварин розвинулися генералізовані клоніко-тонічні напади. Тривалість гострої стадії пілокарпін-сприченного ЕС у щурів контрольної групи становила в середньому $73,4 \pm 6,8$ хв. У 5 з 8 щурів контрольної групи, які вижили після гострої стадії пілокарпін-сприченного ЕС, впродовж подальших 20-25 діб 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 на добу (табл. 3.11).

У щурів з деструкцією медіодорзального ядра таламусу середня тривалість гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС склала $18,1 \pm 3,2$ хв., що було в 4 рази менше відповідних показників у щурів контрольної групи ($P < 0,01$; табл. 3.11). Ми не спостерігали розвитку спонтанних судом ані в жодної з тварин цієї групи, що також істотно розрізнялося порівнянно з аналогічними контрольними даними ($P < 0,001$).

Введення пілокарпіну щурам після електричного подразнення медіодорзального ядра таламусу сприяло розвитку у тварин змін поведінки, яка була аналогічна такої в щурів контрольної групи. Середня тривалість

стадії гострих судом у цих тварин склала $62,9 \pm 6,3$ хв., що було на 14 % менше порівнянно з аналогічними контрольними результатами ($P > 0,05$).

Таблиця 3.11

Характеристика пілокарпін-індукованих спонтанних судомних реакцій при локальній деструкції та активації медіодорзального та серединного ядер таламусу

Групи тварин	Тривалість гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС, $M \pm m$, хв.	Кількість щурів зі спонтанними судомами, абсолютні дані	Кількість епізодів спонтанних судом протягом доби, абсолютні дані
1. Контроль, введення пілокарпіну, n=11	$73,4 \pm 6,8$	5	8
2. Деструкція медіодорзального ядра + введення пілокарпіну, n=21	$18,1 \pm 3,2^*$	0#	-
3. Активація медіодорзального ядра + введення пілокарпіну, n=17	$62,9 \pm 6,3$	9	8
4. Деструкція сполучного ядра + введення пілокарпіну, n=18	$11,4 \pm 2,6^*$	0#	-
5. Активація сполучного ядра + введення пілокарпіну, n=18	$69,1 \pm 6,9$	9	6

Примітки: * - $P < 0,01$ вірогідні відмінності досліджуваних показників порівнянно з аналогічними даними в щурів контрольної групи, а також в щурів з активацією серединних ядер таламусу (статистичний критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

- $P < 0,001$ – вірогідні відмінності досліджуваних показників порівнянно з аналогічними даними в щурів контрольної групи, а також в щурів з активацією серединних ядер таламусу (критерій Krsucall-Wallis).

Спонтанні судоми після введення пілокарпіну розвинулися у 9 з 13 тварин, які вижили після гострих генералізованих судом, що також істотно не розрізнялося порівнянні з аналогічними контрольними показниками. Відстрочені спонтанні судомні реакції характеризувалися в середньому наявністю 8 епізодів дрібноамплітудних клонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок впродовж доби.

Попередня локальна деструкція сполучного ядра таламусу іботеновою кислотою сприяла скороченню середньої тривалості гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС в 6,4 разів до $11,4 \pm 2,6$ хв., що істотно розрізнялося відносно аналогічних показників у щурів контрольної групи ($P < 0,01$). У цих умовах спонтанні судоми не разивались ані в жодної з тварин, які вижили після гострої стадії пілокарпін-спричиненого ЕС ($P < 0,001$; табл. 3.11).

Введення пілокарпіну щурам з активацією сполучного ядра таламусу індукувало зміни поведінки, які були аналогічні таким в контрольних спостереженнях. Середня тривалість стадії гострих судом у цих тварин склала $69,1 \pm 6,9$ хв., що було на 6 % менше порівняно з аналогічними контрольними результатами ($P > 0,05$). Спонтанні судоми після введення пілокарпіну розвинулися у 9 з 12 тварин, які вижили після гострих генералізованих судом, що не розрізнялося порівняно з відповідними контрольними показниками. Спонтанні судоми характеризувалися в середньому наявністю 6 епізодів дрібноамплітудних клонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок (табл. 3.11).

Отримані результати показують провідну роль медіодорзального і серединного ядер таламусу в механізмах ініціації спонтанних судом при їх індукції пілокарпіном.

Завданням наступної частини досліджень стало дослідження ролі фронтального відділу кори в механізмах розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Впродовж перших 3-7 хв. після введення пілокарпіну у більшості щурів контрольної групи (введення щурам пілокарпіну без попереднього руйнування або активації фронтального відділу кори) відзначалися гіперсалівація, підвищене занепокоєння, посилення грумінгу, посилене обнюхування, посилення моторної активності, почастішання дихання, частіші епізоди дефекації. За 10-17 хв. після введення пілокарпіну у тварин розвивалися міоклонічні скорочення м'язів морди, голови і передніх кінцівок. Впродовж подальших 5-12 хв. судомні реакції трансформувалися у клонічні скорочення м'язів тулуба, передніх і задніх кінцівок, після чого в усіх тварин розвинулися генералізовані клоніко-тонічні напади. Тривалість гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС в щурів контрольної групи склала в середньому $70,0 \pm 6,5$ хв. (табл. 3.12).

У 5 з 7 щурів цієї групи, які вижили після гострої стадії пілокарпін-спричиненого ЕС, впродовж подальших 20-25 діб розвинулися спонтанні судомні реакції, які проявлялися мало амплітудними міоклонічними скороченнями м'язів передніх кінцівок. Тварини контрольної групи демонстрували в середньому по 6 епізодів спонтанних судом (табл. 3.12).

У щурів з деструкцією фронтальних відділів кори мозку середня тривалість гострої стадії пілокарпін-спричиненого ЕС склала $13,7 \pm 2,8$ хв., що було в 5 разів менше відповідних показників у щурів контрольної групи ($P < 0,01$). Ми не спостерігали розвитку спонтанних судом ані в жодної з тварин цієї групи, що також істотно розрізнялося порівняно з аналогічними контрольними даними ($P < 0,001$). Введення пілокарпіну щурам з активацією 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 дорівнювала $59,9 \pm 6,1$ хв., що було на 14 % менше порівняно з аналогічними контрольними результатами ($P > 0,05$). Спонтанні судоми після введення пілокарпіну розвинулися у 7 з 11 тварин, які

вижили після гострих генералізованих судом, що також не розрізнялося порівняно з аналогічними контрольними показниками (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Характеристика пілокарпін-індукованих спонтанних судомних реакцій при локальній деструкції й активації фронтальних відділів кори мозку щурів

Групи тварин	Тривалість гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС, $M \pm m$, хв.	Кількість щурів зі спонтанними судомами	Кількість епізодів спонтанних судом протягом доби
1. Контроль, введення пілокарпіну, n=10	70,0 \pm 6,5	5	6
2. Деструкція фронтальних відділів кори мозку + введення пілокарпіну, n=17	13,7 \pm 2,8*	0#	-
3. Активація фронтальних відділів кори мозку + введення пілокарпіну, n=16	59,9 \pm 6,1	7	5

Примітки: * - $P < 0,01$ вірогідні відмінності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи, а також в щурів з активацією фронтальних відділів кори мозку (статистичний критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

- - $P < 0,001$ – вірогідні відмінності досліджуваних показників порівняно з такими даними в щурів контрольної групи, а також в щурів з активацією фронтальних відділів кори мозку (критерій Krsucall-Wallis).

Відстрочені спонтанні судорожні реакції характеризувалися наявністю в середньому 5 епізодів дрібноамплітудних клонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

Отже, отримані результати свідчать про важливість ділянок фронтальної кори в механізмах розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

3. 8. Дослідження кортикальних механізмів розвитку епілептичної активності при пікротоксиновому кіндлінзі

Вчений-епілептолог У. Пенфілд в середині минулого століття підтвердив наукові розробки іншого науковця-невролога Джона Джексона стосовно існування коркового представництва (КП) більшості рухових реакцій, які той спостерігав у хворих на епілепсію [420]. Отже, соматотопічні карти представництва моторних реакцій рухів людини локалізовані в прецентральної звивині, чого вдалося досягти завдяки застосуванню діагностичних внутрішньокортикальних мікроелектростимуляцій (МЕС) у хворих на епілепсію.

Проте, низка результатів досліджень не відповідають уявленням Пенфілда про неінвертовану орієнтацію КП рухів, які, наприклад, у здорових осіб, мають інвертоване зображення [421]. Можливі неточності карт локалізації функцій, створених Пенфілдом, зрозумілі, оскільки його положення про «гомункулус людини» ґрунтувалися перш за все на обстеженні локалізацій функцій хворих на епілепсію. Ймовірно, що розвиток, виникнення та перебіг судомної активності впливають певним чином на кортикальну топографію представництва центрів рухів, що непрямим чином підтверджують недавні спостереження за хворими на хронічні форми епілепсії та низка експериментальних досліджень [422-425]. На користь цього припущення свідчать дані стосовно змін паттерну активності нейронів кори та підкіркових утворень, функціонального зв'язку між різними нейронами ланцюгів [139].

При фармакологічному кіндлінзі, індукованому системним введенням епілептогену, на відміну від електростимуляційного, впливу в рівному ступені підпадають нейрони обох півкуль [72]. Отже, метою даної частини роботи було дослідження кортикального розташування центрів, котрі відповідають скороченням певних м'язів передніх кінцівок, у щурів за умов пікротоксин-спричиненого кіндлінгу, а також динаміки їх змін протягом

післякіндлінгового періоду. При цьому за модельних умов ми намагалися з'ясувати роль коркових утворень (переважно моторних ділянок прецентральної звивини, де показано локалізацію соматотопічних карт репрезентації рухів) в механізмах розвитку та підтримання сталості хронічної кіндлінг-індукованої судомної активності.

При МЕС моторної частини кори в інтактних щурів (частота 333 Гц; монофазний струм; тривалість імпульсу 50, 200 і 400 μ s, 1 та 2 с; затримка імпульсу 5 μ s) в точках з координатами стереотаксичного атласу (0 у ростральному напрямку та 0 у латеральному напрямку) аніяких реакцій у відповідь не спостерігали. За умов МЕС у всіх пенетраціях на лінії 0 у ростральному напрямку від брегми та в діапазоні координат 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5 та 4,0 щури не демонстрували аніяких моторних реакцій у відповідь на локальне подразнення навіть при максимальній інтенсивності стимуляції – 90 мкА (Рис 3.20, А).

При МЕС ділянок моторної кори с координатами від (0,5; 0) до (0,5; 4,0) також були відсутні відповіді у вигляді скорочень м'язів передніх або задніх кінцівок. Аналогічна ситуація була нами простежена за умов МЕС при різних пенетраціях на лінії 1,0 ростральніше від брегми – щури демонстрували лише облизування та інколи – ледве помітні рухи вібрисами.

За умов МЕС моторної частини кори в інтактних щурів, починаючи з 1,5 мм ростральніше від брегми, ми реєстрували відповіді у вигляді скорочення м'язів проксимальних та дистальних частин передніх кінцівок (ПДЧПК). У інтактних щурів ділянка КП рухів м'язів ПДЧПК локалізована впродовж 1,5-3,5 мм рострально від брегми. Її представництво у латеральному напрямку становило в середньому від 1,5 мм до 3,5 мм за координатами стереотаксичного атласу. Всю площу подано темним штрихом на Рис 3.20, А.

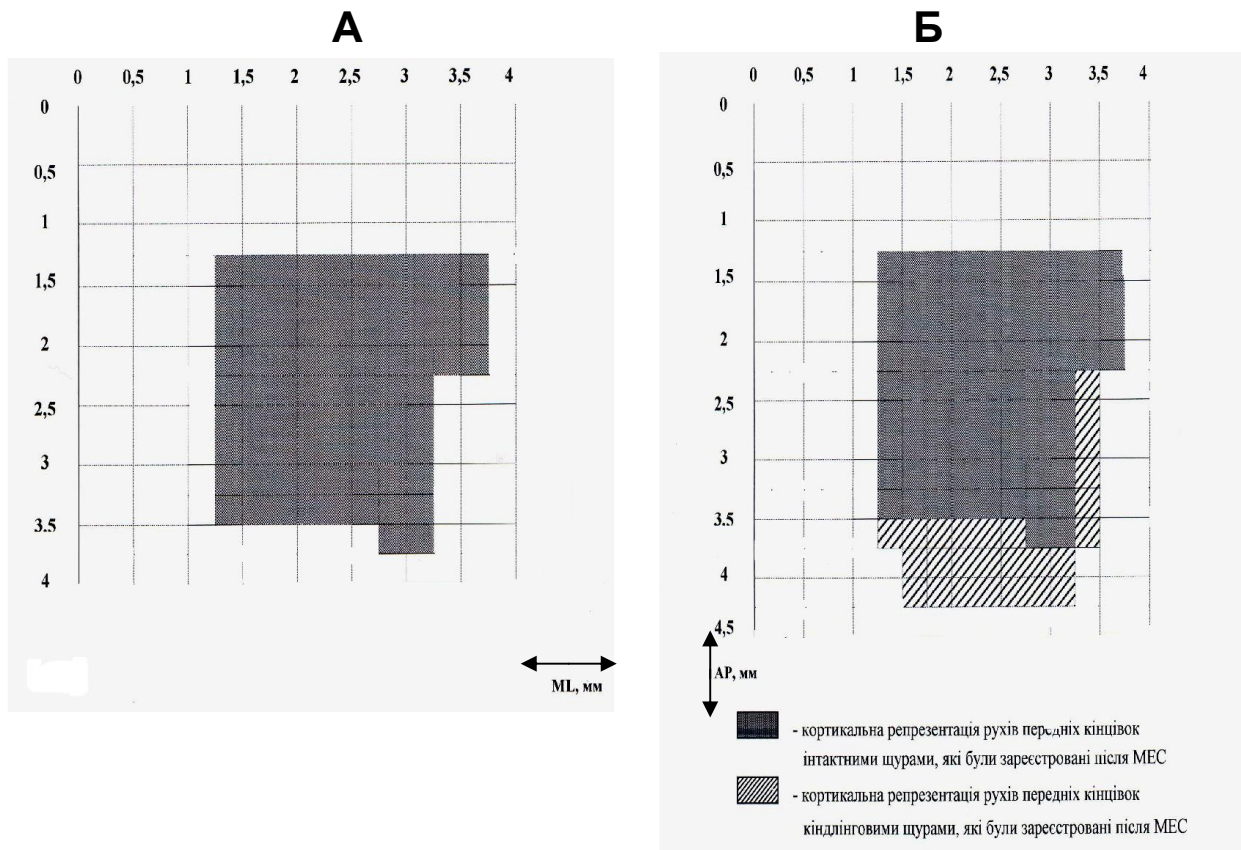


Рис. 3.20 Схематичне зображення коркового представництва рухів у інтактних (фрагмент А) та кіндлінгових (фрагмент Б) щурів, отримане після МЕС неокортекса.

При цьому площа ділянки кори великих півкуль, при МЕС якої було зареєстровано відповідь у вигляді скорочень м'язів проксимальних частин передніх кінцівок, дорівнювала $1,3 \pm 0,1 \text{ мм}^2$, а відповідна площа кори півкуль, МЕС якої відповідала моторним відповідям м'язів дистальних частин передніх кінцівок, на 69,2 % перевищувала відповідну площу кори мозку при реєстрації відповідей проксимальними частинами передніх кінцівок і дорівнювала $2,2 \pm 0,2 \text{ мм}^2$ (Рис. 3.21). Загальна площа ділянки кори мозку інтактних щурів, яка за умов локальної мікроелектростимуляції дозволяла реєструвати у відповідь моторні реакції, дорівнювала в середньому $3,5 \pm 0,3 \text{ мм}^2$ (Рис. 3.21).

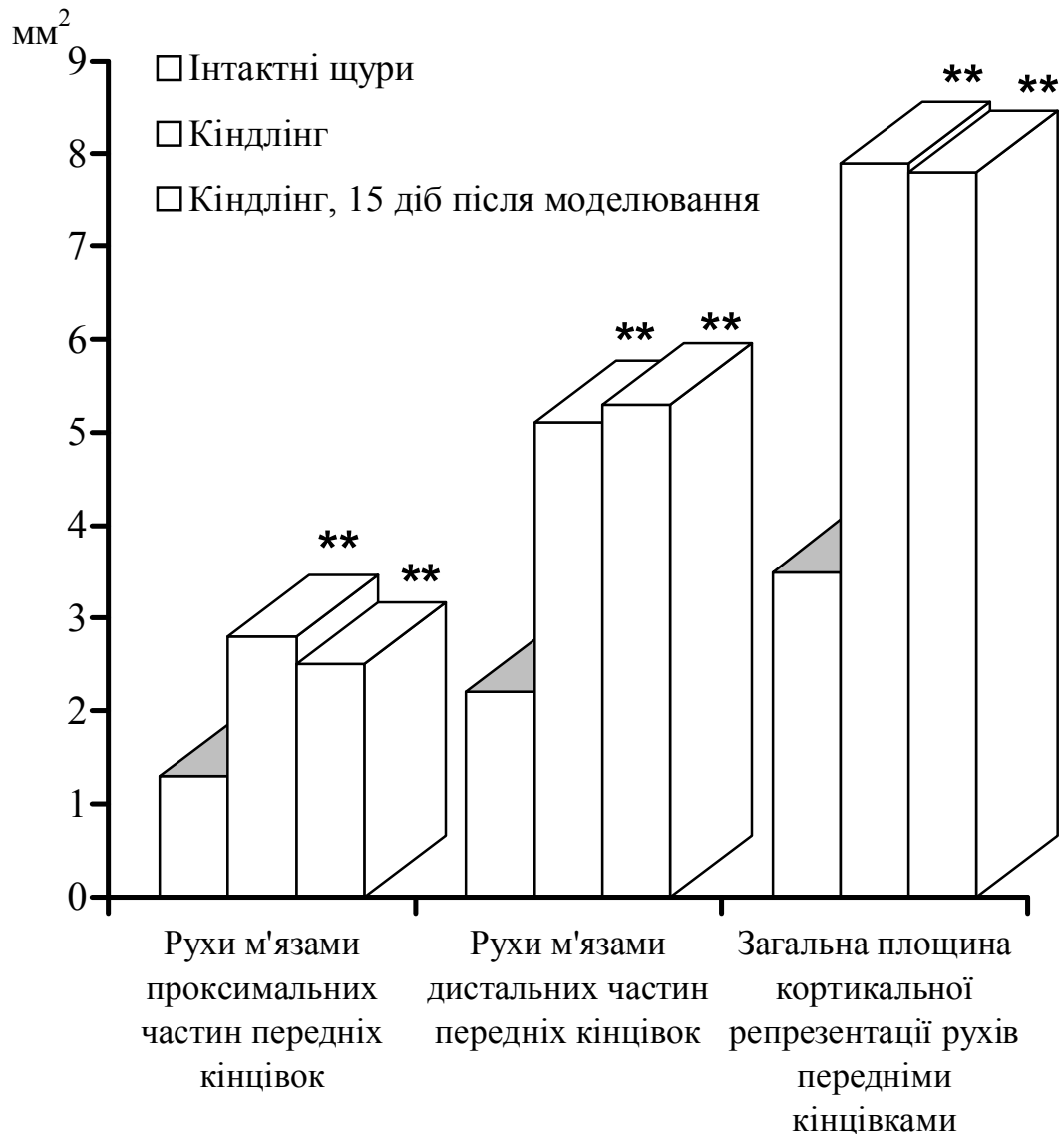


Рис. 3.21. Зміна представництва площі рухів м'язів проксимальних та дистальних частин передніх кінцівок у кіндлінгових щурів.

Позначення: за віссю ординат – площа відповідних ділянок представництва центрів рухів м'язів проксимальних та дистальних частин передніх кінцівок в неокортексі, мм².

Примітки: ** - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими показниками у щурів контрольної групи (статистичний критерій АНОВА).

У щурів по закінченні пікротоксинового кіндлінгу загальна площа КП центрів, котрі відповідають за моторні відповіді м'язів передніх кінцівок, візуально були ширшою перш за все за рахунок подовження її

представництва у ростральному напрямку. Нами були зареєстровані моторні реакції м'язів передніх кінцівок у відповідь на МЕС ділянки моторної кори на всій ширині (від точок з координатами 1,5 мм до 3,5 мм у латеральному напрямку) лінії 4,0 мм та 4,5 мм ростральніше від брегми (Рис. 3.20, Б).

Площа ділянки кори мозку у кіндлінгових щурів, при МЕС якої було зареєстровано відповідь у вигляді скорочень м'язів проксимальних частин передніх кінцівок, в 2,2 рази перевищувала відповідний показник в інтактних щурів та становила в середньому $2,8 \pm 0,4 \text{ мм}^2$ ($P < 0,01$; Рис. 3.21). За таких умов при відтворенні стану кіндлінг-індукованої хронічної судомної активності площа кори півкуль, МЕС якої спричиняла моторні відповіді м'язами дистальних частин передніх кінцівок, в 2,3 рази перевищувала відповідну площу кори мозку інтактних щурів і дорівнювала $5,1 \pm 0,5 \text{ мм}^2$ ($P < 0,01$). Загальна площа кори мозку кіндлінгових щурів, при МЕС якої були зареєстровані моторні реакції передніми кінцівками, дорівнювала в середньому $7,9 \pm 0,8 \text{ мм}^2$ та в 2,2 рази перевищувала відповідний показник в контрольних спостереженнях ($P < 0,01$).

У щурів на 15-й добі післякіндлінгового періоду, протягом якого не застосовували аніякі уведення епілептогену, кортикальна репрезентація рухів не відрізнялася суттєво від такої картини, зареєстрованої в щурів на момент формування пікротоксинового кіндлінгу. Візуальним було збільшення рухів у відповідь м'язами проксимальних частин передніх кінцівок, проте, ці показники не набули статистичної вірогідності. Але в щурів за умов післякіндлінгу площа кори мозку, яка була «відповідальною» за скорочення м'язів проксимальних частин передніх кінцівок, дорівнювала $2,5 \pm 0,4 \text{ мм}^2$ що на 10,7 % було менше ($P > 0,05$) та на 92,3 % більше ($P < 0,01$) відповідних показників в кіндлінгових та інтактних щурів (Рис. 3.21).

За таких умов площа кори півкуль, МЕС якої спричиняла моторні відповіді м'язами дистальних частин передніх кінцівок, дорівнювала $5,3 \pm 0,5 \text{ мм}^2$ що було на 3,9 % ($P > 0,05$) та в 2,4 рази більше ($P < 0,01$) відповідних показників в кіндлінгових та інтактних щурів. Загальна площа кори мозку

щурів за умов післякіндлінгу, при МЕС якої були зареєстровані моторні реакції передніми кінцівками, дорівнювала в середньому $7,8 \pm 0,8$ мм², ще не відрзнялося суттєво від таких показників у кіндлінгових щурів та було в 2,2 рази більше порівняно з аналогічними даними при контрольних спостереженнях ($P < 0,01$; Рис. 3.21).

Завданням наступної частини дослідів було встановлення взаємозалежності характеру та тривалості моторних рухів передніми кінцівками у відповідь на МЕС моторних ділянок кори півкуль при подлинненні терміну стимуляції.

Так, за умов МЕС моторних ділянок кори мозку з тривалістю імпульсів від 50 та 200 мс у всіх інтактних щурів реєструвалися прості рухи в проксимальних суглобах контралатеральних передніх та задніх кінцівок: приведення плечевого, флексія ліктьового та флексія колінного суглобів. Окрім цього, в щурів відзначалися рухи вібрисів, а також м'язів щок та рота. Визначені в щурів рухи мали фазний характер, реєструвалися в середньому протягом 120 ± 10 мс (Рис. 3.22).

При збільшенні тривалості імпульсу при МЕС моторної кори в інтактних щурів до 1 сек та 2 сек суттєво змінився характер рефлекторної реакції. Реєструвалися білатеральні рухи, в них були задіяні також дистальні суглоби обох кінцівок – екстензія лучезап'ястного суглобу та флексії пальців, а також екстензія у гомілковому суглобі. Термін рефлексів при цьому зріс в середньому в 4 рази ($P < 0,001$) порівняно з відповідним показником в інтактних щурів при менш тривалій МЕС. Отже, при подлинненні тривалості імпульсу було відзначено суттєве подовження терміну рефлекторної відповіді та залучення більшої кількості м'язів у відповідь.

При МЕС моторних ділянок кори мозку кіндлінгових щурів з мінімальною тривалістю імпульсів у всіх тварин відзначався розвиток таки ж самих моторних реакцій, як і в інтактних щурів, проте слід відзначити більшу представленість білатеральних моторних реакцій в дистальних суглобах передніх кінцівок. Але тривалість рефлекторної відповіді за таких умов

становила 66 ± 7 мс, що було в 1,8 разів менше порівняно з аналогічним показником в інтактних щурів ($P < 0,05$).

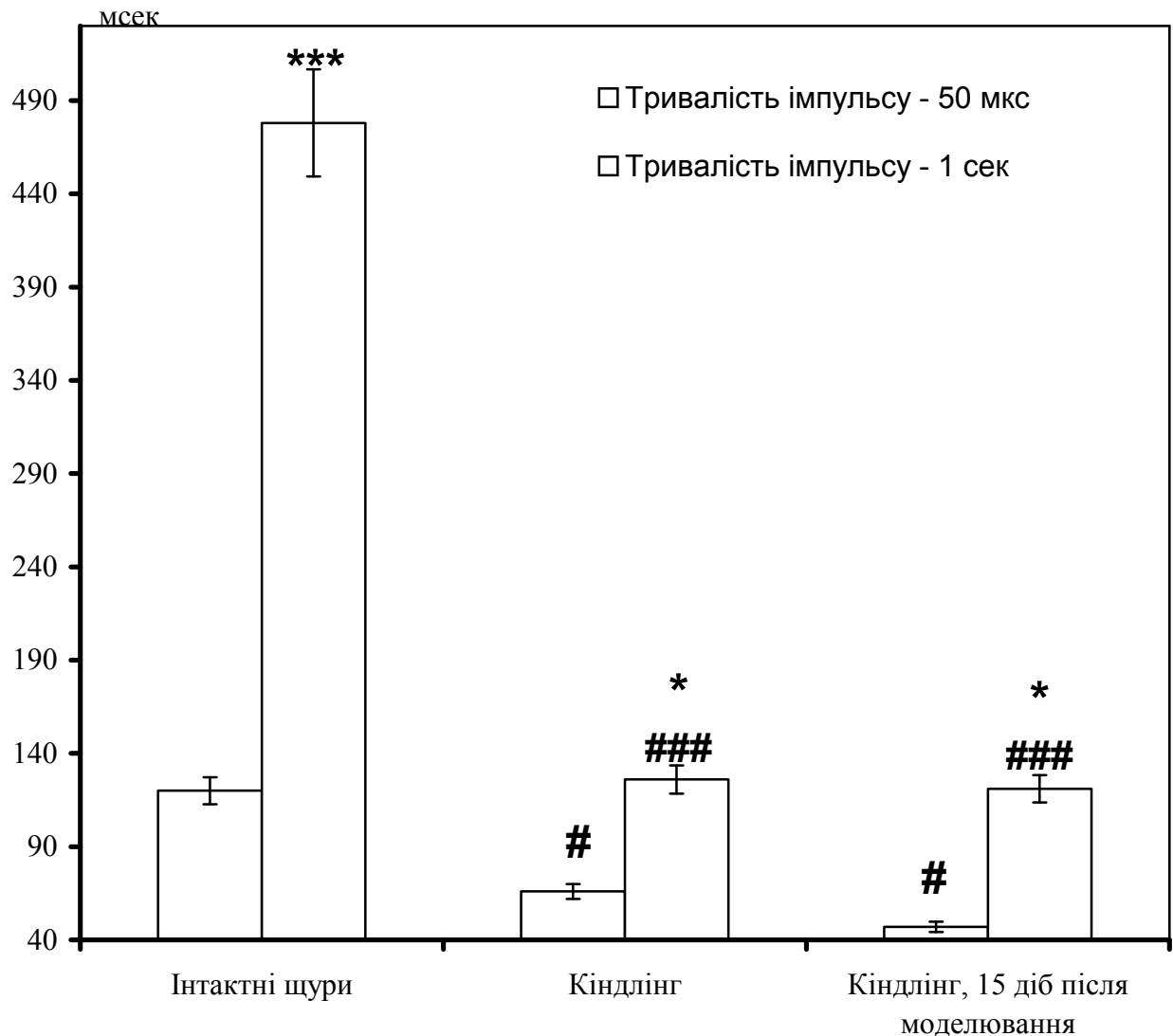


Рис. 3.22. Зміна тривалості моторних рефлексів в щурів у відповідь на МЕС моторної кори за умов моделювання хронічного судомного синдрому.

Примітки: * - $P < 0,05$ та *** - $P < 0,001$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими показниками у щурів при МЕС з тривалістю імпульсу в 50 мсек (статистичний критерій АНОВА).

- $P < 0,05$ та ### - $P < 0,001$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими показниками у щурів контрольної групи (статистичний критерій АНОВА).

Але тривалість рефлекторної відповіді за таких умов становила 66 ± 7 мс, що було в 1,8 разів менше порівняно з аналогічним показником в

інтактних щурів ($P < 0,05$). При збільшенні тривалості імпульсу при МЕС моторної кори в кіндлінгових щурів до 1 сек та 2 сек вираженість рефлекторної реакції не змінилася суттєво – в більшому ступені реєструвалися білатеральні рухи. Термін маніфестації рефлексів при цьому становив в середньому 126 ± 13 мс, що було на 90,9 % більше порівняно з аналогічним показником в кіндлінгових щурів, яким МЕС здійснювали електричними імпульсами тривалістю в 50 мс ($P < 0,05$). При цьому також реєструвалося вірогідне зменшення досліджуваного показника (в 3,8 разів, ($P < 0,001$) при його порівнянні з таким в інтактних щурів (Рис. 3.22).

При МЕС кори мозку (з мінімальною тривалістю імпульсів) щурів із відтвореним станом післякіндлінгу у всіх тварин реєструвалися моторні реакції, за характером та участю м'язів аналогічні таким, що й в кіндлінгових тварин. Тривалість моторних рефлексів при цьому дорівнювала в середньому 47 ± 4 мс, що було співставно з таким показником в кіндлінгових щурів та в 2,55 разів було менше порівняно з таким показником в контрольній серії спостережень ($P < 0,05$). При МЕС кори мозку щурів протягом післякіндлінгу електричними імпульсами тривалістю в 1 сек та 2 сек були відзначені такі ж самі рефлекторні реакції, середній термін маніфестації яких становив 121 ± 11 мс. Останній показник був в 2,57 рази більше, ніж відповідний МЕС з тривалістю імпульсів в 50 мсек ($P < 0,05$) та в в 3,95 рази менше, ніж такий показник в контрольних спостереженнях ($P < 0,001$, Рис. 3.22).

Таким чином, отримані результати свідчать про значне розширення загальної площі КП рухів, які відають скороченням певних груп м'язів передніх кінцівок у щурів із ПКТ кіндлінгом. За даних умов в однаковому ступені зростала площа КП рухів м'язів ПДЧПК, проте, в динаміці післякіндлінгового періоду простежується тенденція щодо зростання КП програмованих рухів у відповідь на МЕС саме м'язами дистальних частин передніх кінцівок.

Розширення площі рухових ділянок кори у кіндлінгових щурів відбувалося в ростральному та латеральному напрямках за рахунок тих ділянок, МЕС яких не спричиняла моторних відповідей в інтактних тварин. Слід зазначити, що збільшення площі КП рухів відбувалося за рахунок приблизно однакового зростання площі ділянок відповідей м'язами ПДЧПК, тобто не йдеться про будь-які специфічні функціональні або реорганізаційні топографічні зміни.

Іншим заслуговуючим увагу результатом, який було отримано, є факт відсутності динаміки зміни площі КП рухів передніх кінцівок у щурів впродовж двотижневого терміну післякіндлінгу, який передбачає насамперед зміни процесів збудливості мозку тварин, а також чутливості дії антиконвульсантів [150]. Факт відсутності редукції або збільшення площі рухових ділянок кори протягом двох тижней після завершення кіндлінгових судомних реакцій засвідчує, що ці зміни є довготривалими і для їх присутності не потрібні зовнішні епілептогенні стимули. Скоріше за все, визначені зміни загальної площі ділянок представництва рухів передніх кінцівок у моторній корі відбулися не в разі розширення морфологічно-обумовлених та підкреплених відповідними кортико-спінальними проєкціями ділянок неокортекса. Ймовірно, ці ділянки, які виділені штрихом на рис. 3.22, є результатом певних функціональних кортикальних реорганізацій, які виникли впродовж хронічної епілептизації мозку завдяки формуванню нових синаптичних зв'язків між нейронами різних утворень.

За матеріалами даного розділу були опубліковані такі роботи:

1. Vastyanov R. S. Role of peptide factors in formation of epileptiform manifestations during picrotoxin-induced kindling in rats / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, A. M. Mazarati, S. V. Vovchuk, K. L. Servetsky, R. S. Vastyanov // *Neurophysiology*. - 1993. - Vol. 25, N 2. - P. 99 - 102.
2. Vastyanov R. S. Chemical Kindling: Implications for Antiepileptic Drugs-Sensitive and Resistant Epilepsy Model / A. A. Shandra, A. M. Mazarati, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov // *Epilepsia*. - 1996. - Vol. 37, N 3. - P. 269 - 274.

3. Shandra A. A. Anticonvulsive Effect of the Cerebrospinal Fluid of Cats With Epileptic Status / A. A. Shandra, L. S. Godlevskii, R. S. Vastyanov // *Neirofiziologiya/ Neurophysiology*. – 1999. - Vol. 31, N 3. – P. 255 – 257
4. Vastyanov R. S. Calcium Channels Participate in the Induction of Status Epilepticus by Kainate in Rats / R. S. Vastyanov // *Neirofiziologiya/ Neurophysiology*. – 2000. - Vol. 32, N 3. - P. 175 - 177.
5. Vastyanov R. S. The role of TNF- α in amygdala kindled rats / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov, A. A. Oleinik, V. L. Konovalenko, E. N. Rapoport, N. N. Korobka // *Neurosci. Res.* – 2002. – Vol. 42. – P. 147–153.
6. Vastyanov R. S. TNF- α in cerebral cortex and cerebellum is affected by amygdalar kindling but not by stimulation of cerebellum / L. S. Godlevsky, A. A. Shandra, A. A. Oleinik, R. S. Vastyanov, V. V. Kostyushov, O. L. Timschishin // *Polish J. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 54. – P. 655-660.
7. Вастьянов Р. С. Вплив фактора некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-1-бета на експериментальний судомний синдром / Р. С. Вастьянов, О. А. Шандра // *Вісник психіатрії та психофармакології*. – 2007. - № 2 (12). – С. 30-38.
8. Вастьянов Р. С. Кіндлінг-спричинені зміни кортикального представництва рухів / Р. С. Вастьянов // *Вестник неотложной и восстановительной медицины*. – 2008. – Т. 9, № 3. – С. 384-386.
9. Вастьянов Р. С. Збільшення площі коркового представництва рухів передніх кінцівок у кіндлінгових щурів / Р. С. Вастьянов // *Український медичний альманах*. – 2009. – Т. 12, № 2, додаток. – С. 31–33
10. Вастьянов Р. С. Дослідження ролі серединних ядер таламуса в механізмах розвитку спонтанних судом / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копйова // *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. – 2011. – №1. – С. 118-120.
11. Вастьянов Р. С. Модуючі впливи окремих прозапальних цитокінів на перебіг судомного синдрому в експерименті / Р. С. Вастьянов, О. А. Шандра // *Український медичний альманах*. – 2011. – Т. 14, № 4 (додаток) . – С. 30–34.
12. Vastyanov R. Cytokines and absence seizures in a genetic rat model / G. van Luijelaar, S. Lyashenko, R. Vastyanov, G. Verbeek, A. Oleinik, C., van Rijn G. Volokhova, A. Shandra, A. Coenen, L. Godlevsky // *Neurophysiology*. – 2012. – Vol. 43, N 6. – P. 478-486.
13. Вастьянов Р. С. Функціональна перебудова та зміна локалізації коркових моторних нейронів в умовах хронічної епілептичної активності

/ Р. С. Вастьянов, О. А. Шандра // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 3, Ч. 1 (59). – С. 51–53.

14. Vastyanov R. The role of cytokines in absence epilepsy / G. Luijtelaar, S. Vychrestyuk, G. Verbeek, R. Vastyanov, A. Shandra, A. Coenen, L. Godlevsky // The WAG/Rij model of absence epilepsy: The Nijmegen – Russian Federation Papers / [Eds. G. Luijtelaar, S. Chepurinov et al.]/. – Nijmegen : Nijmegen Univ. Press, 2004. – P. 199-215.

15. Vastyanov R. S. The role played by the endogenous opioid system in chemical kindling / L. S. Godlevsky, A. A. Shandra, R. S. Vastyanov, A. A. Oleinik, and S. V. Gatsuk // *Epilepsia*. – 1996. - Vol. 37, Suppl. 4. – P. 130–131 (The 2nd European Congress of Epileptology, The Hague, The Netherlands, 1-5 September, 1996 : abstracts)

16. Вастьянов Р. С. Вплив блокади збуджуючих рецепторів на перебіг каїнат-індукованого епілептичного статусу / Р. С. Вастьянов // II міжнародна конференція Української Протиепілептичної Ліги, 11-13 червня, 1998 р., Київ : тези доп. – Київ, 1998. - С. 10.

17. Вастьянов Р. С. Вживання каїнової кислоти з метою відтворення епілептичного статусу: ефекти кетаміну та дельта-сон індукуючого пептиду (ДСП) / Р. С. Вастьянов, С. В. Гатцук // *Фізіологічний журнал*. -1998. -Т. 43, № 3. -С. 21–22 (XV з'їзд Українського фізіологічного товариства, 12–15 травня, 1998 р., Донецьк : тези доп)

18. Vastyanov R. S. The involvement of excitatory aminoacids into the status epilepticus formation / R. S. Vastyanov, A. A. Shandra, L. S. Godlevsky // *Epilepsia*. - 1998. - Vol. 39, Suppl. 2. - P. 95 (The 3rd European Congress of Epileptology, Warsaw, Poland, 24-28 May, 1998 : abstracts)

19. Вастьянов Р. С. Применение вальпроата и дифенилгидантоина в комплексном лечении эпилептического статуса в экспериментальных условиях / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, Р. С. Вастьянов // III Міжнародна конференція Української протиепілептичної Ліги, 27-29 травня, 1999 р., Київ : тези доп. – Київ, 1999. -С.69.

20. Vastyanov R. Seizure-protective effect of valproic acid in conditions of kainic acid-induced status epilepticus in rats / A. Shandra, L. Godlevsky, R. Vastyanov, V. Polyasny, V. Naumovets // *Epilepsia*. 1999. -Vol.40, Suppl. 2. - P. 297 (The 23rd International Epilepsy Congress, Prague, Czech Republic, 12-17 September, 1999 : abstracts)

21. Вастьянов Р. С. Влияние вальпроевой кислоты, дифенилгидантоина и карбамазепина на лечение эпилептического статуса в экспериментальных условиях / Р. С. Вастьянов // *Epilepsy and Clinical Neurophysiology*, EPI'99, 6-10 October, 1999, Ялта-Гурзуф : тези доп. - Ялта-Гурзуф, 1999. - С. 47-48.
22. Вастьянов Р. С. Смісне застосування антагоністів кальцієвих каналів та протисудорожних препаратів у щурів за умов кайнат-індукованого епілептичного статусу / В. В. Наумовець, Р. С. Вастьянов // IV Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, 11-13 травня, 2000 р., Тернопіль : тези доп. - Тернопіль, 2000. - С. 334-335.
23. Вастьянов Р. С. Вплив сумісного застосування німотопу та вальпроату на розповсюдження судорожної активності у щурів за умов пілокарпін-викликаного епілептичного статусу / Р. С. Вастьянов, В. В. Наумовець // Сучасні аспекти лікування епілепсії : науково-практична конференція з міжнародною участю, 11-13 квітня, 2001 р., Одеса : тези доп. - Одеса, 2001. – С. 11.
24. Вастьянов Р. С. Вплив блокади кальцієвих каналів на розповсюдження судомної активності у щурів за умов викликаного пілокарпіном епілептичного статусу / Р. С. Вастьянов, В. В. Наумовець // *Фізіологічний журнал*. – 2002. – Т. 48, № 2. – С. 49-50 (XIV з'їзд Українського фізіологічного товариства, 28–30 травня, 2002 р., Вінниця : тези доп).
25. Vastyanov R. Calcium channels blockade improves pilocarpine-induced status epilepticus // *Epilepsia*. - 2002. - Vol. 43, Suppl. 8. - P. 80-81 (The 5th European Congress of Epileptology, Madrid, Spain, 6-10 October, 2002 : abstracts).
26. Вастьянов Р. С. Методика картирования моторных зон в коре больших полушарий крыс с последующей классификацией и дифференциацией спайков в условиях внеклеточной регистрации активности мотонейронов / А. А. Олейник, Р. С. Вастьянов // *Физиология и здоровье человека : I съезд физиологов СНГ, Сочи, Дагомыс, 19-23 сентября 2005 : научные труды.. – Сочи, Дагомыс, 2005. – Т. 2. – С. 37.*
27. Vastyanov R. Brain cortex involvement in chronic epileptisation in pilocarpine treated rats / R. Vastyanov, A. Oleynik // *Epilepsia*. – 2006. - Vol. 47, Suppl. 3. – P. 72–73 (The 7th European Congress of Epileptology, Helsinki, Finland, 2–6 July, 2006 : abstracts)

28. Вастьянов Р. С. Вивчення активності нейронів премоторної ділянки кори великих півкуль щурів: можливість застосування методів лінійної алгебри та векторних операцій / Р. С. Вастьянов, П. Ферарі, Л. Фогасі, Д. Різзолаті, А. А. Олійник, Л. Фадіга, К. Боніфацці // Фізіологічний журнал. – 2006. – Т. 52, № 2. – С. 26 (XVII з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвячений 125-річчю з дня народження академіка О.О.Богомольця, 18-20 травня 2006 р., Чернівці : тези доп.)
29. Вастьянов Р. С. Розширення коркової топографії рухів в умовах пікротоксин-індукованого кіндлінга в щурів / Р. С. Вастьянов, О. А. Шандра, П.-Ф. Феррарі, Л. Фогассі, Дж. Різзолаті // Патологія. – 2008. - Т. 5, № 2. - С. 74 (Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів : V національний Конгрес патофізіологів України з міжнародною участю, 17-19 вересня 2008 р., Запоріжжя : тези доп.).
30. Вастьянов Р. С. Ускладнення типів рухової відповіді при мікроелектростимуляції моторної ділянки кори мозку кіндлінгових щурів / Р. С. Вастьянов // Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі та патології : IV міжнародна наукова конференція, присвячена 90-річчю від дня народження П. Г. Богача, 8-10 жовтня 2008 р., Київ : тези доп. – Київ, 2008. - С. 51-52.
31. Вастьянов Р. С. Особенности развития киндлинговых судорог у крыс разного возраста / О. А. Красильник, Р. С. Вастьянов, А. А. Шандра // Физиология и здоровье человека : II съезд физиологов СНГ, Кишинэу, Молдова, 29-31 октября 2008 : научные труды.. – Москва – Кишинэу : Медицина – Здоровье, 2008. – С. 83.
32. Вастьянов Р. С. Ускладнення характеру рефлекторної відповіді при збільшенні терміну мікроелектростимуляції моторної ділянки кори головного мозку / Р. С. Вастьянов // Фізіологічний журнал.- 2010.-№ 2.- С. 252 - 253 26 (XVIII з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, 20-22 травня 2010 р., Одеса : тези доп.)
33. Вастьянов Р. С. Роль некоторых цитокинов в патогенетических механизмах резистентной эпилепсии / Р. С. Вастьянов, С. Л. Ляшенко, А. А. Шандра // Физиология и здоровье человека : III съезд физиологов СНГ, Ялта 1–6 октября 2011 : научные труды. – Москва – Ялта : Медицина – Здоровье, 2011. – С. 40.

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА КОМПЛЕКСНОЇ ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОЇ ЕПІЛЕПТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ

4. 1. Вплив дельта-сон індукуючого пептиду та його аналогів на гострі та хронічні форми епілептичної активності

Дельта-сон індукуючий пептид (ДСІП), синтезований як сполука, що здатна індукувати сон, привернув до себе увагу фахівців як модулятор різних функціональних станів організму [428]. ДСІП індукував антиноцицептивні впливи, які були незалежні від дії налоксону [429]. Встановлені різноманітні ефекти ДСІП на активність нейромедіаторних систем мозку, зокрема, показано збільшення вмісту гомокарнозину та ГАМК, а також зменшення рівня глутамінової кислоти протягом 7 год з моменту введення пептиду [430, 431]. Фахівці висловлюють думку про те, що ДСІП в найбільшому ступені ефективний при відхиленнях певних параметрів гомеостазу від норми [430-434], що підтверджується показаними ефектами пептиду за умов порушення циклу сон-неспання за умов різних форм стресу, за умов судомного синдрому, при пухлинному рості т.і. Причому за всіх вказаних вище умов впливи пептиду є відновлюючими [430, 432, 435]. Подібна особливість пептиду дозволила прийти висновку, що ДСІП може являти собою універсальний адаптоген [436]. З іншого боку, подібне припущення свідчить про важливе значення ДСІП-обумовлених механізмів як патогенетичного компонента формування різних нейропатологічних синдромів [437].

На моделях моно- та багатоосередкової форми ЕпА, індукованої аплікаціями на кору мозку тварин різних видів (щери, кошки) розчинів стрихніну, пеніциліну, було доведено протиепілептичну дію ДСІП [432, 438, 439]. Показано також, що системне застосування ДСІП виявляє протиепілептичну дію за умов гострих генералізованих та хронічних форм

судомного синдрому. Таким чином, зважаючи на викладене вище, до завдання цієї частини роботи входило дослідження ефектів ДСПІ за умов кіндлінг-викликаної судомної активності, а також встановлення механізмів реалізації протективної дії пептиду. Для досягнення мети роботи ДСПІ вводили внутрішньонігрально (в ретикулярну частину), зважаючи на показану провідну роль чорної речовини в реалізації протисудомних ефектів пептиду [440].

Застосування пікротоксину викликало в корі та підкоркових утвореннях інтактних щурів (хвостаті ядра, гіпокамп та ретикулярна частині чорної речовини) через 15-20 хв появу стійкої епілептиформної електрографічної активності у вигляді розрядів частотою 0,5-2,0 за с і амплітудою від 20 мкВ до 1,0 мВ (Рис. 4.1, А).

Після білатерального внутрішньонігрального введення ДСПІ (10 нмоль препарату розчиняли в 1,0 мкл 0,9 % фізіологічного розчину) у 4 із 8 спостережень вже через 3-7 хв у хвостатих ядрах, гіпокампі та ретикулярній частині чорної речовини відмічалось пригнічення спайкових потенціалів, які замінювалися спайк-хвильовими комплексами тривалістю 2-4 с. частота слідування потенціалів в цих комплексах складала від 6 до 12 за с, а їх амплітуда дорівнювала 200-500 мкВ (Рис. 4.1, Б). В цей період в корі головного мозку відмічалися спайкові розряди частотою 10-50 розрядів за хв з амплітудою від 200 до 800 мкВ (Рис. 4.1, Б, 2). Ще через 6-8 хв у всіх досліджуваних структурах реєстрували спайк-хвильові комплекси тривалістю від 2 до 7 с і амплітудою окремих розрядів до 0,5-1,0 мВ (Рис. 4.1, В). Подібна електрографічна активність спостерігалась ще протягом 3-5 хв, після чого протягом 10-25 хв відмічалися зниження вираженості та частоти епілептичних розрядів та повне їх зникнення (Рис. 4.1, Г). В 6 із 7 контрольних спостережень в цей період часу все ще реєструвалася генералізована ЕпА.

Отже, внутрішньонігральне застосування ДСПІ спричиняє вірогідне пригнічення тривалості існування ЕпА, індукованої в структурах мозку системним введенням пікротоксину.

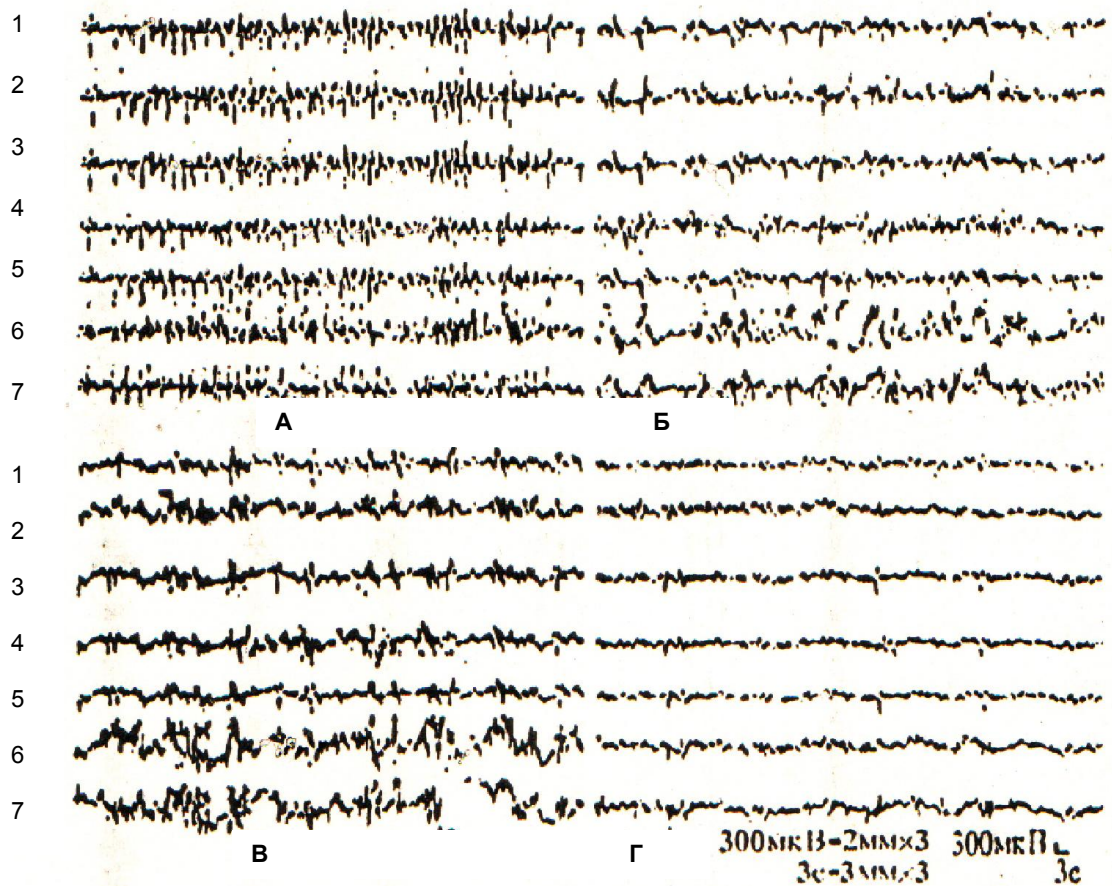


Рис. 4.1. Електрографічна картина впливу внутрішньонігрального введення ДСІП на динаміку генералізованої епілептичної активності, індуковану в/очер застосуванням пікротоксину

Позначення: 1-7. відповідно, лобові відділи лівої та правої півкулі кори мозку, ліве та праве хвостате ядро, лівий та правий вентральний гіпокамп, ретикулярна частина чорної речовини.

А – через 21 хв після введення пікротоксину (2,0 мг/кг, о/очер); Б – через 26 хв після введення пікротоксину та 2,5 хв після білатерального внутрішньонігрального введення ДСІП (10 нмоль); В – через 12,5 хв після Б; Г – через 22 хв після Б.

Відмітка часу - 3 с/3 мм. Калібровка: 300 мкВ/2мм.

В подальшому вивчали вплив попереднього внутрішньонігрального введення ДСІП на вираженість ЕПА, яку індукували в/очер введенням різних конвульсантів. Гострі пікротоксин-індуковані судоми в щурів із завчасно внутрішньонігрально введеним ДСІП характеризувалися розвитком

клонічних здригань м'язів тулубу та верхніх кінцівок в 1 щура із 7, в 2 щурів зареєстровані були ледве помітні здригання верхніх кінцівок, в 4 щурів судомні прояви були відсутні. Інтенсивність судом за таких умов була суттєво менше, ніж відповідний показник в контрольній групі щурів ($P < 0,001$, табл. 4.1). Латентний період перших пікротоксин-індукованих судом за таких умов дорівнював $18,6 \pm 1,7$ хв, що було на 46 % більше, ніж такий показник в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$).

Коразол-спричинені судомні на тлі завчасного внутрішньонігрального введення ДСІП характеризувалися розвитком клонічних скорочень м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок з підйомом тварин на задні лапи (т.з. «поза кенгуру») в 4 щурів із 7. В 2 щурів відзначалися клонічні скорочення м'язів тулубу та передніх кінцівок, в 1 щура реєструвалися клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок. При цьому середня інтенсивність коразол-індукованих судом за таких умов була суттєво менше відповідного показника в контрольній серії дослідів, де в 6 щурів із 9 реєструвалися генералізовані клоніко-тонічні напади (в 1 щура – повторні) з падінням на бік, вегетативними розладами та післянападовою депресією ($P < 0,01$, табл. 4.1). Латентний період перших коразол-спричинених судом за таких умов дорівнював $2,2 \pm 0,2$ хв, що було на 67 % більше порівняно з таким показником в контролі ($P < 0,05$).

Стрихнін-індуковані судомні на тлі завчасного внутрішньонігрального введення ДСІП характеризувалися розвитком генералізованих клоніко-тонічних нападів в 6 щурів із 7 (в 1 щура – повторні) з падінням на бік, вегетативними розладами та післянападовою депресією. Подібна інтенсивність стрихнін-індукованих судом під впливом ДСІП співпадала з відповідною в контрольній групі щурів, де генералізовані клоніко-тонічні напади реєструвалися в 5 щурів із 6 (в 1 щурів – повторно). Латентний період перших стрихнін-спричинених судом за таких умов дорівнював $4,1 \pm 1,3$ хв, що було на 4,7 % менше порівняно з таким показником в контролі, який становив $4,3 \pm 0,9$ ($P > 0,05$).

Таблиця 4.1.

Вплив внутрішньонігального введення ДСП на вираженість гострих генералізованих та хронічних судом, індукованих різними конвульсантами в щурів

Дослідні групи	Число щурів	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем	Латентний період судом, M±m, хв.
		0	1	2	3	4	5		
1. Контроль, фізіологічний розчин (в/очер) + пікротоксин	11	0	0	0	1	7	3	-	12,8±1,3
2. ДСП + пікротоксин	7	4	2	1	0	0	0	<0,001	18,6±1,7*
3. Контроль + коразол	9	0	0	0	3	5	1	-	1,3±0,2
4. ДСП + коразол	7	0	1	2	4	0	0	<0,01	2,2±0,2*
5. Контроль + стрихнін	6	0	0	0	1	3	2	-	4,3±0,9
6. ДСП + стрихнін	7	0	0	0	1	5	1	>0,05	4,1±1,3
7. Контроль, пікротоксиновий кіндлінг	8	0	0	0	4	3	1	-	14,3±1,5
8. ДСП + кіндлінг	7	0	3	4	0	0	0	<0,001	17,6±1,6*

Примітка: вірогідні розбіжності інтенсивності судом обраховували за допомогою статистичного критерію Крушквал-Валліс.

* - P<0,05 - вірогідні розбіжності латентного періоду судом порівняно з аналогічними показниками в контрольних групах щурів (статистичний критерій АНОВА).

Тестуюче використання пікротоксину кіндлінговим щурам, яким попередньо в ретикулярну частину чорної речовини вводили ДСП, викликало судомні здригання м'язів тулубу та передніх кінцівок у 4 щурів із

7 та окремі клонічні судоми в решти щурів. Інтенсивність судом при цьому була значно менше відповідного показника в контрольній серії дослідів ($P < 0,001$). Латентний період перших пікротоксин-індукованих судом в кіндлінгових щурів дорівнював $17,6 \pm 1,6$ хв, що було на 23 % більше, ніж відповідний показник в контролі ($P < 0,05$, табл. 4.1).

Завданням подальших дослідів стало додаткове вивчення ефектів внутрішньонігрального введення аналогів ДСП – ДСП-1 – ДСП-4 – на вираженість пікротоксин-індукованих судом. В контрольній серії спостережень перші судомні реакції в щурів виникали в середньому через $22,1 \pm 1,0$ хв. Їх інтенсивність підсилювалася протягом наступних 10-15 хв, і за такий термін в 15 щурів із 17 розвинулися генералізовані судомні напади, середній латентний період яких становив $35,0 \pm 1,4$ хв (Рис. 4.2).

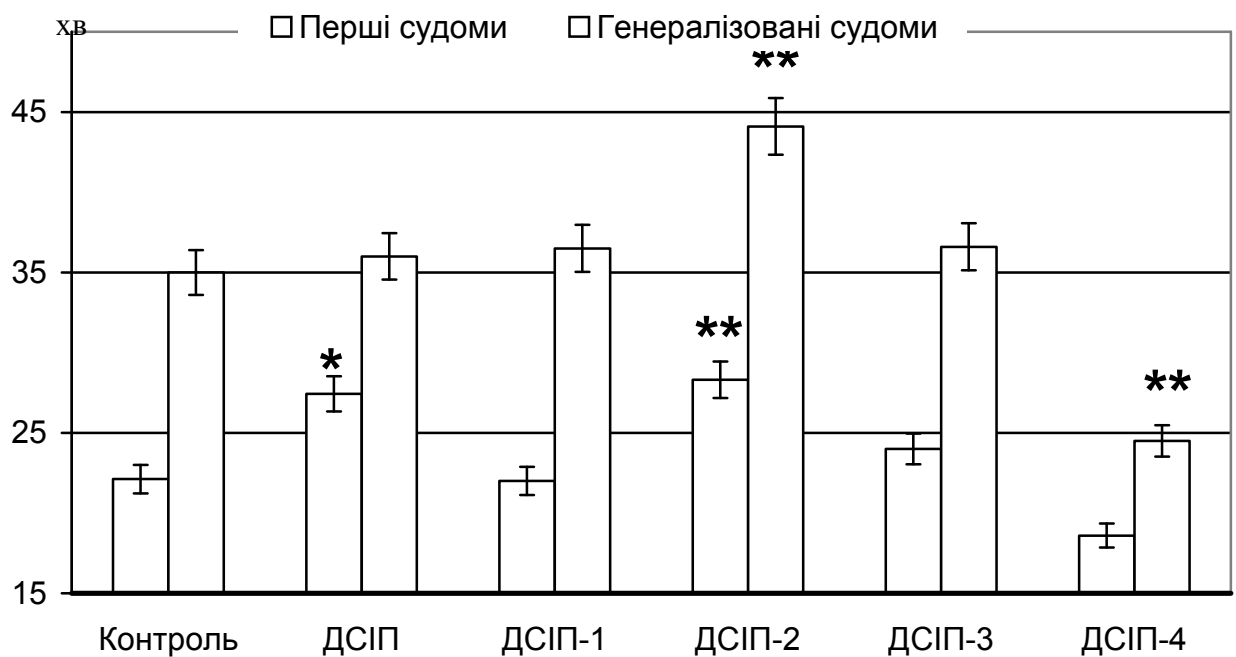


Рис. 4.2. Вплив внутрішньонігрального введення ДСП та його аналогів ДСП-1 – ДСП-4 на пікротоксин-індуковані судоми.

За віссю ординат – латентні періоди перших та генералізованих клоніко-тонічних судом.

Примітки: * - $P < 0,05$ та ** - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

В решті щурів відзначалися клонічні скорочення м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок з підйомом тварин на задні лапи (т.з. «поза кенгуру»). Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи дорівнювала $4,0 \pm 0,1$ бали (Рис. 4.3).

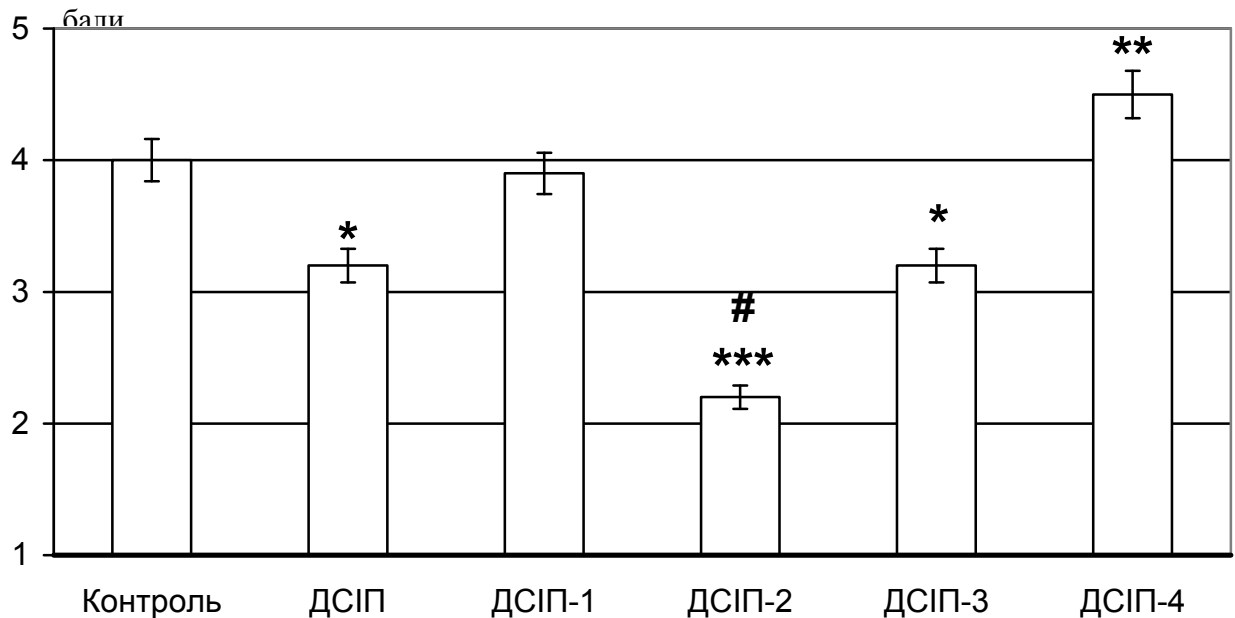


Рис. 4.3. Вплив внутрішньонігрального введення ДСІП та його аналогів ДСІП-1 – ДСІП-4 на інтенсивність пікротоксин-індукованих судом.

Примітки: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$ та *** - $P < 0,001$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи (критерій Kruscall-Wallis).

- $P < 0,05$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в групі щурів із в/нігральним введенням ДСІП (критерій Kruscall-Wallis).

Застосування конвульсанту в щурів, яким внутрішньонігрально вводили ДСІП, супроводжувалося формуванням судомних здригань, лантений період яких суттєво (на 24 %, $P < 0,05$) перевищував відповідний контрольний показник. Судомні генералізовані клоніко-тонічні напади розвинулися в 6 щурів із 13 в групі, в 3 щурів були клонічні скорочення м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок з підйомом тварин на задні лапи, 4 щури демонстрували клонічні судоми всього тулубу та передніх кінцівок. Латентний період генералізованих судом дорівнював $36,1 \pm 3,2$ хв, що було на 3,1 % більше при порівнянні з відповідним показником в контрольній серії спостережень

($P > 0,05$; Рис. 5.6). Середня вираженість судомних реакцій була на 20 % менше такого показника у тварин контрольної групи ($P < 0,05$, Рис. 4.3).

Досліджувані показники латентних періодів перших судом та генералізованих клоніко-тонічних пікротоксинг-індукованих судом в щурів із внутрішньонігральним уведенням ДСП-1 дорівнювали $22,1 \pm 2,1$ хв та $36,5 \pm 3,1$ хв, відповідно, що було співставно з такими показниками в щурів контрольної групи ($P > 0,05$, Рис. 4.2). В 10 щурів із 12 за таких умов розвивалися генералізовані клоніко-тонічні напади (в 2 щурів – повторні), в 2 щурів були клонічні скорочення м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок з підйомом тварин на задні лапи. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи становила $3,9 \pm 0,3$ бали, що статистично не відрізнялося від такого показника в щурів контрольної групи ($P > 0,05$, Рис. 4.3).

Введення пікротоксину щурам, яким до чорної речовини робили мікроін'єкцію ДСП-2, індукувало розвиток перших судомних проявів, латентний період яких становив $28,1 \pm 2,6$ хв, що було на 27 % більше, ніж в контролі ($P < 0,01$, Рис. 4.2). У 2 із 9 тварин розвивалися клоніко-тонічні судомні напади, латентний період яких дорівнював $44,1 \pm 3,6$ хв, що на 26 % перевищувало відповідний показник в контрольних спостереженнях ($P < 0,01$). У решти щурів відзначалися поодинокі клонічні судоми, їх середня інтенсивність була вдвічі менше при порівнянні з таким показником в щурів контрольної групи ($P < 0,001$). Інтенсивність судом в щурів цієї групи також була суттєво менше порівняно з відповідним показником в щурів із в/нігральним введенням ДСП ($P < 0,05$, Рис. 4.3).

Під впливом внутрішньонігральної мікроін'єкції ДСП-3 в щурів відзначався розвиток клонічних (в 7 щурів із 11) та клоніко-тонічних судом (в 4 щурів із 11), латентні періоди яких були співставні з такими показниками в контрольних спостереженнях. Середня інтенсивність судом за таких умов дорівнювала $3,2 \pm 0,2$ бали, що було менше (на 17 %) такого показника в щурів контрольної групи ($P < 0,05$, Рис. 4.3).

Перші пікротоксин-індуковані судом в щурів, яким здійснювали внутрішньонігральну мікроін'єкцію ДСП-4, реєструвалися на $18,6 \pm 2,3$ хв, що було на 15 % менше відповідного показника в контролі, проте не набуло статистичної значущості ($P > 0,05$). У тварин відзначали збільшення інтенсивності судомних проявів, в них розвивалися генералізовані клоніко-тонічні судомні напади, які в 5 щурів із 8 спостерігалися повторно. Латентний період максимальних судом був в 1.5 рази менше порівняно з таким показником в контролі ($P < 0,01$, Рис. 4.4). Середня інтенсивність судом в щурів за таких умов досліду була значно більше, ніж в контролі ($P < 0,01$, Рис. 4.3).

Завданням подальших дослідів стало додаткове вивчення ефектів внутрішньонігрального введення аналогів ДСП – ДСП-9 – ДСП-14 – на вираженість пікротоксин-індукованих судом.

Під впливом внутрішньонігральної мікроін'єкції ДСП-9 в щурів відзначався розвиток клонічних (в 9 щурів із 12) та клоніко-тонічних судом (в 3 щурів), латентний період яких був співставий з таким показником в контролі ($P > 0,05$, Рис. 4.4). Середня інтенсивність судом за таких умов дорівнювала $4,0 \pm 0,2$ бали, що також не розбігалось з таким показником у щурів контрольної групи ($P > 0,05$, Рис. 4.5).

Латентний період перших пікротоксин-індукованих судом в щурів із внутрішньонігральної мікроін'єкцією ДСП-10 дорівнював $28,3 \pm 2,7$ хв, що на 33 % перевищувало такий показник в контролі, проте не набуло статистичної значущості ($P > 0,05$, Рис. 4.4). В переважній більшості щурів цієї групи пікротоксин індукував генералізовані клоніко-тонічні судомні, які в 2 щурів із 9 мали повторний характер. Середня інтенсивність судом становила $3,8 \pm 0,3$ бали, що також не відрізнялося від такого контрольного показника ($P > 0,05$, Рис. 4.5).

Перші пікротоксин-індуковані судом в щурів, яким здійснювали внутрішньонігральну мікроін'єкцію ДСП-11, реєструвалися на $24,1 \pm 2,2$ хв, що не відрізнялося від такого контрольного показника ($P > 0,05$). У тварин

розвивалися генералізовані клоніко-тонічні судомні напади, які в 1 щурів із 9 спостерігалися повторно. Середня інтенсивність судом в щурів за таких умов становила $3,9 \pm 0,3$ бали ($P > 0,05$, Рис. 4.5).

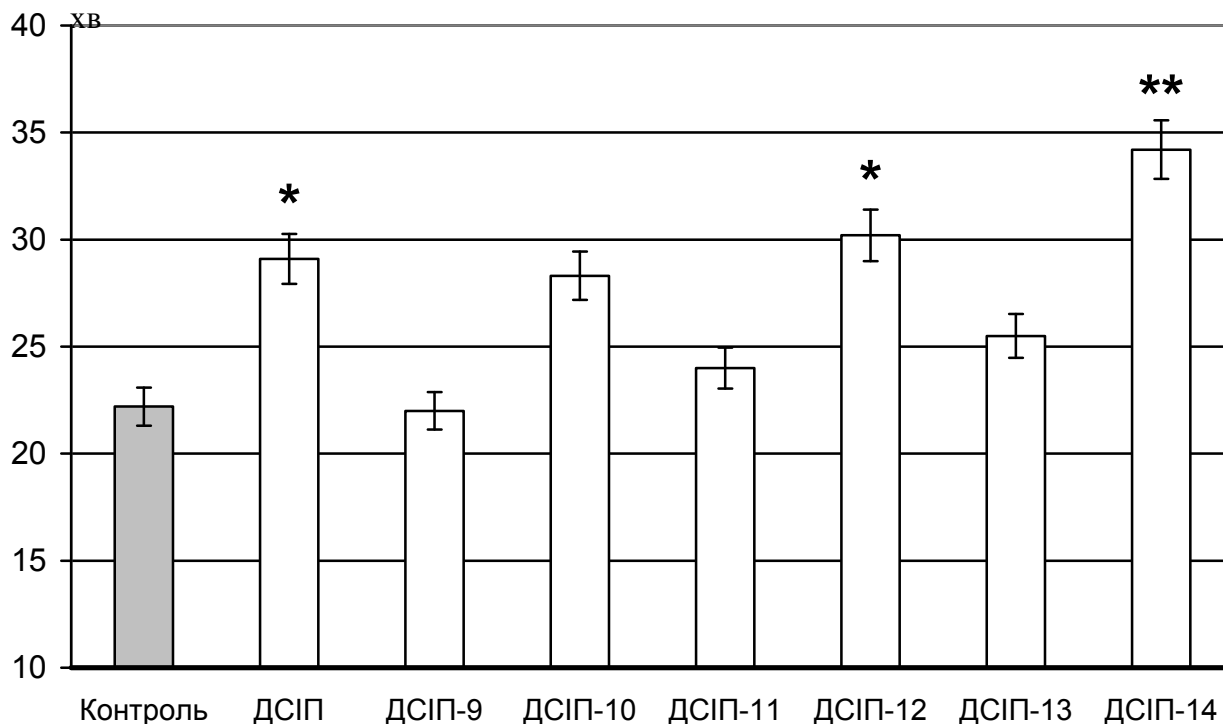


Рис. 4.4. Вплив внутрішньонігрального введення ДСІП та його аналогів ДСІП-9 – ДСІП-14 на тривалість латентного періоду пікротоксин-індукованих судом.

Примітки: * - $P < 0,05$ та ** - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

Введення пікротоксину щурам, яким до чорної речовини робили мікроін'єкцію ДСІП-12, індукувало розвиток перших судомних проявів, латентний період яких становив $30,2 \pm 2,7$ хв, що було на 43 % більше, ніж в контролі ($P < 0,05$, Рис. 4.4). У 1 із 10 тварин розвивався клоніко-тонічний напад. У решти щурів відзначалися поодинокі клонічні судоми, їх середня інтенсивність була в 4 рази менше при порівнянні з таким показником в щурів контрольної групи ($P < 0,01$). Інтенсивність судом в щурів цієї групи також була суттєво менше порівняно з відповідним показником в щурів із в/нігральним введенням ДСІП ($P < 0,05$, Рис. 4.5).

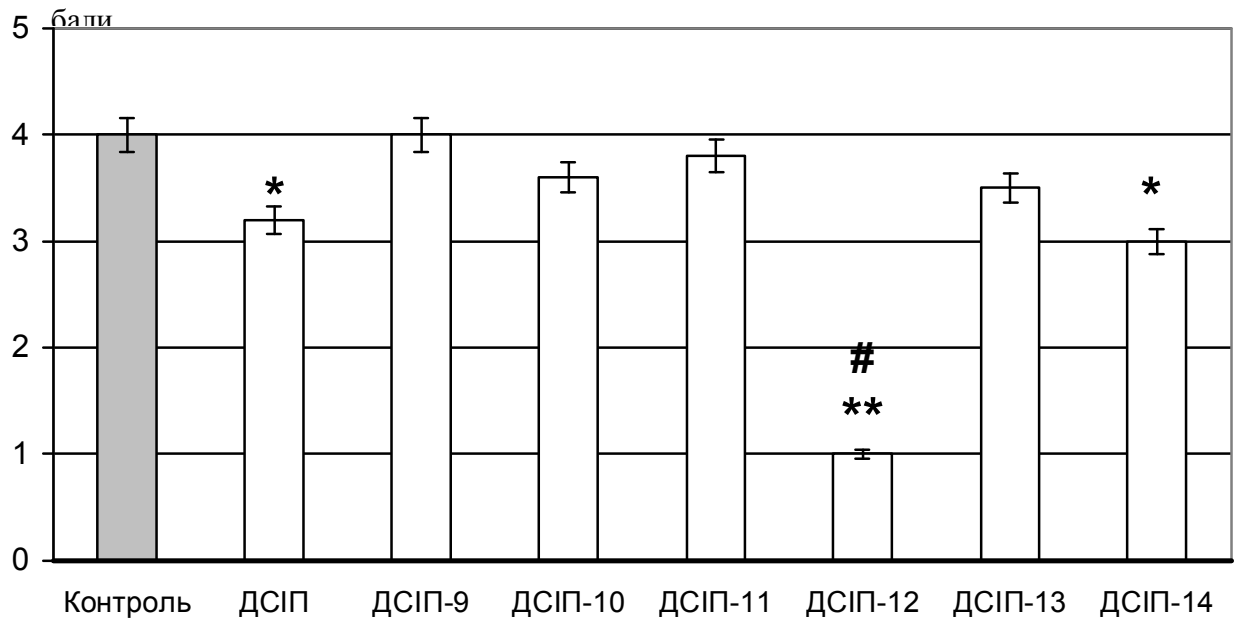


Рис. 4.5. Вплив внутрішньонігрального введення ДСП та його аналогів ДСП-9 – ДСП-14 на інтенсивність пікротоксин-індукованих судом.

Примітки: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$ та *** - $P < 0,001$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи (критерій Kruscall-Wallis).

- $P < 0,05$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в групі щурів із в/нігральним введенням ДСП (критерій Kruscall-Wallis).

Під впливом внутрішньонігральної мікроін'єкції ДСП-13 в щурів відзначався розвиток клонічних (в 6 щурів із 10) та клоніко-тонічних судом (в 4 щурів), латентний період яких був співставний з такими показниками в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$, Рис. 4.4). Середня інтенсивність судом за таких умов також не відрізнялася суттєво від такого показника в щурів контрольної групи ($P > 0,05$, Рис. 4.5).

Перші пікротоксин-індуковані судоми в щурів, яким здійснювали внутрішньонігральну мікроін'єкцію ДСП-14, реєструвалися на $34,2 \pm 2,9$ хв, що було на 61 % більше відповідного показника в контролі ($P < 0,01$, Рис. 4.4). Середня інтенсивність судом в щурів за таких умов дослідження дорівнювала $3,0 \pm 0,3$ бали, що було менше, ніж в контролі ($P < 0,05$, Рис. 4.5).

Для остаточного виявлення профілю протисудомної дії ДСП та його аналогів – ДСП-9 – ДСП-14 – було проведено низку спостережень за

щурами за умов внутрішньогіпокампального введення пептидів при індукції судомної активності пікротоксином.

В контрольній серії спостережень перші судомні реакції в щурів виникали в середньому через $21,5 \pm 1,7$ хв (Рис. 4.6). В 11 щурів із 14 розвинулися генералізовані судомні напади, в решті щурів відзначалися клонічні скорочення м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок з підйомом тварин на задні лапи (т.з. «поза кенгуру»). Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи дорівнювала $4,0 \pm 0,2$ бали (Рис. 4.7).

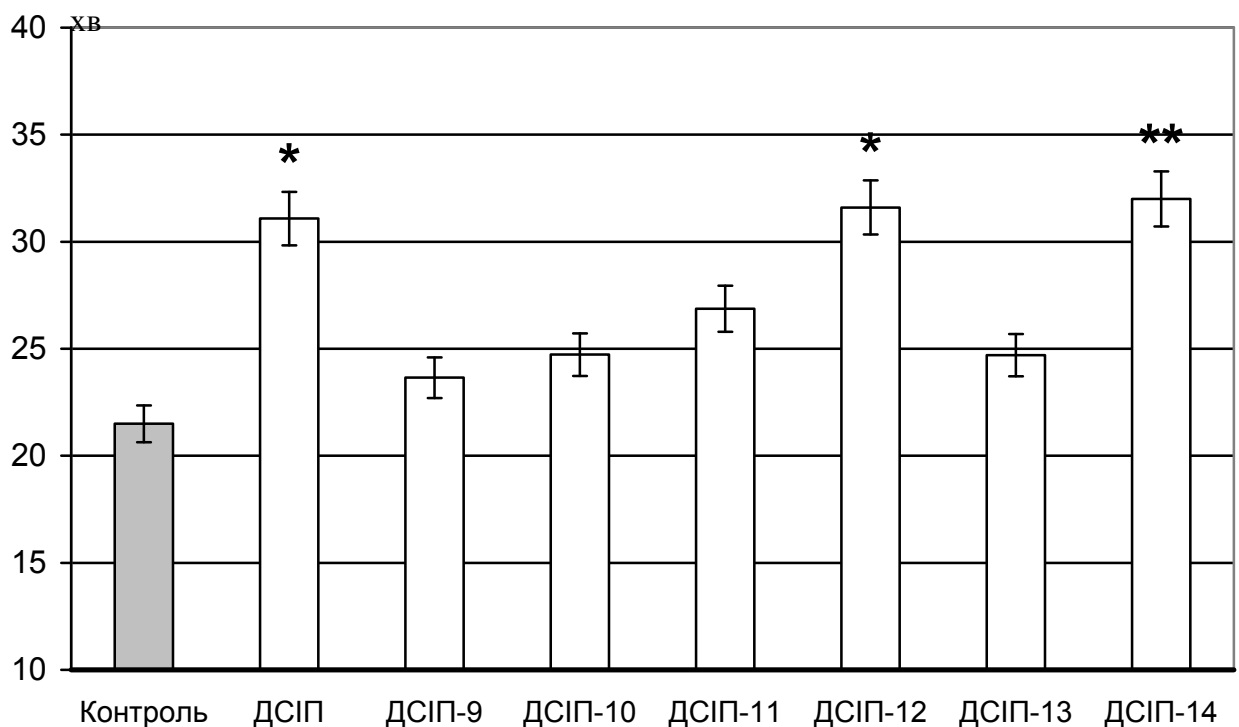


Рис. 4.6. Вплив внутрішньогіпокампального введення ДСІП та його аналогів ДСІП-9 – ДСІП-14 на тривалість латентного періоду пікротоксин-індукованих судом.

Примітки: * - $P < 0,05$ та ** - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

Застосування конвульсанту в щурів, яким внутрішньогіпокампально вводили ДСІП, супроводжувалося формуванням судомних здригань, латентний період яких суттєво (на 45 %, $P < 0,05$) перевищував відповідний контрольний показник. Судомні генералізовані клоніко-тонічні напади

розвинулися в 4 щурів із 9 в групі, в 2 щурів були клонічні скорочення м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок з підйомом тварин на задні лапи, 3 щури демонстрували клонічні судоми всього тулубу та передніх кінцівок. Середня вираженість судомних реакцій становила $3,2 \pm 0,2$ бали та була менше, ніж у тварин контрольної групи ($P < 0,05$, Рис. 4.7).

Під впливом внутрішньогіпокампальної мікроін'єкції ДСП-9 в щурів відзначався розвиток клонічних (в 2 щурів із 11) та клоніко-тонічних судом (в 9 щурів), латентний період яких був співставний з таким показником в контролі ($P > 0,05$, Рис. 4.6). Середня інтенсивність судом за таких умов дорівнювала $4,0 \pm 0,2$ бали, що також не розбігалось з таким показником у щурів контрольної групи ($P > 0,05$, Рис. 4.7).

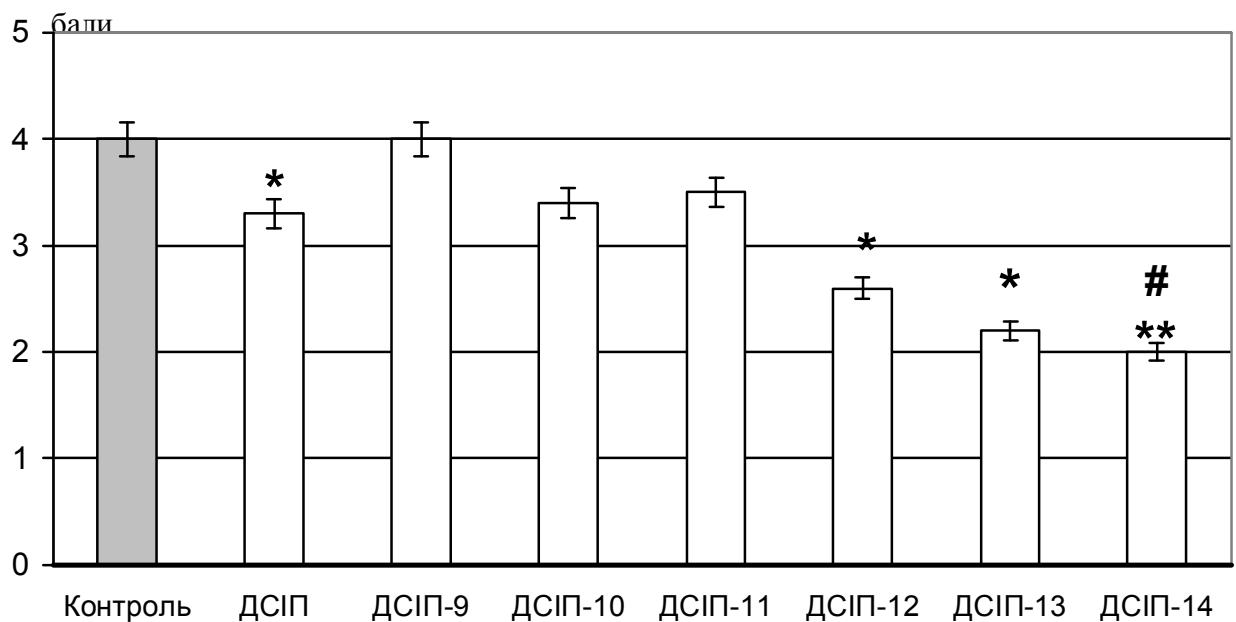


Рис. 4.7. Вплив внутрішньогіпокампального введення ДСП та його аналогів ДСП-9 – ДСП-14 на інтенсивність пікротоксин-індукованих судом.

Примітки: * - $P < 0,05$ та ** - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи (критерій Kruskal-Wallis).

- $P < 0,05$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в групі щурів із в/нігральним введенням ДСП (критерій Kruskal-Wallis).

Латентний період перших пікротоксин-індукованих судом в щурів із внутрішньогіпокампульної мікроін'єкцією ДСП-10 дорівнював $24,7 \pm 2,3$ хв, що на 16 % перевищувало такий показник в контролі, проте не набуло статистичної значущості ($P > 0,05$, Рис. 4.6). В переважній більшості щурів цієї групи пікротоксин індукував генералізовані клоніко-тонічні судоми, які в 2 щурів із 9 мали повторний характер. Середня інтенсивність судом становила $3,8 \pm 0,2$ бали, що також не відрізнялося від такого контрольного показника ($P > 0,05$, Рис. 4.7).

Перші пікротоксин-індуковані судоми в щурів, яким здійснювали внутрішньогіпокампульну мікроін'єкцію ДСП-11, реєструвалися на $26,9 \pm 2,6$ хв, що не відрізнялося від такого контрольного показника ($P > 0,05$). У тварин розвивалися генералізовані клоніко-тонічні судомні напади, які в 2 щурів із 9 спостерігалися повторно. Середня інтенсивність судом в щурів за таких умов становила $3,9 \pm 0,3$ бали ($P > 0,05$, Рис. 4.7).

Введення пікротоксину щурам, яким у вентральний гіпокамп робили мікроін'єкцію ДСП-12, індукувало розвиток перших судомних проявів, латентний період яких становив $31,6 \pm 2,9$ хв, що було на 49 % більше, ніж в контролі ($P < 0,05$, Рис. 4.6). У 1 із 9 тварин розвивався клоніко-тонічний напад. У решти щурів відзначалися поодинокі клонічні судоми, їх середня інтенсивність становила $2,6 \pm 0,2$ бали та була менше при порівнянні з таким показником в щурів контрольної групи ($P < 0,05$).

Під впливом внутрішньогіпокампульної мікроін'єкції ДСП-13 в щурів відзначався розвиток клонічних (в 7 щурів із 9) та клоніко-тонічних судом (в 2 щурів), латентний період яких був співставний з таким показником в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$, Рис. 4.6). Середня інтенсивність судом за таких умов становила $2,2 \pm 0,2$ бали та виявилася менше порівняно з таким показником в контролі ($P < 0,05$, Рис. 4.7).

Перші пікротоксин-індуковані судоми в щурів, яким здійснювали внутрішньогіпокампульну мікроін'єкцію ДСП-14, реєструвалися на $32,1 \pm 3,1$ хв, що було на 51 % більше відповідного показника в контролі ($P < 0,01$, Рис.

4.6). Середня інтенсивність судом в щурів за таких умов досліджування дорівнювала $2,0 \pm 0,2$ бали, що також було менше, ніж в контролі ($P < 0,01$). Інтенсивність судом в щурів цієї групи виявилася суттєво меншою порівняно з відповідним показником в щурів із в/гіпокампальним введенням ДСІП ($P < 0,05$, Рис. 4.7).

Додатково до цього визначали ефективність ДСІП в аспекті його впливу на розвиток хронічного судомного синдрому за умов відтворення кіндлінгу. Після 1-го введення епілептогену судомні прояви щурів в обох досліджуваних групах суттєво не розрізнялися ($P > 0,05$; Рис. 4.8).

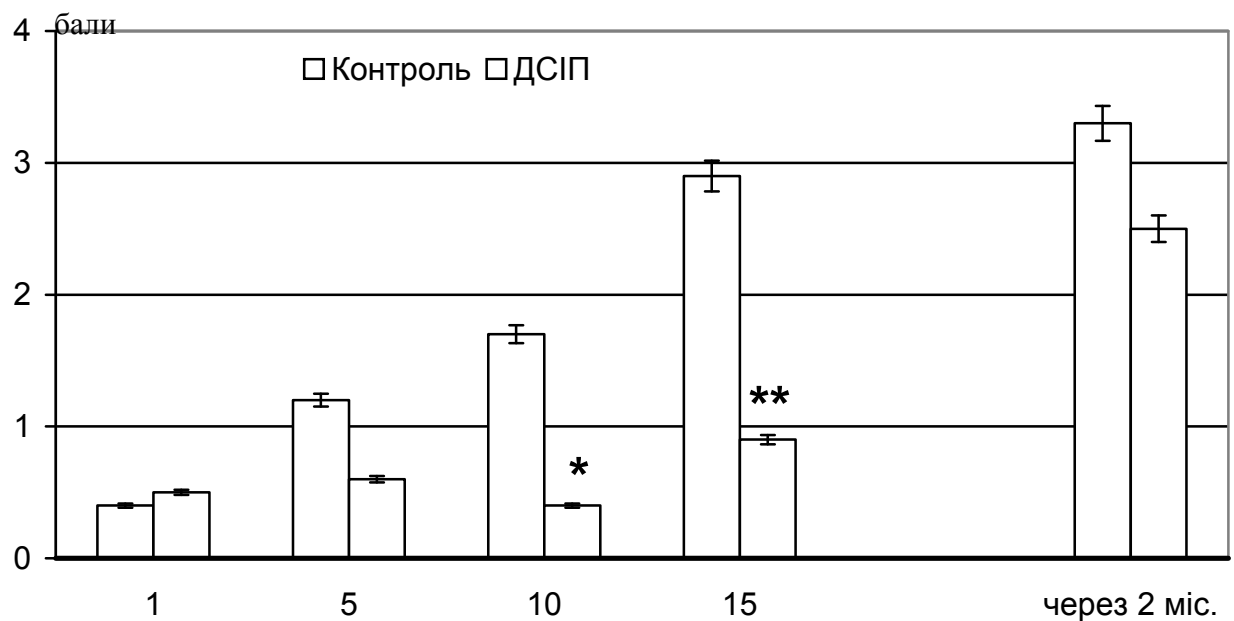


Рис. 4.8. Вплив ДСІП на формування судомного кіндлінг-синдрому

Позначення: за віссю абсцис – введення епілептогену.

Примітки: * - $P < 0,05$ та ** - $P < 0,01$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів відповідної контрольної групи, означеної світлим кольором (критерій Kruscall-Wallis).

Після 5-го введення епілептогену 4 із 8 в групі із введеним ДСІП були відзначені судомні реакції у вигляді міоклонічних здригань та клонічних скорочень м'язів передніх кінцівок. Інтенсивність судом не відрізнялася від такого показника в контрольній групі щурів (без введення ДСІП, $P > 0,05$; Рис. 4.8).

Середня інтенсивність судом в групі щурів із введенням ДСП була втричі менше порівняно з відповідним показником в щурів без введеного пептиду ($P < 0,05$). За таких умов в більшості щурів реєструвалися судомні здригання та міоклонічні скорочення, на противагу чого у 100 % щурів контрольної групи відзначалися клонічні скорочення м'язів тулубу та передніх кінцівок.

У відповідь на 15-е введення еплептогену середня інтенсивність судом в групі щурів, яким в/нігрально вводили ДСП, дорівнювала $0,95 \pm 0,12$ бали, що також втричі було менше відповідного показника в групі щурів без введення ДСП ($P < 0,01$, Рис. 4.8).

Через 2 місяці по закінченню відтворення кіндлінга та повторних введень ДСП тестуюче застосування епілептогену спричиняло розвиток судом, інтенсивність яких була співставною в обох досліджуваних групах ($P > 0,05$; Рис. 4.8).

З метою з'ясування механізмів реалізації протисудомної дії ДСП були проведені наступні дослідження із визначенням ефективності ДСП по відношенню до пікротоксин-індукованих судом за умов модуляції активності окремих нейромедіаторних систем.

Внутрішньоочеревинне застосування пікротоксину тваринам, яким було внутрішньонігрально введено ДСП та атропін (в/очер), супроводжувалося розвитком у всіх щурів клонічних судом тулуба та скорочень м'язів передніх кінцівок. Середня інтенсивність судом за таких умов дорівнювала $2,9 \pm 0,3$ бали, що було менше порівняно з відповідним показником в групі щурів, яким вводили лише атропін ($P < 0,05$) та більше порівняно з відповідним показником в групі щурів, яким внутрішньонігрально вводили ДСП ($P < 0,05$, Рис. 4.9). Латентний період перших пікротоксин-індукованих судом за дослідних умов становив в середньому $19,3 \pm 2,1$ хв, що на 3,6 % перевищувало відповідний показник в контрольній групі тварин - $18,6 \pm 1,9$ хв ($P > 0,05$, Рис. 4.10).

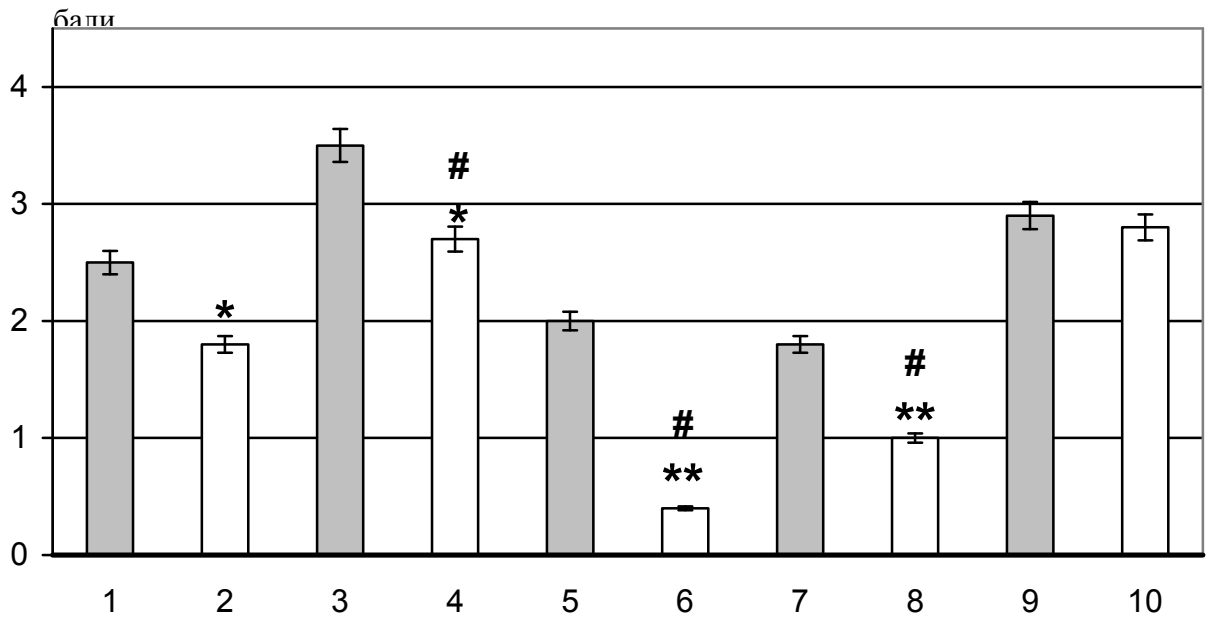


Рис. 4.9. Вплив внутрішньонігального введення ДСП на вираженість пікротоксин-індукованих судом за умов застосування різних фармакологічних агентів, які змінюють активність нейромедіаторних систем мозку.

Позначення: за віссю абсцис –1-10, відповідно, введення пікротоксину (в/очер, 2,0 мг/кг) та фізіологічного розчину (внутрішньонігально, 1,0 мкл); введення ДСП (внутрішньонігально, 10 нмоль); введення атропіну (50 мкг, внутрішньошлуночково); введення атропіну та ДСП; введення галоперیدолу (в/очер, 3,0 мг/кг); введення галоперідолу та ДСП; введення іохімбіну (в/очер, 1,0 мг/кг); введення іохімбіну та ДСП; введення налоксону (в/очер, 10 мг/кг); введення налоксону та ДСП.

Примітки: * - $P < 0,05$ та ** - $P < 0,01$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів відповідної контрольної групи, означеної темним кольором (критерій Kruscall-Wallis).

- $P < 0,05$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в групі щурів №2 (в/нігальне введення ДСП; критерій Kruscall-Wallis).

Аналогічне застосування щурам галоперідолу та тлі введення ДСП спричиняло розвиток судом міоклонічних здригань в 4 із 7 щурів. Середня інтенсивність судом в групі була суттєво менше порівняно з відповідним показником в групі щурів із введенням галоперідолу ($P < 0,01$). При цьому досліджуваний показник був значно менше, ніж у щурів із внутрішньонігальним введенням ДСП ($P < 0,05$, Рис. 4.9). Латентний період

пікротоксинових судом при цьому дорівнював в середньому $39,9 \pm 3,9$ хв, що на 42,9 % перевищувало відповідний показник в контрольній групі тварин - ($P < 0,05$) та на 67 % перевищувало відповідний показник в щурів із в/нігральним введенням ДСП ($P < 0,01$, Рис. 4.10).

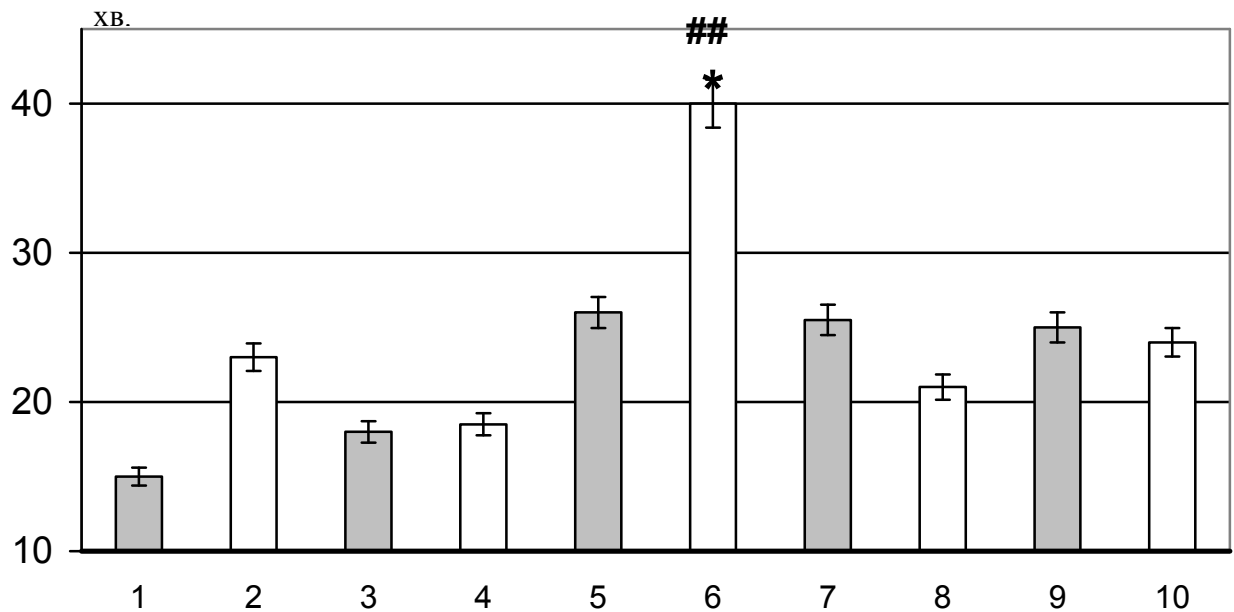


Рис. 4.10. Вплив внутрішньонігрального введення ДСП на тривалість латентного періоду пікротоксин-індукованих судом за умов застосування різних фармакологічних агентів, які змінюють активність нейромедіаторних систем мозку.

Позначення – такі ж самі, що й на Рис. 4.9

Примітки: * - $P < 0,05$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів відповідної контрольної групи, означеної темним кольором (критерій Kruskal-Wallis).

- $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в групі щурів №2 (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

Судоми, які було спровоковані пікротоксином в щурів із в/очер введенням іохімбіну та ДСП, характеризувалися скороченням окремих груп м'язів, а також розвитком судомних здригань в 3 щурів із 7. Середня інтенсивність судом також була менше порівняно з таким показником в групі щурів із одним лише введенням іохімбіну ($P < 0,01$), а також при порівнянні з відповідним показником в групі щурів із в/нігральним введенням ДСП

($P < 0,05$, Рис. 4.9). Латентний період перших пікротоксин-індукованих судом за дослідних умов становив в середньому $21,7 \pm 2,3$ хв, що було на 18,2 % більше, ніж такий показник в контрольній групі тварин ($P > 0,05$, Рис. 4.10).

При в/очер введенні налоксону у сполученні з внутрішньонігральною мікроін'єкцією ДСПІ під впливом пікротоксину у всіх тварин в групі виникали інтенсивні клонічні судроми м'язів тулуба і кінцівок, які у двох з шести тварин закінчилися розвитком клоніко-тонічних судомних нападів. Інтенсивність судом становила в середньому $2,8 \pm 0,3$ бали, що було співставно з відповідним показником в групі шурів, яким вводили налоксон - $2,85 \pm 0,25$ бали ($P > 0,05$; Рис. 4.9).

Латентний період перших пікротоксин-індукованих судом при цьому дорівнював в середньому $23,9 \pm 2,4$ хв, що було на 5,1 % менше такого показника в контрольній групі тварин ($P > 0,05$, Рис. 4.10).

Для з'ясування механізмів реалізації протисудомної дії ДСПІ та окремих його аналогів ми провели низку дослідів, присвячених вивченню взаємодії пептиду з активністю серотонінергічної системи мозку. З цією метою визначали вплив ДСПІ та ДСПІ-9 – ДСПІ-14 на захоплення триптофану, який є попередником синтезу серотоніну, різними утворенням мозку – корою та підкорковими структурами.

ДСПІ суттєво збільшував захоплення [^3H]триптофану мозочком (в 2 рази більше, ніж в контролі, $P < 0,05$; Рис. 5.11). ДСПІ-9 спричиняв збільшення інкорпорації амінокислоти в кору мозку (в 2,2 рази), стовбур (в 2,5 рази) та вентральний гіпокамп (в 3,5 рази порівняно з контрольними показниками; $P < 0,05$ в усіх випадках).

Ефекти ДСПІ-10 на захоплення [^3H]триптофану не відрізнялися суттєво від аналогічних даних в контрольних вимірюваннях ($P > 0,05$).

ДСПІ-11 суттєво збільшував захоплення [^3H]триптофану корою мозку (в 2 рази більше, ніж в контролі, $P < 0,05$) та мозочком (в 2,5 рази більше, ніж в контролі, $P < 0,05$; Рис. 5.11).

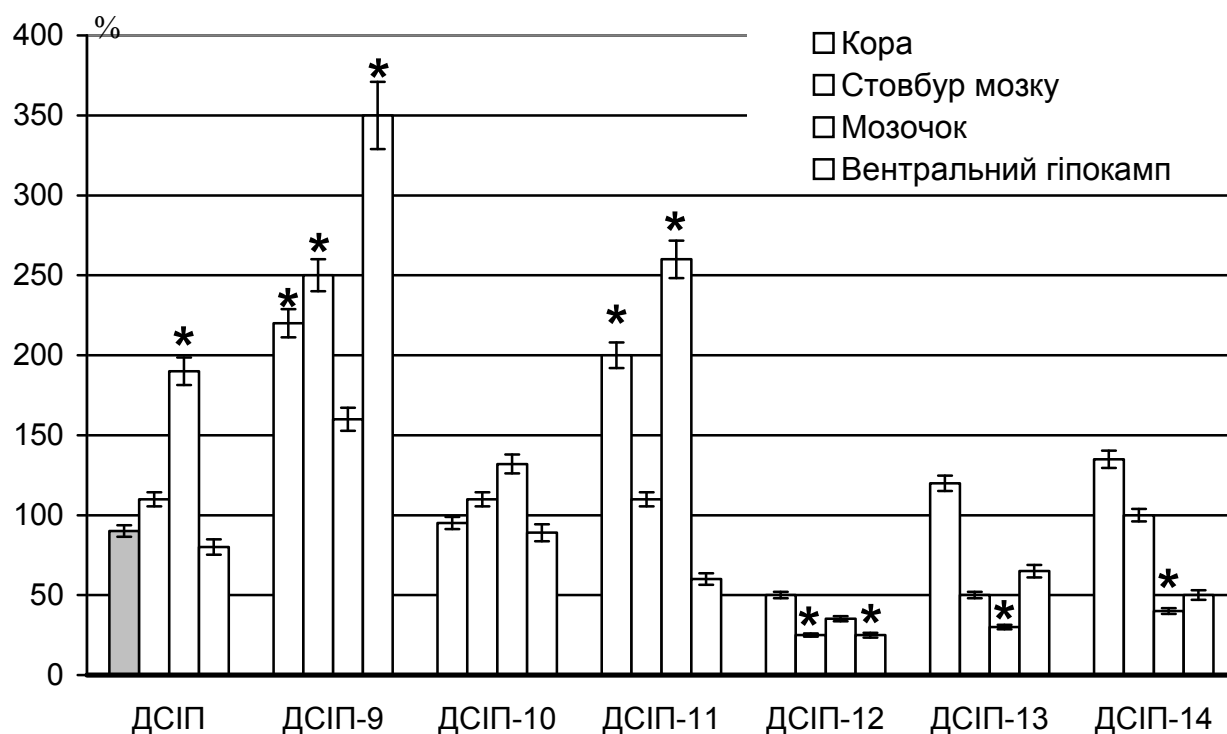


Рис. 4.11. Вплив ДСІП та його структурних аналогів на захоплення триптофану різними структурами мозку.

Позначення: за віссю ординат – показники захоплення амінокислоти [³H]триптофану, розраховані у % та подані порівняно з відповідними значеннями в контрольній серії дослідів, які прийняті за 100 %.

Примітки: * - $P < 0,05$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в контрольних вимірюваннях (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

ДСІП-12, навпаки, зменшував інкорпорацію амінокислоти в мозочок (в 4 рази) та вентральний гіпокамп (в 3,2 рази порівняно з контрольними показниками; $P < 0,05$ в усіх випадках).

ДСІП-13 та дСІП-14 суттєво зменшували захоплення [³H]триптофану мозочком - в 3 рази та в 2,5 рази, відповідно, при порівнянні з такими контрольними показниками ($P < 0,05$; Рис. 4.11).

Проведені досліді показали, що в найбільшому ступені [³H]триптофан захоплювався мозочком під впливом ДСІП (в 2 рази більше, ніж в контролі, $P < 0,05$) та ДСІП-11 (в 2.6 рази більше, ніж в контролі, $P < 0,05$). Відзначається також найменше захоплення амінокислоти внаслідок уведення ДСІП-13 (в 3

рази менше, ніж в контролі, $P < 0,05$) та ДСП-14 (в 2,5 рази менше, ніж в контролі, $P < 0,05$; Рис. 4.11).

Під впливом ДСП-9 та ДСП-11 зросло включення міченого триптофану корою мозку ($P < 0,05$). ДСП-9 збільшував інкорпорацію міченого триптофану до стовбура мозку, а ДСП-12 спричиняв протилежний вплив.

Тобто в більшості випадків під впливом досліджуваних пептидів йдеться про збільшення захоплення міченого триптофану, але ДСП-12 – ДСП-14 зменшували інкорпорацію [^3H]триптофану до внутрішньомозкових утворень. Співставляючи дані біохімічних досліджень з виявленими ефектами ДСП та його структурних аналогів на судомну активність, ймовірно припустити, що ДСП-9, ДСП-10 та ДСП-11 є неактивними пептидами. Навпаки, ДСП, ДСП-12, ДСП-13 та ДСП-14 притаманні певні протисудомні властивості, що співпадає з меншим захопленням ними міченої амінокислоти триптофану утвореннями мозку. Провідним утворенням мозку при цьому є мозочок, в якому в найбільшому ступені зменшувалося захоплення міченого триптофану, що підтверджує провідну роль цієї структури мозку в якості тієї, що опосередковує протисудомні ефекти ДСП та його аналогів. Отримані дані також свідчать про наявність негативного кореляційного зв'язку між вмістом ДСП та функціональною активністю сертонінергічної системи.

Виходячи з уявлень академіка Г.М. Крижановського про провідну роль внутрішньоклітинної дизрегуляції, що є передпосилкою розвитку нейропатологічних процесів, та з його положень про те, що гіпоксія в певному ступені вираженості має провідне патогенетичне значення за різних форм патології, ми провели серію досліджень, метою яких було визначення антигіпоксичної дії ДСП.

Після білатеральної оклюзії загальних сонних артерій протягом 1-ї години досліду вертикальну позу були здатні втримувати 3 щури із 12, померли 3 щури (табл. 4.2). Протягом наступної години померли 50 % щурів.

З терміном досліду померли всі 12 щурів (100 %), жоден з щурів був нездатний утримувати вертикальну позицію.

Таблиця 4.2.

Вплив ДСІП на тривалість підтримання вертикальної пози та летальність щурів після білатеральної оклюзії загальної сонної артерії

Дослідні групи	Число щурів	Час с початку досліду, год						
		1	2	3	4	5	6	7
1. Контроль, фізіологічний розчин (в/очер)	12	9/3	8/6	9/6	9/8	10/9	12/11	12/12
2. ДСІП (1 год до початку досліду)	10	2*/0	2*/0*	5/2	6/4	7/5	8/6	8/7*
3. ДСІП (24 год до початку досліду)	7	2/0	2/0*	4/2	4/4	5/4	6/6	6/6
4. ДСІП (48 год до початку досліду)	8	5/2	6/3	6/4	7/6	7/6	8/8	8/8
5. МК-801 (0.05 мг/кг)	10	6/3	7/5	7/5	8/6	10/8	10/8	10/10
6. МК-801 (0.2 мг/кг)	10	2*/2	6/3	8/5	9/7	9/7	10/8	10/9

Позначення: В чисельнику дробу (зверху) вказано число щурів, які нездатні втримувати вертикальну позу. В знаменнику дробу(знизу) вказано число морелих щурів

Примітка: * - $P < 0,05$ - вірогідні розбіжності латентного періоду судом порівняно з аналогічними показниками в контролі (статистичний критерій Крушкар-Валліс).

Жоден з щурів не помер протягом 2 годин за умов завчасного (за 1 год до білатеральної оклюзії загальної сонної артерії) введення ДСІП ($P < 0,05$ порівняно з контролем). Протягом цього інтервалу часу 80 % щурів

утримували вертикальну позу, що було значно більше такого показника в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$). Потім, з часом досліду щури гинули, проте на 7-й годині досліду 30 % щурів залишалися живими, що також мало статистичні розбіжності при порівнянні з відповідним контрольним показником ($P < 0,05$).

За умов завчасного введення ДСІП за 24 год до початку досліду також спостерігалось вірогідне зменшення померлих тварин протягом 2-ї години експерименту ($P < 0,05$, табл. 4.2). Потім в цій групі щури почали гинути, і летальність сягнула рівня 86 % на 7-й год досліду. Пептид не впливав на число тварин, які були здатні утримувати вертикальну позу протягом досліду ($P < 0,05$).

При введенні ДСІП за 48 год до оклюзії загальних сонних артерій препарат не змінював суттєво жоден із досліджуваних показників ($P < 0,05$). Аналогічний ефект було досягнуто при завчасному введенні МК-801 в мінімальній дозі (0,05 мг/кг) – летальність щурів досягла 50 % рівня вже на 2-й год досліду.

При завчасному введенні МК-801 (0,2 мг/кг) протягом 1-ї год експерименту вертикальну позу утримували 80 % щурів, що було більше відповідного контрольного показника ($P < 0,05$). Починаючи з 2-х год досліду не було зареєстровано розбіжностей в досліджуваних показниках при порівнянні з такими в контролі ($P < 0,05$, табл. 4.2).

Таким чином, доведено, що ДСІП спричиняє антигіпоксичну дію при білатеральній оклюзії загальних сонних артерій, що виявлялося зменшенням щурів із позними розладами та зменшенням летальності. Подібна дія пептиду реалізовалася при його завчасному введенні за 1 год та за 24 год до початку досліду. МК-801 в максимальній дозі також зменшував число щурів із розладами позної поведінки, але не впливав на летальність тварин. Зважаючи на механізм реалізації дії МК-801, який заключний в активації системи збуджуючих амінокислот, а також більш виражену нейропротекторну дію ДСІП порівняно з такою у МК-801, можливо припустити, що механізм

реалізації нейропротекторного впливу ДСІП є комплексним, ймовірно, за рахунок пригнічення активності системи збуджуючих амінокислот та підсилення ГАМК-ергічної медіації, що, за думкою Г. М. Крижановського, є проявом внутрішньонейрональної дизрегуляції, яка є провідним механізмом «зламу» функціональної активності пулу нейронів за умов розвитку нейропатологічних синдромів [78].

4. 2. Вплив кіоторфіну, неокіоторфіну та d-ser-2-неокіоторфіну на гостру форму епілептичної активності

Обидва пептиди – діпептид кіоторфін та пентапептид неокіоторфін були ідентифіковані в мозку биків [441]. Дія кіоторфіну була ідентична потужній опіодній активності та спрямована на забезпечення налоксон-чутливої анальгезії [441, 442]. Анальгетичні ефекти неокіоторфіну виявились налоксон-незворотніми, що при подальшому вивченні механізмів реалізації цього ефекту виявило послаблення ГАМК-ергічного гальмування [443]. В подальшому було синтезовано новий пептид – d-ser-2-неокіоторфін, анальгетична активність якого в 10 разів перевищувала таку дію в кіоторфіну та неокіоторфіну [444].

Опіод-подібні та пов'язані з ГАМК-ергічною системою властивості сімейства кіоторфінів виявились поштовхом для тестування їх протисудомної активності, зважаючи на показані протисудомні ефекти окремих ендогенних опіодних пептидів [441, 443, 445]. Отже, завданням цієї частини досліджень було визначення ефектів кіоторфіну, неокіоторфіну та d-ser-2-неокіоторфіну в умовах пікротоксин-провокованої ЕпА. Додатковим завданням було визначення утворень мозку, які є відповідальними за реалізацію ефектів ендогенних пептидів сімейства кіоторфінів, для чого місцями їхніх внутрішньомозкових введень були обрані вентральний гіпокамп, відомий як утворення з найнижчим порогом виникнення судомного синдрому [72, 77], та ретикулярна частина чорної речовини, яка детермінує процес розповсюдження судомної активності [65, 72, 440].

Генералізовані пікротоксин-індуковані клоніко-тонічні судоми реєструвалися у 8 із 9 щурів контрольної групи, причому у 3 тварин вони мали повторний характер. Латентний період судомних реакцій дорівнював 16.35 ± 1.31 хв (табл. 4.3).

Таблиця 4.3.

Вплив внутрішньошлуночкового введення кіоторфіну, неокіоторфіну та d-ser-2-неокіоторфіну на пікротоксин-індуковані (2,0 мг/кг) судоми в щурів

Пептиди	Доза, нмоль	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порів- няно з контро- лем	Латентний період судом, M±m, хв.
		0	1	2	3	4	5		
Контроль	-	0	0	0	1	5	3	-	$16,35 \pm 1,31$
Кіоторфін	10	5	0	1	0	0	0	<0,05	$41,68 \pm 3,32^*$
Неокіоторфін	10	4	2	0	0	0	0	<0,05	$41,71 \pm 2,11^*$
d-ser-2- неокіоторфін	10	2	3	1	0	0	0	<0,05	$32,17 \pm 4,34^*$

Примітка: вірогідні розбіжності інтенсивності судом обраховували за допомогою статистичного критерію Крушкар-Валліс.

* - $P < 0,05$ - вірогідні розбіжності латентного періоду судом порівняно з аналогічними показниками в контрольних групах щурів (статистичний критерій АНОВА).

Внаслідок внутрішньошлуночкового введення кіоторфіну латентний період перших судом дорівнював $41,68 \pm 3,32$ хв, що було в 2,5 рази більше порівняно з відповідним показником в щурів із пікротоксин-індукованими судомами, яким в латеральні шлуночки здійснювали мікроін'єкцію фізіологічного розчину ($P < 0,05$, табл. 4.3). За таких умов судоми були відсутні в 5 щурів, в 1 щура реєструвались клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок – загалом середня інтенсивність судом була суттєво менше

порівняно з відповідним показником в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$).

Перші судомні реакції в щурів після внутрішньошлучкового введення d-ser-2-неокіоторфіну реєструвалися на $32,17 \pm 4,34$ хв, що було в 2 рази більше порівняно з такими даними у щурів контрольної групи ($P < 0,05$). Судомні прояви в 1 щура при цьому характеризувалися клонічними скороченнями м'язів передніх кінцівок, в 3 щурів - здриганнями м'язів морди та поодинокими клонічними скороченнями м'язів передніх кінцівок. Інтенсивність судом при внутрішньошлучковому введенні d-ser-2-неокіоторфіну була суттєво менше, ніж у щурів контрольної групи ($P < 0,05$; табл. 4.3).

Перші судомні реакції в щурів після внутрішньошлучкового введення неокіоторфіну реєструвалися на $41,71 \pm 2,11$ хв, що було в 2,6 рази більше порівняно з відповідним показником в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$). Судомні прояви за таких умов реєструвалися лише в 2 тварин і характеризувалися здриганнями м'язів морди та поодинокими клонічними скороченнями м'язів передніх кінцівок. Інтенсивність судом при внутрішньошлучковому введенні неокіоторфіну також була суттєво менше, ніж у щурів контрольної групи (табл. 4.3).

Серед 26 щурів контрольних груп у 23 тварин пікротоксин-індуковані судомні характеризувалися клоніко-тонічними скороченнями м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок, розвитком судомних нападів в тому числі й повторних (у 11 тварин), післянападової депресії та вегетативними розладами. У решти 3 тварин судомні були у вигляді потворних клонічних скорочень м'язів тулубу і задніх кінцівок з під'йомом щурів на задні лапи («поза кенгуру»). Латентний період перших судомних реакцій становив від 13 до 16 хв. (табл. 4.4).

Таблиця 4.4.

Вплив внутрішньогіпокампальної мікроїї'екції кіоторфіну, неокіоторфіну та d-ser-2-неокіоторфіну на пікротоксин-індуковані (2,0 мг/кг) судоми в щурів

Пептиди	Доза, нмоль	Число щурів з судомами інтенсивністю						Р, порів- няно з контро- лем	Латентний період судом, M±m, хв.
		0	1	2	3	4	5		
Контроль	-	0	0	0	0	3	6	-	14,57±1,39
Кіоторфін	2,5	0	2	1	0	2	2	>0,05	26,69±2,50*
Кіоторфін	5,0	5	1	1	0	0	0	<0,05	43,20±1,28*
Кіоторфін	10,0	5	0	1	0	0	0	<0,05	42,74±2,26*
Контроль	-	0	0	0	2	5	3	-	14,29±0,61
Неокіоторфін	2,5	0	0	3	3	3	0	<0,05	19,78±1,71
Неокіоторфін	5,0	2	3	1	1	0	0	<0,05	33,29±5,09*
Неокіоторфін	10,0	4	2	0	0	0	0	<0,05	40,47±3,33*
Контроль	-	0	0	0	1	4	2	-	15,93±0,64
d-ser-2- неокіоторфін	2,5	2	0	1	1	3	0	<0,05	24,36±5,32*
d-ser-2- неокіоторфін	5,0	4	1	0	1	1	0	<0,05	34,91±4,77*
d-ser-2- неокіоторфін	10,0	2	3	1	0	0	0	<0,05	25,73±6,11

Примітка: вірогідні розбіжності інтенсивності судом обраховували за допомогою статистичного критерію Крушквал-Валліс.

* - P<0,05 - вірогідні розбіжності латентного періоду судом порівняно з аналогічними показниками в контрольних групах щурів (статистичний критерій АНОВА).

Латентний період перших судом у щурів після внутрішньогіпокампального введення кіоторфіну (2,5 нмоль) становив 26,69±2,50 хв, що було на 83 % більше, ніж такий показник в щурів

відповідної контрольної групи ($P < 0,05$; табл. 4.4). При цьому у 2 щурів судомні прояви дорівнювали 1 бал, в 1 щура інтенсивність судом становила 2 бали за застосованою шкалою. В 4 щурів судомні характеризувались розвитком клоніко-тонічних скорочень м'язів тулуба, передніх та задніх кінцівок із розвитком судомних нападів, у 2 щурів ці напади відмічалися повторно. Інтенсивність судомних проявів внаслідок внутрішньогіпокампулярного введення кіоторфіну (2,5 нмоль) не відрізнялась суттєво від такого показника в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$).

Внаслідок внутрішньогіпокампулярного введення кіоторфіну (5,0 нмоль) латентний період перших судом в 3 рази перевищував відповідний контрольний показник і дорівнював $43,20 \pm 1,28$ хв ($P < 0,05$). За таких умов судомні були відсутні в 5 щурів, в 1 щура реєструвались здригання морди та ще в 1 щура реєструвались клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок – загалом середня інтенсивність судом була суттєво менше порівняно з відповідним показником в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$).

Після внутрішньогіпокампулярного введення кіоторфіну в максимальній дозі (10,0 нмоль) латентний період перших судом в 2,9 рази перевищував відповідний контрольний показник і становив $42,74 \pm 2,26$ хв ($P < 0,05$). При цьому лише в 1 щура реєструвались клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок. Середня інтенсивність судом в групі була значно менше такої в контрольній групі щурів (табл. 5.4; $P < 0,05$).

Латентний період перших судом у щурів після внутрішньогіпокампулярного введення мінімальної дози неокіоторфіну (2,5 нмоль) дорівнював $19,78 \pm 1,71$ хв, що лише на 38 % перевищувало такий показник в щурів відповідної контрольної групи ($P > 0,05$; табл. 4.4). За таких умов у 3 щурів інтенсивність судом становила 2 бали за застосованою шкалою. У 3 тварин судомні реєструвались у вигляді потворних клонічних скорочень м'язів тулубу і задніх кінцівок з під'йомом щурів на задні лапи («поза кенгуру»). У решти 3 тварин судомні характеризувались розвитком клоніко-тонічних скорочень м'язів тулуба, передніх та задніх кінцівок із

розвитком генералізованих судомних нападів. Інтенсивність судомних проявів після внутрішньогіпокампального введення неокіоторфіну (2,5 нмоль) при цьому була значно менше порівняно з відповідним показником в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$).

Внаслідок внутрішньогіпокампального введення неокіоторфіну (5,0 нмоль) латентний період перших судом в 2,3 рази перевищував відповідний контрольний показник і дорівнював $33,29 \pm 5,09$ хв ($P < 0,05$). За таких умов в щурів не реєструвалися генералізовані клоніко-тонічні напади. В 3 щурів реєструвалися здригання морди, в 1 щура реєструвалися клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок, в 1 щура інтенсивність судом дорівнювала 3 бали за прийнятою шкалою. Середня інтенсивність судом при цьому була менше порівняно з відповідним показником в щурів контрольної групи ($P < 0,05$).

Після внутрішньогіпокампального введення неокіоторфіну в максимальній дозі (10,0 нмоль) латентний період перших судом в 2,8 рази перевищував відповідний контрольний показник і дорівнював $40,47 \pm 3,33$ хв ($P < 0,05$). За таких умов у 2 щурів судомні прояви реєструвалися у вигляді здригань м'язів морди (1 бал за прийнятою шкалою). Середня інтенсивність судом в групі була значно менше такої порівняно з відповідним показником в контрольній групі щурів (табл. 4.4; $P < 0,05$).

Латентний період перших судом у щурів після внутрішньогіпокампального введення d-ser-2-неокіоторфіну (2,5 нмоль) в 1,5 рази перевищував такий показник в щурів відповідної контрольної групи і становив $24,36 \pm 5,32$ хв ($P < 0,05$; табл. 4.4). При цьому у 1 щура судомні прояви дорівнювали 2 балам, в 1 щура інтенсивність судом становила 3 бали за застосованою шкалою. В 3 щурів судоми характеризувалися розвитком клоніко-тонічних скорочень м'язів тулуба, передніх та задніх кінцівок із розвитком судомних нападів, вегетативних розладів та післянападової депресії. Інтенсивність судомних проявів внаслідок внутрішньогіпокампального введення d-ser-2-неокіоторфіну (2,5 нмоль) була

значно менше порівняно з таким показником в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$).

Після внутрішньогіпокампального введення d-ser-2-неокіоторфіну (5,0 нмоль) латентний період перших судом в 2,2 рази перевищував відповідний контрольний показник і дорівнював $34,91 \pm 4,77$ хв ($P < 0,05$). За таких умов судом були відсутні в 4 щурів, в 1 щура реєструвались здригання морди, в 1 щура - клонічні скорочення м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок. Генералізований судомний напад було відзначено в 1 щура. При цьому середня інтенсивність судом була суттєво менше порівняно з відповідним показником в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$).

Внаслідок внутрішньогіпокампального введення d-ser-2-неокіоторфіну в максимальній дозі (10,0 нмоль) латентний період перших судом становив $25,73 \pm 6,11$ хв і не відрізнявся від відповідного контрольного показника ($P > 0,05$). Проте, за таких умов в 3 щурів судомні прояви були мінімальні - здригання м'язів морди, в 1 щура реєструвались клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок. Середня інтенсивність судом в групі була значно менше такої порівняно з відповідним показником в контрольній групі щурів (табл. 5.4; $P < 0,05$).

Латентний період перших судомних пікротоксин-індукованих реакцій в щурів, яким внутрішньонігрально вводили фізіологічний розчин, становив від 12 до 19 хв. (табл. 4.5). У 9 щурів контрольних груп пікротоксин-індуковані судомні характеризувалися клоніко-тонічними скороченнями м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок, розвитком судомних нападів, післянападової депресії та вегетативними розладами. У решти 9 тварин судомні були у вигляді потворних клонічних скорочень м'язів тулубу і задніх кінцівок з під'йомом щурів на задні лапи («поза кенгуру»).

Після внутрішньонігрального введення кіоторфіну (2,5 нмоль) латентний період перших судом в 1,6 рази перевищував відповідний контрольний показник і дорівнював $20,12 \pm 1,58$ хв ($P < 0,05$). За таких умов судомні в 1 щура дорівнювали 1 балу за загальноприйнятною шкалою, в 1

щура – 3 балам. В 4 щурів реєструвались клоніко-тонічні скорочення м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок, розвиток судомних нападів в тому числі й повторних (у 3 щурів), післянападової депресії та вегетативними розладами. Середня інтенсивність судом не відрізнялася порівняно з відповідним показником в контрольних спостереженнях ($P>0,05$).

Внаслідок внутрішньонігрального введення кіоторфіну (5,0 нмоль) латентний період перших судом на 48 % перевищував відповідний контрольний показник і дорівнював $18,79\pm 0,51$ хв ($P<0,05$). За таких умов судомі в 1 щура дорівнювали 2 балам за загальноприйнятною шкалою, в 1 щура – 3 балам. В 5 щурів реєструвались клоніко-тонічні скорочення м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок, розвиток судомних нападів, післянападової депресії та вегетативними розладами. Середня інтенсивність судом не відрізнялася порівняно з відповідним показником в контрольних спостереженнях ($P>0,05$).

Після внутрішньонігрального введення кіоторфіну в максимальній дозі (10,0 нмоль) латентний період перших судом дорівнював $16,99\pm 0,53$ хв і на 34 % був більше відповідного контрольного показника ($P<0,05$). За таких умов в 3 щурів відзначалися здригання м'язів морди, в 2 щурів - клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок та в 1 щура судомі були у вигляді потворних клонічних скорочень м'язів тулубу і задніх кінцівок з під'йомом щурів на задні лапи («поза кенгуру»). Середня інтенсивність судом в групі була значно менше такої порівняно з відповідним показником в контрольній групі щурів (табл. 4.5; $P<0,05$).

Латентний період перших судом у щурів після внутрішньонігрального введення мінімальної дози неокіоторфіну (2,5 нмоль) дорівнював $15,74\pm 1,52$ хв, що було на 18 % менше такого показника в щурів відповідної контрольної групи ($P>0,05$; табл. 4.5). При цьому у 3 щурів судомі реєструвались у вигляді потворних клонічних скорочень м'язів тулубу і задніх кінцівок з під'йомом щурів на задні лапи («поза кенгуру»). У решти 5 тварин судомі характеризувались розвитком клоніко-тонічних скорочень м'язів тулуба,

передніх та задніх кінцівок із розвитком генералізованих судомних нападів, у 3 тварин – повторних. Інтенсивність судомних проявів після внутрішньонігрального введення неокіоторфіну (2,5 нмоль) була співставною з таким показником в контрольних спостереженнях ($P>0,05$).

Внаслідок внутрішньонігрального введення неокіоторфіну (5,0 нмоль) латентний період перших судом в 2,3 рази перевищував відповідний контрольний показник і дорівнював $42,95 \pm 1,08$ хв ($P<0,05$). За таких умов в щурів не реєструвалися генералізовані клоніко-тонічні напади. В 3 щурів реєструвались здригання морди, в 1 щура реєструвались клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок. Середня інтенсивність судом при цьому була менше порівняно з відповідним показником в щурів контрольної групи ($P<0,05$).

Після внутрішньонігрального введення неокіоторфіну в максимальній дозі (10,0 нмоль) латентний період перших судом дорівнював $40,47 \pm 3,33$ хв і на 45 % перевищував відповідний контрольний показник ($P<0,05$). За таких умов лише в 2 щурів судомні прояви реєструвались у вигляді здригань м'язів морди (1 бал за прийнятою шкалою). Середня інтенсивність судом в групі була значно менше такої порівняно з відповідним показником в контрольній групі щурів (табл. 4.5; $P<0,05$).

Латентний період перших судом у щурів після внутрішньонігрального введення d-ser-2-неокіоторфіну (2,5 нмоль) не відрізнявся суттєво від такого показника в щурів відповідної контрольної групи ($P>0,05$). При цьому у 1 щура судомні прояви дорівнювали 1 балу, в 1 щура інтенсивність судом становила 2 бали за застосованою шкалою. В 3 щурів судоми характеризувались розвитком клоніко-тонічних скорочень м'язів тулуба, передніх та задніх кінцівок із розвитком судомних нападів (у 2 тварин – повторних), вегетативних розладів та післянападової депресії. Інтенсивність судомних проявів після внутрішньонігрального введення d-ser-2-неокіоторфіну (2,5 нмоль) також не відрізнялася від такої в щурів контрольної групи ($P>0,05$).

Таблиця 4.5.

Вплив внутрішньонігрального введення кіоторфіну, неокіоторфіну та d-ser-2-неокіоторфіну на пікротоксин-індуковані (2,0 мг/кг) судом в щурів

Пептиди	Доза, нмоль	Число щурів з судомами інтенсивністю						Р, порівняно з контролем	Латентний період судом, $M \pm m$, хв.
		0	1	2	3	4	5		
Контроль	-	0	0	0	3	4	0	-	12,67±0,49
Кіоторфін	2,5	0	1	0	1	1	3	>0,05	20,12±1,58*
Кіоторфін	5,0	0	0	1	1	5	0	>0,05	18,79±0,51*
Кіоторфін	10,0	0	3	2	1	0	0	<0,05	16,99±0,53*
Контроль	-	0	0	2	2	3	0	-	18,93±1,56
Неокіоторфін	2,5	0	0	0	3	2	3	>0,05	15,74±1,52
Неокіоторфін	5,0	3	3	1	0	0	0	<0,05	42,95±1,08*
Неокіоторфін	10,0	2	4	0	0	0	0	<0,05	27,41±5,58*
Контроль	-	0	0	0	4	2	0	-	17,18±1,24
d-ser-2-неокіоторфін	2,5	2	1	1	0	1	2	>0,05	26,61±5,44
d-ser-2-неокіоторфін	5,0	3	4	0	0	0	0	<0,05	40,42±3,12*
d-ser-2-неокіоторфін	10,0	3	2	1	0	0	0	<0,05	33,29±5,25*

Примітка: вірогідні розбіжності інтенсивності судом обраховували за допомогою статистичного критерію Крушквал-Валліс.

* - $P < 0,05$ - вірогідні розбіжності латентного періоду судом порівняно з аналогічними показниками в контрольних групах щурів (статистичний критерій АНОВА).

Після внутрішньонігрального введення d-ser-2-неокіоторфіну (5.0 нмоль) латентний період перших судом в 2,4 рази перевищував відповідний контрольний показник і дорівнював $40,42 \pm 3,12$ хв ($P < 0,05$). За таких умов

судоми були відсутні в 3 шурів, в решти 4 шурів реєструвались здригання морди та рухи вібрисів. Середня інтенсивність судом була суттєво менше порівняно з відповідним показником в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$).

Внаслідок внутрішньонігрального введення d-ser-2-неокіоторфіну в максимальній дозі (10,0 нмоль) латентний період перших судом в 1,9 разів перевищував відповідний контрольний показник і дорівнював $33,29 \pm 5,2$ хв ($P < 0,05$). за таких умов судомні прояви реєструвалися лише в 3 шурів – у 2 шурів відзначалися здригання м'язів морди та рухи вібрисів, в 1 шура реєструвались клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок. Середня інтенсивність судом в групі була значно менше такої в контрольних спостереженнях (табл. 4.5; $P < 0,05$).

Таким чином, отримані дані свідчать про розвиток протисудомних ефектів у шурів після внутрішньомозкового введення ендогенних пептидів сімейства кіоторфіну – власне кіоторфіну, неокіоторфіну та d-ser-2-неокіоторфіну. Їх внутрішньошлуночкове уведення спричиняло затримку розвитку перших судомних проявів та вірогідне зменшення інтенсивності судом. Після локальної мікроін'єкції кіоторфіну в гіпокамп розвивалася залежна від дози протисудомна дія препарату, яка набувала статистичної значущості в дозі 5,0 та 10 нмоль пептиду. При цьому уведений внутрішньогіпокампально кіоторфін затримував розвиток перших судомних реакцій у всіх застосованих дозах. Внутрішньогіпокампальне введення неокіоторфіну та d-ser-2-неокіоторфіну спричиняло розвиток протисудомного ефекту у всіх дозах, проте, обидва нейропептиди збільшували латентний період перших судом лише в більших дозах.

Після внутрішньонігрального введення кіоторфін збільшував латентний період перших судом у всіх застосованих дозах, проте, інтенсивність пікротоксинових судом була менше в разі його застосування в максимальній дозі. Протисудомна ефективність неокіоторфіну та d-ser-2-

неокіоторфіну виявилася при їхній внутрішньонігральній мікроін'єкції в дозах 5,0 та 10 нмоль.

Таким чином, показано протисудомну ефективність кіоторфіну, неокіоторфіну та d-ser-2-неокіоторфіну при їх внутрішньомозкових уведеннях. Схожий профіль протисудомної дії в разі внутрішньогіпокампального та внутрішньонігрального уведень пептидів свідчить про те, що застосовані сполуки здатні пригнічувати не лише процес виникнення, але й розповсюдження судомної активності в мозку. Інтересно, що нейропептиди цілком пригнічували тонічний компонент судом, що в такому разі дозволяє припускати їх взаємодію з мю-опіоїдними рецепторами. Проте, цілком ймовірно залучення ГАМК-ергічних механізмів [446], блокування активності системи збуджуючих амінокислот [447, 448] та рецепторів субстанції Р [449], стимуляцію бензодіазепінових рецепторів, тощо [450, 451].

4. 3. Вплив діазепам зв'язуючого пептиду на гострі та хронічні форми епілептичної активності

Відомі дані стосовно протисудомних ефектів сполук бензодіазепінового ряду. Завданням цієї частини роботи було дослідження особливостей протисудомного ефектів діазепаму, а також визначення механізмів реалізації його протекторного впливу. Для цього були досліджені ефекти активації та пригнічення бензодіазепінових рецепторів, які розташовані в ретикулярній частині чорної речовини, за умов хронічного кіндлінг-індукованої судомної активності. Активність нігральних бензодіазепінових рецепторів блокували за умов введення внутрішньонігрального (в ретикулярну частину) триптичного фрагменту (T5) білка – інгібітора зв'язування діазепаму (DBI) людини.

Протягом відтворення пікротоксинового кіндлінга з кожним уведенням конвульсанту було відзначено збільшення кількості тварин з судомами, що характеризувалося переважно збільшенням інтенсивності судомних реакцій –

від поодиноких здригань голови та тулубу до розвитку клоніко-тонічних генералізованих нападів з падінням тварини на бік, вегетативними розладами – салівацією, дефекацією, сечовипусканням – та розвитком післянападової депресії.

За умов тестуючого введення кіндлінговим щурам пікротоксину в усіх тварин в середньому через $21,1 \pm 2,4$ хв (Рис. 4.12, Б, 1) спостерігалися генералізовані клоніко-тонічні судоми середньої інтенсивністю $3,8 \pm 0,3$ бали (Рис. 4.12, А, 1). При внутрішньонігральному введенні DBI в усіх щурів розвивалися генералізовані повторні судомні напади з розвитком вегетативних розладів та тривалою післянападовою депресією. Інтенсивність судомних проявів за таких умов буламак максимальною і дорівнювала 5 балів, при цьому показники інтенсивності судом суттєво перевищували відповідні, відзначені при контрольних спостереженнях ($P < 0,05$; Рис. 4.12, А, 2). Латентний період виникнення перших судом дорівнював $17,6 \pm 2,1$ хв та був незначно (на 16,58 %) менше при порівнянні з відповідним показником в контрольній групі щурів ($P > 0,05$).

При внутрішньонігральному введенні DBI в усіх щурів розвивалися генералізовані повторні судомні напади з розвитком вегетативних розладів та тривалою післянападовою депресією. Інтенсивність судомних проявів за таких умов буламак максимальною і дорівнювала 5 балів, при цьому показники інтенсивності судом суттєво перевищували відповідні, відзначені при контрольних спостереженнях ($P < 0,05$; Рис. 4.12, А, 2). Латентний період виникнення перших судом дорівнював $17,6 \pm 2,1$ хв та був незначно (на 16,58 %) менше при порівнянні з відповідним показником в контрольній групі щурів ($P > 0,05$).

Судомні реакції в щурів, яким в/очер вводили діазепам (0,1 мг/кг; із внутрішньонігральним уведенням 1,0 мкл фізіологічного розчину), характеризувалися в більшості щурів клонічним здриганням м'язів тубулу та передніх кінцівок, лише в одній тварини були відзначені судомні реакції у вигляді клонічних здриганням м'язів тубулу, передніх та задніх кінцівок.

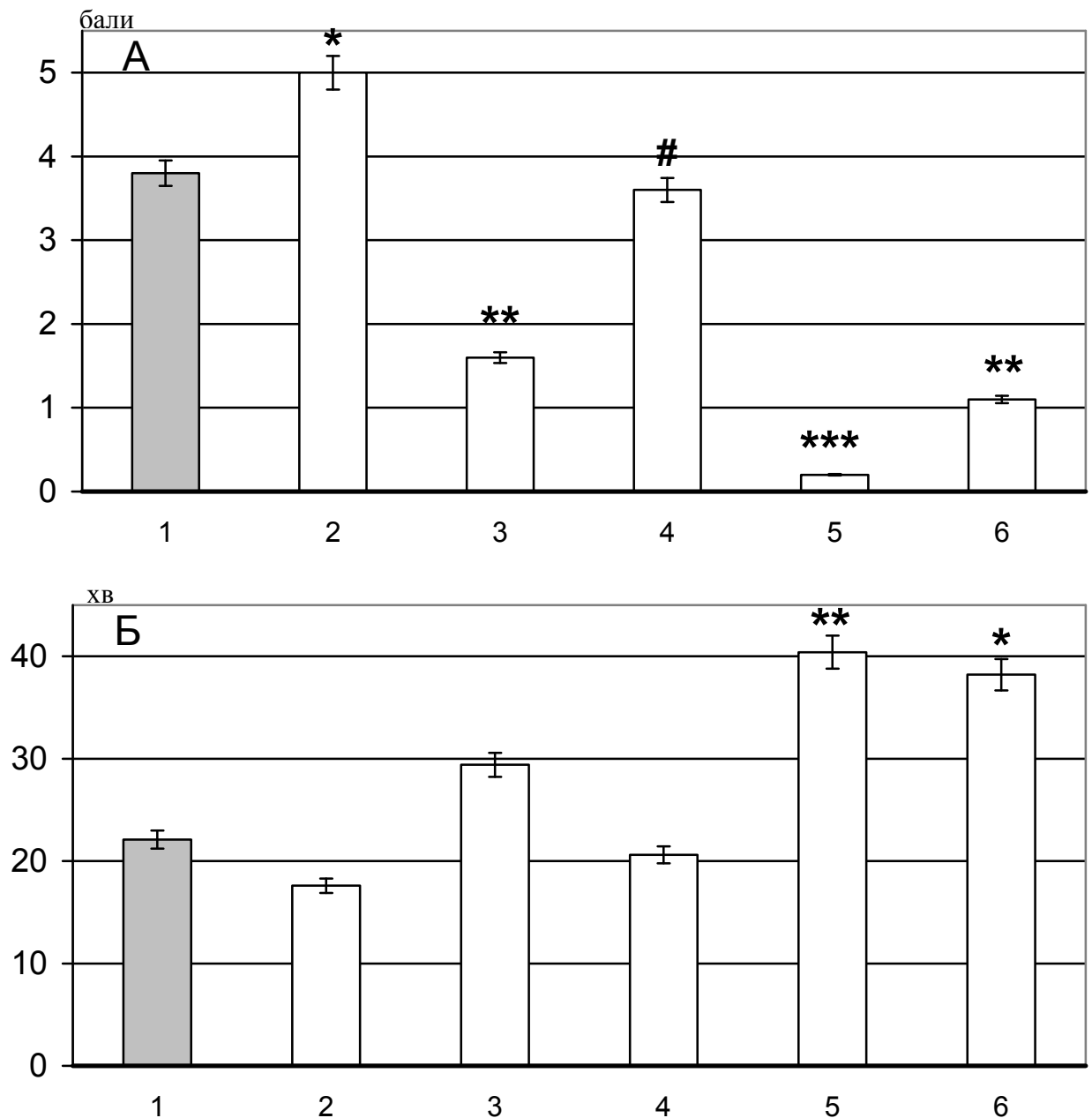


Рис. 4.12. Вплив внутрішньонігального введення білка-інгібітора зв'язування діазепаму та внутрішньоочеревинного введення діазепаму на показники судомної готовності щурів із пікротоксिनним кіндлінгом

Позначення: за віссю ординат – інтенсивність судом (абсолютні дані, фрагмент А) та тривалість латентного періоду (абсолютні дані, фрагмент Б).

За віссю абсцис – позначення 1-6, відповідно, щури контрольної групи; щури із внутрішньонігальним введенням DBI; щури із в/очер введенням діазепаму в дозі 0,1 мг/кг (фіз. розчин уводили внутрішньонігально); щури із в/очер введенням діазепаму в дозі 0,1 мг/кг на тлі внутрішньонігального введення DBI; щури із в/очер введенням діазепаму в дозі 0,5 мг/кг (фіз. розчин уводили внутрішньонігально).

Примітки: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$ та *** - $P < 0,001$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

Середня інтенсивність судом за таких умов дорівнювала $1,6 \pm 0,2$ бали та була суттєво менше порівняно з відповідним показником в контрольній групі тварин ($P < 0,01$; Рис. 4.12, А, 3). Латентний період перших пікротоксин-індукованих судом при введенні діазепаму ($0,1$ мг/кг) дорівнював $28,7 \pm 4,2$ хв та був співставним із відповідним показником в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$; Рис. 4.12, Б, 3).

При введенні кіндлінговим щурам пікротоксину після внутрішньонігральної стереотаксичної мікроін'єкції DBI (на тлі в/очер застосування діазепаму в дозі $0,1$ мг/кг) в більшості тварин в групі середньому через $20,6 \pm 2,1$ хв (Рис. 4.12, Б, 4) спостерігалися генералізовані клоніко-тонічні судоми (в 2 щурів – повторні) середньої інтенсивністю $3,7 \pm 0,4$ бали (Рис. 4.12, А, 4). В 1 щура судоми мали вигляд клоніко-тонічних скорочень м'язів тулубу, передніх та задніх кінцівок. Латентний період перших судом при цьому дорівнював $20,5 \pm 3,1$ хв та не відрізнявся суттєво ані від такого показника в контрольних спостереженнях, ані від такого при введенні діазепаму ($P > 0,05$; Рис. 4.12, Б, 4).

Пікротоксин-спричинені судоми в щурів, яким в/очер вводили діазепам в більшій дозі ($0,5$ мг/кг; із внутрішньонігральним введенням $1,0$ мкл фізіологічного розчину), були практично відсутніми та характеризувалися розвитком клонічних здригань м'язів тулубу та передніх кінцівок в 2 тварин. Середня інтенсивність судом за таких умов дорівнювала $0,2 \pm 0,1$ бали та була суттєво менше порівняно з таким показником в контрольній групі тварин ($P < 0,001$; Рис. 4.12, А, 5). Латентний період перших судом за таких умов був максимальним, перевищував в середньому 40 хвилин та мав суттєві статистичні розбіжності при порівнянні з відповідним показником в контрольних спостереженнях ($P < 0,01$; Рис. 4.12, Б, 5).

Застосування діазепаму в більшій дозі ($0,5$ мг/кг) кіндлінговим щурам при внутрішньонігральному введенні DBI сприяло розвитку незначних за вираженістю (переважно рухів вібрис, клонічних здригань м'язів тулубу та передніх кінцівок) судомних проявів середньої інтенсивністю в $1,1 \pm 0,2$ бали.

Такий показник вираженості судом був в 3,5 рази менше порівняно з відповідним показником в щурів контрольної групи ($P < 0,01$; Рис. 4.12, А, 6). Латентний період перших судом при цьому дорівнював $38,1 \pm 4,4$ хв та в 1,8 рази перевищував відповідний показник в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$; Рис. 4.12, Б, 6).

Метою подальших досліджень стало дослідження ролі бензодіазепінових рецепторів ретикулярної частини чорної речовини в контролі агресивної поведінки тварин за умов пікротоксинового кіндлінгу. Розташовані попарно в ізольованій клітині із металевою підлогою кіндлінгові тварини розпочинали бійку друг з другом при силі струма в $1,8 \pm 0,2$ мА та $1,9 \pm 0,2$ мА, відповідно, в 2 серіях контрольних вимірювань (Рис. 4.13).

За умов внутрішньонігрального введення щурам із пікротоксиновим кіндлінгом фізіологічного розчину та DBI, відповідно, бійки поміж щурами розпочиналися при інтенсивності сили струму в $1,4 \pm 0,2$ мА та $1,8 \pm 0,2$ мА, що не відрізнялося суттєво від таких показників при контрольних спостереженнях ($P > 0,05$, Рис. 4.13).

Діазепам, уведений в/очер, сприяв раннішому початку бійок серед кіндлінгових тварин з пороговим значенням в $2,3 \pm 0,4$ мА, що вдвічі перевищувало відповідний показник в щурів із в/очер введенням фізіологічного розчину ($P < 0,05$).

При сумісному введенні діазепаму с DBI було зареєстровано початок бійок серед кіндлінгових тварин при силі струму в $2,5 \pm 0,2$ мА, що було вдвічі більше порівняно з відповідним показником без введення діазепаму (група №5), а також вірогідно перевищувало відповідні дані у щурів в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$, Рис. 4.13).

Отже, отримані результати свідчать про залучення ретикулярної частини чорної речовини щодо розвитку судомних нападів в кіндлінгових тварин. Виявлено, що судомні прояви за умов внутрішньонігрального введення DBI, який блокує бензодіазепінові рецептори, є більш тяжкими при порівнянні з відповідними пікротоксин-індукованими судомами. Такий

результат свідчить про те, що активація внутрішньонігрально розташованих бензодіазепінових рецепторів є одним із механізмів обмеження розповсюдження епілептичної активності за умов пікротоксин-спричиненого хронічного судомного синдрому.

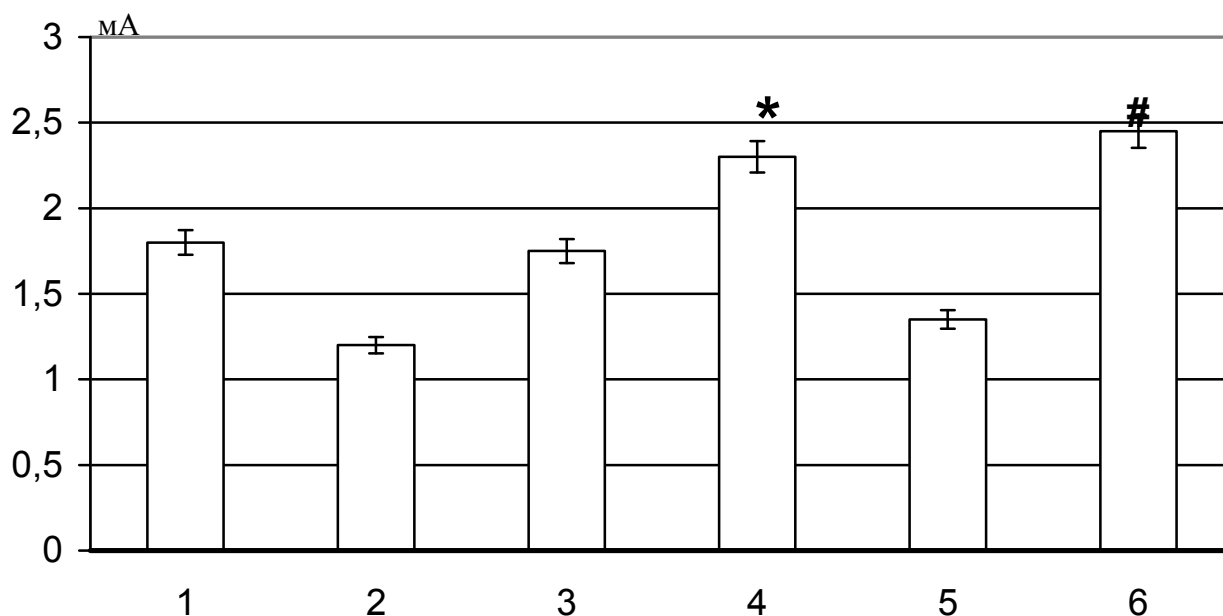


Рис. 4. 13 Вплив внутрішньонігрального введення білка-інгібітора зв'язування діазепаму та внутрішньоочеревинного введення діазепаму на вираженість агресивно-захисної поведінки щурів із пікротоксиновим кіндлінгом

Позначення: за віссю ординат – середні величини порога виникнення бійок серед щурів (мА).

За віссю абсцис – позначення 1-6, відповідно, висхідні значення, в/очер введення фізіологічного розчину, в/нігральне введення DBI, в/очер діазепаму (0,1 мг/кг), в/нігральне введення фізіологічного розчину, DBI + діазепам.

Примітки: * - $P < 0,05$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в кіндлінгових щурів групи 2. # - $P < 0,05$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в кіндлінгових щурів групи 5 (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

Інтересно, що за умов сумісного введення DBI та діазепаму (0,1 мг/кг) інтенсивність судом в щурів була менше, ніж при введенні лише одного DBI без діазепаму. Цей результат свідчить про те, що протисудомна дія діазепаму, ймовірно, реалізується також через інші утворення мозку. Подібне

припущення підтверджується виявленою дисоціацією протисудомного та антиагресивного ефектів діазепаму за умов внутрішньонігрального застосування DBI. В цьому аспекті ймовірно припустити, що реалізація антиагресивної та у певному ступені протисудомної дії діазепаму забезпечується зарахунок впливу сполуки на лімбічні утворення мозку, зокрема, гіпокампу, який має провідне значення для формування епілептичного синдрому при фармакологічному кіндлінзі, а також для реалізації агресивно-захисної поведінки.

4. 4. Вплив соматостатину та нейротензину на гостру форму епілептичної активності

При виконанні цієї частини досліджень виходили з показаної регуляторної ролі пептидів-агоністів мю-, каппа- та дельта-опіоїдних рецепторів в контролі збудливості мозку зокрема та механізмах розвитку та розповсюдження епілептичної активності. Відомі також дані стосовно провідної ролі пептидів-агоністів опіоїдних рецепторів в активації антиепілептичної системи мозку та підтриманні її тону. Менше дослідженими є ефекти інших нейропептидів, зокрема, нейротензину та соматостатину, що стало метою виконання низко експериментальних дослідів.

Коразол-спричинені судоми в щурів контрольних груп розпочиналися за 1,8-3,2 хвилини ($2,5 \pm 0,8$ хв – усереднені дані у всіх контрольних групах тварин) з моменту внутрішньоочеревинного введення епілептогену. В щурів поступово розвивалися міоклонічні здригання, клонічні скорочення м'язів тулубу зростаючої інтенсивності, у 95 % тварин розвивалися клоніко-тонічні судомні напади середньої інтенсивності $4,2 \pm 0,4$ бали (Рис. 4.14, А, Б, 1).

За умов внутрішньошлуночкового введення соматостатину середня інтенсивність судом в щурів становила $3,1 \pm 0,3$ бали, що мало вірогідні розбіжності порівняно з такими контрольними показниками ($P < 0,05$). Судомні прояви у 13 щурів з 18 охоплювали передні кінцівки, в 5 щурів клонічні скорочення охоплювали увесь тулуб.

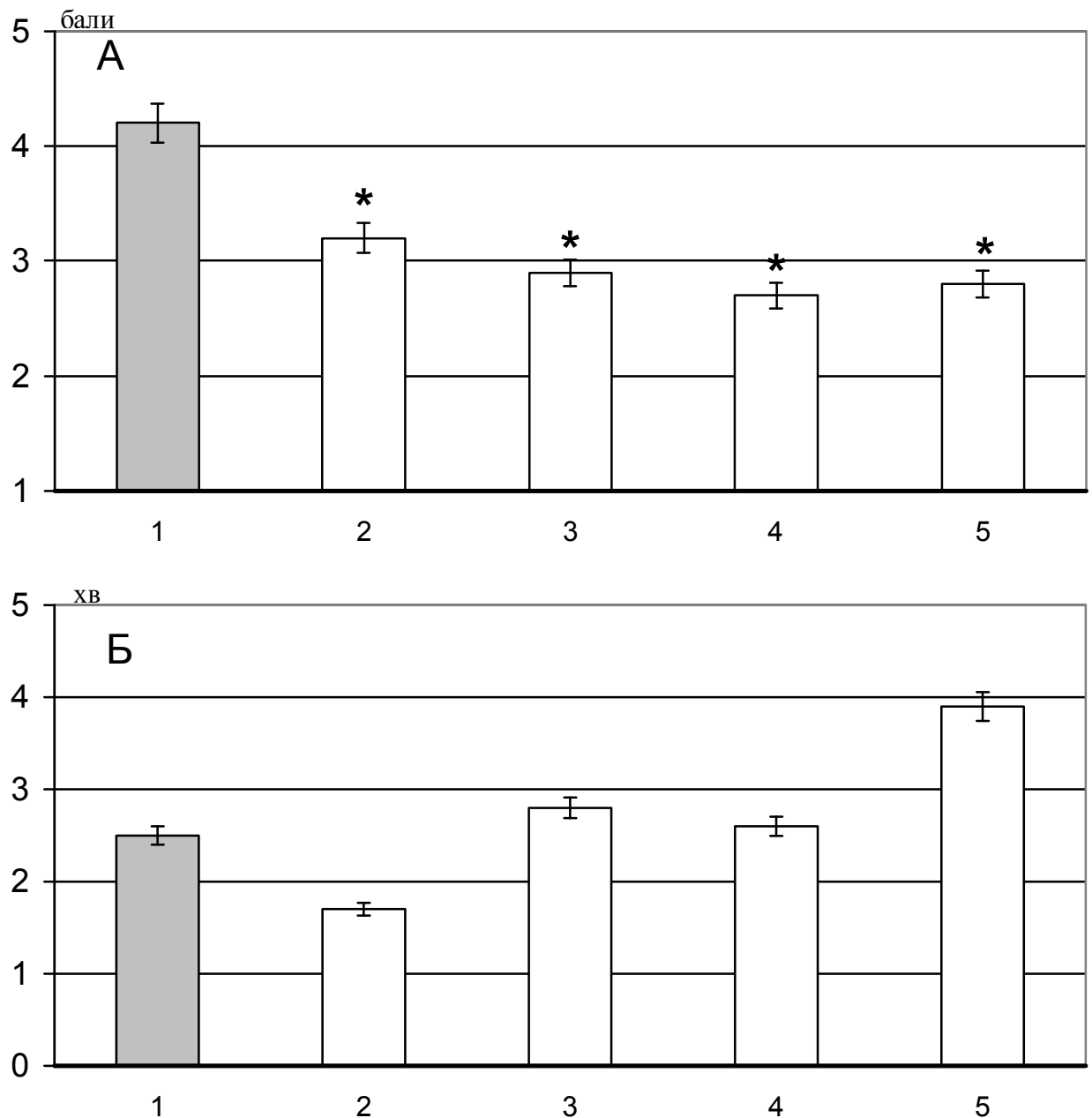


Рис. 4.14. Вплив внутрішньомозкових введень соматостатину (10 мкг) на показники коразол-індукованої судомної готовності щурів

Позначення: за віссю ординат – інтенсивність судом (абсолютні дані, фрагмент А) та тривалість латентного періоду (абсолютні дані, фрагмент Б).

За віссю абсцис – позначення 1-5, відповідно, щури контрольної групи; введення пептиду в бокові шлуночки мозку, ретикулярну частину чорної речовини, базолатеральний мигдалик, вентральний гіпокамп.

Примітки: * - $P < 0,05$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

При цьому латентний період перших коразол-провокованих судом був на 21 % менше, ніж в контролі ($P > 0,05$, Рис. 4.14, Б, 2).

При введенні нейропептиду в ретикулярну частину чорної речовини щури демонстрували судомі інтенсивністю в $2,9 \pm 0,3$ бали, що було значно менше, ніж в контролі ($P < 0,05$; Рис. 4.14, А, 3). Латентний період перших коразол-спричинених судом з таких умов був на 17 % більше, ніж відповідний контрольний показник ($P > 0,05$, Рис. 4.14, Б, 3).

За умов введення соматостатину у базолатеральний мигдалик середня інтенсивність коразол-спричинених судом в щурів дорівнювала $2,8 \pm 0,2$ бали, що було вірогідно менше порівняно з такими контрольними показниками ($P < 0,05$). При цьому латентний період перших коразол-провокованих судом був на 9 % більше, ніж в контролі ($P > 0,05$, Рис. 4.14, Б, 4).

При внутрішньогіпокампулярному введенні нейропептиду щури демонстрували переважно клонічні судомі м'язів тулубу інтенсивністю в $2,9 \pm 0,2$ бали, що також було значно менше, ніж в контролі ($P < 0,05$; Рис. 4.14, А, 5). Латентний період перших коразол-спричинених судом за таких умов був співставним з відповідним контрольним показником ($P > 0,05$, Рис. 4.14, Б, 5).

Генералізовані судомі, індуковані в щурів пікротоксином, розпочиналися за 22-27 хв з моменту внутрішньоочеревинного введення конвульсанту ($24,8 \pm 2,6$ хв – усереднені дані у всіх контрольних групах тварин). В щурів поступово розвивалися міоклонічні здригання, клонічні скорочення м'язів тулубу зростаючої інтенсивності, у 60 % тварин розвивалися клоніко-тонічні судомні напади середньої інтенсивності $2,9 \pm 0,4$ бали (Рис. 4.15, А, Б, 1).

Перші судомні пікротоксин-індуковані прояви за умов внутрішньошлуночкового введення соматостатину були відзначені на $41,0 \pm 0,4$ хв, що виявилось на 61 % більше порівняно таким контрольним показником (Рис. 4.15, Б, 2). За таких умов судомні прояви були мінімальні – рухи вібрис та здригання м'язів морди – в 11 щурів із 13 в групі. В решті щурів судомні прояви охоплювали м'язи передніх кінцівок. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи становила $0,7 \pm 0,1$ бал, що було

значно менше порівняно з таким показником в контролі ($P < 0,01$, Рис. 4.15, А, 2).

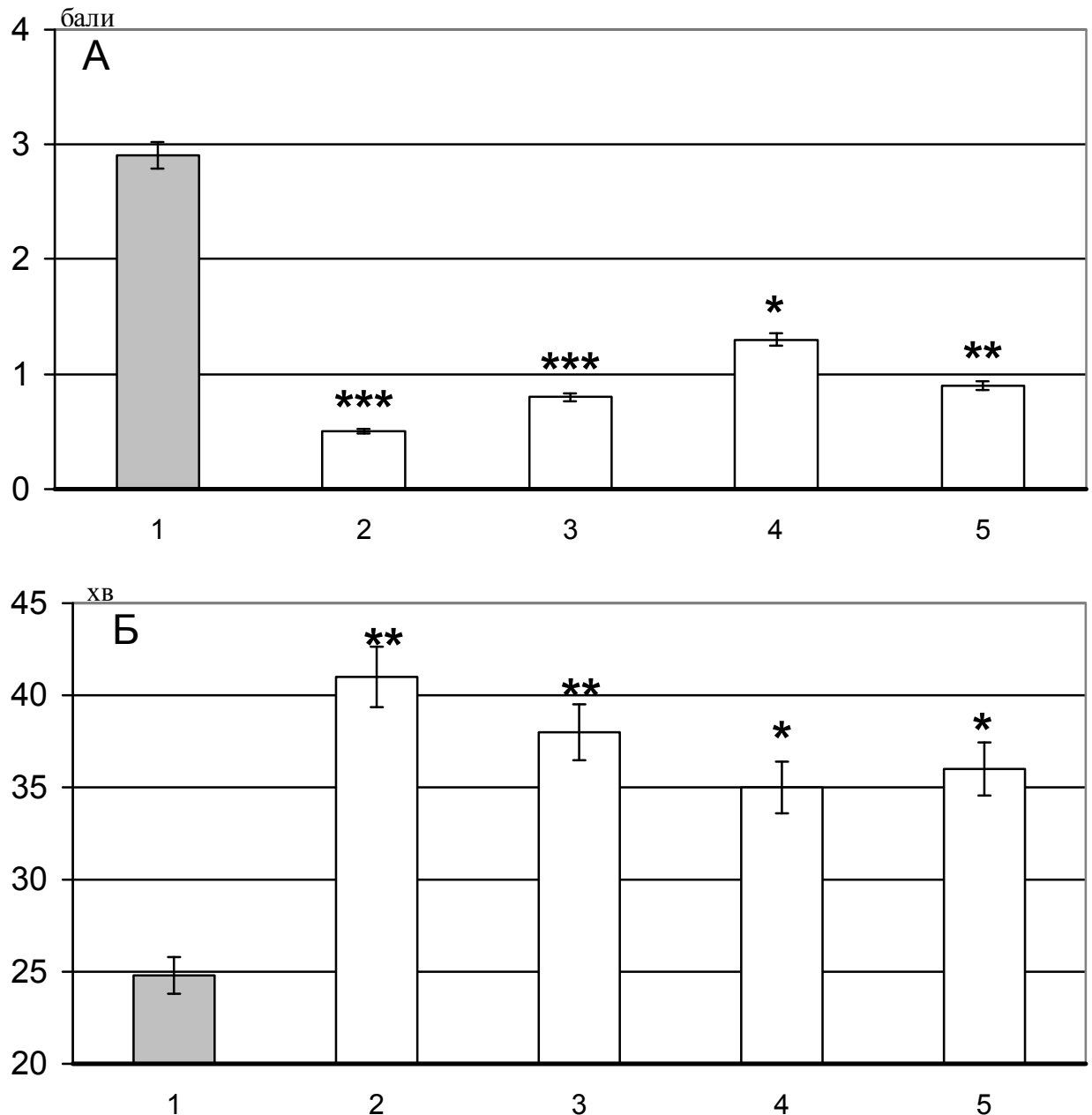


Рис. 4.15. Вплив внутрішньомозкових введень соматостатину (10 мкг) на показники пікротоксин-індукованої судомної готовності щурів

Позначення: за віссю ординат – інтенсивність судом (абсолютні дані, фрагмент А) та тривалість латентного періоду (абсолютні дані, фрагмент Б).

За віссю абсцис – позначення 1-5, відповідно, щури контрольної групи; введення пептиду в бокові шлуночки мозку, ретикулярну частину чорної речовини, базолатеральний мигдалик, вентральний гіпокамп.

Примітки: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$ та *** - $P < 0,001$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

При введенні нейропептиду в ретикулярну частину чорної речовини щури демонстрували судоми, середня інтенсивність яких становила $0,9 \pm 0,2$ бали, що також було суттєво менше, ніж в контролі ($P < 0,05$; Рис. 4.15, А, 3). Латентний період перших пікротоксин-індукованих судом з таких умов був вдвічі більше, ніж відповідний контрольний показник ($P < 0,01$, Рис. 4.15, Б, 3).

За умов введення соматостатину у базолатеральний мигдалик перші судомні прояви відзначалися в середньому через $35,0 \pm 0,3$ хв після введення пікротоксину, що виявилось на 39 % більше, ніж відповідний показник за умов контролю ($P < 0,05$, Рис. 4.15, Б, 4). За таких умов в 3 щурів реєструвалися судомні здригання, окремі клонічні скорочення м'язв тулубу. Середня інтенсивність пікротоксин-спричинених судом в щурів дорівнювала $1,2 \pm 0,2$ бали, що було вірогідно менше порівняно з такими контрольними показниками ($P < 0,05$, Рис. 4.15, А, 4).

При внутрішньогіпокампулярному введенні нейропептиду щури демонстрували судоми інтенсивністю в $0,9 \pm 0,2$ бали, що було значно менше, ніж в контролі ($P < 0,05$; Рис. 4.15, А, 5). Латентний період перших судом за таких умов дорівнював $36,4 \pm 0,8$ хв та був навпіл більше порівняно з відповідним контрольним показником ($P < 0,05$, Рис. 4.15, Б, 5).

За умов внутрішньошлуночкового введення нейротензину індуковані коразолом судоми виникали в середньому за $7,5 \pm 0,6$ хв, що було в 2,4 рази пізніше, ніж в контролі ($P < 0,05$; Рис. 4.16, Б, 2). Характер судомних проявів, навпаки, не відрізнявся від таких в контрольних спостереженнях - середня інтенсивність судом в щурів становила $1,2 \pm 0,2$ бали ($P > 0,05$, Рис. 4.16, А, 2).

При введенні нейропептиду в ретикулярну частину чорної речовини латентний період перших коразол-спричинених судом складав $8,0 \pm 0,5$ хв, що в 1,7 рази перевищувало відповідний контрольний показник ($P < 0,01$). Щури демонстрували переважно міоклонічні здригання я'язів тулубу – інтенсивність судом за таких умов була максимально нижчою порівняно з контрольними спостереженнями і дорівнювала $0,5 \pm 0,1$ бали ($P < 0,01$; Рис.

4.16, А, 3). Число тварин без судом суттєво перевищувало таке в контролі (6 проти 0 шурів. відповідно, $P < 0,05$).

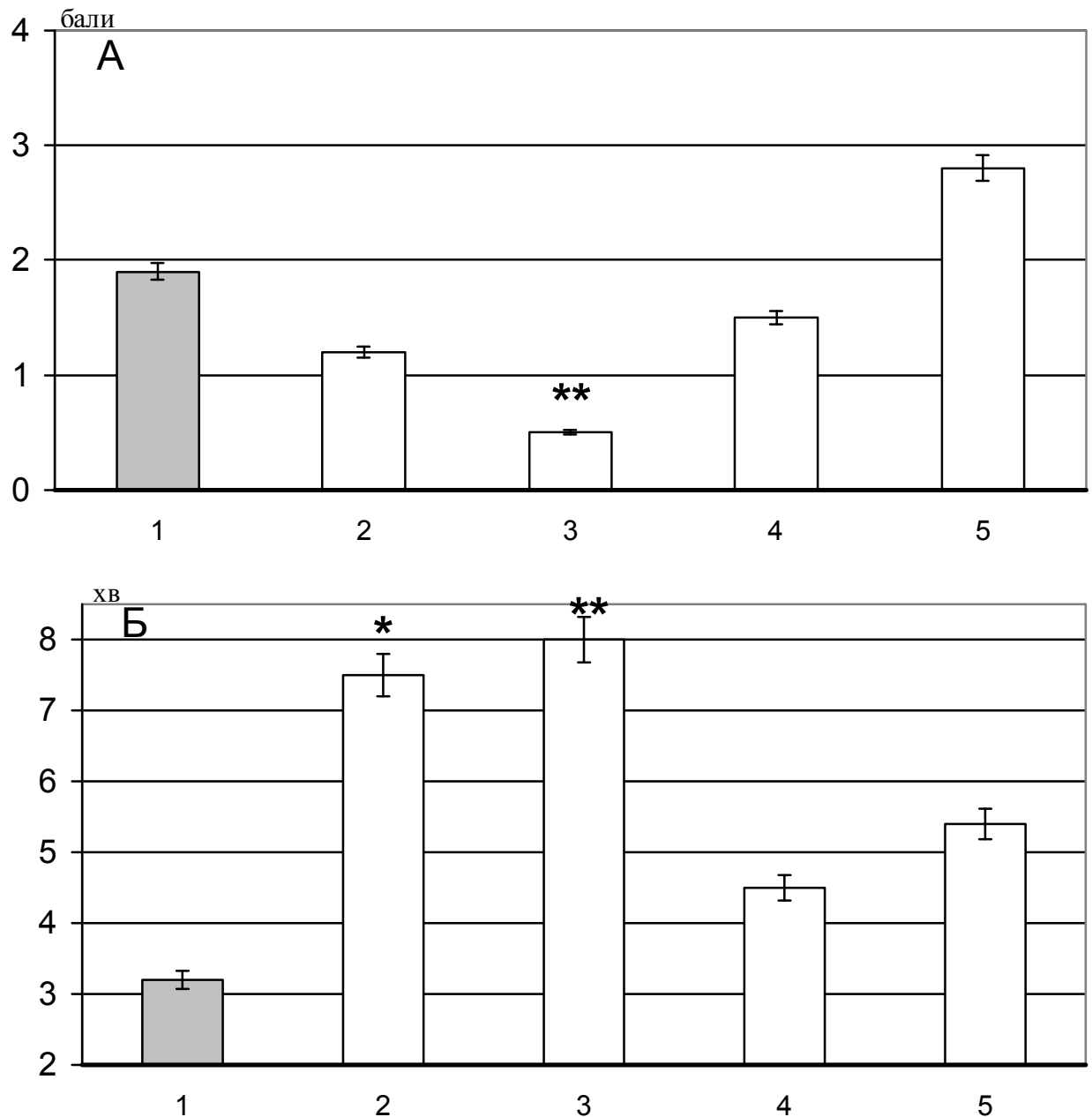


Рис. 4. 16. Вплив внутрішньомозкових введень нейротензину (10 мкг) на показники коразол-індукованої судомної готовності щурів

Позначення: за віссю ординат – інтенсивність судом (абсолютні дані, фрагмент А) та тривалість латентного періоду (абсолютні дані, фрагмент Б).

За віссю абсцис – позначення 1-5, відповідно, щури контрольної групи; введення пептиду в бокові шлуночки мозку, ретикулярну частину чорної речовини, балозатеральний мигдалик, вентральний гіпокамп.

Примітки: * - $P < 0,05$ та ** - $P < 0,01$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

За умов введення нейротензину у базолатеральний мигдалик середня інтенсивність коразол-спричинених судом в щурів дорівнювала $1,7 \pm 0,3$ бали, що було співставно з таким контрольним показником ($P > 0,05$). При цьому латентний період перших коразол-провокованих судом був на 11 % менше, ніж в контролі ($P > 0,05$, Рис. 4.16, Б, 4).

При внутрішньогіпокамальному введенні нейропептиду обидва досліджувані показники не відрізнялися суттєво від таких, які були зареєстровані в сконтрольних спостереженнях ($P > 0,05$, Рис. 4.16, А, Б, 5).

Перші судомні пікротоксин-індуковані прояви за умов внутрішньошлуночкового введення нейротензину були відзначені на $31,8 \pm 3,3$ хв, що виявилось на 76 % більше порівняно таким контрольним показником ($P < 0,05$; Рис. 4.17, Б, 2). За таких умов середня інтенсивність судом в щурів цієї групи становила $1,0 \pm 0,2$ бали, що було значно менше порівняно з таким показником в контролі ($P < 0,01$, Рис. 4.17, А, 2).

При введенні нейропептиду в ретикулярну частину чорної речовини щури демонстрували судоми, середня інтенсивність яких становила $1,2 \pm 0,2$ бали, що також було суттєво менше, ніж в контролі ($P < 0,05$; Рис. 4.17, А, 3). Латентний період перших пікротоксин-індукованих судом з таких умов дорівнював $26,4 \pm 3,7$ хв та не відрізнявся від такого показника в контролі ($P > 0,05$, Рис. 4.17, Б, 3).

За умов введення соматостатину у базолатеральний мигдалик перші судомні прояви відзначалися в середньому через $36,0 \pm 0,4$ хв після введення пікротоксину, що було на 88 % більше, ніж у тварин за контрольних умов ($P < 0,01$, Рис. 4.17, Б, 4). В більшості щурів реєструвалися окремі судомні здригання. Число тварин, в яких застосування пікротоксину не викликало судомних реакцій, було менше від такого в контролі – 6 проти 0 щурів, відповідно ($P < 0,05$). Середня інтенсивність пікротоксин-спричинених судом в щурів дорівнювала $0,8 \pm 0,2$ бали, що було вірогідно менше порівняно з такими контрольними показниками ($P < 0,05$, Рис. 4.17, А, 4).

При внутрішньогіпокамальному введенні нейропептиду 2 щури із 8 демонстрували міоклонічні здригання, 6 щурів – клонічні скорочення м'язів передніх кінцівок та усього тулубу.

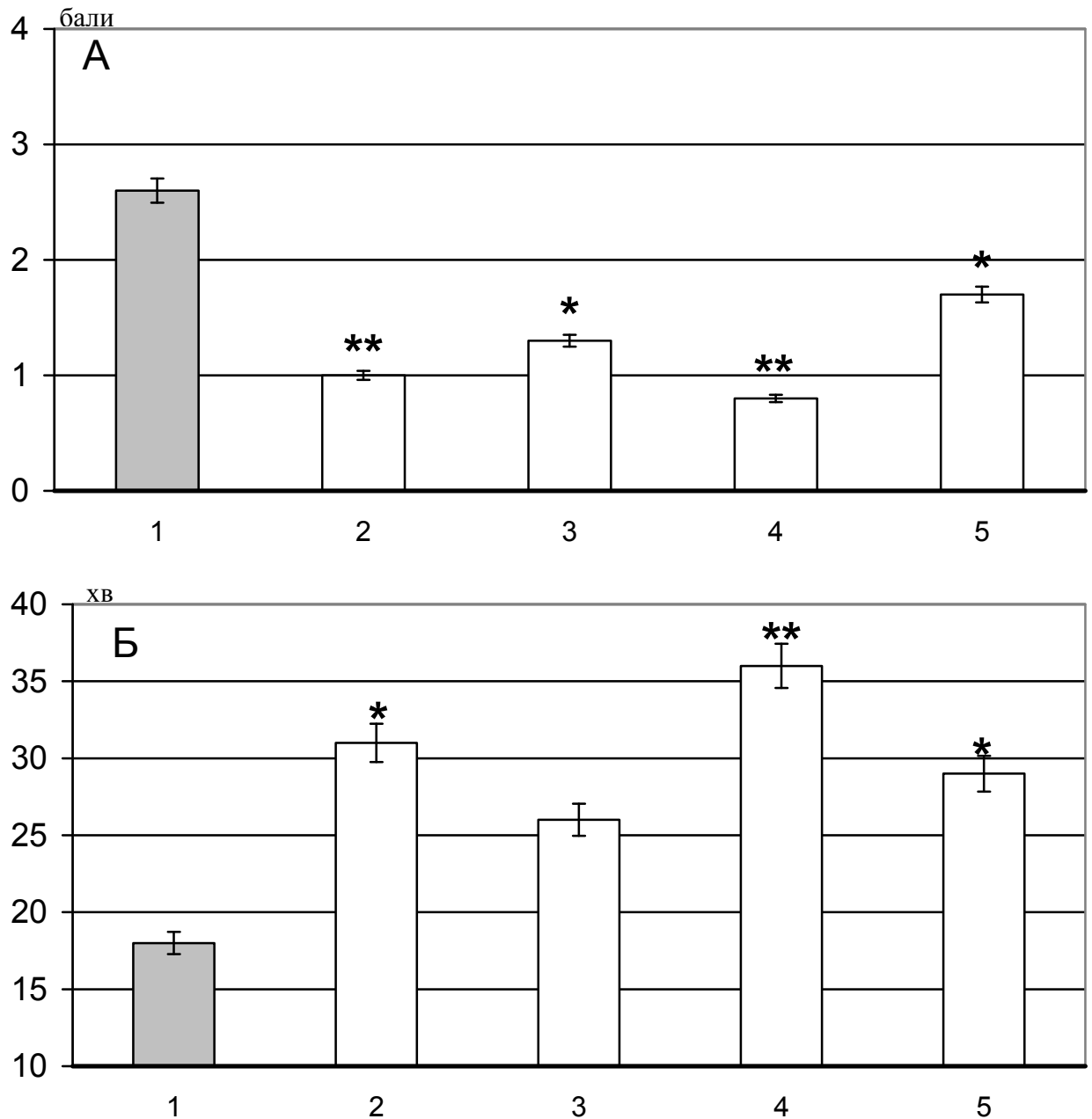


Рис. 4.17. Вплив внутрішньомозкових введень нейротензину (10 мкг) на показники пікротоксин-індукованої судомної готовності щурів

Позначення: за віссю ординат – інтенсивність судом (абсолютні дані, фрагмент А) та тривалість латентного періоду (абсолютні дані, фрагмент Б).

За віссю абсцис – позначення 1-5, відповідно, щури контрольної групи; введення пептиду в бокові шлуночки мозку, ретикулярну частину чорної речовини, балозатеральний мигдалик, вентральний гіпокамп.

Примітки: * - $P < 0,05$ та ** - $P < 0,01$ — вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів контрольної групи (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

Інтенсивність судом становила $1,7 \pm 0,2$ бали, що було значно менше такого показника в контролі ($P < 0,05$; Рис. 4.17, А, 5). Латентний період

перших судом за таких умов дорівнював $28,0 \pm 0,28$ хв та був на 36 % більше порівняно з відповідним контрольним показником ($P < 0,05$, Рис. 4.17, Б, 5).

Таким чином, отримані результати свідчать, що внутрішньомозкове застосування соматостатину та нейротензину – введення нейропептидів в лімбічні утворення, ретикулярну частину чорної речовини, у шлуночки мозку – пригнічує епілептичну активність, індуковану системним застосування коразолу та пікротоксину. Інтересно, що введення соматостатину в лімбічні структури переважно пригнічувало коразол-спричинені судоми, введення за аналогічних умов нейротензину не призводило до їх гальмування. За умов ЕпА, викликаній пікротоксином, нейротензин виявляв максимальну антиепілептичну дію при його введенні в мигдалик, тоді як подібне застосування соматостатину супроводжувалося мінімальним протисудомним ефектом. Отримані дані свідчать про різні механізми реалізації антиепілептичного впливу соматостатину та нейротензину.

Звертає на себе увагу, що відносна антиепілептична ефективність соматостатину та нейротензину за умов ЕпА, викликаній пікротоксином, і більш високою порівняно з ефектами за умов коразол-спричинених судом. Така різниця ефектів обох досліджуваних нейропептидів може пояснюватися різними механізмами епілептогенних ефектів конвульсантів: у той час як для дії коразолу більшою мірою притаманна пряма деполяризація мембрани, ефекти пікротоксину пов'язані з порушенням функції хлорного каналу, що призводить до компрометації гальмування, опосередкованого ГАМК_A-рецепторами [348].

Антиепілептична дія соматостатину може пояснюватися активацією ГАМК-ергічних нейронів, що показано для структури гіпокампа [182]. Незважаючи на відносно низький вміст соматостатину в чорній речовині щурів (1,1 фмоль/мг білка), протективна дія цього нейропептиду при його внутрішньонігральному застосуванні, ймовірно, має східний механізм, оскільки введення ГАМК-міметиків також спричиняє пригнічення судом,

індукованих конвульсантами та електрошоковим подразненням максимальної сили.

Показано також, що в контролі Епа приймає участь нейротензин, вміст якого в структурах середнього мозку є достатньо високим. Можливо припустити, що цей нейропептид також (разом із соматостатином) приймає участь у розвитку післянападової депресії, в структурі якої нейролептичні компоненти мають істотне значення [452].

Підсумовуючи, зазначимо, що в механізмах пригнічення ЕпА приймають участь соматостатин та нейротензин, які реалізують свої ефекти через лімбічні структури та ретикулярну частину чорної речовини.

4. 5. Пептидні механізми як індуктори активності антиепілептичної системи мозку при хронічній судомній активності

Зважаючи на важливе значення пептидергічних механізмів в регуляції збудливості мозку та показаних їх впливах на вираженість судомної активності, ми провели низку дослідів, спрямованих на перевірку припущення [366] стосовно протисудомної активності сполук пептидної природи, які накопичуються в церебро-спинальній рідині (ЦСР) тварин та спричиняють антиепілептичні впливи у тварин-реципієнтів. Завданням першої частини дослідів стало дослідження ефектів ЦСР тварин з ЕС в умовах відтворення аналогічного стану у тварин-реципієнтів. Початковою посилкою проведення цих дослідів стали уявлення про вирішальну роль вивільнення в ЦСР гуморальних чинників в здійсненні ефектів АЕС [75].

Епілептичний статус відтворювали у котів внутрішньогіпокампульними уведенням каїнату, після чого забирали ЦСР в котів та вводили її щурам-реципієнтам внутрішньошлуночково об'ємами 12,5 та 25,0 мкл. За 30 хв після уведення щурам ЦСР в них відтворювали ЕС.

Епілептичний статус у щурів характеризувався тривалими (більше 30 хвилин) багаторазовими генералізованими клоніко-тонічними судорожними нападами. Впродовж 3-5 годин досліду тварини контрольної групи гинули.

Судомні реакції в групі щурів з внутрішньошлуночковим введенням ЦСР (12,5 мкл), отриманою у котів з ЕС, тривали в 2,5 рази коротше, ніж у тварин в контрольних спостереженнях. Введення щурам ЦСР об'ємом 25 мкл сприяло зниженню середньої тривалості судомних реакцій в 4 рази ($P < 0,001$, Рис. 4.18).

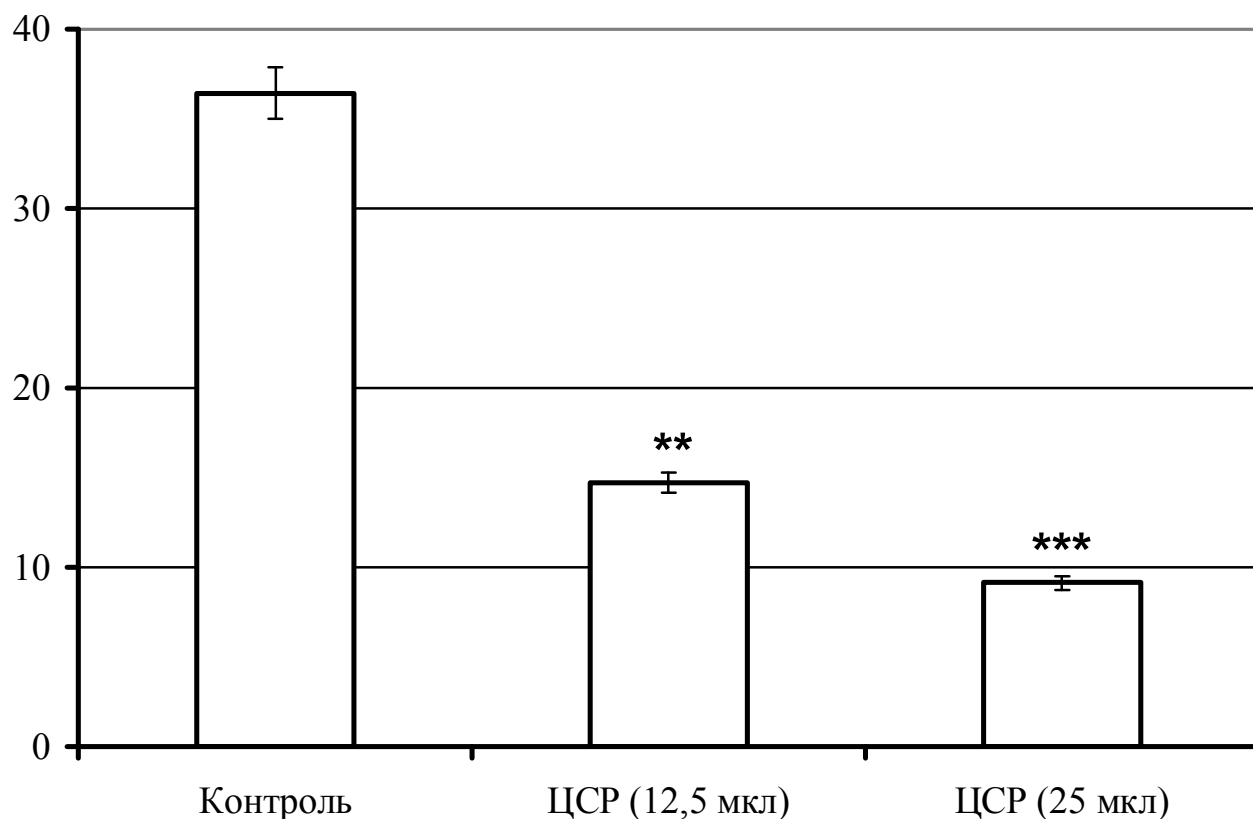


Рис. 4.18. Вплив внутрішньошлуночкового введення ЦСР котів з ЕС на тривалість судомних реакцій в щурів-реципієнтів з каїнат-індукованим ЕС

Примітка: для обрахування статистичної вірогідності досліджуваних показників застосовували статистичний критерій АНОВА+Ньюман-Кулз.

Судоми у цих тварин носили характер клонічних скорочень м'язів передніх і задніх кінцівок, морди, а також проявлялися у вигляді флексії передніх кінцівок, що за загальноприйнятою шкалою оцінки судорожних реакцій складало максимально 2 бали. Число щурів з генералізованими

клоніко-тонічними судоромими нападами також було істотно менше у разі введення ЦСР в двох об'ємах (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

Вплив внутрішньошлуночкового введення ЦСР котів з ЕС на судомну активність в щурів-реципієнтів з каїнат-індукованим ЕС

Групи тварин	Число тварин з генералізованими клоніко-тонічними нападами	P, порівняно з контролем
1. Контроль, n=8	8	-
2. ЦСР, в/шлун, 12,5 мкл, n=7	2	=0,005
3. ЦСР, в/шлун, 25 мкл, n=9	1	<0,001

Примітка: для обрахування статистичної вірогідності досліджуваних показників застосовували статистичний критерій Крушквал-Валліс.

Таким чином, результати цих досліджень показують виражену протисудомну активність ЦСР котів з епілептичним статусом. Цей ефект має видо-неспецифічний характер і проявляється після внутрішньошлуночкової ін'єкції ЦСР при індукції ЕС в щурів-реципієнтів.

Антиепілептична активність ліквору характеризується істотним скороченням тривалості судомних реакцій і якісною зміною поведінкових (судоромних) проявів епілептичного статусу. Так, за цих умов судоми мають клонічний характер, повністю запобігається розвиток тонічного компоненту судом.

Інтересною є поява протисудомних властивостей ліквору у тварин з ЕС. За уявленнями [75, 78, 92], антиепілептична активність ЦСР пов'язана не лише з механізмами індукції і поширення судомної активності при ЕС, але й з функціонуванням АЕС, яка активується при судомному процесі і бере участь в його пригніченні.

Очевидно, що за умов поширення ЕпА при ЕС проміжною тканиною мозку синтезуються і виділяються до ЦСР ендогенні гуморальні чинники, що

забезпечують зрештою ліквідацію ЕпА. Ці гуморальні чинники і є індукторами ліквідації ЕпА у тварин-реципієнтів.

Резюмуючи, слід зазначити появу в ЦСР тварин з ЕС ендогенних гуморальних чинників, що є індукторами активності антиепілептичної системи мозку, які спричиняють протисудомну дію при їх введенні в лікворну систему тварин-реципієнтів. Звертає на себе увагу видо-неспецифічність показаного ефекту і його виражена протисудомна активність.

Завданням наступної серії дослідів було вивчення впливу екстрактів мозку кіндлінгових щурів на вираженість пікротоксин-індукованих гострих судом. Пікротоксин-індуковані (2,0 мг/кг) судоми в щурів зі в/шлун мікроін'єкцією фізіологічного розчину характеризувалися переважними клонічними скороченнями м'язів передніх кінцівок та тулубу. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи дорівнювала $1,8 \pm 0,4$ бали (Рис. 4.19).

Характер та інтенсивність пікротоксин-спричинених судом після в/шлун введення екстракту мозку, який містить гіпокампальну ділянку, не розрізнялись суттєво ві щурів дослідної та контрольної груп ($P > 0,05$).

Пікротоксин-індуковані судоми в кіндлінгових щурів після в/шлун введення їм екстракту мозку дієнцефалону (з якого було видалено тканину гіпокампу) характеризувалися наявністю в більшості щурів клонічних скорочень м'язів передніх та задніх кінцівок. В 2 щурів інтенсивність судом дорівнювала 3 бали. Середня інтенсивність судом в групі кіндлінгових щурів становила $2,9 \pm 0,4$ бали та суттєво перевищувала такий показник в контрольній групі ($P < 0,05$; Рис. 4.19).

Введення пікротоксину кіндлінговим щурам після в/шлун введення їм екстрактів мозку, до яких надходила вентральна мезенцефальна ділянка, характеризувалося розвитком в 6 щурів із 9 клонічних скорочень м'язів передніх та задніх кінцівок, а також тулубу, а в 3 щурів розвивалися генералізовані клоніко-тонічні напади з падінням на бік, вегетативними розладами та післяприступною депресією. Середня інтенсивність судом в

групі кіндлінгових щурів становила $3,5 \pm 0,3$ бали та суттєво перевищувала такий показник в контрольній групі ($P < 0,01$).

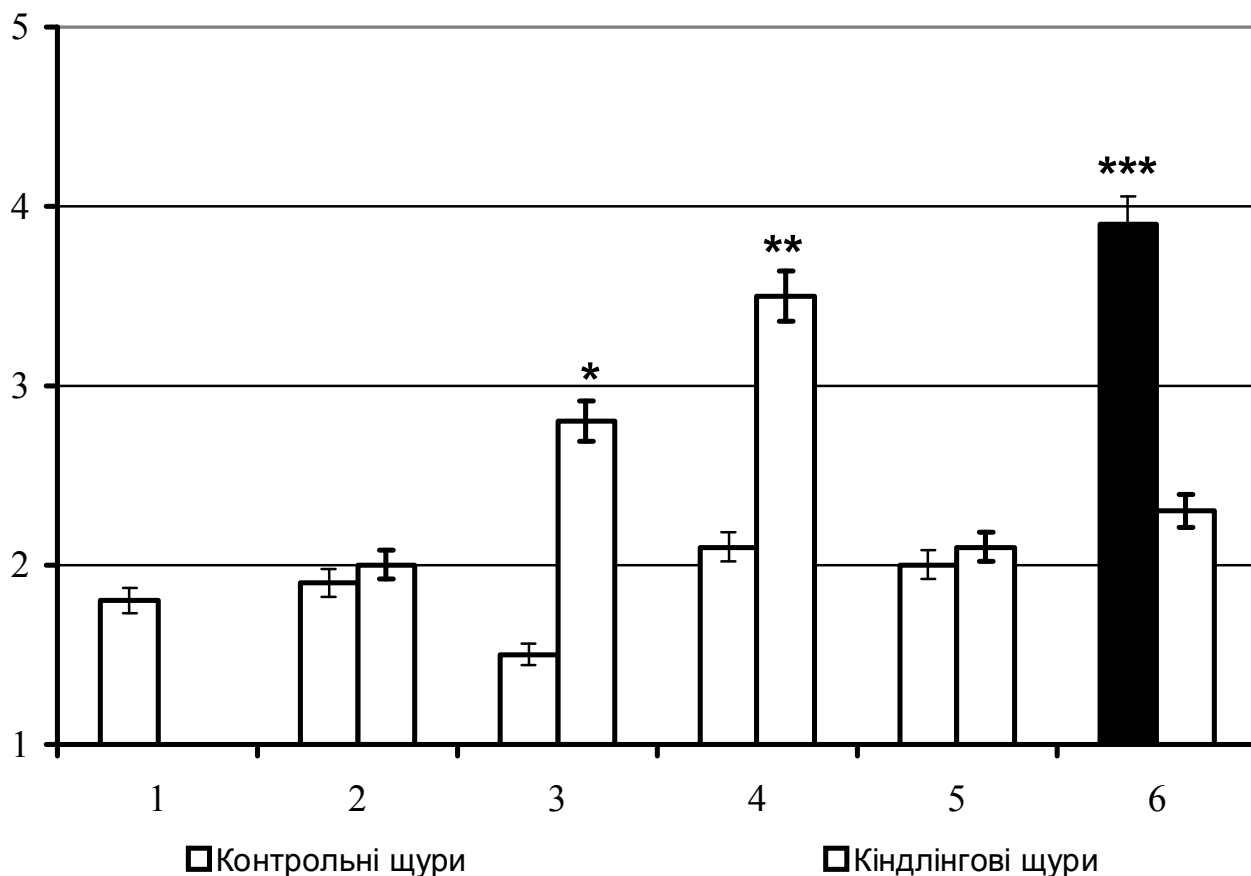


Рис. 4.19. Вплив екстрактів різних відділів мозку кіндлінгових щурів на пікротоксин-індуковану судомну активність кіндлінгових щурів

Позначення: за віссю абсцисс – 1 – введення пікротоксину після в/шлун введення 10 мкл фізіологічного розчину, 2 - введення пікротоксину після в/шлун введення екстрактів гіпокампу кіндлінгових щурів, 3 - введення пікротоксину після в/шлун введення екстрактів дієнцефалону (виключаючи гіпокамп) кіндлінгових щурів, 4 - введення пікротоксину після в/шлун введення екстрактів вентральної мезенцефалічної ділянки мозку кіндлінгових щурів, 5 - введення пікротоксину після в/шлун введення екстрактів мозку кіндлінгових щурів (без вентральної мезенцефалічної ділянки мозку), 6 - введення пікротоксину після в/шлун введення екстрактів вентральної мезенцефалічної ділянки мозку кіндлінгових щурів до (темний стовпчик) та після (світлий стовпчик) введення налоксону.

За віссю ординат – інтенсивність судом (бали)

Примітки - * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$ та *** - $P < 0,001$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у щурів контрольної групи (статистичний критерій АНОВА + Ньюман-Кулз).

Пікротоксин-викликані судоми в щурів, яким в/шлун вводили екстракт мозку щурів без вентральної мезенцефальної ділянки, характеризувалися переважною реєстрацією клонічних скорочень м'язів передніх кінцівок та тулубу. Середня інтенсивність судом в групі кіндлінгових щурів за таких не розрізнялася суттєво з таким показником в контрольній групі тварин ($P > 0,05$; Рис. 4.19).

За умов в/шлун уведення екстрактів мозку щурів, які були завчасно інкубовані з налоксоном (1,0 мг/кг), пікротоксин-індуковані судоми характеризувалося розвитку в 8 щурів із 12 клонічних скорочень м'язів передніх та задніх кінцівок, а також тулубу, а в 3 щурів розвивалися генералізовані клоніко-тонічні напади з падінням на бік, вегетативними розладами та післяприступною депресією. Середня інтенсивність судом в групі кіндлінгових щурів становила $3,9 \pm 0,3$ бали та суттєво перевищувала такий показник в групі щурів, яким в/шлун вводили екстрактів мозку щурів, не інкубований завчасно налоксоном ($P < 0,001$; Рис. 4.19).

Отже, отримані результати дозволяють зі впевненістю говорити про внесок пептидних чинників у патогенетичні механізми хронічної кіндлінг-викликанної судомної активності, для остаточної перевірки чого ми провели серію біохімічних вимірювань в тканині мозку кіндлінгових щурів.

Так, у вентральній мезенцефальній ділянці мозку інтактних щурів вміст β -ендорфіну дорівнював $(1,41 \pm 0,15) \times 10^{-3}$ нмоль/мг. Вміст цього пептиду в мозку кіндлінгових щурів дорівнював $(10,1 \pm 1,4) \times 10^{-5}$ нмоль/мг, що виявилось в 10 разів менше порівняно з таким показником в контрольній групі щурів ($P < 0,001$, табл. 4.7).

Вміст β -ендорфіну в гіпокампі інтактних щурів становив $(3,82 \pm 0,40) \times 10^{-3}$ нмоль/мг. Вміст цього пептиду в гіпокампі кіндлінгових щурів дорівнював $(6,55 \pm 0,34) \times 10^{-4}$ нмоль/мг, що виявилось в 5 разів менше порівняно з таким показником в контрольній групі щурів ($P < 0,001$).

Вміст ДСІП у вентральній мезенцефальній ділянці мозку інтактних щурів дорівнював $(0,41 \pm 0,06) \times 10^{-3}$ нмоль/мг. Вміст цього пептиду в мозку

кіндлінгових щурів дорівнював $(0,08 \pm 0,01) \times 10^{-3}$ нмоль/мг, що виявилось в 5 разів менше порівняно з таким показником в контрольній групі щурів ($P < 0,001$, табл. 4.7).

Таблиця 4.7

Зміни вмісту пептидів в утвореннях вентральної мезенцефальної ділянки (ВМД) та гіпокампу за умов пікротоксин-індукованого кіндлінгу в щурів

Групи тварин	Утворення мозку	Вміст пептидів, нмоль/мг		
		β -ендорфін	Дельта-сон індукуючий пептид	Мет-енкефалін
1. Інтактні щури, контроль	ВМД	$(1,41 \pm 0,15) \times 10^{-3}$	$(0,41 \pm 0,06) \times 10^{-3}$	$(1,89 \pm 0,10) \times 10^{-2}$
	Гіпокамп	$(3,82 \pm 0,40) \times 10^{-3}$	$(0,57 \pm 0,06) \times 10^{-3}$	$(5,77 \pm 0,09) \times 10^{-2}$
2. Кіндлінгові щури	ВМД	$(10,1 \pm 1,4) \times 10^{-5}$ *	$(0,08 \pm 0,01) \times 10^{-3}$ *	$(3,58 \pm 0,28) \times 10^{-3}$ *
	Гіпокамп	$(6,55 \pm 0,34) \times 10^{-4}$ *	$(0,21 \pm 0,02) \times 10^{-3}$ *	$(11,72 \pm 1,70) \times 10^{-3}$ *

Примітки - * - $P < 0,001$ – достовірні розбіжності досліджуваних показників порівняно з такими у щурів контрольної групи (статистичний критерій АНОВА + Ньюман-Кулз).

Вміст ДСПІ в гіпокампі інтактних щурів дорівнював $(0,57 \pm 0,06) \times 10^{-3}$ нмоль/мг. Вміст цього пептиду в мозку кіндлінгових щурів дорівнював $(0,21 \pm 0,02) \times 10^{-3}$ нмоль/мг, що виявилось в 2,5 рази менше порівняно з таким показником в контрольній групі щурів ($P < 0,001$, табл. 4.7).

Вміст мет-енкефаліну у вентральній мезенцефальній ділянці мозку інтактних щурів дорівнював $(1,89 \pm 0,10) \times 10^{-2}$ нмоль/мг. Вміст цього пептиду в мозку кіндлінгових щурів дорівнював $(3,58 \pm 0,28) \times 10^{-3}$ нмоль/мг, що

виявилось в 4,7 рази менше порівняно з відповідним показником в контрольній групі щурів ($P < 0,001$).

Вміст мет-енкефаліну в гіпокампі інтактних щурів дорівнював $(5,77 \pm 0,09) \times 10^{-2}$ нмоль/мг. Вміст цього пептиду в мозку кіндлінгових щурів дорівнював $(11,72 \pm 1,70) \times 10^{-3}$ нмоль/мг, що виявилось в 5,5 рази менше порівняно з таким показником в контрольній групі щурів ($P < 0,001$; табл. 4.7).

Отже, отримані результати свідчать про суттєве зменшення вмісту ендогенних пептидів - β -ендорфіну, ДСП та мет-енкефаліну - в досліджуваних утвореннях мозку кіндлінгових щурів. Найбільш вагомим виявилось зменшення вмісту досліджуваних пептидів у вентральній мезенцефальній ділянці мозку кіндлінгових щурів. Серед всіх пептидів слід відзначити їх зменшення вмісту за умов кіндлінг-викликаної моделі епілепсії в наступному ряді: β -ендорфін > мет-енкефалін > дельта-сон індукуючий пептид.

Резюмуючи, відзначимо, що за умов кіндлінгової моделі хронічного судомного синдрому епілептогенну дію індукують пептидні чинники, які найбільшою мірою у відповідь на повторні введення пікротоксину накопичуються у вентральній мезенцефалічній ділянці мозку. Пептидна натура епілептогенної дії вказаних чинників підтверджується протисудомними ефектами екстрактів мозку вентральної мезенцефалічної ділянки, які інкубовані з налоксоном, що додатково вказує також й на переважно мю-опіоїдні механізми епілептогенних ефектів пептидних екстрактів мозку за умов хронічного судомного синдрому.

Отримані біохімічні результати додають, що епілептогенні впливи пептидних чинників вентральної мезенцефалічної ділянки мозку не пов'язані з β -ендорфіном, мет-енкефаліном та ДСП. Ймовірно, що за умов пікротоксинового кіндлінгу активуються не ідентифіковані ще агоністи мю-опіатних рецепторів, які обумовлюють розвиток та надмірне розповсюдження хронічної епілептичної активності за умов кіндлінг-вікликаної моделі епілепсії.

4. 6. Дослідження протисудомних ефектів фенобарбіталу та дифенілгідантоїну за умов пікротоксин-індукованих судом в щурів при кіндлінзі та посткіндлінзі

Завданням наступної серії дослідів було порівняльне тестування антиепілептичних ефектів фенобарбіталу та дифенілгідантоїну за умов пікротоксин-індукованих судом в щурів за умов кіндлінгу та посткіндлінгу. Поштовхом для проведення цієї частини дослідів було намагання перевірити ефекти протисудомних препаратів за умов стадії «посткіндлінгу», що є недослідженим за умов хронічного судомного синдрому.

Введення пікротоксину (1,5 мг/кг) щурам контрольної групи сприяло розвитку судом з клонічними скороченням м'язів тубулу, передніх та задніх кінцівок в 3 щурів із 8 (табл. 4.8). У 5 щурів розвивалися генералізовані клоніко-тонічні судоми з падіннями тварин на бік, вегетативними розладами та післяприступною депресією. Їх інтенсивність дорівнювала 4 балам. Введення фенобарбіталу дозою 1,0 мг/кг сприяло розвиткові в 6 тварин судом інтенсивністю в 3 бали і в 4 тварин – генералізованих судом з інтенсивністю в 4 бали. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи не відрізнялась суттєво від такої, що її було зареєстровано в контролі ($P>0,05$).

Введення фенобарбіталу дозою 5,0 мг/кг сприяло розвиткові в 3 тварин судом інтенсивністю в 3 бали і в 5 тварин – генералізованих судом з інтенсивністю в 4 бали. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи також не відрізнялась значно від такої, що її було зареєстровано в контролі (табл. 4.8).

Пікротоксин-спричинені судоми у щурів після введення їм фенобарбіталу дозою 10 мг/кг характеризувалися наявністю в 4 тварин клонічних скорочень м'язів передніх кінцівок – їх інтенсивність дорівнювала 2 бали. В 5 тварин розвивалися судоми інтенсивністю в 3 бали і в 1 щура – генералізований напад інтенсивністю в 4 бали. При цьому середня інтенсивність судом була меншою порівняно з такою, що її було відзначено в контрольних спостереженнях ($P<0,05$).

Таблиця 4.8

Вплив фенобарбіталу (ФБ) та дифенілгідантоїну (ДФГ) на пікротоксин-індуковані (1,5 мг/кг) гострі генералізовані судоми в інтактних щурів

Групи щурів із введеними препаратами (دوزи, мг/кг)	Число щурів	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем
		0	1	2	3	4	5	
1. Метоцель, контроль до ФБ	8	0	0	0	3	5	-	-
2. ФБ (1,0)	10	0	0	0	6	4	-	>0,05
3. ФБ (5,0)	8	0	0	0	3	5	-	>0,05
4. ФБ (10)	10	0	0	4	5	1	-	<0,05
5. Метоцель, контроль до ДФГ	10	0	0	0	4	6	-	-
6. ДФГ (50)	10	0	0	1	5	4	-	>0,05
7. ДФГ (100)	8	0	0	1	4	3	-	>0,05
8. ДФГ (125)	8	0	0	3	4	1	-	<0,05

Примітка: вірогідні розбіжності обраховували за допомогою статистичного критерію Крушквал-Валліс

Введення дифенілгідантоїну дозою 50 мг/кг сприяло розвитку в 1 щура судом інтенсивністю в 2 бали, в 5 тварин судом інтенсивністю в 3 бали і в 4 тварин – генералізованих судом з інтенсивністю в 4 бали. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи не відрізнялась суттєво від такої, що її було зареєстровано в контролі ($P > 0,05$).

Введення дифенілгідантоїну дозою 100 мг/кг сприяло розвитку в 1 щура судом інтенсивністю в 2 бали, в 4 тварин судом інтенсивністю в 3 бали і в 3 тварин – генералізованих судом з інтенсивністю в 4 бали. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи також не відрізнялась від такої, що її було зареєстровано в контролі ($P>0,05$).

Пікротоксин-індуковані судоми у щурів після введення їм дифенілгідантоїну дозою 125 мг/кг характеризувалися наявністю в 3 тварин клонічних скорочень м'язів передніх кінцівок – їх інтенсивність дорівнювала 2 бали. В 4 щурів розвивалися судоми інтенсивністю в 3 бали і в 1 щура – генералізований напад інтенсивністю в 4 бали. При цьому середня інтенсивність судом була меншою порівняно з такою, що її було відзначено в контрольних спостереженнях ($P<0,05$; табл. 4.8).

В контрольних спостереженнях пікротоксин-індуковані судоми в кіндлінгових щурів характеризувалися максимальною вираженістю та були виражені у 13 щурів із 17 судомами інтенсивністю в 4 бали, а в 4 щурів – повторними генералізованими клоніко-тонічними судомами інтенсивністю в 5 балів (табл. 4.9).

Пікротоксинові судоми після введення фенобарбіталу дозою 1,0 мг/кг кіндлінговим щурам в 1 тварини мали інтенсивність 3 бали, в 7 тварин – інтенсивність 4 бали і в 1 щура було відзначено судоми інтенсивністю в 5 балів. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи не відрізнялась суттєво від такої, що її було зареєстровано в контролі ($P>0,05$).

Введення фенобарбіталу дозою 5,0 мг/кг кіндлінговим щурам сприяло розвитку в 1 щура клонічних здригань м'язів передніх кінцівок інтенсивністю в 1 бал, в 4 тварин судом інтенсивністю в 2 бали, в 4 щурів – судом з інтенсивністю в 3 бали і в 1 щура було зареєстровано генералізований клоніко-тонічний напад інтенсивністю в 4 бали. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи була суттєво менше порівно з тою, відзначеною в контролі ($P<0,05$).

Таблиця 4.9

Вплив фенобарбіталу (ФБ) та дифенілгідантоїну (ДФГ) на пікротоксин-індуковані (1,5 мг/кг) судоми в кіндлінгових щурів

Групи щурів із введеними препаратами (دوزи, мг/кг)	Число щурів	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем
		0	1	2	3	4	5	
1. Метоцель, контроль до ФБ	9	0	0	0	0	6	3	-
2. ФБ (1,0)	10	0	0	0	1	7	2	>0,05
3. ФБ (5,0)	10	0	1	4	4	1	0	<0,05
4. ФБ (10)	10	1	1	6	2	0	0	<0,05
5. Метоцель, контроль до ДФГ	8	0	0	0	0	7	1	-
6. ДФГ (50)	10	0	0	0	4	5	1	>0,05
7. ДФГ (100)	9	0	0	5	3	1	0	<0,05
8. ДФГ (125)	8	1	1	5	1	0	0	<0,05

Примітка: вірогідні розбіжності обраховували за допомогою статистичного критерію Крускал-Валліс

Пікротоксин-спричинені судоми у кіндлінгових щурів після введення їм фенобарбіталу дозою 10 мг/кг характеризувалися появою в 1 щура клонічних здригань м'язів передніх кінцівок інтенсивністю в 1 бал, в 6 тварин судом інтенсивністю в 2 бали та в 2 щурів – судом з інтенсивністю в 3 бали. Середня інтенсивність судом також була меншою порівняно з такою, що її було відзначено в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$).

Введення дифенілгідантоїну дозою 50 мг/кг кіндлінговим щурам сприяло розвитку в 4 тварин судом інтенсивністю в 3 бали, в 5 тварин –

генералізованих судом з інтенсивністю в 4 бали і в 1 щура – повторного клоніко-тонічного нападу інтенсивністю в 5 балів. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи не відрізнялась суттєво від такої, що її було зареєстровано в контролі ($P>0,05$).

Введення дифенілгідантоїну дозою 100 мг/кг кіндлінговим щурам сприяло розвитку в 5 щурів судом інтенсивністю в 2 бали, в 3 тварин судом інтенсивністю в 3 бали і в 1 щура – генералізованих судом з інтенсивністю в 4 бали. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи була меншою порівняно з такою в контрольних спостереженнях ($P<0,05$).

Пікротоксин-індуковані судом у кіндлінгових щурів після введення їм дифенілгідантоїну дозою 125 мг/кг характеризувалися наявністю в 1 щура міоклонічних здригань м'язів передніх кінцівок інтенсивністю в 1 бал, в 5 тварин - клонічних скорочень м'язів передніх кінцівок інтенсивністю в 2 бали. В 1 щура розвинулися судомі інтенсивністю в 3 бали. При цьому середня інтенсивність судом була меншою порівняно з такою, що її було відзначено в контрольних спостереженнях ($P<0,05$; табл. 4.9).

Після 14-денного періоду по завершенню формування кіндлінгу введення пікротоксину (1,5 мг/кг) спричинило розвиток у всіх щурів генералізованих в тому числі й повторних клоніко-тонічних судом, інтенсивність яких в 4 із 15 дорівнювала 4 бали, в 11 із 15 – 5 балам (табл. 4.10).

Пікротоксинові судомі у всіх 7 щурів з післякіндлінгом після введення фенобарбіталу дозою 1,0 мг/кг мали повторний генералізований клоніко-тонічний характер і інтенсивність в 5 балів. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи не відрізнялась суттєво від такої в контролі ($P>0,05$).

Пікротоксинові судомі у всіх 8 щурів з післякіндлінгом після введення фенобарбіталу дозою 5,0 мг/кг також мали генералізований клоніко-тонічний характер. У 4 щурів інтенсивність судом становила 4 бали, у 4 - 5 балів. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи також була співставна з такою в контрольних спостереженнях ($P>0,05$).

Таблиця 4.10

Вплив фенobarбіталу (ФБ) та дифенілгідантоїну (ДФГ) на пікротоксин-індуковані (1,5 мг/кг) судоми в кіндлінгових щурів через 14-денний посткіндлінговий інтервал

Групи щурів із введеними препаратами (دوزи, мг/кг)	Число щурів	Число щурів з судомами інтенсивністю						P, порівняно з контролем
		0	1	2	3	4	5	
1, Метоцель, контроль до ФБ	8	0	0	0	0	3	5	-
2, ФБ (1,0)	7	0	0	0	0	0	7	>0,05
3, ФБ (5,0)	8	0	0	0	0	4	4	>0,05
4, ФБ (10)	8	0	0	0	0	5	3	>0,05
5, ФБ (20)	8	0	0	0	4	2	2	<0,05
6, Метоцель, контроль до ДФГ	7	0	0	0	0	1	6	-
7, ДФГ (50)	7	0	0	0	0	1	6	>0,05
8, ДФГ (100)	7	0	0	0	0	0	7	>0,05
9, ДФГ (125)	7	0	0	0	0	2	5	>0,05
10. ФТ (150)*	7	0	0	0	0	1	6	>0,05

Примітка: вірогідні розбіжності обраховували за допомогою статистичного критерію Крушквал-Валліс

* - було відзначено розвиток побічних ефектів.

Введення фенobarбіталу дозою 10 мг/кг щурам протягом періоду післякіндлінгу сприяло розвитку в 5 щурів генералізованих клоніко-тонічних нападів інтенсивністю в 4 бали. В 3 щурів генералізовані клоніко-тонічні напади мали повторний характер і інтенсивність в 5 балів. Середня

інтенсивність судом в щурів цієї групи не відрізнялась суттєво від такої в контролі ($P > 0,05$).

Пікротоксин-спричинені судоми у післякіндлінгових щурів після введення їм фенобарбіталу максимальною дозою 20 мг/кг характеризувалися появою в 4 щурів судом з інтенсивністю в 3 бали, в 2 щурів генералізованих клоніко-тонічних нападів інтенсивністю в 4 бали. В 2 щурів генералізовані клоніко-тонічні напади мали повторний характер і інтенсивність в 5 балів. Проте, середня інтенсивність судом виявилася меншою порівняно з такою в контролі ($P < 0,05$).

Введення дифенілгідантоїну дозою 50 мг/кг та 100 мг/кг посткіндлінговим шурам сприяло розвитку в 7 щурів генералізованих клоніко-тонічних судом, в тому числі й повторних. Середня інтенсивність судом в щурів цих двох груп не відрізнялась від такої, що її було зареєстровано в контролі ($P > 0,05$).

Введення дифенілгідантоїну дозою 120 мг/кг шурам протягом періоду посткіндлінгу також спричинило розвиток у всіх щурів генералізованих клоніко-тонічних судом, які в 2 щурів мали інтенсивність 4 бали та в 5 щурів – інтенсивність 5 балів. Середня інтенсивність судом в щурів цієї групи була меншою порівняно з такою в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$).

Пікротоксин-індуковані судоми у щурів через 14 днів після звершення кіндлінгу після введення їм максимальної (близької до токсичної) дози фенітоїну 150 мг/кг також характеризувалися наявністю у всіх щурів генералізованих клоніко-тонічних судом, які в 1 щура мали інтенсивність 4 бали та в 6 щурів – інтенсивність 5 балів. Середня інтенсивність судом була співставна з такою в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$; табл. 4.10).

Отже, отримані результати свідчать про певний діапазон протисудомної дії фенобарбіталу та дифенілгідантоїну, яка, безумовно, має залежний від дози характер та проявляється у щурів за умов гострих пікротоксинових судом, а також при сформованій хронічній ЕпА за умов фармакологічного кіндлінгу. Проте, через 14 діб після завершення кіндлінгу обидва протисудомні препарати

не виявляють захисної дії за модельних умов, що зумовлює їх призначення в максимальних дозах, близьких до токсичних. Таким чином, післякіндлінгові судоми характеризуються більшою інтенсивністю та більш вираженою резистентністю щодо дії протисудомних препаратів.

Механізми, які мають бути підґрунтям показаних особливостей моделі післякіндлінгу, залишаються невідомими, проте, для їх пояснення уснують дві концепції. Перша полягає в тому, що протягом формування кіндлінгу відбувається тонічна активація протисудомних механізмів головного мозку, проявом якою є зростання активності ендогенної антиепілептичної системи мозку, яка перешкоджає або запобігає подальшому розвитку епілептогенезу. Ендогенні пептиди взагалі та ендогенні опіоїди, зокрема, є одними з провідних чинників активності ендогенних протисудомних механізмів, які мають характерний прояв протягом інтеріктальних періодів. Отже, виражене підсилення інтенсивності судом через 14 діб після завершення кіндлінгу може бути викликане зниженням функціональної активності захисних протисудомних механізмів, в той час як активність епілептогенних систем не змінено.

З іншого боку, ймовірно підсилення активності ендогенних протисудомних механізмів протягом 14 діб після формування кіндлінгу, про що свідчать дані [453], які показали зростання чутливості CA_3 пірамідальних нейронів гіпокампу щодо дії NMDA через 28 діб після формування електричного кіндлінгу мигдалика.

Резюмуючи, дві сторони кіндлінгової моделі епілепсії є різними стосовно ефективності протисудомних препаратів. Так, наприклад, модель пікротоксинового кіндлінгу є гідна для тестування ефектів антиепілептичних препаратів, в той час як модель післякіндлінгу є резистентною щодо впливу протисудомних препаратів.

4. 7. Ефекти протисудомних препаратів на кіндлінг-викликану епілептичну активність у щурів різного віку

До задачі цієї частини дослідів входило вивчення ефективності протисудомних препаратів карбамазепіну і вальпроєвої кислоти відносно кіндлінг-викликаної ЕпА у незрілих щурів. З цією метою ефекти карбамазепіну і вальпроєвої кислоти тестували після відтворення кіндлінгу в щурів трьох груп: а) у шестимісячних інтактних щурів; б) 20 денних інтактних щурів; в) шестимісячних щурів, у яких у 20 денному віці (постнатальному періоді) відтворювали кіндлінг.

Введення пікротоксину (1,5 мг/кг) дорослим кіндлінговим щурам супроводжувалося розвитком у них перших судомних проявів у вигляді клонічних скорочень м'язів тулуба і кінцівок, в середньому, через $15,2 \pm 1,8$ хв (табл. 4.11). Через 3-7 хв у всіх тварин розвивалися генералізованні судомні напади з падінням на бік, втратою рівноваги і депресією постнападу. У 25 % щурів генералізованні клоніко-тонічні напади відмічалися повторно.

Тестуюче введення конвульсанту (1,5 мг/кг) 20 денним щурам призводило до появи перших судомних реакцій через 12-14 хвилин. У 1 щура судоми виявлялися у вигляді клонічних скорочень м'язів передніх і задніх кінцівок, у 7 тварин спостерігався розвиток генералізованих судомних нападів з падінням на бік, втратою рівноваги і депресією постнападу.

У разі введення пікротоксину (1,5 мг/кг) дорослим щурам, у яких, в ранньому постнатальному періоді, був сформований кіндлінг, судомні прояви у всіх тварин розвивалися через 10-12 хвилин після 1 ін'єкції конвульсанту. У 100 % тварин цієї групи формувалися генералізовані судомні напади, причому у 50 % ці напади відзначалися повторно (Табл. 4.11).

Використання карбамазепіну (10 мг/кг) дорослим кіндлінговим щурам сприяло появі у них перших судомних реакцій в середньому через $16,6 \pm 2,1$

хв, що було на 8 % більше аналогічного показника в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$).

Таблиця 4.11

Вплив карбамазепіну (КБЗ) на ЕпА в умовах пікротоксинового кіндлінгу у дорослих і незрілих щурів

Умови досліджу, доза препарату	Вік тварин	Латентний період перших судом, хв	Кількість тварин з судомами, бали					
			0	1	2	3	4	5
1. Контроль: Кіндлінг + ПТК, n=8	6 місяців	15,2±1,8	0	0	0	0	6	2
	20 днів	14,0±1,2	0	0	0	1	6	1
	6 місяців*	11,1±1,7	0	0	0	0	4	4
2. Кіндлінг + КБЗ (10 мг/кг) + ПТК, n=10	6 місяців	16,6±2,1	0	0	0	2	7	1
	20 днів	18,1±2,9	0	0	0	1	6	3
	6 місяців *	14,8±2,0	0	0	0	0	7	3
3. Кіндлінг + КБЗ (15 мг/кг) + ПТК, n=10	6 місяців	21,4±2,1 #	0	0	0	4	4	2
	20 днів	16,1±2,4	0	0	0	0	8	2
	6 місяців*	17,0±2,6	0	0	0	1	5	4
4. Кіндлінг + КБЗ (20 мг/кг) + ПТК, n=10	6 місяців	25,1±2,9 #	0	5	4	1	0	0♠
	20 днів	22,0±2,9 #	0	4	5	1	0	0♠
	6 місяців*	18,6±2,1 #	0	3	5	2	0	0♠

Примітки: * визначена група 6 місячних щурів, у яких в ранньому постнатальному періоді (20 днів) відтворювали кіндлінг.

- $P < 0,05$ - достовірні відмінності латентного періоду судом щодо аналогічних показників у відповідних контрольних групах щурів (АНОВА критерій).

♠ - $P < 0,05$ - достовірні відмінності тяжкості судом щодо аналогічних показників у відповідних контрольних групах щурів (критерій Крушкालл-Валліс).

В цих умовах тільки у 2 щурів не було відмічено формування генералізованного судомного нападу, у решти тварин генералізованні клоніко-тонічні напади розвивалися, причому у 1 щура - повторно. Тяжкість судом при цьому не різнилися істотно з відповідними показниками в контрольній групі щурів (табл. 4.11).

Аналогічне введення карбамазепіну (10 мг/кг) молодим щурам сприяло деякому (на 21 %; $P > 0,05$) зростанню латентного періоду перших пікротоксин-викликаних судомних проявів. У тварин цієї групи генералізованні судоми відмічалися у 90 % тварин, причому у 30 % щурів - повторно, що суттєво не відрізнялося від відповідних показників у щурів контрольної групи.

Після введення карбамазепіну (10 мг/кг) латентний період перших пікротоксин-викликаних судом у дорослих щурів з раніше сформованим кіндлінгом в дитячому віці не різнився з таким показником в контролі. У всіх щурів розвивалися генералізованні клоніко-тонічні судоми з падінням на бік, втратою рівноваги, вегетативними порушеннями і депресією постнападу, причому у 30 % щурів генералізовані напади відзначалися повторно (табл. 4.11).

Карбамазепін, введений в дозі 15 мг/кг дорослим кіндлінговим щурам, сприяв істотному збільшенню (на 29 %; $P < 0,05$) латентного періоду перших пікротоксин-спровокованих судом в порівнянні з аналогічним показником в контрольних спостереженнях. При цьому, клонічні судоми розвивалися у 60 % тварин, що суттєво не рушилося з такими показниками у щурів контрольної групи.

Застосування в цих умовах конвульсанту молодим щурам супроводжувалося розвитком перших судом, в середньому, через $16,1 \pm 2,4$ хв, що не різнилося істотно з аналогічними контрольними даними. Судомні прояви характеризувалися 100 % розвитком генералізованих клоніко-тонічних нападів у щурів, причому у 20 % тварин ці судоми розвивалися повторно ($P > 0,05$ у порівнянні з контролем).

Після застосування карбамазепіну (15 мг/кг) дорослим щурам з раніше сформованим кіндлінгом в постнатальному періоді, латентний період перших пікротоксин-викликаних судом відрізнявся від таким показників в контролі на 33 %, що не мало істотної статистичної достовірності ($P > 0,05$). У 9 з 10 щурів відмічався розвиток генералізованих клоніко-тонічні судом з падінням на бік, втратою рівноваги, вегетативними порушеннями і післянападовою депресією, причому у 4 щурів генералізованні напади відмічалися повторно - інтенсивність судом також не відрізнялася від контрольних показників (табл. 4.11).

Карбамазепін (20 мг/кг) у дорослих кіндлінгових щурів сприяв тому, що перші пікротоксин-викликані судом розвивалися, в середньому, через $25,1 \pm 2,9$ хв, що в 1,7 рази перевищувало відповідний контрольний показник ($P < 0,05$). При цьому, судомні реакції характеризувалися клонічними скороченнями м'язів тулуба і передніх кінцівок, у 1 щура відмічалися клонічні скорочення м'язів задніх кінцівок. Вираженість судомних реакцій була меншою, в порівнянні з відповідними показниками у щурів контрольної групи ($P < 0,05$).

Введення, за аналогічних умов, карбамазепіну в максимальній дозі молодим щурам супроводжувалося розвитком перших пікротоксин-викликаних судом, в середньому, через $22,0 \pm 2,9$ хв, що в 1,6 раз перевищувало аналогічні дані у щурів в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$). Судомні прояви характеризувалися відсутністю генералізованих клоніко-тонічних нападів і формуванням клонічних скорочень м'язів тулуба і кінцівок ($P < 0,05$ в порівнянні з контролем).

Застосування карбамазепіну (20 мг/кг) у дорослих щурів з раніше сформованим кіндлінгом в ранньому постнатальному періоді призвело до розвитку судом, латентний період яких перевищував в 1,7 раз аналогічний показник в контролі ($P < 0,05$). У 8 з 10 щурів пікротоксин-викликані судом характеризувалися розвитком клонічних скорочень м'язів передніх кінцівок і тулуба, у 2 щурів судом носили характер клонічних скорочень м'язів задніх кінцівок ($P < 0,05$; табл. 4.11).

Використання вальпроєвої кислоти (100 мг/кг) призвело до формування перших судомних пікротоксин-викликаних реакцій у щурів, в середньому, через $16,5 \pm 2,3$ хв, що було на 6 % більше аналогічного показника в контрольних наглядах ($P > 0,05$). В цих умовах у 90 % щурів формувалися генералізовані судомні напади, причому у 30 % щурів - повторно. Тяжкість судом, при цьому, не відрізнялася істотно від відповідних показників в контрольній групі щурів (табл. 4.12).

Таблиця 4.12.

Вплив вальпроєвої кислоти (ВК) на ЕпА в умовах пікротоксинового кіндлінгу у дорослих і незрілих щурів

Умови дослідю, доза препарату	Вік тварин	Латентний період перших судом, хв	Кількість тварин з судомами, бали					
			0	1	2	3	4	5
1. Контроль: Кіндлінг + ПТК, n=8	6 місяців	$15,2 \pm 1,8$	0	0	0	0	6	2
	20 днів	$14,0 \pm 1,2$	0	0	0	1	6	1
	6 місяців*	$11,1 \pm 1,7$	0	0	0	0	4	4
2. Кіндлінг + ВК (100 мг/кг) + ПТК, n=10	6 місяців	$16,5 \pm 2,3$	0	0	0	1	6	3
	20 днів	$15,2 \pm 1,7$	0	0	0	0	7	3
	6 місяців *	$14,8 \pm 2,2$	0	0	0	0	6	4
3. Кіндлінг + ВК (150 мг/кг) + ПТК, n=10	6 місяців	$21,4 \pm 2,1 \#$	0	0	3	4	2	1♣
	20 днів	$19,6 \pm 1,9 \#$	0	0	0	1	8	1
	6 місяців*	$17,7 \pm 2,2 \#$	0	0	0	1	7	2

Примітки: * позначена група дорослих щурів, у яких в ранньому постнатальному періоді (20 днів) відтворювали кіндлінг.

2. # - $P < 0,05$ - достовірні відмінності латентного періоду судом щодо аналогічних показників у відповідних контрольних групах щурів (АНОВА критерій).

3. ♣ - $P < 0,05$ - достовірні відмінності тяжкості судом щодо аналогічних показників у відповідних контрольних групах щурів (критерій Крушкall-Валліс).

Аналогічне введення вальпроєвої кислоти молодим щурам спричиняло деяке (на 9 %; $P > 0,05$) зростання латентного періоду перших судомних проявів. У всіх тварин цієї групи відмічалися генералізовані судоми, причому, у 30 % щурів - повторно, що не відрізнялося істотно від відповідних показників у щурів контрольної групи.

Уведення вальпроєвої кислоти (100 мг/кг) сприяло тому, що латентний період перших пікротоксин-викликаних судом у дорослих щурів зі сформованим кіндлінгом в ранньому постнатальному періоді не відрізнявся від таких показників в контролі. У всіх щурів розвивалися генералізовані клоніко-тонічні напади з падінням на бік, втратою рівноваги, вегетативними порушеннями і депресією постнападу, причому у 40 % щурів генералізовані напади відмічалися повторно (табл. 4.12).

Введення вальпроату (150 мг/кг) дорослим кіндлінговим щурам сприяло збільшенню латентного періоду перших пікротоксिनних судом на 29 % в порівнянні з відповідним контрольним показником ($P < 0,05$). При цьому, судомні реакції у щурів характеризувалися, переважно, клонічними скороченнями м'язів тулуба і кінцівок, у 3 щурів розвивалися генералізовані судомні напади, в тому числі у 1 щура - повторно. Вираженість судомних реакцій була меншою за відповідні показники у щурів контрольної групи ($P < 0,05$).

Введення, за аналогічних умов, вальпроєвої кислоти в максимальній дозі молодим щурам супроводжувалося розвитком перших пікротоксин-викликаних судом, в середньому, через $19,6 \pm 1,9$ хв, що на 29 % перевищувало аналогічні дані у щурів в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$).

Судомні прояви характеризувалися формуванням генералізованих клоніко-тонічних нападів з падінням на бік, втратою рівноваги, вегетативними розладами і депресією постнападу у 90 % щурів ($P > 0,05$ порівняно з контролем).

Застосування вальпроєвої кислоти (150 мг/кг) дорослим щурам зі сформованим кіндлінгом в ранньому постнатальному періоді сприяло збільшенню латентного періоду перших пікротоксिनних судом в 1,6 рази, у порівнянні з аналогічним показником в контролі ($P < 0,05$). При цьому, у 9 з 10 щурів судоми характеризувалися розвитком генералізованих клоніко-тонічних нападів, 2 у щурів ці напади розвивалися повторно і у 1 щура судоми носили характер клонічних скорочень м'язів задніх кінцівок ($P > 0,05$ порівняно з відповідними контрольними показниками; Табл. 4.12).

Таким чином, на підставі отриманих результатів можна зробити висновок про те, що пікротоксин-викликані судоми у кіндлінгових щурів (в ранньому постнатальному періоді і дорослих щурів, у яких кіндлінг формували в ранньому постнатальному періоді) характеризуються коротким латентним періодом виникнення і максимальною вираженістю. Поведінково, у щурів превалюють генералізовані судомні напади, у тому числі і повторні.

При цьому вираженість ефектів класичних протисудомних препаратів - КБЗ і ВК - у щурів названих груп знижується в порівнянні з аналогічними даними у дорослих щурів. Так, карбамазепін, виявився ефективним тільки в максимальній дозі: при цьому він сприяв зниженню вираженості судомних реакцій і збільшенню латентного періоду їхнього розвитку. Цікавим є результат збільшення латентного періоду перших судом у дорослих кіндлінгових щурів під впливом карбамазепіну в дозі 15 мг/кг, проте, ця доза препарату не була ефективною, у відношенні до пікротоксин-викликаних судом у молодих щурів.

Аналогічну спрямованість ми одержали в результатах з використанням вальпроєвої кислоти. Пікротоксин-викликані судоми у всіх груп кіндлінгових щурів практично не були чутливі до дії даного антиконвульсанту, що проявлялося збільшенням їх тяжкості. Тільки при застосуванні максимальної (близької до токсичної) дози препарату ми відмітили подовження латентного періоду перших судом у тварин в усіх трьох досліджуваних групах. Проте,

вираженість судомних реакцій, при цьому, не відрізнялася істотним чином від з аналогічних даних у щурів відповідних контрольних груп.

Одержані результати, є цікавими з таких міркувань. По-перше, сформована в умовах пікротоксинового кіндлінгу ЕпА у молодих щурів є стійкою у відношенні до дії класичних, показаних, в цих умовах, у дорослих щурів, протисудомних препаратів. Ми вважаємо, що це є валідним фактом онтогенетичного аспекту формування «резистентності» до проводжуваного експериментуального лікування.

По-друге, одержані нами дані логічно вписуються в ті, які ми отримали раніше, - йдеться як про більш прогресивний розвиток пікротоксинового кіндлінгу у молодих щурів, так і важчі прояви пікротоксин- і коразол-провокованих судом, що також свідчить про відсутність сформованих регуляторних механізмів гальмівного контролю в недиференційованому мозку.

Нарешті, по-третє, цікавими з точки зору побудови подальших схем експериментальних досліджень є дані про тестування пікротоксин-викликаної судомної активності у дорослих щурів, у яких ми, в ранньому постнатальному періоді (20 днів) відтворювали кіндлінг. Показане посилення кіндлінг-викликаної ЕпА у цієї групи щурів переконливо свідчить про те, що епілептогенні дії, нанесені в ранньому постнатальному періоді, сприяють як формуванню, так і тривалому збереженню підвищеної готовності до дії судомних чинників, що, можливо, обумовлює деякі механізми феномену фармакологічної резистентності до проводжуваного лікування.

На нашу думку, відсутність ефективності карбамазепіну і вальпроєвої кислоти, у відношенні до пікротоксин-викликаних судом, у щурів цієї групи, може пояснюватися двояко: по-перше, розвитком резистентності до дії протисудомних препаратів унаслідок ранньої епілептогенної дії на недиференційований мозок тварин. По-друге, ми побудували дослідження таким чином, що повторні дослідження у цих щурів потрапляють у фазу

посткіндлінгу/рекіндлінгу, яка, за даними різних авторів, є стійкою до дії протисудомних препаратів.

Поєднання цих двох чинників, можливо, обумовлює резистентність сформованої в ранньому постнатальному періоді ЕпА до проводжуваного лікування.

4. 8. Визначення ефектів протиепілептичних препаратів за умов спонтанної епілептичної активності

Завданням цієї частини досліджень стало дослідження ефективності деяких антиепілептичних препаратів в умовах пілокарпін-індукованих спонтанних судом. Перед посилкою проведення цієї частини експериментів стала терапевтична резистентність пілокарпін-спричинених судом щодо їх фармакологічного лікування. Відомо, що викликані агоністом мускарінових холінергічних рецепторів пілокарпіном судоми відтворюють деякі аспекти скронево-спайкової епілепсії [418, 454, 455], яка часто діагностується в клініці. Такий тип судомного синдрому є стійким щодо впливу антиепілептичних препаратів. Проте, деякі антиконвульсанти, наприклад, дифенілгідантоїну, вальпроєва кислота, карбамазепин з різною мірою вираженості спричиняють протисудомну дію за умов іншої експериментальної моделі, які також віддзеркалює окремі особливості скронево-спайкової епілепсії, - електричного та хімічного кідлінгу [150].

З урахуванням того, що при пілокарпін-індукованому хронічному судомному синдромі, як і при кіндлінзі, відтворюються деякі поведінкові, патоморфологічні, електрографічні порушення, а також спонтанні судоми, ми вважали доцільним перевірити ефективність протисудомних препаратів з різним механізмом реалізації антиепілептичного ефекту - діазепаму, фенобарбіталу, вальпроєвої кислоти, дифенілгідантоїна й карбамазепіну – за умов розвитку спонтанних відстрочених судом. Для перевірки отриманих результатів ми досліджували вираженість моторної активності і емоційної

поведінки тварин в динаміці індукції пілокарпінових спонтанних відстрочених судом. З урахуванням отриманих результатів про тривалість відстрочених судом спостереження здійснювали впродовж 45 днів з моменту їх початку.

Завданням початкової серії експериментів було дослідження спонтанних судорожних реакцій. Впродовж перших 2-3 хв. після введення пілокарпіну в 12 з 14 щурів контрольної групи відзначалися вегетативні порушення у вигляді гіперсалівації, підвищеного занепокоєння, посилення грумінга, посиленого обнюхування, посилення моторної активності, почастишання дихання, частіших епізодів дефекації. В середньому через 10-13 хв після введення конвульсанту в 13 з 14 тварин розвивалися міоклонічні скорочення м'язів морди, голови й передніх кінцівок. Впродовж подальших 7-12 хв ці епілептиформні прояви в усіх щурів трансформувалися в клонічні скорочення м'язів тулубу, передніх і задніх кінцівок, після чого в усіх тварин розвинулися генералізовані клоніко-тонічні напади. Тривалість гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС в щурів контрольної групи склала в середньому $76,8 \pm 7,1$ хв. У 7 з 10 щурів контрольної групи, які вижили після гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС, впродовж подальших 20-25 діб 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. 4.13).

Після введення мінімальної дози діазепаму (5,0 мг/кг) тривалість стадії гострих судом, викликаних пілокарпіном, склала в середньому $62,7 \pm 6,6$ хв., що не розрізнялося суттєво порівняно з аналогічними даними в контрольних спостереженнях у щурів, яким вводили пілокарпін ($P > 0,05$). У усіх щурів цієї групи розвинулися спонтанні судоми, що також не мало істотної різниці відносно таких даних у щурів контрольної групи ($P > 0,05$).

Таблиця 4.13

Характеристика пілокарпін-індукованих спонтанних судомних реакцій за умов уведення протиепілептичних препаратів

Групи тварин з уведенням препаратів	Дози, мг/кг	Тривалість гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС, $M \pm m$, хв.	Кількість щурів зі спонтанними судомами, абсолютні дані	Кількість епізодів спонтанних судом, абсолютні дані
1. Пілокарпін, n=14	380	76,8±7,1	7	8
2. Діазепам, n=19	5.0	62,7±6,6	10	6
	7.5	58,1±5,9*	8	5
	10	51,9±5,5**	3	5
	15	37,2±3,4***	1##	1
3. Фенобарбітал, n=19	1.0	62,9±6,3	10	8
	5.0	63,7±6,9	11	5
	10	56,4±6,1*	11	6
	15	53,7±5,4*	7	4
	20	27,1±3,7***	3#	1
4. Вальпроєва кислота, n=21	100	68,4±7,6	12	8
	150	59,7±7,7	13	8
	200	51,1±6,2*	12	6
	250	44,1±5,4**	5	4
5. Дифенілгідантоїн, n=17	50	77,3±7,9	9	6
	75	66,3±5,9	9	7
	100	67,6±6,3	6	3
	150	71,1±7,2	8	5

Таблиця 4.13 (продовження)

Характеристика пілокарпін-індукованих спонтанних судомних реакцій за умов введення протиепілептичних препаратів

6. Карбамазепін, n=18	5.0	77,4±7,6	8	7
	10	64,2±7,4	9	6
	15	68,7±6,5	7	6
	20	70,7±6,7	7	6

Примітки: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$ и *** - $P < 0,001$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів з введенням пілокарпіну (статистичний критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

- $P < 0,05$ и ## - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів з введенням пілокарпіну (статистичний критерій Krsucall-Wallis).

Пілокарпін-спричинені гострі генералізовані судоми в умовах введення діазепаму дозою 7,5 мг/кг тривали в середньому 58,1±5,9 хв., що було на 24,3 % коротше відповідних показників у щурів в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$). Спонтанні судоми розвинулися у 8 з 10 щурів цієї групи ($P > 0,05$), які вижили, причому тварини в середньому демонстрували по 5 епізодів відстрочених мимовільних судомних реакцій у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

Середня тривалість стадії гострих пілокарпін-індукованих судом після введення діазепаму в дозі 10 мг/кг склала 51,9±5,5 хв., що було істотно коротше (на 32,4 %) порівняно з аналогічними контрольними показниками ($P < 0,01$). У цій групі після гострих судом вижили 10 щурів. Спонтанні судоми розвинулися у 3 тварин, причому щури в середньому демонстрували по 5 епізодів спонтанних пілокарпін-спричинених мимовільних судом.

У разі введення максимальної дози діазепаму (15 мг/кг) середня тривалість стадії гострих генералізованих судом, що індукуються

пілокарпіном, була удвічі коротша порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях ($P < 0,001$). Спонтанні судоми розвинулися у 1 щура (після гострих судом вижили 12 щурів з 19), що мало статистичну різницю порівняно з контролем ($P < 0,01$; табл. 4.13).

При введеннях діазепаму з лікувальною метою чітко простежується залежний від дози протисудомний ефект, що подано в таблиці 4.14. Таким чином, середньоефективна доза діазепаму, яка викликала антиепілептичну дію і попереджала розвиток спонтанних пілокарпін-індукованих судом у 50 % щурів, склала $9,64 \pm 0,98$ мг/кг.

Таблиця 4.14.

Розрахунок ефективних доз діазепаму (ED_{16} , ED_{50} , ED_{84} , ED_{100} і похибки ED_{50}), які спричиняють протисудомну дію щодо пілокарпін-індукованих спонтанних (СС) судом в щурів

Діазепам, доза, мг/кг	Кіль- кість щурів*	Кіль- кість щурів зі СС	ED_{16} мг/кг	ED_{50} мг/кг	ED_{84} мг/кг	ED_{100} мг/кг	Похиб- ка ED_{50} мг/кг
5	10	10	6,53	9,64	12,75	14,31	0,98
7.5	10	8					
10	10	3					
15	12	1					

Позначення: * - кількість щурів, які вижили після гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС

Примітки: ED_{16} , ED_{50} , ED_{84} , ED_{100} – ефективні дози діазепаму (мг/кг), які запобігають розвитку пілокарпін-індукованих СС в 16, 50, 84 і 100 % щурів, відповідно.

Після введення фенобарбіталу дозою 1,0 мг/кг середня тривалість стадії гострих судом, викликаних пілокарпіном, склала $62,9 \pm 6,3$ хв., що на 18 % розрізнялося порівняно з аналогічними даними в контрольних

спостереженнях ($P > 0,05$). У 10 щурів цієї групи з 11 були відмічені спонтанні судоми, що не розрізнялося істотно відносно відповідних даних у щурів контрольної групи ($P > 0,001$; табл. 4.13).

Пілокарпін-спричинені гострі генералізовані судоми після введення фенобарбіталу дозою 5,0 мг/кг тривали в середньому $63,7 \pm 6,9$ хв, що не мало істотної відмінності порівняно з контролем ($P > 0,05$). Спонтанні судоми розвинулися у 11 з 12 щурів цієї групи ($P < 0,01$), що вижили, у яких в середньому були зареєстровані по 5 епізодів відстрочених мимовільних судомних реакцій.

Середня тривалість гострих пілокарпін-індукованих судом після введення фенобарбіталу дозою 10 мг/кг склала $56,4 \pm 6,1$ хв., що було значно коротше (на 28,9 %) порівняно з аналогічними контрольними показниками ($P < 0,05$). У цій групі після гострих судом вижили 13 щурів. Спонтанні судоми розвинулися у 11 тварин, які демонстрували по 6 епізодів спонтанних пілокарпін-індукованих мимовільних судом.

Пілокарпін-індуковані гострі генералізовані судоми за умов введення фенобарбіталу дозою 15 мг/кг тривали в середньому $53,7 \pm 5,4$ хв., що було на 30,1 % коротше відповідних показників у щурів в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$). Спонтанні судоми розвинулися у 7 з 13 щурів цієї групи, що вижили, причому тварини в середньому демонстрували по 4 епізоди відстрочених мимовільних судомних реакцій у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

У разі введення максимальної дози фенобарбіталу (20 мг/кг) середня тривалість стадії гострих генералізованих судом, що індукуються пілокарпіном, була в 2,8 рази менше порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях ($P < 0,001$). Спонтанні судоми розвивалися у 3 з 13 щурів, що вижили після гострих судом, що мало істотну відмінність порівняно з аналогічними результатами в контрольних спостереженнях ($P < 0,05$; табл. 4.13).

Так, при введеннях фенобарбіталу з лікувальною метою простежується залежний від дози протисудомний ефект, що представлено в таблиці 4.15. Середньоєфективна доза препарату, яка викликала антиепілептичну дію і попереджала розвиток спонтанних пілокарпінових судом у 50 % щурів, склала $15,53 \pm 1,54$ мг/кг.

Після введення мінімальної дози вальпроєвої кислоти (100 мг/кг) тривалість стадії гострих судом, викликаних пілокарпіном, склала в середньому $68,4 \pm 7,6$ хв., що не розрізнялося істотно порівняно з аналогічними даними в контрольних спостереженнях у щурів, яким вводили пілокарпін ($P > 0,05$). У 12 з 13 щурів цієї групи, що вижили після гострих судом, були відмічені спонтанні судоми, що не мало істотної різниці відносно відповідних даних у щурів контрольної групи ($P > 0,05$).

Таблиця 4.15

Розрахунок ефективних доз фенобарбіталу (ED_{16} , ED_{50} , ED_{84} , ED_{100} і похибки ED_{50}), які спричиняють протисудомну дію щодо пілокарпін-індукованих СС в щурів

Фенобарбітал, доза, мг/кг	Кількість щурів*	Кількість щурів зі СС	ED_{16} мг/кг	ED_{50} мг/кг	ED_{84} мг/кг	ED_{100} мг/кг	Похибка ED_{50} мг/кг
1.0	11	10	8,71	15,53	22,35	25,76	1,54
5.0	12	11					
10	13	11					
15	13	7					
20	13	3					

Позначення та примітки – такі ж самі, що в таблиці 4.14

Пілокарпін-індуковані гострі генералізовані судоми в умовах введення вальпроєвої кислоти дозою 150 мг/кг тривали в середньому $59,7 \pm 7,7$ хв., що

також не розрізнялося істотно порівняно з аналогічними даними в контрольних спостереженнях у щурів, яким вводили пілокарпін ($P > 0,05$). У 13 з 14 щурів цієї групи, що вижили після гострих судом, були відмічені спонтанні судоми, що не мало істотної різниці відносно відповідних даних у щурів контрольної групи ($P > 0,05$). У щурів в середньому зареєстровано по 8 епізодів відстрочених мимовільних судомних реакцій у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

Середня тривалість стадії гострих пілокарпін-індукованих судом після введення вальпроєвої кислоти дозою 200 мг/кг склала $51,1 \pm 6,2$ хв., що було суттєво коротше (на 33,5 %) порівняно з аналогічними контрольними показниками ($P < 0,05$). У цій групі після гострих судом вижили 15 щурів. Спонтанні судоми розвинулися у 12 тварин, причому у щурів в середньому відмічали по 6 епізодів спонтанних судом.

При введенні максимальної дози вальпроєвої кислоти (250 мг/кг) середня тривалість стадії гострих генералізованих судом, що індукуються пілокарпіном, була на 42,6 % менше порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях ($P < 0,01$). 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. 4.13).

При введеннях вальпроєвої кислоти з лікувальною метою також простежується доза-залежний протисудомний ефект (табл. 4.16). Середньоєфективна доза препарату, що викликала антиепілептичну дію і попереджала розвиток спонтанних пілокарпін-індукованих судом у 50 % щурів, склала $244,5 \pm 27,3$ мг/кг.

Після введення дифенілгідантоїну дозою 50 мг/кг тривалість стадії гострих судом, викликаних пілокарпіном, склала в середньому $77,3 \pm 7,9$ хв., що дещо перевищувало аналогічний показник в контрольних спостереженнях у щурів, яким вводили пілокарпін, і не розрізнялося з ним істотно ($P > 0,05$). У 9 щурів цієї групи з що 10, що вижили після гострих генералізованих судом зареєстровані спонтанні судоми в кількості в середньому по 6 епізодів

дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

Пілокарпін-індуковані гострі генералізовані судоми в умовах введення дифенілгідантоїну дозою 75 мг/кг тривали в середньому $66,3 \pm 5,9$ хв., що було на 13,7 % коротше таких показників у щурів в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$). Спонтанні судоми розвинулися у 9 з 11 щурів цієї групи, що вижили, причому тварини в середньому демонстрували по 7 епізодів відстрочених мимовільних судомних реакцій у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

Таблиця 4.16

Розрахунок ефективних доз вальпроєвої кислоти (ED_{16} , ED_{50} , ED_{84} , ED_{100} і похибки ED_{50}), які спричиняють протисудомну дію щодо пілокарпін-індукованих СС в щурів

Вальпро- єва к-та, доза, мг/кг	Кіль- кість щурів*	Кіль- кість щурів зі СС	ED_{16} мг/кг	ED_{50} мг/кг	ED_{84} мг/кг	ED_{100} мг/кг	Похиб- ка ED_{50} мг/кг
100	13	12	203,7	244,5	284,5	327,1	27,3
150	14	13					
200	15	12					
250	15	5					

Позначення та примітки – такі ж самі, що в таблиці 4.14

Середня тривалість стадії гострих пілокарпін-індукованих судом після введення дифенілгідантоїну (100 мг/кг) склала $67,6 \pm 6,3$ хв., що не розрізнялося порівняно з аналогічними контрольними показниками ($P > 0,05$). У цій групі після гострих судом вижили 12 щурів. Спонтанні судоми розвинулися у 8 тварин, причому щури в середньому демонстрували по 3 епізоди спонтанних пілокарпін-індукованих судом.

У разі введення максимальної дози (150 мг/кг) дифенілгідантоїну середня тривалість стадії гострих генералізованих судом також не мала істотної різниці порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$). Спонтанні судоми розвивалися у 8 щурів (після гострих судом вижили 12 щурів з 19). Щури в середньому демонстрували по 5 епізодів спонтанних судом (табл. 4.13).

Введення дифенілгідантоїну з лікувальною метою не попередили розвиток відстрочених спонтанних судом, що підсумовано в таблиці 4.17. Це виведення підтверджує те, що неможливим видається розрахунок середньоефективної дози препарату, яка при математичній обробці виходить негативною.

Таблиця 4.17

Розрахунок ефективних доз дифенілгідантоїну (ED_{16} , ED_{50} , ED_{84} , ED_{100} і похибки ED_{50}), які спричиняють протисудомну дію щодо пілокарпін-індукованих СС в щурів

Дифеніл-гідантоїн, доза, мг/кг	Кількість щурів*	Кількість щурів зі СС	ED_{16} мг/кг	ED_{50} мг/кг	ED_{84} мг/кг	ED_{100} мг/кг	Похибка ED_{50} мг/кг
50	10	9	302,0	171,6	41,2	-24,0	-31,2
75	11	9					
100	12	6					
150	12	8					

Позначення та примітки – такі ж самі, що в таблиці 4.13

Примітка: ED_{16} , ED_{50} , ED_{84} , ED_{100} – ефективні дози дифенілгідантоїну (мг/кг), которые попереджають розвиток пілокарпін-індукованих СС в 16, 50, 84 и 100 % щурів, відповідно, вирахувати неможливо, тому ці поля виділені штрихуванням.

Після введення карбамазепіну дозою 5,0 мг/кг тривалість стадії гострих судом, викликаних пілокарпіном, склала в середньому $77,4 \pm 7,6$ хв., що відповідає аналогічному показнику в контрольних спостереженнях у щурів, яким вводили пілокарпін ($P > 0,05$). У 8 щурів цієї групи з 11, що вижили після гострих генералізованих судом, зареєстровані спонтанні судоми в кількості в середньому по 7 епізодів дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

Пілокарпін-індуковані гострі генералізовані судоми в умовах введення карбамазепіну дозою 10 мг/кг тривали в середньому $64,2 \pm 7,4$ хв., що було на 16,4 % коротше відповідних показників у щурів в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$). Спонтанні судоми розвинулися у 9 з 13 щурів цієї групи, що вижили. Тварини в середньому демонстрували по 6 епізодів відстрочених мимовільних судорожних реакцій у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів морди і передніх кінцівок.

Середня тривалість стадії гострих пілокарпін-індукованих судом після введення карбамазепіну дозою 15 мг/кг склала $68,7 \pm 6,5$ хв., що також не розрізнялося порівняно з аналогічними контрольними показниками ($P > 0,05$). У цій групі після гострих судом вижили 11 щурів. Спонтанні судоми розвинулися у 7 тварин, причому щури в середньому демонстрували по 6 епізодів спонтанних судом.

У разі введення максимальної дози карбамазепіну середня тривалість стадії гострих генералізованих судом не мала істотної різниці порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях ($P > 0,05$). Спонтанні судоми розвивалися в 7 щурів (після гострих судом вижили 10 щурів з 18). Щури в середньому демонстрували по 6 епізодів спонтанних судом.

Введення карбамазепіну з лікувальною метою, також як і у випадку з дифенілгідантоїном, не попередили розвиток відстрочених спонтанних судом, що підсумовувано в таблиці 4.18. Побічно це підтверджує те, що неможливим видається розрахунок середньоєфективної дози препарату, яка при математичній обробці виходить негативною.

Завданням подальшої частини досліду стало дослідження моторної активності і емоційної поведінки тварин. У щурів, яким вводили пілокарпін, відзначалася прогресивна редукція показників горизонтальної рухової активності в тїсті "відкрите поле".

Кількість пересічених квадратів тваринами становила від 16 через 1 добу після введення конвульсанту до 4 у момент розвитку спонтанних судом через 45 діб після його введення (Рис. 4. 20).

Таблиця 4.18

Розрахунок ефективних доз карбамазепіну (ED_{16} , ED_{50} , ED_{84} , ED_{100} і похибки ED_{50}), які спричиняють протисудомну дію щодо пілокарпін-індукованих СС в щурів

Карбамазепін, доза, мг/кг	Кількість щурів*	Кількість щурів зі СС	ED_{16} мг/кг	ED_{50} мг/кг	ED_{84} мг/кг	ED_{100} мг/кг	Похибка ED_{50} мг/кг
5.0	11	8	205,7	76,2	-53,4	-118,2	-27,3
10	13	9					
15	11	7					
20	10	7					

Позначення та примітки – такі ж самі, що в таблиці 4.13.

Примітка – така ж сама, що в таблиці 4.17

Після введення середньоефективної дози діазепаму $9,64 \pm 0,98$ мг/кг вираженість горизонтальної моторної активності щурів, яким ввели пілокарпін, істотно розрізнялася 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 діб після введення конвульсанту величина досліджуваного показника в групі щурів із введеним діазепамом складала в середньому 20-22 квадрати, що не розрізнялося істотно з

відповідними показниками у щурів з введеним фізіологічним розчином в контрольних спостереженнях (Рис. 4.20).

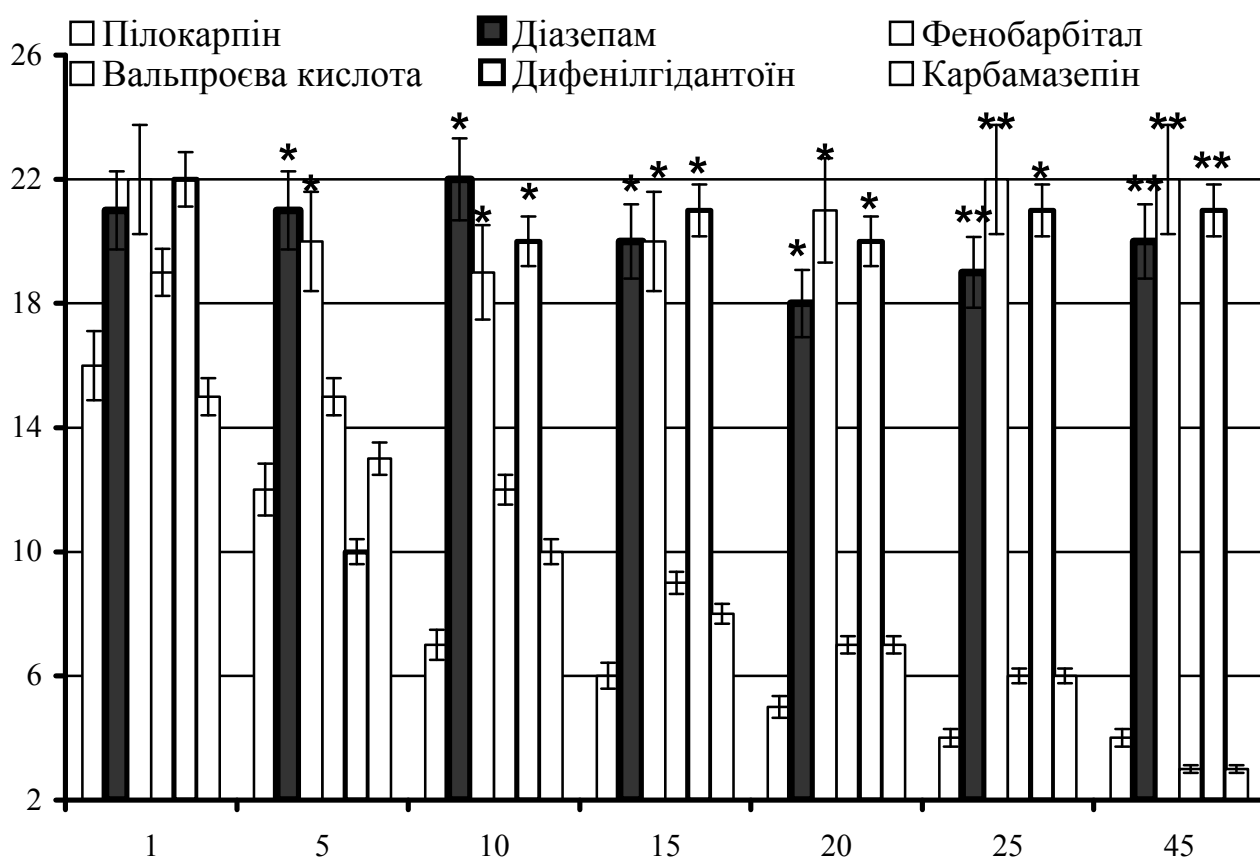


Рис. 4.20. Вплив протиепілептичних препаратів на кількість пересічених квадратів в тесті "відкрите поле" в динаміці розвитку пілокарпін-спричинених спонтанних судом.

Позначення: за віссю абсцис – 1-25, 45 - доби після введення пілокарпину.

За віссю ординат – абсолютні дані, кількість пересічених квадратів «відкритого поля»

Примітки: * - $P < 0,05$ і ** - $P < 0,01$ – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними в щурів, яким вводили пілокарпін (критерій ANOVA+Newmann-Keuls).

При введенні тваринам середньоефективної дози фенобарбіталу ($15,53 \pm 1,54$ мг/кг) і вальпроевої кислоти ($244,5 \pm 27,3$ мг/кг), які запобігали розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом у 50 % щурів, була зареєстрована схожа динаміка рухової активності щурів в тесті "відкрите

поле". У цих умовах показники горизонтальної рухової активності не розрізнялися суттєво порівняно з відповідними контрольними величинами (Рис. 4.20).

Введення щурам пілокарпіну після введення максимальних доз дифенілгидантоїну та карбамазепіну сприяло поступовому зниженню показників горизонтальної моторної активності щурів в тесті "відкрите поле" в динаміці розвитку відстрочених спонтанних судом, досягаючи показників в 2-3 пересічені квадрати в середньому на 45-й добі після введення конвульсанту.

Надалі ми досліджували вплив протиепілептичних препаратів на вираженість вертикальної рухової активності щурів в тесті "відкрите поле" в динаміці розвитку відстрочених спонтанних судом, що індукуються пілокарпіном. Результати цієї частини досліджень подані на рис. 4.21.

У щурів, яким вводили пілокарпін, відзначалася прогресивна редукція показників вертикальної рухової активності в тесті "відкрите поле". Кількість вертикальних стійок, здійснених тваринами становила в середньому від 2 через 1 добу після введення конвульсанту до 1 у момент розвитку спонтанних судом через 45 діб після його введення.

Після введення середньоефективної дози діазепаму ($9,64 \pm 0,98$ мг/кг) вираженість вертикальної моторної активності щурів, яким ввели пілокарпін, істотно розрізнялася порівняно з такою у щурів з одним лише введенням конвульсанту ($P < 0,05$). Так, в динаміці розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом - від 1 до 45 доби після введення конвульсанту величина досліджуваного показника в групі щурів з введеним діазепамом складала в середньому 4 вертикальних стійки з підтримкою біля стінки "відкритого поля" і без підтримки в його центрі, що не розрізнялося істотно з відповідними показниками у щурів з введеним фізіологічним розчином в контрольних спостереженнях (Рис. 4. 21).

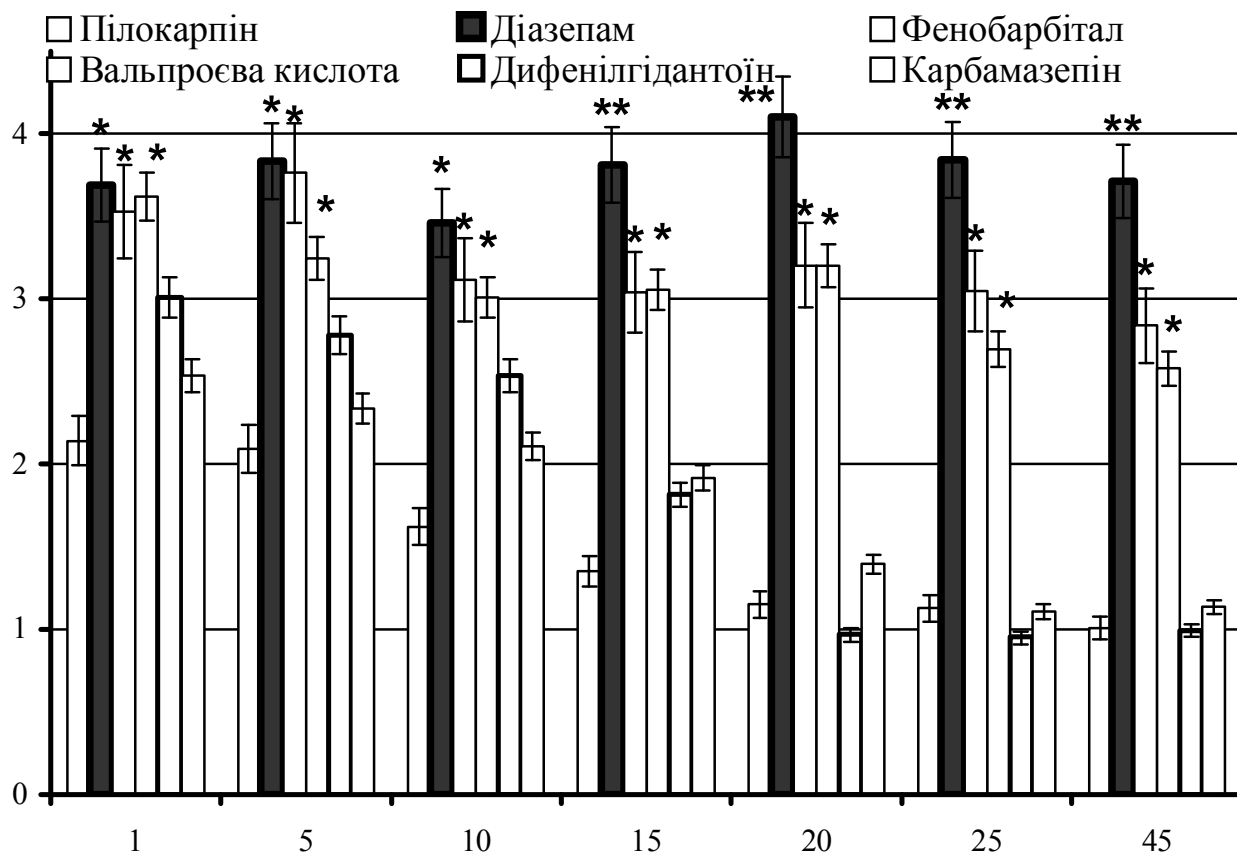


Рис. 4.21. Вплив протиепілептичних препаратів на кількість вертикальних стійок в тесті "відкрите поле" в динаміці розвитку пілокарпін-спричинених спонтанних судом.

Позначення: за віссю абсцис – 1-25, 45 - доби після введення пілокарпін.

За віссю ординат – абсолютні дані, кількість вертикальних стійок у «відкритому полі»

Примітки – такі ж самі, що й на Рис. 4.20.

При введенні тваринам середньоєфективних доз фенобарбіталу ($15,53 \pm 1,54$ мг/кг) і вальпроєвої кислоти ($244,5 \pm 27,3$ мг/кг), які запобігали розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом у 50 % щурів, була зареєстрована схожа динаміка рухової активності щурів в тесті "відкрите поле". У цих умовах показники вертикальної рухової активності не розрізнялися істотно порівняно з відповідними контрольними величинами.

Введення щурам пілокарпіну після максимальних доз дифенілгідантоїну та карбамазепіну сприяло поступовому зниженню показників вертикальної моторної активності щурів в тесті "відкрите поле" в динаміці розвитку відстрочених спонтанних судом, досягаючи показників в 1 вертикальну стійку в середньому на 45-й добі після введення конвульсанту (Рис. 4.21).

У завершальній частині досліджень з'ясовували характер зміни емоційної поведінки щурів в динаміці розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом в умовах застосування антиепілептичних препаратів.

Через 1 добу після введення пілокарпіну у відповідь на спробу взяття до руки щурів контрольної групи та тих щурів, в яких потім спонтанні судоми не розвинулися, тварини намагалися уникнути захоплення до рук і вокалізували (Рис. 4.22).

Надалі, за мірою розвитку спонтанних судом в щурів посилювалася вираженість емоційної реакції у відповідь на спроби узяття в руки, сягаючи 5 балів через 45 діб після застосування конвульсанту. В цей час тварини, втікаючи від руки дослідника до кута камери, вокалізували й намагалися накинутися на його долоню.

Після введення середньоефективної дози діазепаму $9,64 \pm 0,98$ мг/кг вираженість емоційної поведінки у щурів, яким ввели пілокарпін, істотно розрізнялася порівняно з такою у щурів з одним тільки введенням конвульсанту ($P < 0,05$). Так, в динаміці розвитку пілокарпін-спричинених спонтанних судом - від 1 до 45 діб після введення конвульсанту величина досліджуваного показника в групі щурів з введеним діазепамом складала в середньому 1 бал, що не розрізнялося істотно з відповідними показниками у щурів з введеним фізіологічним розчином в контрольних спостереженнях (Рис. 4.22).

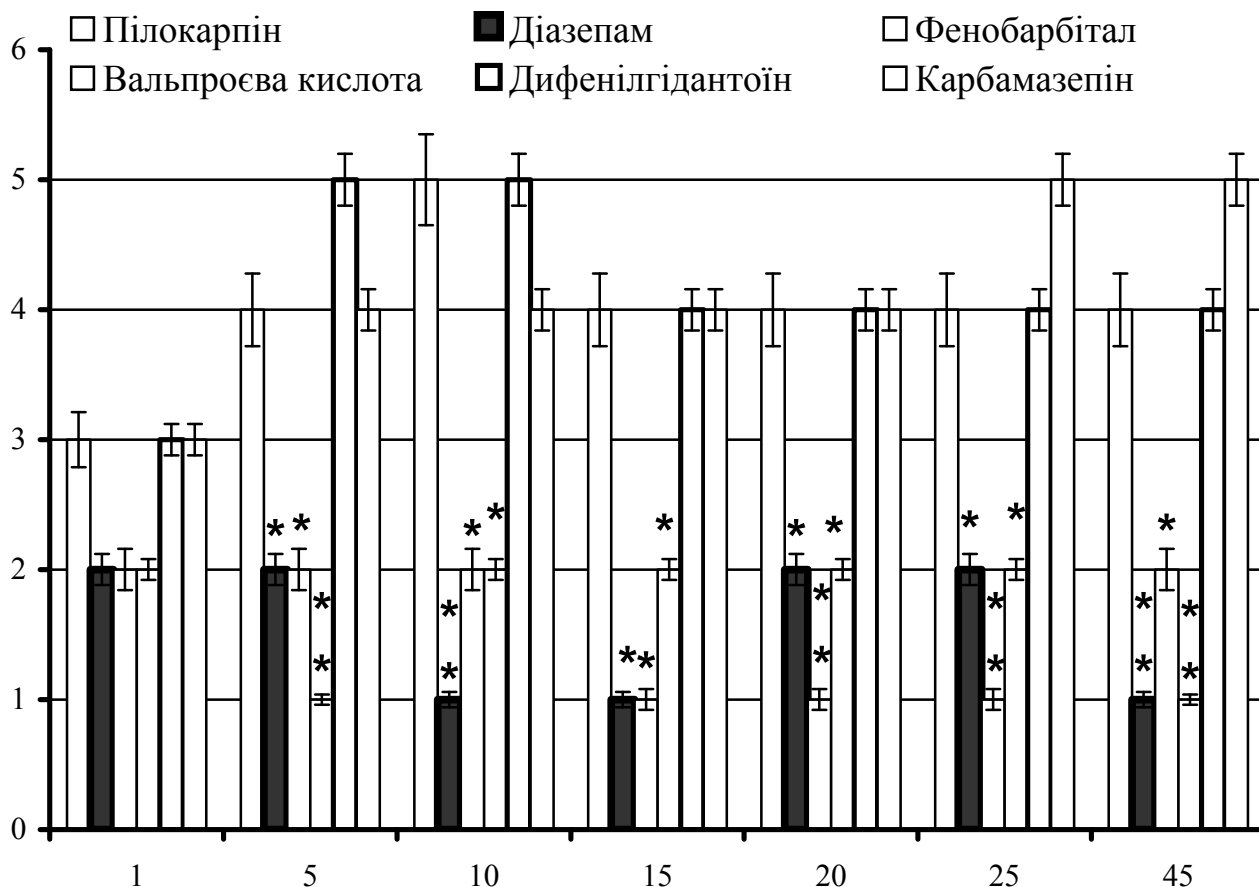


Рис. 4.22. Вплив протиепілептичних препаратів на змінні показники емоційної поведінки щурів в динаміці розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Позначення: за віссю абсцис – 1-25, 45 - доби після введення пілокарпину.

За віссю ординат – абсолютні дані, вираженість реакції у відповідь на намагання узяття щурів до рук.

Примітки – такі ж самі, що й на Рис. 4.20.

При введенні тваринам середньоєфективних доз фенобарбіталу ($15,53 \pm 1,54$ мг/кг) і вальпроєвої кислоти ($244,5 \pm 27,3$ мг/кг), які запобігали розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом у 50 % щурів, була зареєстрована схожа динаміка абсолютних показників емоційної поведінки. У цих умовах характер реакції у відповідь тварин на спроби узяття в руку не розрізнявся істотно порівняно з відповідними контрольними величинами (Рис. 4.22).

Введення щурам пілокарпіну після максимальних доз дифенілгідантоїну й карбамазепіну сприяло посиленню вираженості емоційної поведінки, внаслідок чого щури демонстрували агресивне уникнення руки дослідника, відчайдушно при цьому вокалізуючи.

За матеріалами даного розділу були опубліковані такі роботи:

1. Вастьянов Р. С. Протисудорожна дія внутрішньонігрального введення дельта-сон індукуючого пептиду / О. А. Шандра, Л. С. Годлевський, А. М. Мазараті, А. А. Олешко, Р. С. Вастьянов, І. І. Михальова // Фізіологічний журнал. - 1992. - Т. 38, N 4. - С. 27-32.
2. Вастьянов Р. С. Влияние внутримозгового введения соматостатина и нейротензина на двигательные корреляты судорожной активности / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, Р. С. Вастьянов, А. В. Паненко // Фізіологічний журнал. - 1993. - Т. 39, N5-6. - С. 94-100.
3. Вастьянов Р. С. Роль дельта-сон индуцирующего пептида в формировании нейропатологических синдромов / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, Р. С. Вастьянов, А. И. Брусенцов, И. Моалла, Б. Никель // Физиологический журнал имени И. М. Сеченова. - 1995. - Т. 81, № 9. - С. 13-24.
4. Vastyanov R. S. Seizure-protecting effects of kyotorphin and related peptides in animal model of epilepsy / L. S. Godlevsky, A. A. Shandra, I. I. Mikhaleva, R. S. Vastyanov, A. M. Mazarati // Brain Res. Bull. – 1995. - Vol. 11. - P. 55-57.
5. Vastyanov R. S. Effect of intranigral dosage with delta sleep-inducing peptide and its analogs on movement and convulsive activity in rats / A. A. Shandra, L. S. Godlevskii, R. S. Vastyanov, A. I. Brusentsov, I. I. Mikhaleva, I. A. Prudchenko, V. N. Zaporozhan // Neurosci. Behav. Physiol. – 1996. - Vol. 26, N 6. - P. 567-571.
6. Vastyanov R. S. Effects of delta-sleep-inducing peptide in cerebral ischemia in rats / A. A. Shandra, L. S. Godlevskii, A. I. Brusentsov, R. S. Vastyanov, V. A. Karlyuga, A. F. Dzygal, B. Nikel // Neurosci. Behav. Physiol. – 1998. - Vol. 28, N 4. - P. 443-446.
7. Vastyanov R. S. Delta-sleep-inducing peptide and its analogs and the serotonergic system in the development of anticonvulsive influences / А. А.

Shandra, L. S. Godlevskii, A. I. Brusentsov, V. P. Petrashevich, R. S. Vastyanov, B. Nikel, I. I. Mikhaleva // *Neurosci. Behav. Physiol.* – 1998. - Vol. 28, N 5. - P. 521-526.

8. Vastyanov R. S. Nigral Benzodiazepines Receptors Blockade In The Kindled Epileptic Activity And Conflict Behaviour In Rats / A. I. Brusentsov, V. V. Moroz, T. N. Pomazanova, S. A. Suprun, E. S. Sohan, Al Gabr Aiman, Berni Mari, A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov // *School of Fundamental Medicine.* - 1998. - Vol. 4, N 2. - P. 14-16.

9. Vastyanov R. S. Influence of intranigral diazepam and DBI on the epileptic activity and conflict behaviour in rat picrotoxin kindling experimental model / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov, A. I., Brusentsov E. S. Sohan, Al Gabr Aiman, Berni Mari // *Epileptologia.* - 1999. - Vol. 7, N 2. - P. 163-171.

10. Вастьянов Р. С. Протисудомні ефекти карбамазепіну, але не вальпроєвої кислоти в умовах відтворення пікротоксин- та пілокарпін-спричинених моделей хронічної епілептичної активності у щурів різного віку / Р. С. Вастьянов, Н. А. Черненко, О. А. Кащенко, А. А. Олійник, Г. О. Волохова // *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія.* – 2003. - № 1. – С. 29 - 38.

11. Вастьянов Р. С. Патологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копьёва // *Актуальные проблемы транспортной медицины.* – 2009. – № 5. – С. 33 – 41.

12. Вастьянов Р. С. Различные эффекты некоторых противосудорожных препаратов в условиях пилокарпин-вызванных спонтанных судорог / Р. С. Вастьянов, Н. В. Копьёва // *Укр. мед. альманах.* – 2010. – Т. 13, №4 (додаток). – С. 24 – 26.

13. Вастьянов Р. С. Вплив препаратів ендогенного походження на виникнення та розвиток хронічної епілептизації мозку / Л. С. Годлевський, Р. С. Вастьянов, О. І. Брусенцов // *Український вісник психоневрології.* – 1996. – Т. 4, Вип. 5 (12). – С. 152–153.

14. Вастьянов Р. С. Обґрунтування доцільності застосування нейропептидів для пригнічення епілептичної активності / Р. С. Вастьянов // *I Конгрес Української Протиепілептичної Ліги, 26-28 вересня, 1996 р., Одеса : тези доп.* – Одеса, 1996. - С. 12.

15. Вастьянов Р. С. Порівняльний аналіз ефективності антиепілептичних препаратів за умов епілептичного статусу та посткіндлінгу / Р. С. Вастьянова, С. В. Гатцук, О. А. Шандра // Фізіологічний журнал. – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 71 (III Національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю, з міжнародною участю, присвячений 100-річчю з дня народження академіка АМН СРСР М. М. Горєва, 24-27 травня 2000, 2000 р., Одеса : тези доп).
16. Вастьянов Р. С. Концепція «нейропептидного пригнічення» епілептичної активності через підвищення активності ендогенних нейропептидів / Р. С. Вастьянов, С. Л. Ляшенко, О. А. Шандра // Український вісник психоневрології. – 2012. – Т. 20, Вип. 3 (72). – С. 81–82 (Доказова медицина в неврології, психіатрії та наркології. Сьогодення й майбутнє : IV Національний конгрес неврологів, психіатрів та наркологів України, 3-5 жовтня 2012 р., Харків : тези доп.).

АНАЛІЗ І ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведені серії дослідів та отримані результати дозволили сформулювати певні висновки стосовно нейропатологічних механізмів хронічної епілептичності активності з точки зору системного підходу. Мета роботи та її основні завдання виконані, що надає можливість обговорити низку отриманих результатів з урахуванням сучасних даних наукової літератури по цій проблемі.

Будучи хронічним поліетиологічним захворюванням мозку, епілепсія характеризується виникненням повторних судом [1-12]. Зважаючи на число та вік хворих на епілепсію, на значну частоту її розвитку дитячому віці, а також на найпрацездатнішому функціональному стані більшості хворих на епілепсію на момент її первинної діагностики, слід наголосити на додатковій економічній та соціальній складовій оголошеної проблеми, вирішення якої стало підґрунтям даної дисертаційної роботи. При такій ситуації розробка ефективних методів терапії епілепсії, що дають мінімальні побічні ефекти, є актуальною задачею, важливість якої виходить з суто медичних розрахунків. Експериментальна епілептологія, фундаментальні дослідження та практична неврологія мають провести експериментально-клінічні дослідження, спрямовані на розробку та включення до практики методів і нових фармакологічних засобів, яким притаманна загальна антиепілептична активність.

В своїй роботі з методологічної точки зору ми виходили з основних позицій та положень теорії детермінантних, генераторних та системних механізмів нейропатологічних захворювань нервової системи, які характеризуються гіперактивністю окремих утворень мозку (на прикладі епілептичного синдрому та розробленої теорії дизрегуляційної патології нервової системи [79]). За думкою Г. М. Крижановського, ключовим аспектом патогенезу епілептичного синдрому є формування ГППЗ на підґрунті «пулу патологічно змінених нейронів» з дефіцитом процесів гальмування [79, 295,

296]. Резюмуючи, динамічний епілептогенез можливо розглядати з точки зору дизрегуляційної хвороби в якості стійкої дизрегуляційної патології нервової системи. За умов епілепсії відокремлюють транзиторний дизрегуляційний процес, в підґрунті якого є формування вказаного вище ГППЗ, та кінцеву дизрегуляційну патологію, яка є системною патологією з формування епілептичної ПС, кожний ланцюг якої є проявом дизрегуляції відповідних процесів.

Для вдалого вирішення завдань наукової роботи необхідно були визначитися з адекватною моделлю ЕпА, при застосування якої можна було би вивчати зміни судомної активності, розвиток спонтанних мимовільних судом, досліджувати зміни поведінки протягом інтеріктального періоду та яка відповідає би основним клінічним формам захворювання, особливо його хронічному перебігу.

Ми зупинилися на кіндлінг-викликаній моделі хронічної ЕпА, яка відтворюється при тривалому впливі на мозок тварин електричного подразнення або фармакологічної сполуки з конвульсивним механізмом дії підпорогової інтенсивності, що дозволяє досягти сталих довготривалих самопідтримуючих судом. Упродовж чотирьох десятиліть з моменту відкриття феномену «кіндлінгу» Дж. Годдардом ця модель привертала пильну увагу багатьох учених, що досліджують фундаментальні механізми епілептогенезу як одна з найбільш адекватно відбиваючих патофізіологічні та клінічні особливості захворювання. Кіндлінг розглядають як можливий універсальний механізм, який приймає участь в епілептогенезі не лише за експериментальних, але й за клінічних умов – він також властивий мозку людини. Для моделі кіндлінга характерні унікальні методичні переваги щодо вивчення патофізіологічних механізмів епілептогенезу в експериментальних умовах з подальшою екстраполяцією результатів для розуміння механізмів розвитку певних типів судомних синдромів у пацієнтів.

В кіндлінговій моделі епілепсії можна чітко контролювати початок судом, стадійність їх розвитку та збереження. Поведінкові та електрографічні

судомні прояви при кіндлінзі характеризуються високою відтворюваністю, легкою об'єктивізацією їх вираженості, можливістю класифікації їх тяжкості й тривалості. Важливо ще й те, що в кіндлінгових тварин відзначається генерування спонтанної судомної активності, яка виникає без пред'явлення тестуючої кіндлінгової стимуляції. Отже, розвиток ССА точно відбиває елементи тотожності цієї моделі клінічним формам епілепсії, завдяки чому кіндлінг за багатьма аспектами відповідає характеристикам «ідеальної» моделі епілепсії [155].

Але при бажанні отримати об'єктивні дані про нейропатологічні механізми хронічного судомного синдрому некоректним є застосування лише однієї моделі хронічних судом та лише власне хронічних судом, виходячи з чого були розроблені та запатентовані і досліджені основні патогенетичні механізми виникнення, розповсюдження та підтримання сталості судомного синдрому за умов низки моделей гострих коразол-, пікротоксин-, пілокарпін- та кайнат-індукованих судом, хронічного судомного синдрому при посткіндлінзі, за умов відтворення кайнат- та пілокарпін-спричиненого епілептичного статусу, післятравматичної судомної активності тощо. Ми також вивчали ефекти можливого «трансфер»-феномену при дослідженні впливу екстрактів мозку та ЦСР на вираженість судомної активності в організмі тварин-реципієнтів. Для повної об'єктивізації результатів досліди були проведені на щурах різного віку та різних ліній, включаючи щурів лінії WAG/Rij з генетично детермінованою абсансною формою епілепсії.

Отримані дані безлічі експериментальних серій дозволяють говорити про три основні компоненти теперішньої роботи, які становлять її базис. Перший компонент, про який йшлося вище, обумовлює методологічну адекватність роботи. Він визначається проведенням низки експериментальних дослідів із визначенням особливостей розвитку стану підвищеної збудливості мозку, електрографічної активності окремих підкіркових та утворень кори мозку, підвищеної судомної активності, резистентності щодо впливів протисудомних препаратів, тощо, за умов різних моделей хронічної

епілептичної активності: фармакологічного кіндлінгу, післякіндлінгу, пілокарпін-індукованого та післятравматичного хронічного судомного синдрому, епілептичного статусу. Другий – це дослідження поведінки тварин протягом інтеріктального періоду, який має важливу клінічну перспективу, оскільки дослідження субклінічних порушень поведінки хворих може стати одним із найважливіх діагностичних аспектів клінічного обстеження хворих на епілепсію. Третім компонентом роботи, який є фундаментально важливим з точки зору теорії дизрегуляційної патології та має безпосередню клінічну спрямованість, є висвітлена взаємодія між нервовою та імунною системою протягом виникнення, розвитку та пригнічення судомного синдрому. При цьому важливим вважаємо наступне: первинним аспектом в роботі є дослідження патогенетичних механізмів епілепсії, але не кількість експериментальних моделей. Моделі судомного синдрому, які були використані, дозволяли з певним ступенем впевненості, враховуючи вираженість судомного порогу окремого утворення мозку, яке підпадало під електричний вплив, а також механізми реалізації судомної дії окремих коенвульсантів, робити висновки стосовно механізмів розвитку та припинення певної форми судомного синдрому, а також обговорювати саногенетичні механізми, які переважно є віддзеркаленням активності АЕС, або умови розробки, експериментального тестування та доцільності клінічного впровадження схем комплексної фармакотерапії хронічної ЕпА.

Результати початкової частини дослідів показали, що повторне введення пікротоксину спочатку підпороговій дозі призводить до виникнення та прогресивного наростання інтенсивності судомних поведінкових проявів від окремих міоклонічних здригань до генералізованих судомних клініко-тонічних нападів. Кіндлінг-сформований стан підвищеної судомної готовності зберігається протягом тривалого (до 1,5 місяців) терміну після завершення введень пікротоксину. Відновлення повторних введень конвульсанту супроводжується бистрішим виникненням та наростанням інтенсивності судомної активності.

Потім вивчали поведінкові кореляції пікротоксिनних судом, які ініціювали у кіндлінгових щурів після 14-денного так званого «тихого» періоду, тобто періоду без введення конвульсанту. Введення пікротоксину через 14-денний інтервал після формування кіндлінгу сприяло розвитку генералізованих судом максимальної інтенсивності лише в тих кіндлінгових тварин, які раніше демонстрували судоми інтенсивністю 4-5 балів. При цьому суттєво збільшилася кількість тварин з повторними генералізованими клоніко-тонічними судомами інтенсивністю в 5 балів за рахунок щурів, в яких судоми мали характер генералізованих клоніко-тонічних з падінням на бік, вегетативними розладами та післяприступною депресією. Це дозволило припустити, що наявність генералізованих клоніко-тонічних судом є обов'язковим для формування стану підвищеної судомної чутливості за умов кіндлінгу та післякіндлінгової моделі хронічної судомної активності.

Були досліджені в порівняльному аспекті ефективність застосованих протиепілептичних препаратів за умов кіндлінгу та посткіндлінгу. Наші дані свідчать про розвиток протисудомної дії фенобарбіталу та фенітоїну, яка має залежний від дози характер та проявляється у щурів за умов гострих пікротоксिनних судом, а також при сформованій хронічній ЕпА за умов фармакологічного кіндлінгу. Проте, через 14 діб після завершення кіндлінгу обидва протисудомні препарати не виявляють захисної дії за модельних умов, що зумовлює їх призначення в максимальних дозах, близьких до токсичних. Таким чином, посткіндлінгові судоми характеризуються більшою інтенсивністю та більш вираженою резистентністю щодо дії протисудомних препаратів.

Механізми, які мають бути підґрунтям показаних особливостей стану підвищеної судомної готовності за умов посткіндлінгу, залишаються невідомими, проте, для їх пояснення уснують дві концепції. Перша полягає в тому, що протягом формування кіндлінгу відбувається тонічна активація протисудомних механізмів головного мозку, проявом якою є зростання активності ендогенної АЕС мозку, яка перешкоджає або запобігає подальшому

розвиткові епілептогенезу. Ендогенні пептиди взагалі та ендогенні опіоїди, зокрема, є одними з провідних чинників активності ендогенних протисудомних механізмів, які мають характерний прояв проягом інтеріктальних періодів. Отже, виражене підсилення інтенсивності судом через 14 діб після завершення кіндлінгу може бути викликане зниженням функціональної активності захисних протисудомних механізмів, в той час як активність епілептогенних систем не змінено.

З іншого боку, ймовірно підсилення активності ендогенних протисудомних механізмів протягом 14 діб після формування кіндлінгу, про що свідчать дані [294], які показали зростання чутливості CA₃ пірамідальних нейронів гіпокампу щодо дії N-метил-D-аспартату через 28 діб після формування електричного кіндлінгу мигдалика. Резюмуючи, відзначимо, що два боки кіндлінгу-індукованого ЕпА є різними, зважаючи на ефективність протисудомних препаратів. Отже, ймовірно, що модель пікротоксинового кіндлінгу є гідною для тестування ефектів антиепілептичних препаратів, в той час як модель посткіндлінгу є резистентною щодо впливу протисудомних препаратів.

В подальшому, виходячи з відомої ролі системи збуджуючих амінокислот у виникненні ЕпА та у формуванні ЕС, досліджували ефективність застосування за умов кайнат-індукованого ЕС блокатору рецепторів збуджуючих амінокислот кетаміну та L-типу кальцієвих каналів німотопу, вальпроєвої кислоти та ДСП. Було виявлено залежну від дози протисудомну дію німотопу за умов ЕС, в механізмах розвитку якого провідною є гіперактивація системи збуджуючих амінокислот, яка проявлялась захистом щурів від розвитку даної форми хронічного судомного синдрому, скороченням латентного періоду його розвитку та його тривалості, а також запобіганням розвитку спонтанних судом. Протисудомний ефект німотопу співставний з відповідним ефектом вальпроєвої кислоти дозою 100 мг/кг, зважаючи на перспективи клінічного тестування його протисудомної активності.

Отримані дані переконливо свідчать на користь вираженої антиепілептичної дії за таких модельних умов блокування рецепторів збуджуючих кислот кетаміну та ДСП, що, окрім з'ясування патофізіологічних механізмів ЕС – за механізмами опосередкування системи збуджуючих амінокислот, - висвітлює ще один перспективний механізм протективного впливу ДСП, якого можливо застосовувати в якості складового компоненту при комплексному лікуванні судомного синдрому.

Фундаментальну цінність та клінічний інтерес викликає можливість якомога більшого підвищення ефективності пригнічення ЕС, що ми намагалися виконати за умов сумісного введення блокатора кальцієвих L-типу каналів рідипіну та карбамазепіну. Ми показали наявність протисудомної дії карбамазепіну та рідипіну за умов моно- і політерапії хронічної ЕпА. Виявлено також ефективність сумісного введення карбамазепіну та карбамазепіну в аспекті пригнічення кайнат-індукованої хронічної ЕпА.

В подальшому було виявлено виражену протисудомну активність ЦСР котів з ЕС. Цей ефект має видо-неспецифічний характер і проявляється після в/шлун ін'єкції ЦСР при індукції ЕС в щурів-реципієнтів. Антиепілептична активність ліквору характеризується істотним скороченням тривалості судомних реакцій і якісною зміною поведінкових (судомних) проявів ЕС. Судоми за цих умов мають клонічний характер, повністю запобігається розвиток тонічного компоненту судом.

Інтересною є поява протисудомних властивостей ліквору у тварин з ЕС. За уявленнями Г. Н. Крыжановского и соавт. (1992), антиепілептична активність ЦСР пов'язана не лише з механізмами індукції і поширення судомної активності при епілептичному статусі, а й з функціонуванням АЕС, яка активується при судомному процесі і бере участь в його пригніченні [75]. Очевидно, що за умов поширення ЕпА при ЕС в мозку синтезуються і виділяються до ЦСР ендогенні гуморальні чинники, що забезпечують зрештою ліквідацію ЕпА. Ці гуморальні чинники і є індукторами ліквідації ЕпА у тварин-реципієнтів. Отже, в ЦСР тварин з ЕС вивільняються ендогенні

гуморальні чинники, які є індукторами активності АЕС мозку та спричиняють протисудомну дію при їх введенні до лікворної системи тварин-реципієнтів.

Завданням наступної серії дослідів було вивчення впливу екстрактів мозку кіндлінгових щурів на вираженість пікротоксин-індукованих судом. Отримані результати дозволяють зі впевненістю говорити про внесок пептидних чинників у патогенетичні механізми хронічної кіндлінг-викликаної судомної активності, для остаточної перевірки чого ми провели серію біохімічних вимірювань в тканині мозку кіндлінгових щурів. Наші дані свідчать про суттєве зменшення вмісту ендогенних пептидів - β -ендорфіну, ДСП та мет-енкефаліну - в досліджуваних утвореннях мозку кіндлінгових щурів. Найбільш вагомим виявилось зменшення вмісту досліджуваних пептидів у вентральній мезенцефальній ділянці мозку кіндлінгових щурів. Серед всіх пептидів слід відзначити їх зменшення вмісту за умов кіндлінг-викликаної моделі епілепсії в наступному ряді: β -ендорфін > мет-енкефалін > ДСП.

Аналізуючи ці дані, відзначимо, що за умов кіндлінгової моделі хронічного судомного синдрому епілептогенну дію індукують пептидні чинники, які найбільшою мірою у відповідь на повторні введення пікротоксину накопичуються у вентральній мезенцефалічній ділянці мозку. Пептидна натура епілептогенної дії вказаних чинників підтверджується протисудомними ефектами екстрактів мозку вентральної мезенцефалічної ділянки, які інкубовані з налоксоном, що додатково вказує також й на переважно мю-опіодні механізми епілептогенних ефектів пептидних екстрактів мозку за умов хронічного судомного синдрому.

Отримані біохімічні результати додають, що епілептогенні впливи пептидних чинників вентральної мезенцефалічної ділянки мозку не пов'язані ані з β -ендорфіном, ані з мет-енкефаліном та ДСП. Зважаючи на показане патогенетичне значення опіатергічних механізмів при кіндлінзі, ймовірно, що за умов пікротоксинового кіндлінгу активуються опіатні, проте, інші, не ідентифіковані ще агоністи мю-опіатних рецепторів, які обумовлюють

розвиток та надмірне розповсюдження хронічної ЕпА. Цей блок отриманих результатів потім ще буде підтвержений при визначенні впливу окремих нейропептидів на модуляцію хронічної ЕпА.

З метою об'єктивізації даних стосовно нейропатологічних механізмів хронічного епілептогенезу були проведені дослідження на щурах різного віку. Одержані дані дозволяють зробити висновок про більш швидке формування пікротоксин-викликаного кіндлінгу у щурів в ранньому постнатальному періоді. Ці дані співпадають з показаними раніше результатами [256] про те, що саме другий і третій тижні розвитку є періодом підвищеної чутливості до дії судомних чинників. Враховуючи механізм судомної дії пікротоксину, який пов'язаний з компрометацією ГАМК-ергічного гальмування, наші результати підтверджують попередньо висловлене припущення про недосконалість гальмівних механізмів ГАМК-опосередкованого гальмування в недиференційованому мозку.

Додатково вивчали патологічні механізми хронічної ЕпА у щурів в ранньому постнатальному періоді. Для цього в порівняльному аспекті досліджували відтворення пікротоксин-викликаного кіндлінгу у дорослих (шестимісячних) інтактних щурів, а також у дорослих щурів, в яких, починаючи з 20 денного віку був сформований пікротоксиновий кіндлінг. На підставі одержаних в даній серії експериментів даних показано, що у щурів, у яких в ранньому постнатальному періоді вже був сформований хімічний кіндлінг, за допомогою введення підпорогових доз пікротоксину, в дорослому віці відмічається полегшення його формування.

Отримані результати важливі в декількох аспектах. По-перше, враховуючи тимчасові рамки експерименту, дослідна група щурів знаходиться в тому тимчасовому інтервалі, протягом якого після формування кіндлінг-викликаного судомної активності відмічається стан підвищеної судомної готовності до дії епілептогенних стимулів. По-друге, нам вдалося прослідкувати і показати, що пошкоджуючі/судомні впливи на недиференційований мозок щурів в ранньому постнатальному періоді

сприяють утворенню стійкого патологічного стану, за умов якого відбувається полегшене/прискорене формування пікротоксинового кіндлінгу в більш пізньому віці. І, по-третє, виходячи з методологічної побудови наших експериментів, відтворення пікротоксин-викликаного кіндлінгу у щурів, у яких він вже був сформований раніше, приходить на 2-3-тижневий інтервал, тобто на стан посткіндлінгу або рекіндлінгу, що характеризується більш вираженою стійкістю до дії судомних чинників [72, 150, 409].

Ми вважаємо, що в цьому може полягати аспект «резистентності» судомної активності до лікування. Іншими словами, епілептогенне пошкодження мозку в ранньому постнатальному періоді є одним з чинників, що сприяють формуванню підвищеної судомної готовності такого мозку в майбутньому до дії просудомних чинників.

В наступних дослідах вивчали характер пілокарпін-спричинених судомних реакцій, відтворених на інших моделях ЕпА. У цьому аспекті увагу привертає модель післятравматичної судомної активності, оскільки часто ЧМТ є ініціюючим механізмом порушення регуляторних процесів функціонування головного мозку і ЦНС. Отже, інтерес становило дослідження особливостей судомних реакцій у щурів у післятравматичному періоді у випадку їхньої індукції пілокарпіном, а також іншими конвульсантами з іншим механізмом реалізації судомної дії. Для виявлення онтогенетичних особливостей судомних реакцій цю серію дослідів було проведено на 30-денних і 2-місячних щурах.

Результати даної частини експериментальних досліджень свідчать про те, що травматичне ушкодження мозку в дорослих щурів сприяє зростанню інтенсивності судом, викликаних пілокарпіном. Подібного утяжеління пілокарпін-спричинених судомних реакцій не відзначалося в молодих щурах. Проведені порівняльні експериментальні спостереження в даній частині досліджень, в яких післятравматичну судомну активність провокували пікротоксином, механізм судомної дії якого пов'язаний з компрометацією ГАМК-ергічного гальмування, та каїновою кислотою, механізм судомної дії якої пов'язаний з активацією системи збуджуючих амінокислот, показали, що

в щурів у зрілому віці ЧМТ сприяє істотному утяжелінню пікротоксин- й каїнат-спричинених судомних реакцій.

Відзначене, на наш погляд, може свідчити про викликаний травматичним ушкодженням головного мозку загальний дизрегуляторний ефект, який має, ймовірно, адаптаційний характер (з огляду на легкий ступінь ЧМТ у нашому експерименті) і виражається компрометацією активності холін- та ГАМК-ергічних нейромедіаторних систем і системи збуджуючих амінокислот.

Характер післятравматичних судомних реакцій у молодих щурів показав їх повну невідповідність таким станам у дорослому віці. Слід зазначити, що виразність післятравматичних гострих генералізованих судом була більшою у випадку їхньої індукції за допомогою каїнової кислоти, механізм судомної дії якої реалізується за допомогою активації системи збуджуючих амінокислот [381]. Можливо припустити, що в мозку молодих щурів функціональна активність системи збуджуючих амінокислот перевищує таку для ГАМК- і холінергічної систем, що певним чином відповідає результатам [415].

Отримані дані дозволяють висловити припущення про недосконалість системи ГАМК-ергічного гальмівного контролю, а також про недостатню активність холінергічної нейромедіаторної системи в мозку молодих щурів, що відповідає результатам досліджень, проведених співробітниками нашої кафедри [413, 416]. У той же період онтогенетичного розвитку активність системи збуджуючих амінокислот знаходиться на оптимальному рівні, та її активація сприяє формуванню судомних реакцій. Як видно, в основі розвитку судомних реакцій у ранньому постнатальному періоді і формування підвищеної судомної чутливості до дії епілептогенних факторів полягає гіперактивація системи збуджуючих амінокислот, що потім «запускає» порочне коло патологічних процесів, які торкаються як механізмів нейромедіаторного забезпечення процесів збудливості, так і поміжсинаптичних взаємодій. Це є важливим у дослідженні патогенетичних механізмів збереження підвищеної судомної готовності в наступних вікових

інтервалах часу і, що саме головне, формування фармакологічної резистентності до лікування епілепсії.

Завданням подальших досліджень було вивчення патогенетичних механізмів формування мимовільних судом у відстроченому періоді пілокарпін-індукованої хронічної ЕпА, провідним механізмом реалізації судомної дії якого є активація холінергічних механізмів, а також тимчасові та електрофізіологічні особливості досліджуваної моделі хронічної епілепсії. Отримані результати свідчать про те, що у щурів після введення пілокарпіна гідрохлориду розвивається комплекс поведінкових і електрографічних порушень, характерних для ЕС, який характеризується високою летальністю, стадійністю та розвитком мимовільних відстрочених судом.

Ці дані співпадають з результатами низки авторів [63, 68, 73, 110, 225, 250, 357], які досліджували адекватність і відтворюваність пілокарпінової моделі ЕС, механізми її формування, а також послідовність розвитку поведінкових і електрографічних змін. Відзначаємо також відносно високі показники летальності за умов цієї моделі, що відповідає таким даними інших авторів і підтверджує клінічну відповідність використовуваної моделі такого патологічного стану у людей.

Через 70-90 хв після введення пілокарпіну в щурів відзначаються гострі судоми, внаслідок яких гине 16 % тварин, а через 20-25 днів розвиваються спонтанні судомні реакції. Проведений аналіз виявив пряму залежність частоти розвитку спонтанних судом у щурів від тривалості гострих пілокарпін - викликаних судом. Отримані дані, проте, різняться з даними [418], на думку яких перші спонтанні судоми у щурів і мишей, які вижили після ЕС, зазвичай з'являлися протягом 5-10 днів після ЕС. Але, швидше за все, подібні тимчасові відмінності у виникненні самовільних відстрочених судом можуть бути пов'язані з різними дозуваннями пілокарпіну та різними видами експериментальних тварин.

Перші спонтанні судоми в щурів і мишей, які вижили після ЕС, зазвичай з'являлися протягом 5-10 днів після його індукції [419]. Вони відповідали

інтенсивності судом у 4-5 бали і тривали протягом декількох тижнів. Автори зробили висновок, що пілокарпін-індукована модель хронічних мимовільних судом придатна для дослідження патофізіологічних механізмів, зробивши особливий акцент саме на спонтанності судом, які виникають [418].

Пілокарпін-викликані мимовільні судом є моделлю резистентної хронічної епілепсії і є менш дослідженими порівняно з гострими судомними реакціями. З фундаментальної точки зору модель відстрочених спонтанних судом інтересна тим, що у людей з хронічною епілепсією часто відзначаються порушення поведінки - епізоди підвищеної збудливості, агресивності, депресивні стани та ін [456, 457]. 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 запідозрити швидкий розвиток спонтанних судом, що значно ускладнює діагностику хронічного судомного синдрому.

Дослідження патофізіологічних механізмів пілокарпін-індукованих спонтанних судом вимагає комплексного системного підходу. Показані в нашій лабораторії порушення поведінки є характеристикою інтеріктальному періоду, який передує безпосередньому розвитку спонтанних судом. З точки зору концепції причинно-наслідкових відносин у патології [458] логічно зазначити також внесок патоморфологічних, гістопатологічних, патобіохімічних і нейродегенеративних порушень нейронів і гліальних елементів підкіркових утворень - переважно лімбічної системи і кори мозку - у формування хронічної стадії пілокарпін-викликаного ЕС. При цьому розвиток спонтанних судом та їх прогресування сприятимуть подальшому розвитку порушення досліджених типів поведінки. При цьому розробка комплексних методів корекції порушень поведінки буде являти собою патогенетичний базис для пригнічення відстрочених спонтанних судом, що відповідає уявленням [72, 78, 79, 81] щодо кіндлінгових судом.

В наступному були досліджені патогенетичні механізми розвитку пілокарпін-індукованих відстрочених спонтанних судомних реакцій. Нашу увагу привернули серединні ядра таламуса (медіодорзальне та сполучне) і фронтальні відділи кори мозку. 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 ЕпА у людей при скронево-дольовій епілепсії [459]. Відомо, що рекрутуючі таламо-кортикальні впливу модулюють осередкові та генералізовані судомні реакції [460]. Показано також, що проєкції специфічних і неспецифічних ядер таламуса закінчуються в IV і I шарах лобової кори, відповідно, що повинно припускати опосередкування фронтальною корою епілептиформних реакцій.

В роботі [461] показано, що після руйнування медіодорзальної частини таламуса в щурів порушувалася орієнтація в просторі та просторова пам'ять в умовах гострих судом, викликаних пілокарпіном і літієм. Для дослідження ролі серединних ядер таламуса і фронтальних ділянок кори в патофізіологічних механізмах пілокарпін-індукованих спонтанних судом ми здійснювали хімічну деструкцію та електричну активацію зазначених утворень мозку. Отримані дані свідчать про те, що модуляція активності серединних ядер таламуса та фронтальних відділів кори мозку щурів детермінують характер виникнення відстрочених спонтанних пілокарпін-індукованих судомних реакцій.

При селективної 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 відбувається в разі попередньої деструкції фронтальних відділів кори. При цьому спонтанні пілокарпін-індуковані судоми у щурів не розвиваються. При активації фронтальних

відділів кори пілокарпін-спричинені гострі і відстрочені спонтанні судомні реакції не відрізняються від аналогічних у щурів в контрольних спостереженнях. Ці дані, а також наявність потужних проекційних еферентних і аферентних взаємодій серединних ядер таламуса і фронтальних відділів кори, дозволяє припустити опосередкування даними утвореннями мозку патофізіологічних механізмів розвитку пілокарпін-індукованих спонтанних судом.

Інша низка результатів свідчить про залучення кортикальних ділянок – переважно моторної кори - до патофізіологічних механізмів хронічного судомного синдрому. Показано значне розширення загальної площі кортикального представництва рухів, які відають скороченням певних груп м'язів передніх кінцівок у щурів із пікротоксिनним кіндлінгом. За даних умов в однаковому ступені зростала площа кортикального представництва рухів м'язів передніх та дистальних частин передніх кінцівок, проте, в динаміці післякіндлінгового періоду простежується тенденція щодо зростання кортикального представництва програмованих рухів у відповідь на МЕС саме м'язами дистальних частин передніх кінцівок.

Розширення площі рухових ділянок кори у кіндлінгових щурів відбувалося в ростральному та латеральному напрямках за рахунок тих ділянок, МЕС яких не спричиняла моторних відповідей в інтактних тварин. Збільшення площі кортикального представництва рухів відбувалося за рахунок приблизно однакового зростання площі ділянок відповідей м'язами передніх та дистальних частин передніх кінцівок, тобто не йдеться про будь-які специфічні функціональні або реорганізаційні топографічні зміни. Це свідчить про те, що за умов кіндлінг-індукованої хронічної ЕпА відбувається структурна перебудова нейронів, що створює новий нейрональний комплекс з новою системою синаптичних зв'язків, робота яких загалом є принципово новою інтеграцією патологічно змінених епілептизованих нейронів.

Іншим заслуговуючим увагу результатом, який було отримано, є факт відсутності динаміки зміни площі кортикального представництва рухів

передніх кінцівок у щурів впродовж двотижневого терміну посткіндлінгу, який передбачає насамперед зміни процесів збудливості мозку тварин, а також чутливості дії антиконвульсантів [150]. Факт відсутності редукції або збільшення площі рухових ділянок кори протягом двох тижней після завершення кіндлінгових судомних реакцій засвідчує, що ці зміни є довготривалими і для їх присутності не потрібні зовнішні епілептогенні стимули. Скоріше за все, визначені зміни загальної площі ділянок представництва рухів передніх кінцівок у моторній корі відбулися не в разі розширення морфологічно-обумовлених та підкреплених відповідними кортико-спінальними проєкціями ділянок неокортекса. Ймовірно, ці ділянки є результатом певних функціональних кортикальних реорганізацій, які виникли впродовж хронічної епілептизації мозку завдяки формуванню нових синаптичних зв'язків між нейронами різних утворень.

Отже, патогенетичні механізми хронічного судомного синдрому є багатобічними та разом із підсиленням активності проконвульсивних чинників, які становлять підґрунтя формування та функціонування епілептогенної ПС, йдеться про повільне зростання активності чинників, які є базисом АЕС. Застосовуючи системний підхід для вивчення патогенетичних механізмів хронічного судомного синдрому, існує ймовірність розвитку різноспрямованого, двобічного ефекту при різного типу стимуляції певного з утворень епілептогенної ЕС або АЕС. Подібна двобічність ефектів стимуляції або пригнічення активності нейрональних утворень мозку, за уявленнями Г. М. Крижановського про дизрегуляційну патологію, є порушенням принципу подвійної функціональної послілки (ПФП), який за умов епілептичного синдрому, індукованого дефіцитом гальмівних регуляторних механізмів, пояснює ймовірні про- та протисудомні електростимуляційні або фармакотерапевтичні ефекти [78].

З фундаментальної точки зору, функціональна послілка із активованого нервного утворення спрямовується по двох адресах – до збуджуючих та гальмівних нейронів. Ось чому сам нейрон, на який конвергує послілка із

вказаних двох джерел, випробує подвійний вплив. Зазначені подвійні впливи забезпечують тонку регуляцію нейрона та соматичних клітин. Лише гармонія збудження та гальмування може спричиняти необхідний функціональний результат [146]. Характер ефекта, який розвивається в ділянці генератора протягом активації нейронального утворення, що має з ним синаптичні зв'язки, залежить від внутрішньої структури ГППЗ. При слабкому ступені порушення гальмівного контролю, який забезпечується місцевими гальмівними нейронами, збудження, що надходить від збудливих утворень, здатно сприяти їх додатковій активації, та за рахунок цього - пригніченню діяльності осередка ЕпА. Якщо у ділянці епілептогенеза має місце значне порушення механізмів гальмування, аферентна функціональна посилка сприяє ще більшому зростанню гіперактивності нейронів та збудженню діяльності осередка.

Таким чином, оскільки ступінь порушення механізмів гальмівного контролю визначає потужність генератора, то виразність процесів пригнічення активності ГППЗ під впливом стимуляції утворень мозку знаходиться у зворотній залежності від його потужності.

Викладені уявлення припускають можливість застосування феномену ПФП щодо різних відділів ЦНС¹, а також при різноманітних нейропатологічних синдромах, які характеризуються гіперактивністю систем. Разом із тим, принцип, який розглядається, виступає в якості робочої теорії, що дозволяє спрямовано вдосконалювати метод стимуляційного (функціонального) або фармакологічного пригнічення ЕпА.

У системі теоретичних знань про патологію мозку феномен ПФП об'єктивно доповнює інші важливі напрямки розвитку теорії генераторних, детермінантних та системних механізмів нейропатологічних синдромів - теорію детермінанти, ПС, уявлення про патогенез, ендогенез та, особливо, саногенез як процес активації утворень відповідних антисистем головного мозку [274, 462].

¹ Йдеться переважно про ті ділянки ЦНС, де можливо формування ГППЗ. Винятком, ймовірно, може бути кора мозочку, де не вдається викликати самопідтримуючу синхронізовану активність нейронів Пуркінє.

Раніше виявлено, що в осередках високої потужності ЕпА, а також на раннішній стадії оснування комплексу епілептичних осередків електричне подразнення зубчастого ядра мозочка сприяє активації генерування судорожних потенціалів. В осередках низької потужності ЕпА, а також за умов зниження ступеня потужності ЕпА осередків комплексу, електричне подразнення ядра супроводжується розвитком гальмівних протиепілептичних ефектів. Принципово подібний характер впливів електричного подразнення на епілептичні осередки, що локалізовані в неокортексі, відмічається при подразненні інших утворень антиепілептичної системи - каудального ретикулярного ядра моста [463], заднього гіпоталамуса [79, 145], фастігеального ядра [363], а також деяких інших утворень [74, 79, 145, 350].

Отже, чітко простежується, що мозочок є прикладом одного з компенсаторних антиепілептичних утворень за умов дії на мозок епілептогенного стимулу низької інтенсивності. Патогенез такої форми епілептичного синдрому можна аналізувати з точки зору лінійного характеру розподілу впливі причин та наслідків. В той же час, за умов дії стимулу надмірної інтенсивності, активність якого не можна компенсувати при активації утворень АЕС, патогенез має циклічний характер, а причинно-наслідкові взаємовідносини є звичайними [458].

Реалізація принципу ПФП має тісний зв'язок з перспективами розробки комплексної патогенетичної терапії судомного синдрому. Наприклад, електричне подразнення фастігеального ядра мозочку сприяє розвиткові більш виразної протиепілептичної дії та в меншому ступені активує епілептичні потенціали порівняно з електричним подразненням зубчастого ядра [78, 363, 464]. Цей результат також можна пояснити на підставі особливостей морфо-функціонального розподілення впливів ядра, що стимулюється, на нейронах кори головного мозку. Так, показано, що електричне подразнення зубчастого ядра викликає в неокортексі поверхневі таламо-кортикальні відповіді, в генерації яких приймають участь дендрити кортикальних нейронів [465]. Електричне подразнення фастігеального ядра сприяє розвитку глибоких

таламо-кортикальних відповідей, у розвитку яких важливу роль грають зміни активності соми нейронів [466]. Здається, більш виразні проепілептичні впливи подразнення зубчастого ядра мозочку на епілептичні осередки в корі головного мозку можуть пояснюватися додатковою деполяризацією дендритів кортикальних нейронів, яка виникає при електричному подразненні ядра та має важливе значення для розвитку ЕпА [467].

Ймовірно, що різна структура формування відповіді на “станції призначення” функціональних впливів ядер - корковому епілептичному осередку, може також забезпечити різноманітну за ефективністю активацію гальмівних інтернейронів різних шарів кори, що пригнічують ЕпА.

Показано визначну роль підвищеної функціональної активності гальмівних інтернейронів епілептичного осередка в реалізації гальмівного компонента ПФП, що вказує на можливість ефективного застосування фармакологічних агентів, які здатні активізувати гальмівні механізми для підсилення виразності антиепілептичної дії електричного подразнення. Дані літератури щодо питання сумісного застосування електричного подразнення утворень мозку та фармакологічних препаратів нечисленні, але цікавими постають дослідження, у яких відмічається можливість розвитку гальмівних протиепілептичних ефектів у кішок та мавп при електричному подразненні поверхні мозочка за умов введення фенобарбітала [465, 468]. Причому, фенобарбітал вводили тільки деяким тваринам, у яких при моделюванні хронічної ЕпА за допомогою кобальтової пасти виникали тяжкі епілептичні прояви, що загрожували життям тварин.

Показана можливість потенціювання діазепамом впливів електричного подразнення фастігеального ядра мозочка на моделі багатоосередкового епілептичного комплексу був обраний діазепам [157]. Ці результати узгоджуються з раніше поданими результатами, в яких показано підсилення гальмівних протиепілептичних ефектів електричного подразнення кори палеоцеребелума на тлі введення феназепаму та діазепаму [469]. Підвищення порога розвитку модулюючих ЕпА стимуляційних впливів може пояснюватися

їх полісинаптичним характером реалізації - відомо, що бензодіазепинові препарати пригнічують полісинаптичне проведення імпульсів. Такий же ефект можна пояснювати як прояв своєрідної “фармакологічної деаферентації” епілептичного осередка під впливом діазепаму [470].

Отже, виділення гальмівної функціональної посилки за умов застосування діазепаму свідчить про можливість спрямованого підвищення ефективності дії антиепілептичних утворень за допомогою фармакологічних агентів, які зсувають баланс процесів збудження та гальмування до переваги останніх.

Слід зупинитися ще на одному теоретичному аспекті розглянутих закономірностей розвитку впливів утворень мозку, що подразнюються, на кортикальні генератори ЕпА. В модельному плані зміни, які тривають впродовж ЕП, являють собою взаємодію двох гіперактивних популяцій нейронів: однієї - в ділянці ЕП та другої - в корі головного мозку, - тобто, по сутності, двох ГППЗ, які спричинені різноманітними засобами. Це питання, а саме, закономірності взаємовідносин ГППЗ в неокортексі було детально аналізовано раніше [78, 79, 363, 463, 471-474].

Подібне подвійне значення збудження, яке генерується потужним ГППЗ (епілептичним осередком) та здатне сприяти як гальмуванню, так і активації інших ГППЗ, можна пояснити, з позицій феномена ПФП, наявністю різних умов реалізації цих впливів нейронами сприймаючих осередків. У випадку достатньо слабкого рівня збудження в сусідніх з потужним ГППЗ епілептичних осередках імпульсація, що надходить до них, може активізувати функціонально збережені гальмівні інтернейрони та сприяти пригніченню ЕпА (*домінантні відносини*). Якщо збудження в осередках буде більш високим, під впливом надходячих функціональних посилок можливо буде відмітити активацію осередків та формування простішої епілептичної системи - комплексу осередків (*детермінантні відносини*) [58, 59, 78-80, 145, 146, 274, 350, 363].

Таким чином, згідно уявлень про ПФП, домінантний або детермінантний характер взаємовідносин поміж ГППЗ може залежати від рівня порушення гальмівних механізмів у осередках, які взаємодіють, та, відповідно, від потужності збудження, яке вони генерують. При цьому вірогідним є те, що детермінантні відносини, які склалися, можуть переходити в домінантні за умов відповідного ступеня відновлення гальмівного контролю в осередках, наприклад, за допомогою діазепама та інших препаратів. З іншого боку, достатньо тривала діяльність домінантного осередка, яке сприяє тривалому “бомбардуванню” різних ділянок неокортекса та прогресуючому порушенню гальмування, може викликати встановлення детермінантних зв’язків поміж ГППЗ. Резюмуючи цю частину обговорення отриманих матеріалів, зазначимо, що реалізація ПФП також є одним із ключових положень дизрегуляційної теорії розвитку патології нервової системи.

Наступним блоком результатів дисертаційної роботи є висвітлена дизрегуляційна інтеграція нервової та імунної систем при хронічному судомному синдрому, що також можна розглядати в якості одного із провідних патофізіологічних механізмів епілептогенезу. При плануванні дослідів з цієї спрямованості ми виходили з таких показаних фактів, що група низькомолекулярних субстанцій пептидної природи під назвою цитокіни, забезпечуючи переважно міжклітинний взаємозв’язок, спричиняє суттєвий вплив на перебіг експериментального судомного синдрому.

Ймовірно, що цитокіни здатні модулювати процеси збудливості головного мозку, а також регулювати розвиток судом, розвиток та гибель нейронів, реактивний гліоз та процеси «спрутінгу» нервових волокон. Зважаючи на дані, наведені вище, ми провели низку дослідів, присвячених визначенню ролі цитокінів в умовах генетичної моделі абсансної епілепсії та кіндлінг-спричиненої хронічної судомної активності.

Доведено 10-разове зростання концентрації ФНП в крові 2-місячних щурів з абсансною формою епілепсії, а також суттєве зростання вмісту цього цитокіну в мозку щурів віком 4 місяці. Термін зростання концентрації ФНП в

крові щурів лінії WAG/Rij (молоді щури, віком 2 місяці) передує терміну активації СХП. Проте, зростання вмісту цього цитокіну в мозку більш зрілих щурів (віком 4 місяці) свідчить на користь можливого захистного впливу ФНП на генерацію СХП, що узгоджується з думкою [267] стосовно адаптаційної ролі цитокінів за умов хронічної судомної активності з їх можливою нейропротективною ефективністю. Надалі, на 6 місяці життя показники рівня ФНП в цих щурів не відрізнялися суттєво. Враховуючи, що в щурів лінії WAG/Rij максимальна виразність абсансних судом відбувається саме у віці 2-4 місяці, можливо, що за умов генетично детермінованих генералізованих абсансних судом показано співпадання підвищення вмісту ФНП із інтенсивністю судомного синдрому, що свідчить про просудомну роль зазначеного цитокіну.

Ці дані узгоджуються з результатами проведених нами серій експериментів в подальшому, спрямованих на вивчення впливу екзогенно введеного ІЛ-1 на тривалість генерації СХП в умовах експериментальної генетично детермінованої моделі абсансної епілепсії. Введений інтактним щурам лінії WAG/Rij цитокін збільшував тривалість генерації СХП впродовж перших 5 год з моменту введення. Активність мозку тварин реєструвалася протягом 72 год, і тривалість генерації СХП впродовж з 7-ї до 18-ї год з моменту введення зростала також під впливом іншого цитокіну - ФНП. Отже, було отримано різні термінові характеристики ефектів двох цитокінів, що досліджувалися, на тривалість СХП. Можливо, ІЛ-1 збільшував тривалість генерації СХП, підсилюючи надходження іонів кальцію в клітини за допомогою взаємодії з NMDA-рецепторами. Можливий також і опосередкований механізм реалізації цього ефекту - за допомогою збільшення вироблення β -ендорфінів, які у свою чергу збільшують тривалість генерації СХП. Враховуючи "відстрочений" вплив ФНП на досліджуваний показник, здається, що його дія була не первинною, а, скоріше за все, індукованою ефектом ІЛ-1.

Проведені дослідження виявили істотне збільшення концентрації ФНП в мозку і плазмі крові у щурів з кіндлінгом мигдалика. При цьому досліджувані

величини концентрації цитокіну, відмічені через 24 год після останнього електричного подразнення мигдалика, в мозку в 1,9 разу, а в крові в 6,3 разу перевищували відповідні показники в контрольних спостереженнях [12, 14, 262, 475]. Були також досліджені зміни концентрації ФНП в корі головного мозку і в мозочку щурів. За умов електричного кіндлінгу мигдалика концентрації досліджуваного цитокіну в тканині кори головного мозку, а також в структурах лімбічної системи в 2,2 разу, а в мозочку - в 2,1 разу перевищували відповідні показники у щурів контрольних груп. Отримані дані свідчать про суттєві порушення регуляторних процесів в нервовій та імунній системах при хронічній ЕпА, що є додатковим доказом формування дезінтеграційної патології за досліджених умов. Вважаємо, що за умов індукованої хронічним судомним синдромом дезінтеграції ЦНС суттєво відбувається компенсаторна активація імунної системи, проявом якої є власне вивільнення цитокінів.

В той же час, при електричному подразненні мозочка концентрації ФНП в тканинах кори мозку і мозочка не розрізнялися істотно з відповідними показниками у щурів контрольних груп [269]. Тобто, застосувавши порівняльний підхід при визначенні концентрації ФНП в тканинах різних утворень мозку за умов електричного подразнення мигдалика й мозочка, ми розраховували отримати різні результати, оскільки мигдалик і мозочок відносяться до різних утворень стосовно можливості їх впливу на епілептогенез. Відомо, що внаслідок електричного подразнення мигдалика ініціюється ЕпА [72, 75, 79, 274], а при електричному подразненні мозочка показані протисудомні ефекти [56, 72, 78, 79, 157, 350, 363, 464]. Скоріше за все, пр кіндлінзі первинним ефектом є збільшення синтезу ФНП, що потім спричиняє зростання синтезу та вивільнення ІЛ-1.

Показано також, що при системному введенні ФНП низькою дозою (5,0 мкг/кг) через 24 год після останнього електричного подразнення мигдалика у кіндлінгових щурів посилюється вираженість поведінкових і ЕЕГ-корелятив судомної активності. При цьому введення цитокіну не

змінювало характер вираженості циклу сон-неспанння і поведінки щурів в тесті «відкрите поле» [262, 475, 476].

У всіх щурів з електричним кіндлінгом, яким вводили ФНП через 24 год після останньої ЕС, тривали повторні клонічні судомні скорочення всіх м'язів тулуба. Подібна поведінкова картина судомного синдрому відбувалася лише в 2 із 6 кіндлінгових щурів, яким ФНП не вводили. В той же час, у решти щурів контрольної групи відбувалися генералізовані клоніко-тонічні приступи з падінням тварин на бік, непритомністю й вегетативними порушеннями. Тривалість ЕпА становила $92,5 \pm 10,5$ с в групі кіндлінгових щурів з введенням ФНП- α і $47,3 \pm 5,3$ сек в групі кіндлінгових щурів без введення ФНП- α ($P < 0,05$) [262, 268, 475-477].

Реєстрація фонової електричної активності мозку кіндлінгових щурів показала переважання активності дельта-діапазону в гіпокампі тварин та окремих ділянках кори великих півкуль, які досліджувалися. За умов введення ФНП тривало зниження дельта-активності в гіпокампі ($P < 0,05$) порівняно з аналогічними показниками, що ми їх отримали до введення цитокіну. Слід зазначити істотне зростання тета-активності у всіх досліджуваних ділянках: наприклад, в ділянці фронтальної кори показники, що вивчалися, зросли в 2,2 рази ($P < 0,05$). Виражене зростання потужності альфа-активності мозку кіндлінгових щурів реєструвалося в ділянці фронтальної кори ($P < 0,05$). Крім цього, тут реєструвалося істотне (на 52 %, $P < 0,05$) зростання бета-активності порівняно з відповідними показниками до введення ФНП. Зростання гамма-активності реєструвалося в ділянці лівого мигдалика (на 61 %, $P < 0,05$) і вентрального гіпокампу (на 48 %, $P < 0,05$).

Введення ФНП змінювало також патерн генерації ЕЕГ кіндлінгових тварин, що дозволяє припустити наступне. Найбільшим чином зростала потужність хвиль α -діапазону у всіх досліджуваних утвореннях, при цьому потужність θ -ритму зростала у всіх досліджуваних утвореннях за виключенням гіпокампу. Активність хвиль β - та γ -діапазонів була менш вираженою, проте, потужність δ -активності в гіпокампі знизилася [477].

Підсилення активності хвиль високої частоти можливо пояснити прямим впливом ФНП на генерацію ЕЕГ, оскільки процеси десинхронізації ЕЕГ визначаються активацією висхідної ретикулярної формації мозку за умов зменшення судомної чутливості. Вивявлені антагонистичні ефекти редукції δ -активності та підсилення α -активності під впливом ФНП можливо пояснити їхнім загальним взаємним антагонізмом, який, ймовірно, послаблюється під непрямим впливом цитокіну на процесу біоелектрогенезу. Не слід також виключати прямих впливів ФНП на пейсмейкери різних типів активності. Якщо до цього додати також інтенсифікацію вивільнення ФНП та ІЛ-1 за досліджуваних умов, можливо припустити наявність ФНП-спричиненого самопідтримуючого механізму епілептогенезу за умов кіндлінг-індукованої хронічної судомної активності.

Доведене посилення вираженості кіндлінгових судом під впливом ФНП свідчить на користь того, що ця сполука порушує перш за все центральні механізми генерування судом. Можливо, аналогічного впливу надає також підвищений рівень концентрації ФНП в крові. Проте, остаточно питання щодо первинності епілептогенної дії ФНП в мозку або крові ще не вирішене [267, 318, 349]. Більш того, показані центральні ефекти досліджуваного цитокіна після його внутрішньоочеревинного введення свідчать про факт його проникненості крізь ГЕБ при кіндлінгових судамах, що підтверджує припущення стосовно взаємозв'язку запалення і судом, з одного боку, і порушення проникненості ГЕБ і судом, з іншого [113, 277, 255, 309, 314, 352]. ГЕБ є фізіологічним механізмом, морфологічно побудованим поміждотеліальними контактами, які охоплюють клітини у вигляді тісного кільця та лімітують проникненню розчинених сполук з капілярів, який регулює обмін води та речовин між кров'ю, ЦСР та ЦНС.

Низка обговорених вище результатів свідчить також про можливість виявлення функціонального імунно-опосередкованого взаємозв'язку між епілепсією та запаленням. Поштовхом для аналізу отриманих результатів з такої точки зору стали існуючі переконливі дані про взаємозв'язок вироблення

та секреції прозапальних цитокінів із виникненням судом [259, 260, 478, 479], активністю нейронів та їхнім відновленням після ушкоджень [480], гибеллю нейронів, посиленою проліферацією глії та підвищеною проникністю гематоенцефалічного бар'єру [481], а також із підсиленням нейрогенезу внаслідок судом [482, 483], як і свідчать про те, що в мозку тварин під час відтворення експериментального судомного синдрому починаються запальні реакції. Відзначимо в цьому аспекті, що ЦНС є імунонезалежною внаслідок наявності в ній гематоенцефалічного бар'єру, відсутності лімфовідтоку та невеликої кількості моноцитів і лімфоцитів. Більше того, ЦНС можна назвати спеціалізованою імунною системою [484], оскільки наявні дані свідчать про те, що імунні й запальні реакції ініціюються в ЦНС або як реакція негайної відповіді, або як варіант сформованої імунної відповіді сповільненої дії з залученням до неї периферичних нервових тканин. Взаємодія між системами негайного та сповільненого реагування в ЦНС при дії патогенних факторів відбувається за участі запальних медіаторів, найбільш важливими серед яких є цитокіни та система Toll-like рецепторів (TLR) [485].

Відомо, що запалення мозку — це стан, який характеризується появою в мозку низки молекул (цитокінів і традиційних медіаторів запальних реакцій), яку неможливо визначити в ньому (або наявної у незначних концентраціях) за фізіологічних умов. Названі вище молекули виробляються клітинами імунної системи у відповідь на дію різних патогенних стимулів. Загальновідомо, що запальні медіатори продукуються клітинами мозку — мікроглією, астроцитами, нейронами і plexus chorioideus. Розповсюдженим засобом викликання швидкої запальної відповіді є введення в організм тварин ліпополісахариду (ЛПС) — компонента зовнішньої оболонки мембрани грамнегативних бактерій. При потраплянні в організм ЛПС контактує зі специфічними TLR-рецепторами й імунними клітинами, активація яких, а також інших зв'язаних з цим процесом запальних реакцій, ініціює каскад низхідних імунних процесів, в опосередкуванні яких залучені рецептори до IL-1. При цьому до опосередкування запальної відповіді в ЦНС залучається апарат так званої

ранньої генної відповіді; доведено, що внаслідок активації TLR-рецепторів активується система ядерного фактора Bk , яка підсилює експресію генів, відповідальних за синтез цитокінів, хемокінів, білків системи комплементу, циклооксигенази-2 та індуктивної ізоформи оксиду азоту [486, 487] (Рис. 5.1).

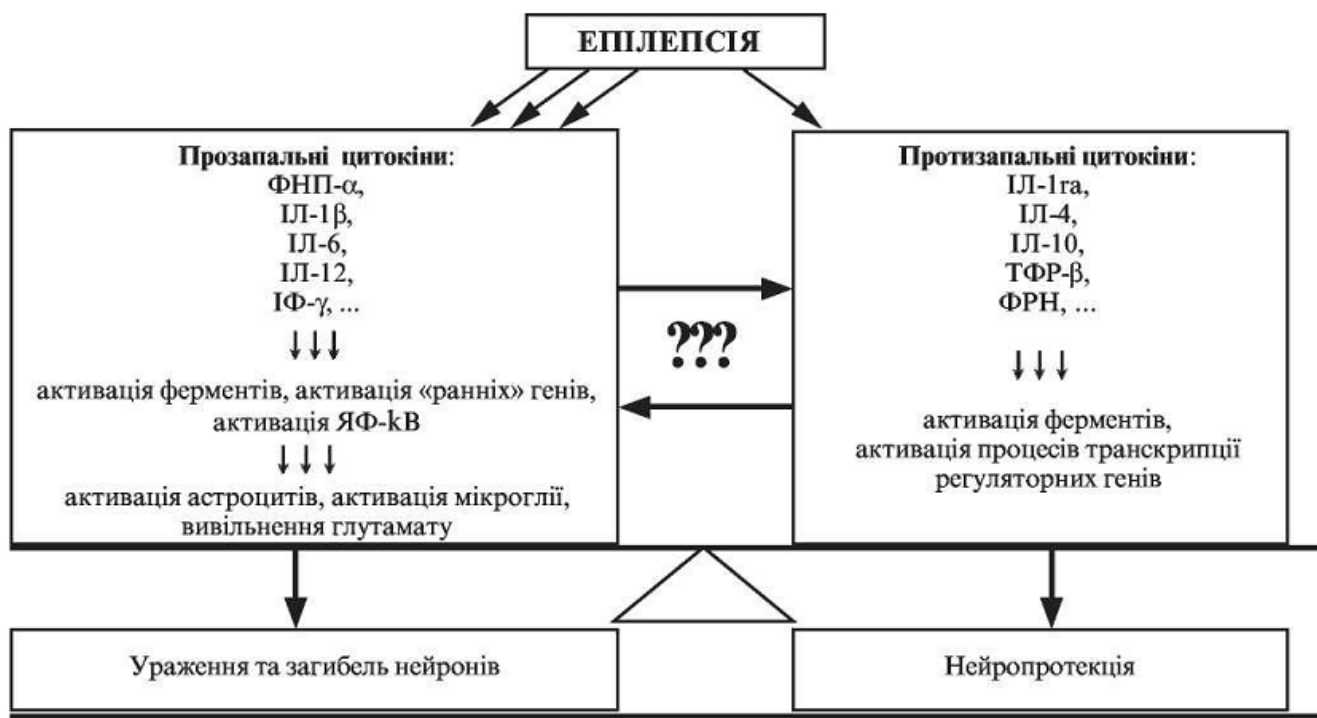


Рис. 5.1. Функціональна взаємодія про- та протизапальних цитокінів при епілепсії. Подані основні представники сімейства цитокінів та їх ефекти, частина яких аналогічна ефектам при запаленні

Нещодавно в ЦНС були ідентифіковані два підтипи сімейства TLR-рецепторів — другий і четвертий: показана їх локалізація в клітинах мікроглії, макрофагах, plexus chorioideus, клітинах церебральних судин і епендимальних клітинах шлуночків мозку [486, 488]. Кількість цих рецепторів значно зростає у відмічених ділянках ЦНС після введення ЛПС, що показує прямий механізм ініціації запальної реакції, а не тільки опосередкований через активність цитокінів і запальних медіаторів у крові [489]. Активація мікроглії при ендотоксичних реакціях є максимальною вираженістю імунної відповіді ЦНС при запаленні, що доповнюється також, разом зі збільшенням кількості моноцитів, нейтрофілів і лімфоцитів у периферичній крові, появою в крові

деяких прозапальних субстанцій [486, 488]. Таким чином, у ЦНС при дії різних патогенних факторів ініціюються реакції альтерації - першої стадії запалення.

Відомо, що за нормальних умов ГЕБ спричинює захисну дію в ЦНС, обмежуючи надходження до неї субстанцій із плазми крові й імунних клітин. Проникність його збільшується при різних захворюваннях ЦНС і патологічних процесах — судомному синдромі [490], інфекційних, травматичних й ішемічних процесах у ЦНС. При епілепсії та інших неврологічних захворюваннях, які супроводжуються появою судом, рекомендується вживати заходів щодо збільшення проникності ГЕБ, а також зміни його клітинного складу [491].

Посилене вироблення прозапальних цитокінів ендотеліальними клітинами ГЕБ, циркулюючими імунними комплексами, паренхіматозними клітинами мікроглії мозку й астроцитами під час запалення сприяє посиленому синтезу молекул адгезії, активації металопротеїназ, катаболізму арахідонової кислоти на рівні церебральних судин мікроциркуляторного русла [490, 492, 493]. Вказані процеси підсилюють проникність ГЕБ, причому детальні механізми цього явища ще не встановлені [493]. Отже, йдеться про третій компонент запальної реакції — проліферацію, яка включається з самого початку запалення та джерелом якої є тканини мезенхіми, клітини капілярів, адвентиційні клітини, фібробласти та ін.

Отже, узагальнюючи викладені дані, акцентуємо увагу на тому, що внаслідок патогенного ушкоджуючого впливу на мозок у ньому ініціюються запальні реакції, спрямовані на захист від патогенного впливу певного альтеруючого чинника. У відповідь на ішемічну, травматичну, токсичну й інші ушкоджуючі дії ЦНС виробляє достатньо потужну ранню імунну відповідь, яка виявляється в істотному збільшенні секреції прозапальних цитокінів: ФНП, ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-12, інтерферону-гамма (Рис. 5.1), які за нормальних умов продукуються тканиною мозку в незначних концентраціях [480].

Отже, всі три стадії запальної реакції послідовно перебігають у головному мозку за умов його ушкодження, зокрема спричиненого дією конвульсивних стимулів. Наявні дані, ймовірно, свідчать щодо справедливості

припущення про взаємозв'язок епілепсії та, зокрема, ЕпА і запалення. Загалом вони віддзеркалюють наявність дизрегуляційної патології в ЦНС за умов хронічного судомного синдрому, а також вказують на підвищення функціональної активності імунної системи через інтенсифікацію вивільнення цитокінів до крові при хронічній ЕпА.

З клінічної точки зору, роль запалення в патофізіологічних механізмах епілепсії у людини не до кінця з'ясована, хоча про участь запалення в епілептогенезі свідчать численні клініко-експериментальні дані [349, 405, 406, 494, 495]. Експериментальні та клінічні дослідження підтверджують наявність різних медіаторів запалення в мозку, ЦСР і крові пацієнтів, хворих на скроневу епілепсію. Зокрема, при дослідженні вилучених протягом оперативного втручання ділянок мозку у хворих на епілепсію були отримані переконливі докази наявності в них вираженого хронічного запалення, яке практично в усіх випадках супроводжувалося загибеллю нейронів, розвитком реактивного гліозу або мальформацією будови кори великих півкуль [494].

Ці дані, разом із доведеними протисудомними ефектами протизапальних препаратів у деяких випадках стійких до лікування епілепсій [496], свідчать про те, що хронічне запалення в мозку, ймовірно, залучено до процесів епілептогенезу і пов'язаних із ним віддалених ефектів [405] та набуває вторинного патогенетичного значення при хронічній ЕпА.

Таке припущення підтверджене функціональними дослідженнями в експериментальних умовах, за результатами яких було доведено, що деякі прозапальні молекули підсилюють судомні реакції, знижують судомний поріг або ініціюють відстрочені судоми. Підвищена судомна чутливість і виникнення спорадичних самовільних судом у тварин із гіперекспресією цитокінів також дозволили нам припустити, що відстрочені самовільні судоми можуть виникнути внаслідок хронічного запального стану мозку.

У зв'язку з цим варто пригадати, що стан скороминущого та контрольованого запалення в мозку, що спостерігається протягом розвитку ендотоксичних реакцій, є адаптаційною відповіддю організму, спрямованою

на захист від дії патогенного стимулу [487]. Проте якщо запалення в мозку продовжується тривало або не має чітких контролюючих механізмів, то в такому випадку нейрони першими стають об'єктами структурних змін у ЦНС унаслідок ініціації ЕпА, яка індукує низку подальших змін і порушень.

Проте, варто зазначити, що для подальших висновків про патогенетичну роль запалення на різних стадіях епілептогенезу необхідний цілий взаємозв'язаний комплекс експериментально-клінічних робіт щодо вивчення прямої та непрямой дії цитокінів на різні типи судомного синдрому.

Останній блок результатів дисертаційної роботи присвячений дослідженню обґрунтування принципів формування комплексної патогенетичної корекції хронічного судомного синдрому через визначення антиепілептичних та нейропротекторних ефектів нейропептидів та класичних протисудомних препаратів за умов різних форм його відтворення.

Перевага застосування нейропептидів в якості потенціальних протіепілептичних засобів полягає у відсутності побічних ефектів та в тому, що вони оказують ефект при введенні в організм у мінімальній концентрації. Перелічимо основні з отриманих результатів.

При внутрішньонігральному (в/нігр; ретикулярна частина) та внутрішньогіпокампулярному (в/гіп; вентральна ділянка) введенні ДСПІ та 10 його структурних аналогів досягнуто протисудомного впливу за умов гострої (каїнат-, пікротоксин-спричиненої ЕпА, електрошокового судомного синдрому) та хронічної (пікротоксин-індукований кіндлінг) форм ЕпА, що відзначалося подовженням латентного періоду перших судомних проявів, зниженням інтенсивності судом, скороченням кількості щурів із судомами. Визначено, що ДСПІ та переважна більшість його аналогів спричиняли протисудомну дію при їх в/нігр введенні, що є важливим, зважаючи на провідну роль чорної речовини у регуляції процесів збудливості головного мозку.

Введення нейротензину у чорну речовину та вентральний гіпокамп спричиняло протисудомні ефекти цього пептиду за умов пентилентетразол- та пікротоксин-індукованих форм гострої ЕпА, а також при пікротоксиновому

кіндлінзі. Подібні протиепілептичні ефекти було отримано в разі в/нігр введення соматостатину. Додання соматостатину (10 нмоль/мл) до ЦСР сприяла розвитку протиепілептичного ефекту, що проявлялося зменшенням амплітуди спайкових потенціалів. Зазначимо, що в механізмах пригнічення епілептичної активності приймають участь соматостатин та нейротензин, які реалізують свої ефекти через лімбічні структури та ретикулярну частину чорної речовини.

При в/гіп введенні кіоторфіну (КТ; 2,5, 5,0 та 10 нмоль) було зареєстроване доза-залежне пригнічення ЕпА, яке було виразне у значному зниженні інтенсивності судорожних реакцій та подовженні їх латентного періоду. Такі ж самі, але більш виразні протисудомні ефекти були зареєстровані при в/гіп застосуванні неокіоторфіну та d-ser-2-неокіоторфіну. Найбільш виразна протиепілептична дія КТ була при його в/нігр введенні у дозі 10 нмоль. Схожий профіль протисудомної дії при внутрішньогіпокампулярному та внутрішньонігральному уведенні пептидів підтверджує здатність досліджуваних сполук проникати крізь ГЕБ та свідчить про те, що вони здатні пригнічувати не лише процес виникнення, але й розповсюдження судомної активності в мозку. Інтересно, що нейропептиди цілком пригнічували тонічний компонент судом, що в такому разі дозволяє припускати їх взаємодію з мю-опіоїдними рецепторами. Проте, цілком ймовірно залучення ГАМК-ергічних механізмів [446], блокування активності системи збуджуючих амінокислот [447, 448] та рецепторів субстанції Р [449], стимуляцію бензодіазепінових рецепторів, тощо [450, 451].

Додамо ще то, що в/шлун введення ЦСР, отриманої від котів з ЕС, спричиняє протисудомну дію в щурів-реципієнтів, в яких потім відтворювали ЕС. Важливо, що саме пептиди надають провідну протисудомну роль у ЦСР, отриманій після судомних епізодів [56, 72, 364, 464].

Систематизація отриманих результатів дозволяє припустити провідну роль ендогенної нейропептидної системи в регуляції процесів реактивності мозку. Ймовірно, що саме пептиди є індукторами активності АЕС, активація

якої є неодмінним чинником протисудомного ефекту будь-якої лікувальної фармакологічної схеми через показане підсилення секреторної активності тканини мозку в разі індукції судом [464]. Отже, маємо підґрунтя для формулювання концепції «нейропептидного пригнічення» ЕпА, враховуючи протисудомні ефекти багатьох пептидів, внутрішньомозкове введення яких підвищує тонус ендогенної пептидної системи та загалом модулює активність пептидергічних внутрішньомозкових механізмів. При цьому пептидергічні механізми набувають патогенетичного значення за умов епілептизації мозку, що важливо враховувати із загальнофундаментальної точки зору. А також при розробці та експериментально-клінічному тестуванні схем комплексної корекції хронічної ЕпА.

Наші дані свідчать також про залучення ретикулярної частини чорної речовини щодо розвитку судомних нападів в кіндлінгових тварин. Виявлено, що судомні прояви за умов внутрішньонігрального введення DBI, який блокує бензодіазепінові рецептори, є більш тяжкими при порівнянні з відповідними пікротоксин-індукованими судомами. Такий результат свідчить про те, що активація внутрішньонігрально розташованих бензодіазепінових рецепторів є одним із механізмів обмеження розповсюдження епілептичної активності за умов пікротоксин-спричиненого хронічного судомного синдрому.

Показано, що вираженість ефектів класичних протисудомних препаратів - КБЗ і ВК - у кіндлінгових щурів (в ранньому постнатальному періоді і дорослих щурів, у яких кіндлінг формували в ранньому постнатальному періоді) знижується в порівнянні з аналогічними даними у дорослих щурів. Так, КБЗ виявився ефективним тільки в максимальній дозі: при цьому він сприяв зниженню вираженості судомних реакцій і збільшенню латентного періоду їхнього розвитку. Показано збільшення латентного періоду перших судом у дорослих кіндлінгових щурів під впливом КБЗ в дозі 15 мг/кг, проте, ця доза препарату не була ефективною, у відношенні до пікротоксин-викликаних судом у молодих щурів.

Аналогічну спрямованість ми одержали в результатах з використанням ВК. Пікротоксин-викликані судоми у всіх груп кіндлінгових щурів практично не були чутливі до дії даного антиконвульсанту, що проявлялося збільшенням їх тяжкості. Тільки при застосуванні максимальної (близької до токсичної) дози препарату ми відмітили подовження латентного періоду перших судом у тварин в усіх трьох досліджуваних групах. Проте, вираженість судомних реакцій, при цьому, не відрізнялася істотним чином від з аналогічних даних у щурів відповідних контрольних груп.

Одержані результати, є інтересними з таких міркувань. По-перше, сформована в умовах пікротоксинового кіндлінгу ЕпА у молодих щурів є стійкою у відношенні до дії класичних, показаних, в цих умовах, у дорослих щурів, протисудомних препаратів. Ми вважаємо, що це є валідним фактом онтогенетичного аспекту формування «резистентності» до проводжуваного експериментуального лікування.

По-друге, йдеться як про більш прогресивний розвиток пікротоксинового кіндлінгу у молодих щурів, так і важчі прояви пікротоксин- і коразол-провокованих судом, що також свідчить про відсутність сформованих регуляторних механізмів гальмівного контролю в недиференційованому мозку.

По-третє, інтересними з точки зору побудови подальших схем експериментальних досліджень є дані про тестування пікротоксин-викликані судомної активності у дорослих щурів, у яких ми, в ранньому постнатальному періоді (20 днів) відтворювали кіндлінг. Показане посилення кіндлінг-викликані ЕпА у щурів цієї групи переконливо свідчить про те, що епілептогенні впливи, індуковані в ранньому постнатальному періоді, сприяють як формуванню, так і тривалому збереженню підвищеної готовності до дії судомних чинників, що, можливо, обумовлює деякі механізми феномену фармакологічної резистентності при фармакологічній корекції.

На нашу думку, відсутність ефективності КБЗ і ВК у відношенні до пікротоксин-викликаних судом, у щурів цієї групи, може пояснюватися так: по-перше, розвитком резистентності до дії протисудомних препаратів

унаслідок ранньої епілептогенної дії на недиференційований мозок тварин. По-друге, ми побудували дослідження таким чином, що повторні дослідження у цих щурів потрапляють у фазу післякіндлінгу/рекіндлінгу, яка, за даними різних авторів, є стійкою до дії протисудомних препаратів. Поєднання цих двох чинників, можливо, обумовлює резистентність сформованої в ранньому постнатальному періоді ЕпА до проводжуваного лікування.

Завданням останньої частини дослідів було вивчення ефективності антиепілептичних препаратів в умовах пілокарпін-індукованих спонтанних судом. Вихідною посилкою в проведенні даної частини експериментів є терапевтична резистентність пілокарпін-викликаних судом по відношенню до протисудомного лікування. Відомо, що викликані агоністом мускаринових холінергічних рецепторів пілокарпіном судоми відтворюють деякі аспекти скронево-дольової епілепсії [418, 454, 455], яка часто діагностується в клініці у людей. Подібний тип судомного синдрому є стійким до дії антиепілептичних препаратів. Проте, деякі антиконвульсанти, наприклад, фенітоїн, вальпроєва кислота, карбамазепін з різним ступенем вираженості спричиняють протисудомну дію в умовах електричного та хімічного кіндлінга, який відтворює деякі особливості скронево-дольової епілепсії у людей [150].

З урахуванням того, що при пілокарпін-викликаному хронічному судомному синдромі, як і при кіндлінзі, відтворюються деякі поведінкові, патоморфологічні, електрографічні порушення, а також спонтанні судоми, ми вважали доцільним перевірити ефективність протисудомних препаратів з різним механізмом реалізації антиепілептичного ефекту - діазепаму, фенобарбіталу, ВК, дифенілгідантоїну та КБЗ - в умовах розвитку спонтанних відстрочених судом. Для перевірки отриманих результатів ми досліджували вираженість моторної активності і емоційної поведінки тварин в динаміці індукції пілокарпін-індукованих спонтанних відстрочених судом.

Отримані дані свідчать про те, що діазепам, фенобарбітал і ВК спричиняють антиепілептичну дію відносно пілокарпін-викликаних спонтанних судом. Дифенілгідантоїн і КБЗ не роблять впливу на розвиток відстрочених

мимовільних судом, індукованих пілокарпіном. Розрахункова доза діазепаму, що запобігає розвитку пілокарпін - викликаних судом у 50 % щурів, дорівнює $9,64 \pm 0,98$ мг/кг. Середньоєфективні дози фенобарбіталу та ВК дорівнюють, відповідно, $15,53 \pm 1,54$ мг/кг і $244,5 \pm 27,3$ мг/кг.

При цьому протисудомні ефекти діазепаму, фенобарбіталу та ВК щодо запобігання розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом корелювали з нормалізацією під їх впливом моторної активності тварин в тесті «відкрите поле» і емоційної поведінки у відповідь на спроби взяття в руки в модельних умовах. Дифенілгідантоїн і КБЗ не роблять впливу на пілокарпін - опосередковані порушення моторної активності щурів в тесті « відкрите поле» і емоційної поведінки у відповідь на спроби взяття в руки.

Беручи до уваги механізм реалізації протисудомного дії діазепаму, фенобарбіталу та ВК, можливо зробити висновок, що до патогенетичних механізмів розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом залучені процеси, що сприяють компрометації ГАМК-ергічного гальмування.

Латентний період розвитку пілокарпін-спричинених спонтанних судом становив у середньому 20-25 днів. Представляє істотний інтерес дослідження антиепілептогенних ефектів препаратів протягом цього бессудорожного періоду, що можна було б використовувати для профілактики розвитку епілепсії. У цьому плані є результати лише поодиноких досліджень. Були проведені дослідження ефектів профілактичного застосування різних антиепілептичних препаратів, включаючи фенітоїн, карбамазепін, вальпроат і фенобарбітал, з метою запобігання розвитку післятравматичної епілепсії у пацієнтів після травми мозку. Отримані результати показали, що жоден із зазначених препаратів не має виражену антиепілептогенну дію [497]. Тому подальше з'ясування патофізіологічних механізмів епілепсії, особливо спонтанної судомної активності має бути підґрунтям щодо цілеспрямованого синтезу нових біологічно активних речовин, здатних запобігти розвитку епілепсії шляхом блокування основних ланок епілептогенезу.

Результати клінічних та експериментальних досліджень чітко свідчать про відмінність механізмів, які обумовлюють процеси іктогенезу (тобто ініціювання, посилення і поширення судомної активності) і епілептогенезу. Останній включає в себе процеси, що обумовлюють готовність мозку до генерації спонтанних, періодично повторюваних судом, і процеси, які залучені до прогресуванні епілепсії в хронічну форму, яка часто є резистентною щодо протисудомних впливів [151, 498]. Необхідні також подальші дослідження щодо з'ясування можливості блокування або гальмування процесу епілептогенеза протягом латентного періоду після ЕС за допомогою різних протиепілептичних препаратів.

Говорячи про комплексні механізми розвитку та припинення хронічного епілептогенезу в цілому, зауважимо, що для безпосереднього розвитку судом необхідний певний мінімальний рівень організації мозку, іменованій “easy wiring“ [140]. Для розуміння патофізіологічних механізмів хронічного епілептогенезу та для розробки способів пригнічення судомної активності слід виявити більш складний характер міжструктурних взаємодій утворень головного мозку, об'єднаних до спеціальної нейрональної мережі. Спроби відновити/нормалізувати порушення поведінки тварин при хронічному судомному синдромі та при спонтанних судамах, як приклад, припускають можливість впливу на функціонуючі поки елементи спеціальної нейрональної мережі з метою збільшення кількості нормально працюючих нейронів, синапсів, нейромедіаторів, синтезу нових білкових субстанцій та ін. [464, 499]. Розробка подібного підходу буде являти собою активацію ендогенних захисних механізмів мозку, які спричиняють протисудомну активність та мають бути чинниками функціональної АЕС.

Таким чином, динамічна взаємозалежність структурних, нейрохімічних, електростимуляційних та інших ефектів епілептогенної ПС та АЕС є підґрунтям системного погляду на комплексні нейропатофізіологічні механізми хронічної епілептиформної активності, який розглядає підвищення тону епілептичної ПС як один з механізмів епілептогенезу та підвищення

активностей АЕС зі зпрямованим пригніченням тону епілептичної ПС в якості одного з ймовірних саногених механізмів, який спричиняє антиепілептичну дію.

За матеріалами даного розділу були опубліковані такі роботи:

1. Вастьянов Р. С. Подвійність функціональної посилки антиепілептичної системи в механізмах епілептизації кори головного мозку / О. А. Шандра, Л. С. Годлевський, Р. С. Вастьянов // Інтегративна антропологія. – 2003. – № 1. – С. 53-59.
2. Вастьянов Р. С. Взаємозв'язок епілепсії та запалення / Р. С. Вастьянов, А. А. Олійник, О. А. Шандра // Інтегративна антропологія. – 2006. - № 1 (7). – С. 34-41.
3. Вастьянов Р. С. Нейротропные эффекты цитокинов и факторов роста / Р. С. Вастьянов, А. А. Олейник // Успехи физиологических наук. – 2007. – Т. 38, № 1. – С. 39 - 54.
4. Вастьянов Р. С. Рецепторы и механизмы реализации нейротропных эффектов цитокинов и факторов роста / А. А. Олейник, Р. С. Вастьянов // Успехи физиологических наук. – 2008. – Т. 39, № 2. – С. 47 - 57.
5. Vastyanov R. S. Epileptic and antiepileptic systems interrelation as the systemic indicator of the complexity of epileptic activity manifestation / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov // Pan-Brain Abnormal Neural Network in Epilepsy / Ed. by Feng Ru Tang/. – Singapore : Research Signpost, 2009. – P. 99-120.
6. Вастьянов Р. С. Разработка комплексных методов патогенетически обоснованной терапии хронического судорожного синдрома на основании изучения его патофизиологических механизмов / Р. С. Вастьянов // Актуальные проблемы клинической неврологии : Всероссийская Юбилейная научно-практическая конференция, посвященная 85-летию профессора Лобзина В. С., Санкт-Петербург, Россия, 29-30 сентября 2009 : тез. докл. – С-Пб : Изд-во «Человек и его здоровье», 2009. – С. 213–214.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної наукової проблеми дослідження патофізіологічних механізмів хронічної епілептичної активності з точки зору системного підходу, обґрунтовані механізми розвитку експериментального хронічного судомного синдрому з урахуванням пептид- та цитокін-обумовлених механізмів. Показано патогенетичне значення пептидергічних механізмів при епілептизації мозку. Виявлені взаємозв'язки між нервовою та імунною системами, що спричиняють загальний дизрегуляторний ефект за умов досліджуваної патології. Отримані результати є перспективними для розробки патогенетично обґрунтованих методів лікування епілепсії.

1. Кіндлінг-індукована модель епілепсії є моделлю, придатною для тестування ефектів протисудомних препаратів. Експериментальне відтворення посткіндлінгу вважається моделлю хронічної ЕпА, резистентної до дії антиепілептичних препаратів. Феномен посткіндлінгу супроводжується розширенням загальної площі кортикального представництва рухів передніх кінцівок, в той час як у кіндлінгових щурів не спостерігається ніяких відмінностей. Формування хронічної ЕпА за умов вказаних моделей висвітлює ступінь високої судомної чутливості мозку внаслідок прогресуючого ендогенезу та активації патологічної епілептичної системи та є результатом втрати загального регуляторного контролю розвитку дизрегуляторних інтеграцій на нейрональному, нейромедіаторному та системному рівнях.

2. Кіндлінг-викликана хронічна ЕпА характеризується зменшенням вмісту в утвореннях вентральної мезенцефальної ділянки та гіпокампу β -ендорфіну (в 10 разів та в 5 разів, відповідно, $P < 0,001$), дельта-сон індукуючого пептиду (в 5 разів та в 2,5 рази, відповідно, $P < 0,001$) та мет-енкефаліну (в 4,7 разів та в 5,5 разів, відповідно, $P < 0,001$). При

пікротоксиновому кіндлінзі розширюється площа кортикального представництва рухів проксимальних та дистальних частин передніх кінцівок, при цьому відповідна площа кори мозку кіндлінгових щурів в 2,2 рази та в 2,3 рази ($P < 0,01$), відповідно, перевищує показник контролю.

3. Блокатор рецепторів збуджуючих кислот кетамін, дельта-сон індукуючий пептид, блокатори кальцієвих каналів німотоп та ріодипін, а також карбамазепін спричиняють виражену антиепілептичну дію за умов каїнат-індукованого епілептичного статусу. При сумісному введенні ріодипіну з карбамазепіном в 29 % щурів епілептичний статус не розвивається, латентний період його розвитку в 2 рази перевищує, тривалість в 2,2 рази менша за контрольні показники, а розвиток спонтанних судом не спостерігався.

4. Розвиток хронічного судомного синдрому відбувається за участю імунної системи, а саме представників сімейства прозапальних цитокінів фактора некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-1-бета, при якому спостерігається 10-разове зростання концентрації фактора некрозу пухлини-альфа в крові 2-місячних щурів з абсансною формою епілепсії (з $0,61 \pm 0,34$ пг/мл до $6,31 \pm 2,00$ пг/мл, $P < 0,01$) та в тканині мозку 4-місячних щурів (з $62,2 \pm 4,2$ пг/мг до $78,7 \pm 8,4$ пг/мг, $P < 0,05$). Екзогенне введення фактора некрозу пухлини-альфа кіндлінговим щурам спричиняє просудомний ефект із розвитком генералізованих клоніко-тонічних повторних нападів, зростанням амплітудно-частотних характеристик електричної активності кори та підкіркових утворень мозку, збільшенням його концентрації в крові (з $1,9 \pm 1,5$ пг/мл до $12,7 \pm 3,8$ пг/мл, $P < 0,01$) та тканині мозку (з $56,8 \pm 6,0$ пг/мг до $109,2 \pm 6,0$ пг/мг, $P < 0,01$), а також збільшенням вмісту інтерлейкіну-1 в крові (з $0,8 \pm 0,1$ пг/мл до $4,9 \pm 0,8$ пг/мл, $P < 0,05$) та тканині мозку (з $29,3 \pm 4,2$ пг/мг до $117,3 \pm 11,7$ пг/мг, $P < 0,01$).

5. Хронічна кіндлінг-індукована ЕпА у щурят формується швидше порівняно з дорослими щурами із більш раннім формуванням епілептичних систем в структурах мозку, які зумовлюють прискорене формування

пікротоксинового кіндлінга в більш пізньому віці, є стійкою щодо дії карбамазепіну та вальпроєвої кислоти із формуванням фармакорезистентності. Перебіг післятравматичної ЕпА в шурят характеризується активацією кортикальних нейронів, при цьому інтенсивність пікротоксин-, пілокарпін- та каїнат-викликаних генералізованих судом більш виражена.

6. Через 20-25 діб після введення пілокарпіну в шурів реєструються спонтанні судоми, тривалість яких становить в середньому 40-48 діб. Показано пряму залежність частоти розвитку спонтанних судом у шурів від тривалості та інтенсивності гострих пілокарпін-викликаних судом протягом періоду епілептичного статусу. Дослідження ЕЕГ-активності мозку шурів під час спонтанних судом свідчить, що у більшості шурів вентральний гіпокамп є першою структурою мозку, в якій посилюється активність при ініціації спонтанних судом. Модуляція активності медіодорзального і сполучного ядра таламуса, а також фронтальних відділів кори мозку шурів детермінують характер відстрочених спонтанних судом. Антиепілептичну дію щодо пілокарпін-індукованих спонтанних судом спричиняють діазепам, фенобарбітал і вальпроєва кислота. Дифенілгідантоїн і карбамазепін не впливають на розвиток відстрочених мимовільних судом, індукованих пілокарпіном.

7. Пептидергічні механізми є одними із патогенетичних при епілептизації мозку. Дельта-сон індукуючий пептид, пептидні фракції, кіоторфін, неокіоторфін та d-ser-2-неокіоторфін, нейротензин, соматостатин та діазепам зв'язуючий пептид спричиняють антиепілептичну дію, доведені їх протисудомні ефекти свідчать про підвищення активності ендогенної пептидергічної системи як одного з показників активності антиепілептичної системи та дозволяють сформуванню концепції «нейропептидного пригнічення хронічної ЕпА». Пептидний патофізіологічний механізм є провідним за умов епілептичного статусу, що підтверджується появою в церебро-спинальній рідині тварин сполук пептидної природи, які і є

індукторами ліквідації ЕпА у тварин-реципієнтів. Встановлено, що ДСІП та більшість його структурних аналогів спричиняють розвиток протисудомних ефектів за умов різних моделей хронічного судомного синдрому. Антиепілептична ефективність ДСІП проявляється при системному та внутрішньомозковому введенні пептиду, реалізується переважно при взаємодії з серотонінергічною, дофамінергічною та адренергічною системами мозку та зпряжена з антигіпоксичним ефектом. Внутрішньомозкове введення кіоторфіну, неокіоторфіну та d-ser-2-неокіоторфіну спричиняє розвиток протисудомних ефектів, проявляється затримкою розвитку перших судомних проявів та зменшенням інтенсивності судом після їх внутрішньошлуночкового, внутрішньонігрального та внутрішньогіпокампулярного введення.

8. В механізмах розвитку епілептичної активності важливе значення мають нейротензин та соматостатин, що проявляється їх протисудомними ефектами за умов пікротоксин- та коразол-індукованих судом, а також діазепам-зв'язуючий пептид при кіндлінгових судамах. Вказані сполуки реалізують свої ефекти через лімбічні структури та ретикулярну частину чорної речовини та є складовою частиною ендогенної антиепілептичної системи, динамічні взаємовідносини якої з епілептичною патологічною системою протягом усього часу судом є системним показником складності відповідної форми хронічного судомного синдрому.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Зенков Л. Р. Клиническая эпилептология (с элементами нейрофизиологии) / Л. Р. Зенков. - М. : ООО Медицинское информационное агентство, 2002. - 415 с.
2. Карлов В. А. Эпилепсия / В. А. Карлов. - М. : Медицина, 1990. - 336 с.
3. Карлов В. А. Судорожный эписитатус/ В. А. Карлов. - М., 2003. - 63 с.
4. Bialer M. Why are antiepileptic drugs used for nonepileptic conditions? / M. Bialer // *Epilepsia*. – 2012. – Vol. 53, Suppl. 7. – S. 26-33.
5. Coppola A. Animal models / A. Coppola, S. L. Moshé // *Handb. Clin. Neurol.* – 2012. - N 107. – P. 63-98.
6. Dhir A. Pentylentetrazol (PTZ) Kindling Model of Epilepsy / A. Dhir // *Curr. Protoc. Neurosci.* – 2012. – Vol. 9, N 9. – P. 37–39.
7. Effect of intra-amygdala injection of lipopolysaccharide on kindling epileptogenesis in adult rats / Z. Akhlaghi, M. Sayyah, M. Mokhtari, A. Ahmadi // *Arch. Iran Med.* – 2012. – Vol. 5, N 9.- P. 557-559.
8. Expression of δ subunit of γ -aminobutyric acidA in hippocampus induced by insular-kindled rats / E. J. Wang, F. Wang, Z. M. Song [et al.] // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* - 2012 – Vol. 92, N 17. - P. 1215-1218.
9. L-type calcium channel mediates anticonvulsant effect of cannabinoids in acute and chronic murine models of seizure / N. Naderi, L. Ahmad-Molaei, A. Mazar-Atabaki [et al.] // *Neurochem Res.* - 2012. – Vol. 37, N 2. – P. 279-287.
10. Rees P. M. Sexual function in men and women with neurological disorders / P. M. Rees, C. J. Fowler, C. P. Maas // *Lancet* – 2007. – Vol. 369, N 9560). – P. 512-525.
11. Sadleir L.G. Optimizing electroencephalographic studies for epilepsy diagnosis in children with new-onset seizures / L. G. Sadleir, I. E. Scheffer // *Arch. Neurol.* – 2010. – Vol. 67, N 11. – P. 1345-1349.
12. Sankar R. Neurobiology of Depression as a Comorbidity of Epilepsy / R. Sankar, A. Mazarati // *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies / Noebels*

- J. L, Avoli M., Rogawski M. A. [et al.] Eds. – Bethesda National Center for Biotechnology Information, 2012. – P. 207-233.
13. Влияние антител к глутамату на судорожные реакции мышцей C57Bl/6 в условиях хронического эпилептогенеза / Л. В. Кузнецова, Л. А. Ветриле, Н. И. Клишина, М. Р. Карпова // Патол. физиол. эксперим. терапия. – 2011. - №3. – С. 21-24.
 14. Functional integration of new hippocampal neurons following insults to the adult brain is determined by characteristics of pathological environment / J. C. Wood, J. S. Jackson, K. Jakubs [et al.] // Exp. Neurol. -2011. – Vol. 229, N 2. – P. 484-493.
 15. Kwan P. Early identification of refractory epilepsy / P. Kwan, M. J. Brodie // N. Engl. J. Med. - 2000. - Vol. 342, N 5. - P. 314-319.
 16. Loscher W. New drugs for the treatment of epilepsy / W. Loscher, D. Schmidt // Curr. Opin. Invest. Drugs. - 1993. - Vol. 2. - P. 1067-1095.
 17. Марценковський І. А. Сучасна протиепілептична терапія: фокус на безпечності / І. А. Марценковський // Педіатрія, акушерство та гінекологія. - 2007. - № 3. - С. 40-47.
 18. Марценковський І. А. Психіатрична допомога дітям в Україні (показники роботи служби та шляхи її реформування) / І. А. Марценковський // Всесвіт соц. психіатрії, мед. психології та психосоматичної медицини. - 2009. - Т. 1, № 2. - С. 3-7.
 19. Aycicek A. The effects of carbamazepine, valproic acid and phenobarbital on the oxidative and antioxidative balance in epileptic children/ A. Aycicek, A. Iscan // Eur. Neurol. – 2007. – Vol. 57, N 2. – P. 65–69.
 20. Activities of antioxidant enzymes and formation of the glutathione adduct of hemoglobin (Hb ASSG) in epileptic patients with long-term antiepileptic therapy / V. Niketic, S. Ristic, Z. S. Saicic [et al.] // FARMACO. – 1995. – Vol. 50, N 11. – P. 811–813.
 21. Altered antioxidant enzyme activities in children with a serious adverse experience related to valproic acid therapy / W. D. Graf, O. E. Oleinik, T. A. Glauser [et al.] // Neuropediatrics. – 1998. – Vol. 29, N 4. – P. 195–201.

22. Cengiz M. The effects of carbamazepine and valproic acid on the erythrocyte glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and serum lipid peroxidation in epileptic children/ M. Cengiz, A. Yuksel, M. Seven // *Pharmacol. Res.* – 2000. – Vol. 41, N 4. – P. 423–425.
23. Changes in the antioxidant system in epileptic children receiving antiepileptic drugs: two-year prospective studies / A. Yuksel, M. Cengiz, M. Seven, T. Ulutin // *J. Child Neurol.* – 2001. – Vol. 16, N 8. – P. 603–606.
24. Claycomb R. J. Prophylactic, prandial rofecoxib treatment lacks efficacy against acute PTZ-induced seizure generation and kindling acquisition / R. J. Claycomb, S. J. Hewett, J. A. Hewett // *Epilepsia.* – 2011. – Vol. 52, N 2. – P. 273–283.
25. Early effects of sodium valproate monotherapy on serum paraoxonase/ arylesterase activities / G. A. Karikas, K. H. Schulpis, A. Bartzeliotou [et al.] // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 2009. – Vol. 69, N 1. – P. 31–35.
26. Effects of epilepsy and antiepileptic drugs on nitric oxide, lipid peroxidation and xanthine oxidase system in children with idiopathic epilepsy / E. Arhan, A. Serdaroglu, B. Ozturk [et al.] // *Seizure* – 2011. – Vol. 20, N 2. – P. 138–142.
27. Effects of valproate, carbamazepine, and levetiracetam on the antioxidant and oxidant systems in epileptic patients and their clinical importance / A. O. Varoglu, A. Yildirim, R. Aygul [et al.] // *Clin. Neuropharmacol.* – 2010. – Vol. 33, N 3. – P. 155–157.
28. Erythrocyte glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and serum lipid peroxidation in epileptic children with valproate and carbamazepine monotherapy / A. Yuksel, M. Cengiz, M. Seven, T. Ulutin // *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 11, N 1. – P. 73–81.
29. Evaluation of the influence of antiepileptic therapy on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in erythrocytes of children with epilepsy / W. Sobaniec, E. Solowiej, W. Kulak [et al.] // *J. Child Neurol.* – 2006. – Vol. 21, N 7. – P. 558–562.
30. Mahle C. Decreased total antioxidant capacity and elevated lipid hydroperoxide concentrations in sera of epileptic patients receiving phenytoin / C. Mahle, A. Dasgupta // *Life Sci.* – 1997. – Vol. 61, N 4. – P. 437–443.

31. Ono H. Plasma total glutathione concentrations in epileptic patients taking anticonvulsants / H. Ono, A. Sakamoto, N. Sakura // *Clin. Chim. Acta* – 2000. – Vol. 298. – Vol. 1-2. – P. 135–143.
32. Oxidative stress in children receiving valproic acid / A. Michoulas, V. Tong, X. W. Teng [et al.] // *J. Pediatr.* – 2006. – Vol. 149, N 5. – P. 692–696.
33. Plasma trace element, plasma glutathione peroxidase, and superoxide dismutase levels in epileptic children receiving antiepileptic drug therapy / A. E. Kurekci, F. Alpay, S. Tanindi [et al.] // *Epilepsia* – 1995. – Vol. 36, N 6. – P. 600–604.
34. Serum nitrite and nitrate levels in epileptic children using valproic acid or carbamazepine / H. Karabiber, C. Yakinci, Y. Durmaz [et al.] // *Brain Dev.* – 2004. – Vol. 26, N 1. – P. 15–18.
35. Serum trace elements, glutathione, copper/zinc superoxide dismutase, and lipid peroxidation in epileptic patients with phenytoin or carbamazepine monotherapy / C. S. Liu, H. M. Wu, S. H. Kao [et al.] // *Clin. Neuropharmacol.* – 1998. – Vol. 21, N 1. – P. 62–64.
36. Solowiej E. The effect of antiepileptic drug therapy on antioxidant enzyme activity and serum lipid peroxidation in young patients with epilepsy / E. Solowiej, W. Sobaniec // *Neurol. Neurochir. Pol.* – 2003. – Vol. 37, N 5. – P. 991–1003.
37. Valproic acid monotherapy induces DNA oxidative damage / K. H. Schulpis, C. Lazaropoulou, S. Regoutas [et al.] // *Toxicology* – 2006. – Vol. 217, N 2-3. – P. 228–232.
38. A probable causative factor for an old problem: selenium and glutathione peroxidase appear to play important roles in epilepsy pathogenesis / M. R. Ashrafi, S. Shams, M. Nouri [et al.] // *Epilepsia* – 2007. – Vol. 48, N 9. – P. 1750-1755.
39. Relationship between plasma concentrations of valproic acid and hepatotoxicity in patients receiving high doses / H. Ghozzi, A. Hakim, Z. Sahnoun [et al.] // *Rev. Neurol. (Paris)*. – 2011. – Vol. 167, N 8-9. – P. 600-606.
40. Johannessen S. I. Antiepileptic drug interactions - principles and clinical implications / S. I. Johannessen, C. J. Landmark // *Curr. Neuropharmacol.* – 2010. – Vol. 8, N 3. – P. 254–267.

41. Loscher W. Experimental and clinical evidence for loss of effect (tolerance) during prolonged treatment with antiepileptic drugs / W. Loscher, D. Schmidt // *Epilepsia* – 2006. – Vol. 47, N 8. – P. 1253–1284.
42. Lu W. Peroxidase-mediated bioactivation of hydroxylated metabolites of carbamazepine and phenytoin / W. Lu, J. P. Uetrecht // *Drug Metab. Dispos.* – 2008. – Vol. 36, N 8. – P. 1624–1636.
43. The effects of levetiracetam on urinary 15f-2t-isoprostane levels in epileptic patients / H. Ozden, S. C. Kabay, A. Toker [et al.] // *Seizure* – 2010. – Vol. 19, N 8. – P. 514–516.
44. The effects of oxcarbazepine on oxidative stress in epileptic patients / E. Bolayir, K. Celik, A. Tas [et al.] // *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* – 2004. Vol. 26, N 5. – P. 345–348.
45. Wieser H. G. Overview: epilepsy surgery in developing countries / H. G. Wieser, H. Silfvenius // *Epilepsia* - 2000. - Vol. 41, N 4. - P. 3-9.
46. Громов С. А. Лечение и реабилитация больных эпилепсией / С. А. Громов, В. С. Лобзин. - С.-Пб, 1993. - 236 с.
47. Гусев Е. И. Эпилепсия / Е. И. Гусев, Г. С. Бурд. - М., 1994. - 63 с.
48. Brainstem Gliomas. A 10-year institutional review / J. P. Farmer, J. L. Montes, C. R. Freeman [et al.] // *Pediatr. Neurosurg.* – 2001. – Vol. 34. – P. 206-214.
49. Aicardi J. Risk factors in recurrent seizures and in mental retardation / J. Aicardi // *Rev. Neurol.* – 1997. – Vol. 25. – P. 754-756.
50. de Boer H. M. The global burden and stigma of epilepsy / H. M. de Boer, M. Mula, J. W. Sander // *Epilepsy Behav.* – 2008. – Vol. 12. – P. 540-546.
51. Sander J. W. The epidemiology of epilepsy revisited / J. W. Sander // *Curr. Opin. Neurol.* – 2003. – Vol. 16. – P. 165-170.
52. Snead III O. C. Surgical treatment of medically refractory epilepsy in childhood / O. C. Snead III // *Brain Dev.* – 2001. – Vol. 23. – P. 199-207.
53. Status epilepticus in the elderly: epidemiology, clinical aspects and treatment / T.M. de Assis, G. Costa, A. Bacellar [et al.] // *Neurol. Int.* – 2012. – Vol. 4, N 3. – P. 17.

54. Inflammatory events at blood-brain barrier in neuroinflammatory and neurodegenerative disorders: implications for clinical disease / H. E. de Vries, G. Kooij, D. Frenkel [et al.] // *Epilepsia* – 2012. – Vol. 53, Suppl. 6. – P. 45-52.
55. Брусенцов А. И. Механизмы взаимодействия опиатного абстинентного и эпилептического синдромов : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук : спец. 14.03.04 «Патологическая физиология» / А. И. Брусенцов. – Одесса, 1996. – 21 с.
56. Годлевский Л. С. Функциональные механизмы антиэпилептической системы мозга : автореф. дис. на соискание науч. степени доктора мед. наук : спец. 14.00.16 «Патологическая физиология» / Л. С. Годлевский. – М., 1992. – 40 с.
57. Кругликов Р. И. Судорожная активность / Р. И. Кругликов, М. С. Мыслободский, В. Л. Эзрохи. - М. : Наука, 1970. - 147 с.
58. Крыжановский Г. Н. Роль гиперактивных детерминантных структур в формировании функциональных комплексов судорожной активности в коре мозга / Г. Н. Крыжановский, Р. Ф. Макулькин, А. А. Шандра // *Бюлл. эксперим биол. мед.* - 1977. - Т. 83, № 1. - С. 5-10.
59. Крыжановский Г. Н. Формирование комплексов эпилептических очагов в коре головного мозга применением различных веществ / Г. Н. Крыжановский, Р. Ф. Макулькин, А. А. Шандра // *Бюлл. эксперим. биол. мед.* - 1979. - Т. 79, № 2. - С. 117-121.
60. Крыжановский Г. Н. Взаимодействие очагов возбуждения и их комплексов в коре головного мозга / Г. Н. Крыжановский, Р. Ф. Макулькин, А. А. Шандра // *Журн. высш. нервн. деят.* - 1982. - № 3. - С. 487-494.
61. 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.
62. 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.] // *Бюлл. эксперим. биол. мед.* - 1989. - Т. 108, № 7. - С. 16-21.

63. Кащенко О. А. Роль холинергичних механізмів у патогенезі епілептичного синдрому (експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / О. А. Кащенко. – Одеса, 2004. – 19 с.
64. Влияние экстрактов различных отделов мозга на судорожную активность крыс-реципиентов / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский [и др.] // Бюл. эксперим. биол. мед. - 1990. - Т. 110, № 7. - С. 14-17.
65. Крыжановский Г. Н. Роль опиоидных механизмов гиппокампа и черной субстанции в поведенческих и судорожных нарушениях / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский // Бюл. эксперим. биол. мед. - 1991. - Т. 111, № 3. - С. 235-239.
66. Характеристика электрической активности срезов гиппокампа мышей с коразоловым киндлингом / С. Л. Булдакова, А. А. Шандра, Г. Н. Крыжановский [и др.] // Бюл. эксперим. биол. мед. - 1985. - Т. 99, № 3. - С. 272-274.
67. 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.
68. 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.
69. Шандра А. А. Формирование генерализованной судорожной активности у мышей при ежедневном введении коразола в подпороговых дозах / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, Н. Д. Семенюк // Бюл. эксперим. биол. мед. - 1983. - Т. 95, № 4. - С. 20-22.
70. Шандра А. А. Изменение судорожной готовности у мышей под влиянием коразола / А. А. Шандра, Г. Н. Крыжановский // Фармакол. токсикол. - 1984. - Т. 27, № 2. - С. 16-19.
71. Шандра А. А. Киндлинг как модель формирования нарушений поведения / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. М. Мазарати // Успехи физиол. наук. - 1990. - Т. 21, № 4. - С. 50-68.

72. Шандра А. А. Киндлинг и эпилептическая активность / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. И. Брусенцов. – Одесса : Астропринт, 1999. – 191 с.
73. Шандра О. А. Моделі й основні патофізіологічні механізми хронічної епілепсії / О. А. Шандра, О. А. Кащенко // Досягн. біол. мед. – 2003. - № 1. – С. 80-88.
74. Kryzhanovsky G. N. Central nervous System Pathology: A New Approach / G. N. Kryzhanovsky. – N.Y. : Raven Press Publishing Co., 1986. - 421 p.
75. Антиэпилептическая система / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. М. Мазарати // Успехи физиол. наук. - 1992. - Т. 23, № 3. - С. 53-77.
76. Влияние электростимуляции каудального ретикулярного ядра моста на очаги эпилептической активности в коре головного мозга / Г. Н. Крыжановский, Р. Ф. Макулькин, А. А. Шандра, Б. А. Лобасюк // Бюл. эксперим. биол. мед. - 1980. - Т. 90, № 11. - С. 533-536.
77. 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.
78. Дизрегуляционная патология нервной системы / под ред. Е. И. Гусева, Г. Н. Крыжановского. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство. – 2009. - 512 с.
79. Крыжановский Г. Н. Детерминантные структуры в патологии нервной системы / Г. Н. Крыжановский. - М. : Медицина, 1980. - 358 с.
80. Крыжановский Г. Н. Принцип детерминанты и образования комплексов эпилептической активности / Г. Н. Крыжановский, Р. Ф. Макулькин, А. А. Шандра // Журн. невропатол. психиатр. - 1978. - Вып. 4. - С. 547-556.
81. Шандра А. А. Принципы и методы патогенетической терапии эпилепсии : автореф. дис. на соискание науч. степени доктора мед. наук : спец. 14.00.16 «Патологическая физиология» / А. А. Шандра. – М., 1985. – 45 с.
82. Крыжановский Г. Н. Фундаментальные механизмы и общие закономерности дизрегуляционной патологии нервной системы / Г. Н.

- Крыжановский // Дизрегуляторная патология нервной системы / под ред. Е. И. Гусева, Г. Н. Крыжановского. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство. – 2009. – С. 19-192.
83. Влияние внутримозгового введения соматостатина и нейротензина на двигательные корреляты судорожной активности / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. В. Паненко, Р. С. Вастьянов // Физиол. журн. - 1993. - Т. 39, № 4. - С. 28-33.
84. Влияние пептида дельта-сна на судорожную активность при коразоловом киндлинге / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, Г. Н. Крыжановский [и др.] // Бюл. эксперим. биол. мед. - 1988. - Т. 106, № 9. - С. 269- 271.
85. Дельта-сон индуцирующий пептид и его роль в модуляции эпилептической активности / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, И. И. Михалева [и др.]. // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. - 1993. - Т. 79, № 2. - С. 16-30.
86. Позно-поведенческие нарушения при внутримозговых введениях соматостатина и нейротензина / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. В. Паненко [и др.] // Физиол. журн. - 1993. - Т. 39, № 5. - С. 17-20.
87. Противосудорожное действие внутринигрального введения дельта сон-индуцирующего пептида / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А.М. Мазарати [и др.] // Физиол. журн. - 1992. - Т. 38, № 4. - С. 27-32.
88. Роль черной субстанции в противосудорожных и антиагрессивных эффектах диазепама при фармакологическом киндлинге / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А.М. Мазарати, Р. Ф. Макулькин // Нейрофизиология -1990. - Т. 22, № 3. - С. 388-391.
89. 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.
90. Шандра О. А. Фармакологічний кіндлінг як модель дослідження функціонування мозку за умов норми та патології / Шандра О. А. // Одеський мед. журн. - 1998. - № 2. - С. 13-26.
91. 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.
92. 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.
93. Role of peptide factors in formation of epileptiform manifestations during picrotoxin-induced kindling in rats / Shandra A. A., Godlevsky L. S., Mazarati A. M. [et al.] // *Neurophysiology*. - 1993. - Vol. 25, N 2. - P. 99-102.
94. 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.
95. A survey of adverse events in 11,241 patients with chronic viral hepatitis treated with alfa interferon / G. Fattovich, G. Giustina, S. Favaro, A. Ruol // *J. Hepatol.* - 1996. - Vol. 24, N 1. - P. 38-47.
96. Follesa P. Regional and temporal pattern of expression of nerve growth factor and basic fibroblast growth factor mRNA in rat brain following electroconvulsive shock / P. Follesa, K. Gale, I. Mocchetti // *Exp. Neurol.* - 1994. - Vol. 127, N 1. - P. 37-44.
97. Functional role of interleukin 1 beta (IL-1 beta) in IL-1 beta-converting enzyme-mediated apoptosis / R. M. Friedlander, V., Gagliardini R. J. Rotello, J. Yuan // *J. Exp. Med.* - 1996. - Vol. 184, N 2. - P. 717-724.
98. Gall C. Kainic acid-induced seizures stimulate increased expression of nerve growth factor mRNA in rat hippocampus / C. Gall, K. Murray, P. J. Isackson // *Brain Res. Mol. Brain Res.* - 1991. - Vol. 9, N 1-2. - P. 113-123.
99. Gall C. M. Seizure-induced changes in neurotrophin expression: implications for epilepsy / C. M. Gall // *Exp. Neurol.* - 1993. - Vol. 124, N 1. - P. 150-166.
100. Gall C. M. Seizures increase basic fibroblast growth factor mRNA in adult rat forebrain neurons and glia / C. M. Gall, R. Berschauer, P. J. Isackson // *Brain Res. Mol. Brain Res.* - 1994. - Vol. 21, N 3-4. - P. 190-205.
101. Gall C. M. Limbic seizures increase neuronal production of messenger RNA for nerve growth factor / C. M. Gall, P. J. Isackson // *Science*. - 1989. - Vol. 245, N 4919. - P. 758-761.

102. Interleukin-1-alpha in the brain is induced by audiogenic seizure / L. C. Gahring, H. S. White, S. L. Skradski [et al.] // *Neurobiol. Dis.* - 1997. - Vol. 3, N 4. - P. 263-269.
103. Jankowsky J. L. The role of cytokines and growth factors in seizures and their sequelae / J. L. Jankowsky, P. H. Patterson // *Prog. Neurobiol.* - 2001. - Vol. 63, N 2. - P. 125-149.
104. Long-term alterations in growth factor mRNA expression following seizures / M. L. Garcia, V. B. Garcia, P. J. Isackson, A. J. Windebank // *Neuroreport.* - 1997. - Vol. 8, N 6. - P. 1445-1449.
105. Widespread increase of nerve growth factor protein in the rat forebrain after kindling-induced seizures / J. Bengzon, S. Soderstrom, Z. Kokaia [et al.] // *Brain Res.* - 1992. - Vol. 587, N 2. - P. 338-342.
106. Seizures and the regulation of neurotrophic factor expression: associations with structural plasticity in epilepsy / C. M. Gall, J. C. Lauterborn, K. M. Guthrie, C. T. Stinis // *Adv. Neurol.* - 1997. - Vol. 72, N 1. - P. 9-24.
107. Adamec R. Introduction to the special issue on kindling and behavior / R. Adamec // *Neurosci. Biobehav. Rev.* - 2000. - Vol. 24, N 7. - P. 687-689.
108. Albala B. J. Kainic acid induced seizures: a developmental study / B. J. Albala, S. L. Moshe, R. Okada // *Dev. Brain Res.* - 1984. - Vol. 13, N 1. - P. 139-148.
109. Albrecht D. Reflections of low calcium epileptiform activity from area CA₁ into dentate gyrus in the rat hippocampal slice / D. Albrecht, G. Rausche, U. Heinemann // *Brain Res.* - 1989. - Vol. 480, N 1-2. - P. 393-396.
110. The lesional and epileptogenic consequences of lithium-pilocarpine- induced status epilepticus are affected by previous exposure to isolated seizures: effects of amygdala kindling and maximal electroshocks / V. Andre, A. Ferrandon, C. Marescaux, A. Nehlig // *Neurosci.* - 2000. - Vol. 99, N 3. - P. 469-481.
111. Time course for kindling-induced changes in the hilar area of the dentate gyrus: reactive gliosis as a potential mechanism / B. Adams, E. von Ling, L. Vaccarella [et al.] // *Brain Res.* - 1998. - Vol. 804, N 2. - P. 331-336.
112. Unilateral peri-substantia nigra catecholaminergic lesion and amygdala kindling / B. J. Albala, S. L. Moshe, J. F. Cubells [et al.] // *Brain Res.* - 1986. - Vol. 370, N 2. - P. 388-392.

113. Ben-Ari Y. Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy / Y. Ben-Ari // *Neurosci.* - 1985. - Vol. 14, N 3. - P. 375-403.
114. Ben-Ari Y. Kainate, a double agent that generates seizures: two decades of progress / Y. Ben-Ari, R. Cossart // *Trends Neurosci.* - 2000. - Vol. 23, N 11. - P. 580-587.
115. Bernard C. L. Simultaneous expression of long-term depression of NMDA and long-term potentiation of AMPA receptor-mediated synaptic responses in the CA₁ area of the kainic acid-lesioned hippocampus / C. L. Bernard, H. V. Wheal // *Eur. J. Neurosci.* - 1995. - Vol. 7, N 7. - P. 1651-1655.
116. Bernard C. A role for synaptic and network plasticity in controlling epileptiform activity in CA₁ in the kainic acid-lesioned rat hippocampus in vitro / C. Bernard, H. V. Wheal // *J. Physiol. (Lond).* - 1996. - Vol. 495, N 1. - P. 127-142.
117. Bertram E. Functional anatomy of spontaneous seizures in a rat model of limbic epilepsy / E. Bertram // *Epilepsia.* - 1997. - Vol. 38, N 1. - P. 95-105.
118. Electrographic, clinical and pathological alterations following systemic administration of kainic acid, bicuculline or pentetrazole: metabolic mapping using the deoxyglucose method with special reference to the pathology of epilepsy / Y. Ben-Ari, E. Tremblay, D. Riche [et al.] // *Neurosci.* - 1981. - Vol. 6, N 11. - P. 1361-1391.
119. The role of epileptic activity in hippocampal and «remote» cerebral lesions induced by kainic acid / Y. Ben-Ari, E. Tremblay, O. P. Ottersen, B. S. Meldrum // *Brain Res.* - 1980. - Vol. 191, N 1. - P. 79-97.
120. Bertram E. H. Temporal lobe epilepsy: where do the seizures really begin / E. H. Bertram // *Epilepsy Behav.* - 2009. - Vol. 14. - P. 32-37.
121. 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.
122. Babb T. L. Firing patterns of human limbic neurons during stereoencephalography (SEEG) and clinical temporal lobe seizures / T. L. Babb, C. L. Wilson, M. Isokawa-Akesson // *EEG Clin. Neurophysiol.* - 1987. - Vol. 66. - P. 467-482.

123. Spencer S. S. Neural networks in human epilepsy: evidence of and implications for treatment / S. S. Spencer // *Epilepsia*. – 2002. – Vol. 43, N 3. – P. 219–227.
124. Delgado-Escueta A. V. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies / A. V. Delgado-Escueta // *Symptomatic lesional epilepsies*. – Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 1999. – P. 433–436.
125. Delorenzo R. J. Cellular mechanisms underlying acquired epilepsy: the calcium hypothesis of the induction and maintenance of epilepsy / R. J. Delorenzo, D. A. Sun, L. S. Deshpande // *Pharmacol. Ther.* – 2005. – Vol. 105, N 3. – P. 229–266.
126. Epileptogenesis causes acute and chronic increases in GABAA receptor endocytosis that contributes to the induction and maintenance of seizures in the hippocampal culture model of acquired epilepsy / R. E. Blair, S. Sombati, D. C. Lawrence [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2004. – Vol. 310, N 3. – P. 871–880.
127. McNamara J. O. Kindling model of epilepsy / J. O. McNamara // *Adv. Neurol.* - Vol.44. *Basic mechanisms of the epilepsies*. - N. Y. : Raven Press, 1986. -P. 303-319.
128. McNamara J. O. Pursuit of the mechanisms of kindling / J. O. McNamara // *Trends Neurosci.* - 1988. - Vol. 11, N 1. - P. 33-36.
129. McNamara J. O. Development of new pharmacological agents for epilepsy: lessons from the kindling model / J. O. McNamara // *Epilepsia*. - 1989. - Vol. 30, Suppl. 1. - S. 13-18.
130. Pitkanen A. Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy / A. Pitkanen, T. P. Sutula // *Lancet Neurol.* – 2002. – Vol. 1, N 3. – P. 173–181.
131. Pitkanen A. Molecular and cellular basis of epileptogenesis in symptomatic epilepsy / A. Pitkanen, K. Lukasiuk // *Epilepsy Behav.* – 2009. – Vol. 14, Suppl. 1. – P. 16–25.
132. Recent advances in the diagnosis and treatment of epilepsy / H. Stefan, P. Halasz, A. Gil-Nagel [et al.] // *Eur. J. Neurol.* – 2001. – Vol. 8, N 6. – P. 519–539.
133. Shin C. Mechanism of epilepsy / C. Shin, J. O. McNamara // *Annu. Rev. Med.* – 1994. – Vol. 45. – P. 379–389.

134. Goddard G. V. Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity / G.V.Goddard // *Nature*. – 1967. – Vol. 214, N 5092. – P. 1020-1021.
135. Goddard G. V. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation / G. V.Goddard, D. McIntyre, C. K. Leech // *Exp. Neurol.* – 1969. – Vol. 25. – P. 295-330.
136. McIntyre D. C. Kindling and the mirror focus / D. C. McIntyre, M. O. Poulter // *Int. Rev. Neurobiol.* – 2001. – Vol. 45. – P. 387-407.
137. Morimoto K. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain / K. Morimoto, M. Fahnestock, R. J. Racine // *Prog. Neurobiol.* – 2004. – Vol. 73, N 1. – P. 1-60.
138. Sato M. Neuromechanisms for intractable epilepsy: a review of the studies on the kindling model of epilepsy / M. Sato // *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*. – 1997. – Vol. 17, N 1. – P. 31-34.
139. Sutula T. P. Mechanisms of epilepsy progression: current theories and perspectives from neuroplasticity in adulthood and development / T. P.Sutula // *Epilepsy Res.* – 2004. – Vol. 60. – P. 161-171.
140. Sutula T. P. Kindling, epilepsy, and the plasticity of network synchronization / T. P. Sutula // *Kindling* 6. M. E. Corcoran, S. L. Moshe Eds. – N. Y. : Springer, 2005. – P. 147-159.
141. Вихрестюк С. Л. Влияние верхних бугорков четверохолмия на развитие и угнетение эпилептической активности : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук : спец. 14.03.04 «Патологическая физиология» / С. Л. Вихрестюк. – Одесса, 1994. – 23 с.
142. Влияние активации и разрушения верхних бугорков четверохолмия на судорожную активность у крыс / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, С. Л. Вихрестюк, Л. С. Годлевский // *Бюл. эксперим. биол. мед.* - 1991. - Т. 112, № 7. - С. 12-15.
143. Влияние электрической стимуляции верхних бугорков четверохолмия на очаговую эпилептическую активность в коре головного мозга / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, С. Л. Вихрестюк // *Бюл. эксперим. биол. мед.* - 1993. - Т. 116, № 1. - С. 119-122.

144. Макулькин Р. Ф. Влияние разрушения и активации хвостатых ядер на судорожные эффекты коразолового киндлинга / Р. Ф. Макулькин, С. А. Новицкий // Физиол. журн. УССР. - 1990. - Т. 36, № 1. - С. 3-8.
145. Крыжановский Г. Н. Общая патофизиология нервной системы / Г. Н. Крыжановский. – М. : Медицина, 1997. – 352 с.
146. Крыжановский Г. Н. Дизрегуляторная патология / Г. Н. Крыжановский. М. : Медицина, 2002. – 632 с.
147. 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.
148. McIntyre D. C. Transfer, interference and spontaneous recovery of convulsions kindled from the rat amygdala / D. C. McIntyre, G. V. Goddard // EEG Clin. Neurophysiol. – 1973. – Vol. 35. – P. 533-543.
149. McIntyre D. C. Kindling mechanisms: current progress on an experimental epilepsy model / D. C. McIntyre, R. J. Racine // Prog. Neurobiol. – 1986. – Vol. 27, N 1. – P. 1-12.
150. Chemical kindling: implications for antiepileptic drugs- sensitive and resistant epilepsy models / A. A. Shandra, A. M. Mazarati, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov // Epilepsia. - 1996. - Vol. 37, N 3. - P. 268-274.
151. Ebert U. Strong olfactory stimulation reduces seizure susceptibility in amygdala-kindled rats / U. Ebert, W. Löscher // Neurosci. Lett. – 2000. – Vol. 287, N 3. – P. 199-202.
152. Morrell F. From mirror focus to secondary epileptogenesis in man: an historical review / F. Morrell, L. deToledo-Morrell // Adv. Neurol. – 1999. – Vol. 81. – P. 11-23.
153. McIntyre D. C. Kindling: some old and some new / D. C. McIntyre, M. O. Poulter, K. Gilby // Epilepsy Res. – 2002. – Vol. 50, N 1-2. – P. 79-92.
154. Racine R. J. Development of kindling-prone and kindling-resistant rats: selective breeding and electrophysiological studies / R. J. Racine, M. Steingart, D. C. McIntyre // Epilepsy Res. – 1999. – Vol. 35, N 3. – P. 183-195.
155. 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.
156. Крыжановский Г. Н. Патологические интеграции в центральной нервной системе / Г. Н. Крыжановский // *Мозг.* – М. : Медицина, 2003. – С. 52-67.
157. Годлевский Л. С. Стимуляция мозга: механизмы прекращения судорожной активности / Л. С. Годлевский, Е. В. Коболев, И. В. Смирнов. – Одесса : Нептун-Технология, 2006. – 184 с.
158. 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.
159. McIntyre D. C. FAST and SLOW amygdala kindling rat strains: comparison of amygdala, hippocampal, piriform and perirhinal cortex kindling / D. C. McIntyre, M. E. Kelly, C. Dufresne // *Epilepsy Res.* – 1999. – Vol. 35, N 3. – P. 197-209.
160. 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.
161. 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.
162. Autographic studies of cerebral metabolism and blood flow in rat amygdala kindling / R. F. Ackermann, H. T. Chungani, A. Handforth [et al.] // *Kindling 3* /Ed. by J. A. Wada. - N.Y. : Raven Press, 1986. - P. 73-90.
163. Ackermann R. F. Restriction of enhanced 14-C-2deoxyglucose utilization to rhinencephalic structures in immature amygdala kindled rats / R. F. Ackermann, S. L. Moshe, B. J. Albala // *Exp. Neurol.* - 1989. - Vol. 104, N 1. - P. 73-81.
164. What is the relevance of kindling for human temporal lobe epilepsy? / R. E. Adamec, C. Stark-Adamec, R. Perrin, K. E. Livingston // *Kindling. 2.* - N.Y. : Raven Press, 1981. - P. 303-313.
165. Adamec R. E. Limbic kindling and animal behavior-implication for human psychopathology associated with, complex partial seizures / R. E. Adamec, C. Stark-Adamec // *Biol. Psychiatry.* - 1983. - Vol. 18, N 2. - P. 269-293.
166. Adamec R. E. Limbic hyperfunction and interictal behavior: models and methods of detection / R. E. Adamec, C. Stark-Adamec // *The limbic system: functional*

- organization and clinical disorders. - N. Y. : Raven Press, 1986. - P. 129-145.
167. Akbar M. Altered expression of group I metabotropic glutamate receptors in the hippocampus of amygdala-kindled rats / M. Akbar, M. Rattray // *Brain Res. Mol. Brain Res.* - 1996. - Vol. 43, N 1-2. - P. 105-116.
168. Andy O. J. Limbic system seizures and aggressive behavior (superkindling effects) / O. J. Andy, S. Velemati // *Pavlov J. Biol. Sci.* - 1978. - Vol. 13, N 3. - P. 251-264.
169. Applegate C. D. Kindling antagonism: effects of epinephrine depletion on kindled seizure suppression after concurrent alternating stimulation in rats / C. D. Applegate, J. L. Burchfiel, R. J. Konkol // *Exp. Neurol.* - 1986. - Vol. 94, N 2. - P. 379-390.
170. Applegate C. Mechanisms of kindling: an evaluation of single trial seizure induction procedures for use as controls / C. Applegate, G. Samoriski // *Epilepsy Res.* - 1993. - Vol. 15, N 3. - P. 201-205.
171. Bertram E. Functional anatomy of spontaneous seizures in a rat model of limbic epilepsy / E. Bertram // *Epilepsia.* - 1997. - Vol. 38, N 1. - P. 95-105.
172. Depaulis A. Evidence that activation of GABA receptors in substantia nigra suppresses spontaneous spike-and-wave discharge in the rat / A. Depaulis, M. Vergnes, C. Marescaux // *Brain Res.* - 1988. - Vol. 448, N 1-2. - P. 20-29.
173. 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.
174. Mathern G. 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 / G. Mathern, E. H. Bertram // *Neurosci.* - 1997. - Vol. 77, N 4. - P. 1003-1019.
175. McIntyre D. C. Transfer, interference and spontaneous recovery of convulsions kindled from the rat amygdala / D. C. McIntyre, G. V. Goddard // *EEG Clin. Neurophysiol.* - 1973. - Vol. 35, N 5. - P. 533-543.
176. McIntyre D. C. Potentiation of amygdala kindling in adult or infant rats by injection of 6- hydroxy-dopamine / D. C. McIntyre, M. Saari, B. A. Pappas //

- Exp. Neurol. - 1979. - Vol. 63, N 5. - P. 527-544.
177. The kindling model of epilepsy: a review / J. O. McNamara, M. C. Byrne, R. M. Dasheiff, J. G. Fitz // Prog. Neurobiol. - 1980. - Vol. 15, N 2. - P. 139-159.
 178. Meencke H. J. Hippocampal Sclerosis in Epilepsy/ H. J. Meencke, G. Veith // Epilepsy Surgery /Ed. by H. Lueders. - N. Y. : Raven Press, 1991. - P. 705-715.
 179. Meldrum B. S. Metabolic factors during prolonged seizures and their relation to nerve cell death / B. S. Meldrum // Status Epilepticus, Mechanisms of Brain Damage and Treatment / A. V. Delgado-Escueta, C. G. Wasterlain, D. M. Treiman, R. J. Porter (Eds.). - N. Y. : Raven Press, 1983. - P. 261-276.
 180. Hippocampal slices of kindled rats reveal calcium involvement in epileptogenesis / W. J. Wadman, V. Heinemann, A. Konnerth, S. Nienhaus // Exp. Brain Res. - 1985. - Vol. 57, N 2. - P. 404-407.
 181. Kindler S. Visualization of autophosphorylation of Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II in hippocampal slices / S. Kindler, M. Kennedy // J. Neurosci. Methods. - 1996. - Vol. 68, N 1. - P. 61-70.
 182. Sloviter R. S. Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy / R. S. Sloviter // Science. - 1987. - Vol. 235. - P. 73-76.
 183. 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 / R. S. Sloviter // Hippocampus. - 1991. - Vol. 1, N 1. - P. 41-46.
 184. Zhang H. Injection of benzodiazepines but not GABA or muscimol into pars reticulata of substantia nigra suppresses pentylenetetrazol seizures / H. Zhang, H. C. Rosenberg, E. I. Tietz // Brain Res. - 1989. - Vol. 488, N 1. - P. 73-79.
 185. Presynaptic GABA(B) receptors on glutamatergic terminals of CA₁ pyramidal cells decrease in efficacy after partial hippocampal kindling / N. Poon, F. Kloosterman, C. Wu, L. S. Leung // Synapse. - 2006. - Vol. 59, N 3. - P. 125-134.
 186. Lukasiuk K. Molecular basis of acquired epileptogenesis / K. Lukasiuk, A. Pitkänen // Handb. Clin. Neurol. - 2012. - Vol. 107. - P. 3-12.
 187. Elazar Z. Neuronal excitability control in health and disease / Z. Elazar, J. A.

- Hobson // *Progr. Neurobiol.* - 1985. - Vol. 85, N 2. - P. 141-188.
188. Faas G. Calcium currents in pyramidal CA₁ neurons in vitro after kindling epileptogenesis in the hippocampus of the rat / G. Faas, M. Vreugdenhil // *Neurosci.* - 1996. - Vol. 75, N 1. - P. 57-67.
189. Garant D. S. Neuronal mechanism of anticonvulsive effects mediating by substantia nigra in rats / D. S. Garant, K. Gale // *Adv. in Epileptology.* - N. Y. : Raven Press, 1984. - P. 31-35.
190. Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons / S. R. Cobb, E. H. Buhl, K. Halasy [et al.] // *Nature.* - 1995. - Vol. 378, N 1. - P. 75-98.
191. Ben-Ari Y. Epilepsies and neuronal plasticity: for better or for worse? / Y. Ben-Ari // *Dialogues Clin. Neurosci.* - 2008. - Vol. 10, N 1. - P. 17-27.
192. Epilepsy following cortical injury: cellular and molecular mechanisms as targets for potential prophylaxis / D. A. Prince, I. Parada, K. Scalise [et al.] // *Epilepsia.* - 2009. - Vol. 50, Suppl. 2. - P. 30-40.
193. Hopkins W. F. Frequency-dependent noradrenergic modulation of the long-term potentiation in the hippocampus / W. F. Hopkins, D. Johnston // *Science.* - 1984. - Vol. 226, N 4671. - P. 350-352.
194. 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.
195. Kokaia M. Seizure development and noradrenaline release in kindling epilepsy after noradrenergic reinnervation of the subcortically deafferented hippocampus by superior cervical ganglion or fetal locus coeruleus grafts / M. Kokaia, M. Cenci // *Exp. Neurol.* - 1994. - Vol. 130, N 2. - P. 351-361.
196. Konkol R. J. The effect of regional differences in noradrenergic growth patterns on juvenile kindling / R. J. Konkol, G. L. Holmes, J. L. Thompson // *Dev. Brain Res.* - 1990. - Vol. 52, N 1. - P. 25-29.
197. La Grutta V. Substantia nigra-mediated anticonvulsant action: A possible role of dopaminergic component / V. La Grutta, M. Sabatino // *Brain Res.* - 1990. - Vol. 515, N 1. - P. 87-93.
198. Mintz M. Kindling of dopaminergic pathways modifies the effects of

- substantia nigra lesions on rotational behavior / M. Mintz, L. J. Herberg // *Neurosci. Lett.* - 1985. - Vol. 61, N 1-2. - P. 7-11.
199. Mitsumoto S. Dopaminergic kindling and electrical kindling / S. Mitsumoto, O. Motoi // *Kindling 2.* - N. Y. : Raven Press, 1981. - P. 105-121.
200. Evidence implicating α_2 -adrenergic receptors in the anticonvulsant action of intranigral muscimol / K. Platt, L. S. Butler, D. W. Bonhaus, J. O. McNamara // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 1987. - Vol. 241. - P. 751-754.
201. Amygdaloid kindling after selective destruction of nigral dopaminergic neurons in rats / G. Randouin, M. Natoli, A. Privat [et al.] // *EEG Clin. Neurophysiol.* - 1985. - Vol. 61, N 3. - P. 55.
202. Sabatino M. Nigral control of hippocampal epilepsy: a dopaminergic hypothesis / M. Sabatino, G. Caravaglios, V. La Grutta // *Pharm. Res. Comm.* - 1988. - Vol. 20, N 12. - P. 1109-1110.
203. Inhibitory, GABAergic nerve terminals decrease at sites of focal epilepsy / C. E. Ribak, A. B. Harris, J. E. Vaugh, E. Roberts // *Science.* - 1979. - Vol. 205. - P. 211-214.
204. Michelson H. Ontogeny of epileptogenesis in the rat hippocampus: a study of the influence of GABAergic inhibition / H. Michelson, E. Lothman // *Brain Res. Dev. Brain Res.* - 1992. - Vol. 66, N 2. - P. 237-243.
205. Okada R. The role of the nigrosegmental GABAergic pathway in the propagation of pentylenetetrazol-induced seizures / R. Okada, N. Negishi, H. Nagaya // *Brain Res.* - 1989. - Vol. 480, N 1. - P. 383-387.
206. Sandoval M. R. L. Behavioral aspects of GABA-ergic - dopaminergic interactions in the central nervous system / M. R. L. Sandoval, J. Palermo-Neto // *Eur. J. Pharmacol.* - 1989. - Vol. 167, N 1. - P. 117-125.
207. Sperber E. F. Evidence for the involvement of nigral GABA-A-receptor in seizures of rat pups / E. F. Sperber, B. Y. Wong, D. Y. Zhao // *Dev. Brain Res.* - 1989. - Vol. 47, N 3. - P. 378-382.
208. Burnham W. M. Receptor binding in the kindling model of epilepsy / W. M. Burnham // *Receptors and Ligands in Neurological Disorders* / A. K. Sen, T. Lee (Eds). - Cambridge : Cambridge Univ. Press, 1988. - P.171-200.
209. Higuchi T. Kindling and somatostatin / T. Higuchi, N. Kato, T. Noguchi //

- Kindling III /Ed. by J. A. Wada. - N. Y. : Raven Press, 1985. - P. 349-360.
210. Kato N. Changes of immunoreactive somatostatin and β -endorphin content in rat brain after amygdala kindling / N. Kato, T. Higuchi, H. G. Friesen // *Life Sci.* - 1983. - Vol. 32. - P.2415-2422.
211. Status of somatostatin receptor messenger RNAs and binding sites in rat brain during kindling epileptogenesis / C. Piwko, V. S. Thoss, R. Samanin [et al.] // *Neurosci.* - 1996. - Vol. 75, N 8. - P. 857-868.
212. Decrease in somatostatin-immunoreactive neurons in the rat amygdaloid complex in a kindling model of temporal lobe epilepsy / J. Tuunanen, T. Halonen [et al.] // *Epilepsy Res.* - 1997. - Vol. 26, N 2. - P. 315-327.
213. Casillas-Espinosa P. M. Regulators of synaptic transmission: roles in the pathogenesis and treatment of epilepsy // P. M. Casillas-Espinosa, K. L. Powell, T. J. O'Brien // *Epilepsia.* – 2012. – Vol. 53, Suppl. 9. – P. 41-58.
214. Binaschi A. On the role of somatostatin in seizure control: clues from the hippocampus / A. Binaschi, G. Bregola, M. Simonato // *Rev. Neurosci.* – 2003. – Vol. 14, N 3. – P. 285-301.
215. Somatostatin receptor type 2 undergoes plastic changes in the human epileptic dentate gyrus / Z. Simonato, S. Pirker, B. Lelouvier [et al.] // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* – 2005. – Vol. 64, N 11. – P. 956-969.
216. Siddiqui A. H. CA₃ axonal sprouting in kainate-induced chronic epilepsy / A. H. Siddiqui, S. A. Joseph // *Brain Res.* – 2005. – Vol. 1066, N 1. – P. 129–146.
217. Changes in glutamate receptor and proenkephalin gene expression after kindled seizures / S. Lee, J. Miskovsky, J. Williamson [et al.] // *Brain Res. Mol. Brain Res.* - 1994. - Vol. 24, N 1-4. - P. 34-42.
218. Maggio R. Seizures evoked from the area tempestas are subject to control by GABA and glutamate receptors in substantia nigra / R. Maggio, K. Gale // *Exp. Neurol.* - 1989. - Vol. 105, N 1. - P. 184-188.
219. Muller D. Contributions of quisqualate and NMDA receptors to the induction and expression of LTP / D. Muller, M. Jolly, G. Lynch // *Science.* - 1988. - Vol. 242. - P. 1694-1697.
220. Gilbert M. Enhancement of paired-pulse depression in the dentate gyrus in vivo by the NMDA antagonist, MK-801, and electrical kindling / M. Gilbert,

- L. Burdette // *Brain Res.* - 1996. - Vol. 732, N 1-2. - P. 201-208.
221. Amygdala gene expression of NMDA and GABA(A) receptors in patients with mesial temporal lobe epilepsy / J. C. de Moura, D. P. Tirapelli, L. Neder [et al.] // *Hippocampus.* – 2012. – Vol. 22, N 1. – P. 92-97.
222. Homeostatic NMDA receptor down-regulation via brain derived neurotrophic factor and nitric oxide-dependent signalling in cortical but not in hippocampal neurons / R. Sandoval, A. González, A. Caviedes [et al.] // *J. Neurochem.* – 2011. – Vol. 118, N 5. – P. 760-772.
223. Oxidative stress induced NMDA receptor alteration leads to spatial memory deficits in temporal lobe epilepsy: ameliorative effects of *Withania somnifera* and Withanolide A. / S. Soman, P. K. Korah, S. Jayanarayanan [et al.] // *Neurochem. Res.* – 2012. – Vol. 37, N 9. – P. 1915-1927.
224. The NR1 N-methyl-D-aspartate subunit and brain-derived neurotrophic factor in temporal lobe epilepsy hippocampus: a comparison of patients with and without coexisting psychiatric symptoms / C. T. Toro, J. E. Hallak, J. S. Dunham [et al.] // *Epilepsia.* – 2007. – Vol. 48, N 12. - P. 2352-2356.
225. 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. 49C. – P. 87-98.
226. Mayer M. L. The action of N-methyl-D-aspartic acid on mouse spinal neurones in culture / M. L. Mayer, G. L. Westbrook // *J. Physiol.* – 1985. – Vol. 361. – P. 65-90.
227. Nowak S. Symptoms accompanying epileptic attacks / S. Nowak // *Neurol. Neurochir. Pol.* – 1984. – Vol. 18, N 3. – P. 223-228.
228. Gilbert M. Enhancement of paired-pulse depression in the dentate gyrus in vivo by the NMDA antagonist, MK-801, and electrical kindling / M. Gilbert, L. Burdette // *Brain Res.* - 1996. - Vol. 732, N 1-2. - P. 201-208.
229. NMDA receptor-mediated long-term alterations in epileptiform activity in experimental chronic epilepsy / J. L. Hellier, A. White, P. A. Williams [et al.] // *Neuropharmacology.* – 2009. – Vol. 56, N 2. – P. 414-421.
230. NMDA receptor trafficking at recurrent synapses stabilizes the state of the CA₃ network / J L. Hellier, D. R. Grosshans, S. J. Coultrap [et al.] // *J.*

- Neurophysiol. – 2007. – Vol. 98, N 5. – P. 2818-2826.
231. Status epilepticus and epileptic seizures in dogs / R. Zimmermann, V. Hülsmeier, C. Sauter-Louis, A. Fischer // *J. Vet. Int. Med.* – 2009. – Vol. 23, N 5. – P. 970-976.
232. Inhibition of NMDA receptor/NO signaling blocked tolerance to the anticonvulsant effect of morphine on pentylentetrazole-induced seizures in mice / M. Ghasemi, H. Shafaroodi, S. Nazarbeiki [et al.] // *Epilepsy Res.* – 2010. – Vol. 91, N 1. – P. 39-48.
233. BDNF and epilepsy: too much of a good thing? / D. K. Binder, S. D. Croll, C. M. Gall, H. E. Scharfman // *Trends Neurosci.* – 2001. – Vol. 24, N 1. – P. 47-53.
234. Conditional deletion of NRSF in forebrain neurons accelerates epileptogenesis in the kindling model / X. L. Hu, X. Cheng, L. Cai [et al.] // *Cereb. Cortex.* – 2011. – Vol. 21, N 9. – P. 2158-2165.
235. Neural growth, neural damage and neurotrophins in the kindling model of epilepsy / R. J. Racine, B. Adams, P. Osehobo, M. Fahnestock // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2002. – Vol. 497. – P. 149-170.
236. Different patterns of induction of fibroblast growth factor-2 and brain-derived neurotrophic factor messenger RNAs during kindling epileptogenesis, and development of a herpes simplex vector for fibroblast growth factor-2 gene transfer in vivo / G. Bregola, L. Frigati, S. Zucchini, M. Simonato // *Epilepsia.* – 2000. – Vol. 41, Suppl. 6. – S. 122-126.
237. Tirassa P. CK-8 induces NGF and BDNF synthesis and modulates TrkA and TrkB expression in the rat hippocampus and septum: Effects on kindling development / P. Tirassa, N. Costa // *Neurochem. Int.* – 2007. – Vol. 50, N 1. – P. 130-138.
238. Изменения бласттрансформации лимфоцитов при пикротоксин-индуцированном киндлинге у крыс // А. И. Брусенцов, В. В. Мороз, С. А. Супрун [и др.] // *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* – 1998. – Т. 84, № 3. – С. 233-237.
239. Amygdala kindling differentially regulates the expression of the elements involved in TRH transmission / P. de Gortari, R. M. Uribe, A. García-Vázquez [et al.] // *Neurochem. Int.* – 2006. – Vol. 48, N 1. – P. 31-42.

240. De Marco F. A. Cerebellar volume and long-term use of phenytoin / F. A. De Marco, E. Ghizoni // *Seizure*. - 2003. - Vol. 12, N 5.- P. 312-315.
241. Shandra A. A. Pentylentetrazol-induced kindling as a model of absence and convulsive forms of epilepsy / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky // *Kindling 6* / Ed. by M. E. Corcoran, S. L. Moshe. – N. Y. : Springer, 2005. – P. 49-59.
242. Regional expression of c-fos mRNA in rat brain during the evolution of amygdala kindled seizures / M. Clark, R. M. Post, S. R. Weiss [et al.] // *Brain Res. Mol. Brain Res.* – 1991. – Vol. 11. – P. 55-64.
243. Rosen J. B. Differential regional and time course increases in thyrotropin-releasing hormone, neuropeptide G and enkephalin mRNAs following an amygdala kindled seizures / J. B. Rosen, S. Y. Kim, R. M. Post // *Brain Res. Mol. Brain Res.* – 1994. – Vol. 27. – P. 71-80.
244. CRF-induced seizures and behavior interaction with amygdala kindling / S. R. Weiss, R. M. Post, P. W. Gold [et al.] // *Brain Res.* - 1986. – Vol. 372. – P. 345-351.
245. Regional increases in brain-derived neurotropic factor and nerve growth factor mRNA during amygdaloid kindling, but not in acidic and basic fibroblast growth factor mRNA / K. Sato, K. Kashihara, K. Morimoto [et al.] // *Epilepsia*. - 1996. – Vol. 37. – P. 6-14.
246. Harvey B. D. Hippocampal granule cell activity and c-Fos expression during spontaneous seizures in awake, chronically epileptic, pilocarpine-treated rats: implications for hippocampal epileptogenesis / B. D. Harvey, R. S. Sloviter // *J. Comp. Neurol.* – 2005. – Vol. 488, N 4. – P. 442-463.
247. Lateral entorhinal cortex lesions rearrange afferents, glutamate receptors, increase seizure latency and suppress seizure-induced c-fos expression in the hippocampus of adult rat / Z. Kopniczky, E. Dobó, S. Borbély [et al.] // *J. Neurochem.* – 2005. – Vol. 95, N 1. – P. 111-124.
248. Neuropeptides-immunoreactivity and their mRNA expression in kindling: functional implications for limbic epileptogenesis / C. Schwarzer, G. Sperk, R. Sperk [et al.] // *Brain Res. Brain Res. Rev.* – 1996. – Vol. 22, N 1. – P. 27-50.
249. Pentylentetrazole (PTZ)-induced c-fos expression in the hippocampus of kindled rats is suppressed by concomitant treatment with naloxone / M.

- Erdtmann-Vourliotis, U. Riechert, P. Mayer [et al.] // *Brain Res.* – 1998. – Vol. 792, N 2. – P. 299-308.
250. Wan R. Q. Anticonvulsant effect of intrahippocampal injection of TRH in amygdala kindled rats / R. Q. Wan, E. C. Noquera, S. R. Weiss // *Neuroreport.* – 1998. – Vol. 9. – P. 677-682.
251. Влияние экстрактов различных отделов мозга на судорожную активность крыс-реципиентов / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский [и др.] // *Бюл. эксперим. биол. мед.* - 1990. - Т. 110, № 7. - С. 14-17.
252. Крыжановский Г. Н. Влияние структур мозжечка на эпилептическую активность в головном мозге / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский // *Успехи физиол. наук.* - 1990. - Т. 21, № 3. - С. 38–58.
253. Крыжановский Г. Н. Противосудорожные свойства ликвора при активации антиэпилептической системы / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский // *Бюл. эксперим. биол. мед.* - 1988. – Т. 106, № 8. – С. 146-149.
254. Antiepileptic properties of cerebrospinal fluid after activation of the antiepileptic system of the brain / G. N. Kryzhanovsky, A. A. Shandra, L. S. Godlevsky [et al.] // *Epilepsia.* - 1989. – Vol. 30, N 5. – P. 631-635.
255. Tortella F. C. Endogenous anticonvulsant substance in cerebrospinal fluid in rats after generalized seizures / F. C. Tortella, J. B. Long // *Brain Res.* - 1988. – Vol. 456, N 1. – P. 439-441.
256. Влияние активации и разрушения верхних бугорков четверохолмия на судорожную активность у крыс / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, С. Л. Вихрестюк [и др.] // *Бюл. эксперим. биол. мед.* - 1991. - Т. 112, № 7. - С. 12–15.
257. Friedman W. J. Cytokines regulate expression of the type 1 interleukin-1 receptor in rat hippocampal neurons and glia / W. J. Friedman // *Exp. Neurol.* - 2001. - Vol. 168, N 1. - P. 23-31.
258. A neuromodulatory role of interleukin-1beta in the hippocampus / H. Schneider, F. Pitossi, D. Balschun [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1998. - Vol. 95, N 13. - P. 7778-7783.
259. Synergism between IL-1 beta and TNF-alpha on the activity of the pituitary-adrenal axis and on food intake of rats / M. J. van der Meer, C. G. Sweep, G.

- J. Pesman [et al.] // *Am. J. Physiol.* - 1995. - Vol. 268, N 4 Pt 1. – P. 551-557.
260. Interleukin-1- β immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures / A. Vezzani, M. Conti, A. de Luigi [et al.] // *J. Neurosci.* - 1999. - Vol. 19. - P. 5054-5065.
261. Bottner M. Expression of TGF-beta type II receptor mRNA in the CNS / M. Bottner, K. Unsicker, C. Suter-Crazzolara // *Neuroreport.* - 1996. - Vol. 7, N 18. - P. 2903-2907.
262. Dinarello C. A. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism / C. A. Dinarello // *Blood.* - 1991. - Vol. 77, N 8. - P. 1627-1652.
263. Panegyres P. K. The neuroprotective effects of the recombinant interleukin-1 receptor antagonist rhIL-1ra after excitotoxic stimulation with kainic acid and its relationship to the amyloid precursor protein gene / P. K. Panegyres, J. Hughes // *J. Neurol. Sci.* - 1998. - Vol. 154, N 2. - P. 123-132.
264. Glass M. Neurochemical and morphological changes associated with human epilepsy / M. Glass, M. Dragunow // *Brain Res. Brain Res. Rev.* - 1995. - Vol. 21, N 1. - P. 29-41.
265. Increased dentate granule cell neurogenesis following amygdala kindling in the adult rat / J. M. Parent, S. Janumpalli, J. O. McNamara, D. H. Lowenstein // *Neurosci. Lett.* - 1998. - Vol. 247, N 1. - P. 9-12.
266. Lynch M. W. The effects of seizures on the brain / M. W. Lynch, P. A. Rutecki, T. P. Sutula // *Curr. Opin. Neurol.* - 1996. - Vol. 9, N 2. - P. 97-102.
267. McNamara J. O. Cellular and molecular basis of epilepsy / J. O. McNamara // *J. Neurosci.* - 1994. - Vol. 14, N 6. - P. 3413-3425.
268. Mehler M. F. Progenitor cell biology: implications for neural regeneration / M. F. Mehler, J. A. Kessler // *Arch. Neurol.* - 1999. - Vol. 56, N 7. - P. 780-784.
269. Parent J. M. Mossy fiber reorganization in the epileptic hippocampus / J. M. Parent, D. H. Lowenstein // *Curr. Opin. Neurol.* - 1997. - Vol. 10, N 2. - P. 103-109.
270. Khurgel M. Astrocytes in kindling: relevance to epileptogenesis / M. Khurgel, G. O. Ivy // *Epilepsy Res.* - 1996. - Vol. 26, N 1. - P. 163-175.
271. 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.
272. Sloviter R. S. Status epilepticus-induced neuronal injury and network reorganization / R. S. Sloviter // *Epilepsia.* - 1999. - Vol. 40, N 1. - P. 34-39.
273. Bonde S. Long-term neuronal replacement in adult rat hippocampus after status epilepticus despite chronic inflammation / S. Bonde, C. T. Ekdahl, O. Lindvall // *Eur. J. Neurosci.* - 2006. - Vol. 23, N 4. - P.965-674.
274. Ferland R. J. Increased mitotic activity in the dentate gyrus of the hippocampus of adult C57BL/6J mice exposed to the flurothyl kindling model of epileptogenesis / R. J. Ferland, R. A. Gross, C. D. Applegate // *Neuroscience.* - 2002. - Vol. 115, N 3. - P. 669-683.
275. Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils / J. Liu, K. Solway, R. O. Messing, F. R. Sharp // *J. Neurosci.* - 1998. - Vol. 18, N 19. - P. 7768-7778.
276. Parent J. M. The role of seizure-induced neurogenesis in epileptogenesis and brain repair / J. M. Parent // *Epilepsy Res.* - 2002. - Vol. 50, N 1-2. - P. 179-189.
277. Neurogenesis of dentate granule cells following kainic acid induced seizures in immature rats / Y. L. Wang, R. P. Sun, G. F. Lei [et al.] // *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* - 2004. - Vol. 42, N 8. - P. 621-624.
278. Convulsants induce interleukin-1 beta messenger RNA in rat brain / M. Minami, Y. Kuraishi, T. Yamaguchi [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1990. - Vol. 171, N 2. - P. 832-837.
279. Minami M. Effects of kainic acid on messenger RNA levels of IL-1 beta, IL-6, TNF alpha and LIF in the rat brain / M. Minami, Y. Kuraishi, M. Satoh // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1991. - Vol. 176, N 2. - P. 593-598.
280. Interleukin-1beta immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures / A. Vezzani, M. Conti, A. De Luigi [et al.] // *J. Neurosci.* - 1999. - Vol. 19, N 12. - P. 5054-5065.
281. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus / M. G. De Simoni, C. Perego, T. Ravizza [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* - 2000. - Vol. 12, N 7. - P. 2623-2633.

282. Powerful anticonvulsant action of IL-1 receptor antagonist on intracerebral injection and astrocytic overexpression in mice / A. Vezzani, D. Moneta, M. Conti [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2000. - Vol. 97, N 21. - P.11534-11539.
283. The role of interleukins in the seizures development / E. L. J. M. van Luijtelaar, A. M. L. Coenen, A. Shandra [et al.] // Proc. XIV-th Conf. Polish League Against Epilepsy. - Warsaw, 2000. - P. 112-113.
284. In situ hybridization study of interleukin-1 beta mRNA induced by kainic acid in the rat brain / K. Yabuuchi, M. Minami, S. Katsumata, M. Satoh // Brain Res. Mol. Brain Res. - 1993. - Vol. 20, N 1-2. - P. 153-161.
285. Pearson V. L. Excitotoxic brain damage in the rat induces interleukin-1beta protein in microglia and astrocytes: correlation with the progression of cell death / V. L. Pearson, N. J. Rothwell, S. Toulmond // Glia. - 1999. - Vol. 25, N 4. - P. 311-323.
286. Increased neuronal beta-amyloid precursor protein expression in human temporal lobe epilepsy: association with interleukin-1 alpha immunoreactivity / J. G. Sheng, F. A. Boop, R. E. Mrak, W. S. Griffin // J. Neurochem. - 1994. - Vol. 63, N 5. - P. 1872-1879.
287. de Bock F. Release of TNF alpha in the rat hippocampus following epileptic seizures and excitotoxic neuronal damage / F. de Bock, J. Dornand, G. Rondouin // Neuroreport. - 1996. - Vol. 7, N 6. - P. 1125-1129.
288. Kindling modulates the IL-1beta system, TNF-alpha, TGF-beta1, and neuropeptide mRNAs in specific brain regions / C. R. Plata-Salaman, S. E. Plyin, N. P. Turrin [et al.] // Brain Res. Mol. Brain Res. - 2000. - Vol. 75, N 2. - P. 248-258.
289. Патогенетическая роль цитокинов в механизмах хронического эпилептогенеза у крыс / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, Р. С. Вастьянов [и др.] // Эпилепсия и клиническая нейрофизиология. – Тез. докл. 3-й Восточно-Европейской конф. - Гурзуф, 2001. - С. 30-32.
290. TNF-alpha in cerebral cortex and cerebellum is affected by amygdalar kindling but not by stimulation of cerebellum / L. S. Godlevsky, A. A. Shandra, A. A. Oleinik [et al.] // Pol. J. Pharmacol. - 2002. - Vol. 54, N 6. - P. 655-660.

291. Expression of tumor necrosis factor alpha in the developing nervous system / R. L. Gendron, F. P. Nestel, W. S. Lapp, M. G. Baines // *Int. J. Neurosci.* - 1991. - Vol. 60, N 1-2. - P. 129-136.
292. Tumor necrosis factor alpha is involved in mouse growth and lymphoid tissue development / S. de Kossodo, G. E. Grau, T. Daneva [et al.] // *J. Exp. Med.* - 1992. - Vol. 176, N 5. - P. 1259-1264.
293. Altered neuronal and microglial responses to excitotoxic and ischemic brain injury in mice lacking TNF receptors / A. J. Bruce, W. Boling, M. S. Kindy [et al.] // *Nat. Med.* - 1996. - Vol. 2, N 7. - P. 788-794.
294. Differential acute and chronic responses of tumor necrosis factor-deficient mice to experimental brain injury / U. Scherbel, R. Raghupathi, M. Nakamura [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1999. - Vol. 96, N 15. - P. 8721-8726.
295. Крыжановский Г. Н. Патологические системы в патогенезе нервных и психических расстройств / Г. Н. Крыжановский // *Одесский мед. журн.* – 2001. - № 1. – С. 6-10.
296. Крыжановский Г. Н. Регуляция и дисрегуляция в живых системах / Г. Н. Крыжановский // *Патогенез.* - 2007, Прил. 1. – С. 4-5.
297. Bellinger F. P. Interleukin 1 beta inhibits synaptic strength and long-term potentiation in the rat CA₁ hippocampus / F. P. Bellinger, S. Madamba, G. R. Siggins // *Brain Res.* - 1993. - Vol. 628, N 1-2. - P. 227-234.
298. Interferon inhibits synaptic potentiation in rat hippocampus / G. D'Arcangelo, F. Grassi, D. Ragozzino [et al.] // *Brain Res.* - 1991. - Vol. 564, N 2. - P. 245-248.
299. Tumor necrosis factor alters synaptic transmission in rat hippocampal slices / V. Tancredi, G. D'Arcangelo, F. Grassi [et al.] // *Neurosci. Lett.* - 1992. - Vol. 146, N 2. - P. 176-178.
300. Jankowsky J. L. Cytokine responses to LTP induction in the rat hippocampus: a comparison of in vitro and in vivo techniques / J. L. Jankowsky, B. E. Derrick, P. H. Patterson // *Learn. Mem.* - 2000. - Vol. 7, N 6. - P. 400-412.
301. Effects of interleukin-2 on various models of experimental epilepsy in DBA/2 mice / G. De Sarro, D. Rotiroti, M. G. Audino [et al.] // *Neuroimmunomodulation.* - 1994. - Vol. 1, N 6. - P. 361-369.
302. Involvement of tumor necrosis factor alpha and interleukin-1beta in

- enhancement of pentylenetetrazole-induced seizures caused by *Shigella dysenteriae* / Y. Yuhas, L. Shulman, A. Weizman [et al.] // *Infect. Immun.* - 1999. - Vol. 67, N 3. - P. 1455-1460.
303. Liu Z. Basic fibroblast growth factor-induced seizures in rats / Z. Liu, G. L. Holmes // *Neurosci Lett.* - 1997. - Vol. 233, N 2-3. - P. 85-88.
304. Neuroprotective effect of acidic fibroblast growth factor on seizure-associated brain damage / P. Cuevas, C. Revilla, O. Herreras [et al.] // *Neurol. Res.* - 1994. - Vol. 16, N 5. - P. 365-369.
305. Neuroprotective effect of chronic infusion of basic fibroblast growth factor on seizure-associated hippocampal damage / Z. Liu, P. A. D'Amore, M. Mikati [et al.] // *Brain Res.* - 1993. - Vol. 626, N 1-2. - P. 335-338.
306. Nistico G. Behavioral and electrocortical spectrum power effects after microinfusion of lymphokines in several areas of the rat brain / G. Nistico, G. De Sarro // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* - 1991. - Vol. 621, N 1. - P. 119-134.
307. Spontaneous inflammatory demyelinating disease in transgenic mice showing central nervous system-specific expression of tumor necrosis factor alpha / L. Probert, K. Akassoglou, M. Pasparakis [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1995. - Vol. 92, N 24. - P. 11294-11298.
308. Cuevas P. Antiepileptic effects of acidic fibroblast growth factor examined in kainic acid-mediated seizures in the rat / P. Cuevas, G. Gimenez-Gallego // *Neurosci. Lett.* - 1996. - Vol. 203, N 1. - P. 66-68.
309. Cell death, gliosis, and synaptic remodeling in the hippocampus of epileptic rats / A. Represa, J. Niquet, H. Pollard, Y. Ben-Ari // *J. Neurobiol.* - 1995. - Vol. 26, N 3. - P. 413-425.
310. Cytokines which signal through the LIF receptor and their actions in the nervous system / M. Murphy, R. Dutton, S. Koblar [et al.] // *Prog. Neurobiol.* - 1997. - Vol. 52, N 5. - P. 355-378.
311. Gruol D. L. Physiological and pathological roles of interleukin-6 in the central nervous system / D. L. Gruol, T. E. Nelson // *Mol. Neurobiol.* - 1997. - Vol. 15, N 3. - P. 307-339.
312. Neural functions of the transforming growth factors beta / K. Kriegstein, M. Rufer, C. Suter-Crazzolaro, K. Unsicker // *Int. J. Dev. Neurosci.* - 1995. -

Vol. 13, N 3-4. - P. 301-315.

313. Rothwell N. J. Annual review prize lecture cytokines - killers in the brain? / N. J. Rothwell // *J. Physiol.* - 1999. - Vol. 514, N 1. - P. 3-17.
314. Neurotrophins and their trk receptors in cultured cells of the glial lineage and in white matter of the central nervous system / D. F. Condorelli, T. Salin, P. Dell' Albani [et al.] // *J. Mol. Neurosci.* - 1995. - Vol. 6, N 4. - P. 237-248.
315. Potent inhibitory effects of glial derived neurotrophic factor against kainic acid mediated seizures in the rat / D. Martin, G. Miller, M. Rosendahl, D. A. Russell // *Brain Res.* - 1995. - Vol. 683, N 2. - P. 172-178.
316. Ischemic and excitotoxic brain injury is enhanced in mice lacking the p55 tumor necrosis factor receptor / D. S. Gary, A. J. Bruce-Keller, M. S. Kindy, M. P. Mattson // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* - 1998. - Vol. 18, N 12. - P. 1283-1287.
317. Casaccia-Bonnel P. Neurotrophins in cell survival/death decisions / P. Casaccia-Bonnel, C. Gu, M. V. Chao // *Adv. Exp. Med. Biol.* - 1999. - Vol. 468, N 1. - P. 275-282.
318. Frade J. M. Nerve growth factor: two receptors, multiple functions / J. M. Frade, Y. A. Barde // *Bioessays.* - 1998. - Vol. 20, N 2. - P. 137-145.
319. Kappa-opioid potentiation of tumor necrosis factor-alpha-induced anti-HIV-1 activity in acutely infected human brain cell cultures / C. C. Chao, G. Gekker, S. Hu [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* - 1998. - Vol. 56, N 3. - P. 397-404.
320. Electrophysiological evidence of monosynaptic excitatory transmission between granule cells after seizure-induced mossy fiber sprouting / H. E. Scharfman, A. L. Sollas, R. E. Berger, J. H. Goodman // *J. Neurophysiol.* - 2003. - Vol. 90, N 4. - P. 2536-2547.
321. Apoptosis and proliferation of dentate gyrus neurons after single and intermittent limbic seizures / J. Bengzon, Z. Kokaia, E. Elmer [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1997. - Vol. 94, N 19. - P. 10432-10437.
322. Synaptic transmission and hippocampal long-term potentiation in olfactory cyclic nucleotide-gated channel type 1 null mouse / A. Parent, K. Schrader, S. D. Munger [et al.] // *J. Neurophysiol.* - 1998. - Vol. 79, N 6. - P. 3295-3301.
323. Sensenbrenner M. The neurotrophic activity of fibroblast growth factors / M. Sensenbrenner // *Prog. Neurobiol.* - 1993. - Vol. 41, N 6. - P. 683-704.

324. Temple S. Stem cells in the adult mammalian central nervous system / S. Temple, A. Alvarez-Buylla // *Curr. Opin. Neurobiol.* - 1999. - Vol. 9, N 1. - P. 135-141.
325. α FGF, β FGF and flg mRNAs show distinct patterns of induction in the hippocampus following kainate-induced seizures / K. Bugra, H. Pollard, G. Charton [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* - 1994. - Vol. 6, N 1. - P. 58-66.
326. Ballabriga J. L-Deprenyl does not reduce brain damage in global forebrain ischemia in adult gerbils (*Meriones unguiculatus*) / J. Ballabriga, A. Pellise, I. Ferrer // *J. Neurol. Sci.* - 1997. - Vol. 148, N 1. - P. 1-5.
327. Fast and widespread increase of basic fibroblast growth factor messenger RNA and protein in the forebrain after kainate-induced seizures / Humpel C., Lippoldt A., Chadi G. [et al.] // *Neuroscience.* - 1993. - Vol. 57, N 4. - P. 913-922.
328. Gomez-Pinilla F. Possible coordinated gene expressions for FGF receptor, FGF-5, and FGF-2 following seizures / F. Gomez-Pinilla, E. A. van der Wal, C. W. Cotman // *Exp. Neurol.* - 1995. - Vol. 133, N 2. - P. 164-174.
329. Humpel C. Regulation of brain-derived neurotrophic factor messenger RNA and protein at the cellular level in pentylenetetrazol-induced epileptic seizures / C. Humpel, C. Wetmore, L. Olson // *Neuroscience.* - 1993. - Vol. 53, N 4. - P. 909-918.
330. van der Wal E. A. Seizure-associated induction of basic fibroblast growth factor and its receptor in the rat brain / E. A. van der Wal, F. Gomez-Pinilla, C. W. Cotman // *Neuroscience.* - 1994. - Vol. 60, N 2. - P. 311-323.
331. Short- and long-term induction of basic fibroblast growth factor gene expression in rat central nervous system following kainate injection / M. A. Riva, E. Donati, F. Tascetta [et al.] // *Neuroscience.* - 1994. - Vol. 59, N 1. - P. 55-65.
332. Basilico C. The FGF family of growth factors and oncogenes / C. Basilico, D. Moscatelli // *Adv. Cancer Res.* - 1992. - Vol. 59, N 1. - P. 115-165.
333. Activation of astrocytes during epileptogenesis in the absence of neuronal degeneration / M. Khurgel, R. C. Switzer 3rd, G. C. Teskey [et al.] // *Neurobiol. Dis.* - 1995. - Vol. 2, N 1. - P. 23-35.
334. Reactive microglia in hippocampal sclerosis associated with human temporal lobe epilepsy / T. G. Beach, W. B. Woodhurst, D. B. McDonald, M. W. Jones // *Neurosci. Lett.* - 1995. - Vol. 191, N 1-2. - P. 27-30.

335. The pathogenic and progressive features of chronic human hippocampal epilepsy / G. W. Mathern, T. L. Babb, J. P. Leite [et al.] // *Epilepsy Res.* - 1996. - Vol. 26, N 1. - P. 151-61.
336. Benveniste E. N. Cytokines: influence on glial cell gene expression and function / E. N. Benveniste // *Chem. Immunol.* - 1992. - Vol. 52, N 1. - P. 106-153.
337. Merrill J. E. Cytokines in inflammatory brain lesions: helpful and harmful / J. E. Merrill, E. N. Benveniste // *Trends Neurosci.* - 1996. - Vol. 19, N 8. - P. 331-338.
338. The impact of microglia-derived cytokines upon gliosis in the CNS / D. Giulian, J. Li, X. Li [et al.] // *Dev. Neurosci.* - 1994. - Vol. 16, N 3-4. - P. 128-136.
339. Transgenic mouse models of neurodegenerative disease: opportunities for therapeutic development / J. L. Jankowsky, A. Savonenko, G. Schilling [et al.] // *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* - 2002. - Vol. 2, N 5. - P. 457-464.
340. Fawcett J. W. Astrocytic and neuronal factors affecting axon regeneration in the damaged central nervous system / J. W. Fawcett // *Cell Tissue Res.* - 1997. - Vol. 290, N 2. - P. 371-377.
341. Reactive astrocytes: cellular and molecular cues to biological function / J. L. Ridet, S. K. Malhotra, A. Privat, F. H. Gage // *Trends Neurosci.* - 1997. - Vol. 20, N 12. - P. 570-577.
342. Stichel C. C. Experimental strategies to promote axonal regeneration after traumatic central nervous system injury / C. C. Stichel, H. W. Muller // *Prog. Neurobiol.* - 1998. - Vol. 56, N 2. - P. 119-148.
343. Eddleston M. Molecular profile of reactive astrocytes--implications for their role in neurologic disease / M. Eddleston, L. Mucke // *Neuroscience.* - 1993. - Vol. 54, N 1. - P. 15-36.
344. Leukaemia inhibitory factor is required for normal inflammatory responses to injury in the peripheral and central nervous systems in vivo and is chemotactic for macrophages in vitro / S. Sugiura, R. Lahav, J. Han [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* - 2000. - Vol. 12, N 2. - P. 457-466.
345. Campbell V. Biphasic modulation of intracellular Ca^{2+} concentration by interleukin-1beta in cortical synaptosomes: involvement of a pertussis toxin-sensitive G-protein and mitogen-activated protein kinase / V. Campbell, M. A. Lynch // *Neuroreport.* - 1998. - Vol. 9, N 9. - P. 1923-1927.

346. Gadiant R. A. Interleukin-6 (IL-6)--a molecule with both beneficial and destructive potentials / R. A. Gadiant, U. H. Otten // *Prog. Neurobiol.* - 1997. - Vol. 52, N 5. - P. 379-390.
347. Interleukin-1 beta inhibits glutamate release in hippocampus of young, but not aged, rats / C. A. Murray, B. McGahon, S. McBennett, M. A. Lynch // *Neurobiol. Aging.* - 1997. - Vol. 18, N 3. - P. 343-348.
348. Mechanisms of hyperpolarization induced by two cytokines, hTNF alpha and hIL-1 alpha in neurons of the mollusc *Onchidium* / Y. Mimura, T. Gotow, T. Nishi, M. Osame // *Brain Res.* - 1994. - Vol. 653, N 1-2. - P. 112-118.
349. Oliet S. H. Effects of activin-A on neurons acutely isolated from the rat supraoptic nucleus / S. H. Oliet, P. M. Plotsky, C. W. Bourque // *J. Neuroendocrinol.* - 1995. - Vol. 7, N 9. - P. 661-663.
350. Yu B. Interleukin-1 beta inhibits synaptic transmission and induces membrane hyperpolarization in amygdala neurons / B. Yu, P. Shinnick-Gallagher // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 1994. - Vol. 271, N 2. - P. 590-600.
351. Niquet J. Glial reaction after seizure induced hippocampal lesion: immunohistochemical characterization of proliferating glial cells / J. Niquet, Y. Ben-Ari, A. Represa // *J. Neurocytol.* - 1994. - Vol. 23, N 10. - P. 641-656.
352. Tumor necrosis factor-alpha mediates the release of bioactive transforming growth factor-beta in murine microglial cell cultures / C. C. Chao, S. Hu, W. S. Sheng et al. // *Clin. Immunol. Immunopathol.* - 1995. - Vol. 77, N 3. - P. 358-365.
353. Gehrmann J. Microglia: intrinsic immuneffector cell of the brain / J. Gehrmann, Y. Matsumoto, G. W. Kreutzberg // *Brain Res. Brain Res. Rev.* - 1995. - Vol. 20, N 3. - P. 269-287.
354. Molecular mechanisms of microglial activation. A. Implications for regeneration and neurodegenerative diseases / P. J. Gebicke-Haerter, D. van Calker, W. Norenberg, P. Illes // *Neurochem. Int.* - 1996. - Vol. 29, N 1. - P. 1-12.
355. Giulian D. Brain glia release factors with opposing actions upon neuronal survival / D. Giulian, K. Vaca, M. Corpuz // *J. Neurosci.* - 1993. - Vol. 13, N 1. - P. 29-37.
356. 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.

357. Hippocampal mossy fiber sprouting induced by chronic electroconvulsive seizures / V. A. Vaidya, J. A. Siuciak, F. Du, R. S. Duman // *Neuroscience*. - 1999. - Vol. 89, N 1. - P. 157-166.
358. Okazaki M. M. Hippocampal mossy fiber sprouting and synapse formation after status epilepticus in rats: visualization after retrograde transport of biocytin / M. M. Okazaki, D. A. Evenson, J. V. Nadler // *J. Comp. Neurol.* - 1995. - Vol. 352, N 4. - P. 515-534.
359. Lowenstein D. H. Dentate granule cell layer collagen explant cultures: spontaneous axonal growth and induction by brain-derived neurotrophic factor or basic fibroblast growth factor / D. H. Lowenstein, L. Arsenault // *Neuroscience*. - 1996. - Vol. 74, N 4. - P. 1197-1208.
360. A nerve growth factor peptide retards seizure development and inhibits neuronal sprouting in a rat model of epilepsy / K. Rashid, C. E. van der Zee, G. M. Ross [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. - 1995. - Vol. 92, N 21. - P. 9495-9499.
361. Holtzman D. M. Selective inhibition of axon outgrowth by antibodies to NGF in a model of temporal lobe epilepsy / D. M. Holtzman, D. H. Lowenstein // *J. Neurosci.* - 1995. - Vol. 15, N 11. - P. 7062-7070.
362. Nerve growth factor accelerates seizure development, enhances mossy fiber sprouting, and attenuates seizure-induced decreases in neuronal density in the kindling model of epilepsy / B. Adams, M. Sazgar, P. Osehobo [et al.] // *J. Neurosci.* - 1997. - Vol. 17, N 14. - P. 5288-5296.
363. Nadler J. V. The recurrent mossy fiber pathway of the epileptic brain / Nadler J. V. // *Neurochem. Res.* - 2003. - Vol. 28, N 11. - P. 1649-1658.
364. A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory / J. S. Snyder, N. S. Hong, R. J. McDonald, J. M. Wojtowicz // *Neuroscience*. - 2005. - Vol. 130, N 4. - P. 843-852.
365. Becker S. A computational principle for hippocampal learning and neurogenesis / S. Becker // *Hippocampus*. - 2005. - Vol. 15, N 6. - P. 722-738.
366. Doetsch F. Young and excitable: the function of new neurons in the adult mammalian brain / F. Doetsch, R. Hen // *Curr. Opin. Neurobiol.* - 2005. - Vol. 15, N 1. - P. 121-128.
367. Kempermann G. Functional significance of adult neurogenesis / G.

- Kempermann, L. Wiskott, F. H. Gage // *Curr. Opin. Neurobiol.* - 2004. - Vol. 14, N 2. - P. 186-191.
368. Schinder A. F. A hypothesis about the role of adult neurogenesis in hippocampal function / A. F. Schinder, F. H. Gage // *Physiology (Bethesda)*. - 2004. - Vol. 19. – P. 253-261.
369. Simulated apoptosis/neurogenesis regulates learning and memory capabilities of adaptive neural networks / R. A. Chambers, M. N. Potenza, R. E. Hoffman, W. Miranker // *Neuropsychopharmacology*. - 2004. - Vol. 29, N 4. - P. 747-758.
370. Vezzani A. Inflammation and epilepsy / A. Vezzani // *Epilepsy Curr.* - 2005. - Vol. 5, N 1. - P. 1-6.
371. Крыжановский Г. Н. Генераторные, детерминантные и системные механизмы расстройств центральной нервной системы / Г. Н. Крыжановский // *Журн. невропатол. психиатр.* - 1990. - Т. 90, Вып. 10. - С. 3-10.
372. Волошин М. Я. Электрофизиологические методы исследования головного мозга в эксперименте / М. Я. Волошин. – К. : Наукова думка, 1987. - 192 с.
373. Ноздрачев А. Д. Исследование функций головного мозга / А. Д. Ноздрачев, Е. Л. Поляков, А. В. Гнетов. - Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1987. - 160с.
374. Majkowsky J. Kindling: a model for epilepsy and memory/ J. Majkowsky // *Acta Neurol. Scand.* - 1986. - Vol. 74, Suppl. 109. - P. 97-108.
375. Peterson S. L. Neurotransmitter and neuromodulator function in the kindled seizure and state / S. L. Peterson, T. E. Albertson // *Prog. Neurobiol.* - 1982. - Vol. 19, N 4. - P. 237-270.
376. Письмо комиссии по проблеме этики отношения к животным // *Успехи физиол. наук.* – 1993. - Т. 24, № 4. - С. 108.
377. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О., Бурешова Д. Хьюстон. - М. : Высшая школа, 1991. - 400 с.
378. Racine R. J. Modification of seizure activity by electrical stimulation. I. After-discharge threshold / R. J. Racine // *EEG Clin. Neurophysiol.* – 1972. – Vol. 32, N 3. – P. 269-279.

379. Leite J. P. Spontaneous recurrent seizures in rats: An experimental model of partial epilepsy / J. P. Leite, Z. A. Bortolotto, E. A. Cavalheiro // *Neurosci. Behav. Rev.* - 1990. – Vol. 14. – P. 511–517.
380. Шандра О. А. Вплив ушкодження структур мозку каїновою кислотою на судорожні реакції тварин, що перенесли черепно-мозкову травму / О. А. Шандра, Л. С. Годлевський, Г. О. Волохова // *Фізіол. журн.* – 1993. – Т. 56, № 2-3. – С. 8-14.
381. Ben-Ari Y. Kainate, a double agent that generates seizures: two decades of progress / Y. Ben-Ari, R. Cossart // *Trends Neurosci.* - 2000. - Vol. 23, N 11. - P. 580-587.
382. Olney J. W. Kainic acid: a powerful neurotoxic analogue of glutamate / J. W. Olney, V. Rhee, O. L. Ho // *Brain Res.* - 1974. - Vol. 77, N 3. - P. 507-512.
383. Cavalheiro E. A. Long-term effects of intrahippocampal kainic acid injection in rats: a method for inducing spontaneous recurrent seizures / E. A. Cavalheiro, D. A. Riche, G. Le Gal La Salle // *EEG Clin. Neurophysiol.* - 1982. - Vol. 53, N 6. - P. 581-589.
384. Woodbury D. M. Convulsant drug: Mechanisms of action / D. M. Woodbury // *Antiepileptic drugs: Mechanism of action.* - N. Y. : Raven Press, 1980. - P. 249-303.
385. Acute effects of sodium valproate and gamma-vinyl GABA on regional amino acid metabolism in the rat brain: incorporation of 2-[14C]glucose into amino acids / A. G. Chapman, K. Riley, M. C. Evans, B. S. Meldrum // *Neurochem. Res.* – 1982. – Vol. 7, N 9. – P. 1089-1105.
386. Caccia S. Effect of the anticonvulsant denzimol on the disposition of diazepam in the rat / S. Caccia, L. Conforti, I. Conti // *J. Pharm. Pharmacol.* – 1986. – Vol. 38, N 6. – P. 469-472.
387. Effect of combined GABA-ergic and dopaminergic stimulation on the action of some antiepileptic drugs in pentetrazol-induced convulsions / Z. Kleinrok, S. J. Czuczwar, M. Kozicka, A. Zarkowski // *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* – 1981. – Vol. 33, N 1. – P. 13-23.
388. Gallagher B. B. Clinical pharmacology and rational prescribing / B. B. Gallagher // *Epilepsia.* – 1982. – Vol. 23, Suppl. 1. – S. 19-28.

389. Inhibitory and inducing effects of denzimol on carbamazepine metabolism in the rat / I. Conti, G. Guiso, R. Urso, S. Caccia // *Pharmacology*. – 1987. – Vol. 35, N 5. – P. 241-248.
390. Pentoxifyllin inhibits lipopolysaccharide- induced serum tumor necrosis factor and mortality / P. Noel, S. Nelson, R. Bokulic [et al.] // *Life Sci*. - 1990. – Vol. 47. - P. 1023-1029.
391. Schade U. F. Pentoxifylline increases survival in murine endotoxin shock and decreases formation of tumor necrosis factor / U. F. Schade // *Circ. Shock*. - 1990. - Vol. 31. - P. 171-181.
392. Effects of calcium blockers combination with potent antiepileptics / K. Nishikawa, S. R. Reddigari, M. Siverberg [et al.] // *Biochem. Pharmacol*. - 1992. - Vol. 43, N 6. - P. 1361-1371.
393. *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*. - / L. Kruger, S. Saporta, W. Larry (Eds.). - Cambridge University Press, 1995. -299 p.
394. Индивидуальные особенности поведения, обучения и адаптации крыс к экстремальным воздействиям / Ж. Г. Александрова, Н. Б. Суворов, Ю. Н. Шалин, В. Н. Цыган // *Физиол. журн. СССР*. - 1984. -Т. 70, № 9. - С. 1294-1300.
395. 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.
396. Nielsen B. L. Effects of ambient temperature and early open-field response on the behaviour, feed intake and growth of fast- and slow-growing broiler strains / B. L. Nielsen // *Animal*. – 2012. – Vol. 6, N 9. – P. 1460-1468.
397. Vrijmoed-de Vries M. C. Differential effects of striatal injections of dopaminergic, cholinergic and GABAergic drugs upon swimming behavior of rats / M. C. Vrijmoed-de Vries, A. R. Cools // *Brain Res*. - 1986. - Vol. 364, № 1. - P. 77-90.
398. Шандра А. А. Формирование двигательных программ при фармакологическом киндлинге / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. М.

- Мазарати // Физиол. журн. СССР им И. М. Сеченова. – 1990. – Т. 76, № 10. – С. 1384-1392.
399. Vrijmoed-de Vries M. C. Programming motor and non-motor behaviour: Role of striatum in animals / M. C. Vrijmoed-de Vries. – Amsterdam : Krips Repro Meppel, 1985. -262 p.
400. Kleim J. A. Functional reorganization of the rat motor cortex following motor skill learning / J. A. Kleim, S. Barbay, R. J. Nudo // J. Neurophysiol. – 1998. – Vol. 80. – P. 3321–3325.
401. Герасимов А. Н. Медицинская статистика / А. Н. Герасимов. – М. : МИА, 2007. – 480 с.
402. Гублер Е. В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е. В. Гублер, А. А. Генкин. Л. : Медицина, 1973. -141 с.
403. Tumani H. Biochemical markers of autoimmune diseases of the nervous system / H. Tumani, J. Brettschneider // Curr. Pharm. Des. – 2012. – Vol. 18, N 29. – P. 4556-4563.
404. A dysbalanced immune system in cryptogenic Lennox-Gastaut syndrome / B. G. van Engelen, C. M. Weemaes, W. O. Renier [et al.] // Scand. J. Immunol. – 1995. – Vol. 41, N 2. - P. 209-213.
405. Indicators of inflammation after recent tonic-clonic epileptic seizures correlate with plasma interleukin-6 levels / J. Peltola, J. Laaksonen, A. M. Haapala [et al.] // Seizure. - 2002. – Vol. 11. – P. 44–46.
406. Interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in cerebrospinal fluid from patients with recent tonic-clonic seizures / J. Peltola, J. Palmio, L. Korhonen [et al.] // Epilepsy Res. - 2000. – Vol. 41. – P. 205–211.
407. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus / M. G. De Simoni, C. Perego, T. Ravizza [et al.] // Eur. J. Neurosci. - 2000. – Vol. 12. – P. 2623–2633.
408. Ravizza T. Status epilepticus induces time-dependent neuronal and astrocytic expression of IL-1 receptor type-I in the rat limbic system / T. Ravizza, A. Vezzani // Neurosci. - 2006. – Vol. 137, N 1. – P. 301-308.

409. Loscher W. Strategies in antiepileptic drug development: is rational drug design superior to random screening and structural variation? / W. Loscher, D. Schmidt // *Epilepsy Res.* - 1994. - Vol. 17, N 2. - P. 95-134.
410. Классификация последствий ЧМТ / Л. Б. Лихтерман, А. А. Потапов, А. Д. Кравчук, В. А. Охлопков // *Неврол. журн.* - 1998. - Т. 3, № 3. - С. 12-15.
411. Макаров А. Ю. Последствия ЧМТ и их классификация / А. Ю. Макаров // *Неврол. журн.* - 2001. - Т. 6, № 2. - С. 38-42.
412. Волохова Г. А. Роль травматического повреждения головного мозга в патогенезе эпилептического синдрома : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук : спец. 14.03.04 «Патологическая физиология» / Г. А. Волохова. – Одесса, 1995. – 24 с.
413. Особливості посттравматичної судомної активності у молодих щурів / Г. О. Волохова, Б. А. Насібулін, Н. А. Черненко [та ін.] // *Одеський мед. журн.* - 2003. - Т. 3, № 2. - С. 94-99.
414. Шандра А. А. Эффекты введения каиновой кислоты в лимбические образования и стриатум на судорожные реакции у крыс после черепно-мозговой травмы / А. А. Шандра, Г. А. Волохова, Л. С. Годлевский // *Физиол. журн.* - 1993. - Т. 39, № 2-3. - С. 7-12.
415. Mosche S. L. Kindling / S. L. Mosche, N. Ludwig // *Recent Advances of Epilepsy* / Ed. by T. A. Pedley, P. S. Meldrum. – Edinburgh : Churchill, Livingstone, 1988. - P. 21-44.
416. Черненко Н. А. Особливості формування хронічної епілептичної активності у щурів раннього та пізнього постнатального віку / Н. А. Черненко // *Одеський мед. журн.* - 2002. - № 6. - С. 32-35.
417. 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.
418. 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.
419. 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, N1-2. – P. 93–107.
420. Penfield W. *The cerebral cortex of man* / W. Penfield, T. Rasmussen. – N. Y. : Macmillan, 1950. – 434 p.
421. fMRI evidence for an inverted face representation in human somatosensory cortex / P. Servos, S. A. Engel, J. Gati [et al.] // *Neuroreport* – 1999. – Vol. 10. – P. 1393–1395.
422. Alteration of the cortical motor map in a patient with intractable focal seizures / F. A. Lado, A. D. Legatt, P. A. La Sala [et al.] // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* – 2002. – Vol. 72. – P. 812–815.
423. Handedness shift as a consequence of motor cortex reorganization after early functional impairment in left temporal lobe epilepsy: an fMRI case report / [P. Chlebus, M. Brazdil, P. Hlustik et al.] // *Neurocase* – 2004. – Vol. 10. - P. 326 – 329.
424. Kelly M. E. Cortical spreading depression reversibly disrupts convulsive motor seizure expression in amygdala-kindled rats / M. E. Kelly, R. A. Battye, D. C. McIntyre // *Neuroscience.* – 1999. - Vol. 91, N.1. – P. 305–313.
425. McIntyre D. C. Long-lasting changes in the origin of spontaneous discharges from amygdala-kindled rats: piriform vs perirhinal cortex in vitro / D. C. McIntyre, J. R. Plant // *Brain Res.* - 1993. - Vol. 624. - P. 268–276.
426. Dopamine characteristics in different rat genotypes: the relation to absence epilepsy / N. M. de Bruin, E. L. van Luijtelaar, S. J. Jansen [et al.] // *Neurosci. Res.* - 2000. - Vol. 38, N 2. - P. 165-173.
427. Loscher W. Studies on the involvement of dopamine D-1 and D-2 receptors in the anticonvulsant effect of dopamine agonists in various rodent models of epilepsy / W. Loscher, S. J. Czuczwar // *Eur. J. Pharmacol.* - 1986. - Vol. 128, N 1-2. - P. 55-65.
428. Graf M. Delta-sleep inducing peptide (DSIP): an update / M. Graf, A. J. Kastin // *Peptides.* - 1986. - Vol. 7, N 8. - P. 1165-1187.
429. Young A. M. Antagonism of the effects of DSIP by naloxone in rats / A. M. Young, B. J. Key // *Neuropharmacol.* - 1985. - Vol. 23, N 1-2. - P. 1347-1350.

430. Судаков К. В. Антистрессорные эффекты пептида, вызывающего дельта-сон / К. В. Судаков // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 1991. – Т. 77, №3. - С. 1-13
431. Хронобиологический эффект дельта сон-индуцирующего пептида и система ГАМК в мозгу крысы / А. М. Менджерицкий, Н. И. Ускова, И. О. Чораян, И. И. Михалева // Нейрохимия. - 1990. - Т. 9, № 2. - С. 253-258.
432. Адрианов О. С. Пептид дельта-сна в условиях экспериментальной патологии / О. С. Адрианов, Н. С. Попова, Е. Л. Доведова // II Всес. конф. по нейронаукам. - Тез. докл. – К., 1988. - С. 86-87.
433. Влияние дельта сон- индуцирующего пептида на межцентральные интегративные процессы при экспериментальной эпилепсии / О. С. Адрианов, Р. Весков, Б. Янкович, Л. Ракич // Бюл. эксперим. биол. мед. - 1989. - Т. 108. - С. 147-150.
434. Дельта-сон индуцирующий пептид и его роль в модуляции эпилептической активности / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, И. И. Михалева [и др.] // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. - 1993. - Т. 79, № 2. - С. 16-30.
435. DSIP and analogs: extra sleep actions / I. A. Prudchenko, I. I. Mikhaleva, A. A. Shandra, L. S. Godlevsky // J. Sleep Res. – 1992. – Vol. 1, Suppl. 1. – P. 372.
436. Михалева И. И. Пептид дельта-сна (DSIP) как потенциальный лекарственный препарат антистрессорного и адаптагенного действия / И. И. Михалева, И. А. Прудченко // Механизмы адаптации животных и растений к экстремальным факторам среды. – Тез. докл. – Ростов-на-Дону, 1990. – С. 145-146.
437. Роль дельта-сон индуцирующего пептида в формировании нейропатологических синдромов / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, Р. С. Вастьянов [и др.] // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 1995. - Т. 81, № 9. – С. 13-24.
438. Влияние пептида дельта-сна на судорожную активность при коразоловом киндлинге / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, Г. Н. Крыжановский [и др.] // Бюл. эксперим. биол. мед. - 1988. - Т. 106, № 9. - С. 269-271.

439. Влияние пептида дельта-сна на эпилептическую активность в коре большого мозга крыс и кошек / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский [и др.] // Бюл. эксперим. биол. мед. - 1987. - Т. 104, № 11. - С. 582-585.
440. Паненко А. В. Роль пептидергических механизмов ретикулярной части черной субстанции в регуляции поведения и эпилептической активности: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук : спец. 14.00.16 «Патологическая физиология» / А. В. Паненко. – М., 1993. – 16 с.
441. A novel analgesic dipeptide from bovine brain is a possible Met-enkephalin releaser / H. Takagi, H. Shiomi, H. Ueda, H. Amano // Nature. – 1979. – Vol. 282. – P. 410-412.
442. Rackham A. Kyotorphin (tyrosinearginine): Further evidence for indirect opiate receptor activation / A. Rackham, P.L. Wood, R. L. Hudgin // Life Sci. – 1982. – Vol. 30. – P. 1337-1342.
443. Non-opioid analgesia of the neuropeptide, neokyotorphin and possible mediation by inhibition of GABA release in the mouse brain / H. Ueda, M. Ge, M. Satoh, H. Takagi // Peptides. – 1987. – Vol. 8. – P. 905-909.
444. Synthesis and analgesic activity of neo-kyotorphin analogs / K. Kitagawa, N. Kawai, S. Kiyama [et al.] // Chem. Pharmacol. Bull. – 1985. – Vol. 33. – P. 377-382.
445. Rackham A. Kyotorphin (tyrosinearginine): Further evidence for indirect opiate receptor activation / A. Rackham, P. L. Wood, R. L. Hudgin // Life Sci. – 1982. – Vol. 30. – P. 1337-1342.
446. Gale K. Role of the substantia nigra in GABA-mediated anticonvulsant actions / K. Gale // Advances in neurology. – Vol. 44 / A. V. Delgado-Escueta, A. A. Ward, D. M Woodbury, R. J. Porter (Eds.). – N. Y. : Raven Press, 1986. – P. 343-364.
447. Effects of intranigral application of clinically effective anticonvulsants on electroshock-induced seizures / L. S. Chen, D. S. Millington, D. A. Maltbay, J. O. McNamara // Neuropharmacology. – 1989. – Vol. 28. – P. 781-786.
448. Excitatory neurotransmission within substantia nigra pars reticulata regulates threshold for seizures produced by picrocarpine 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.
449. Garant D. S. Substance P antagonists in substantia nigra are anticonvulsants / D. S. Garant, M. J. Iadorola, K. Gale // *Brain Res.* – 1986. – Vol. 382. – P. 372-379.
450. King P. H. Microinjection of benzodiazepine into substantia nigra elevated kindled seizure threshold / P. H. King, Ch. Shin, H. H. Mansbach // *Brain Res.* – 1987. – Vol. 423. – P. 261-268
451. Role of substantia nigra in anticonvulsive and antiaggressive effects of diazepam / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, A. M. Mazarati, R. F. Makulkin // *Neurophysiology.* – 1990. – Vol. 22. – P. 482-485.
452. Myslobodsky M. Convulsive-specific architecture of the postictal behavioral syndrome in the rat / M. Myslobodsky, O. Kofman, M. Mintz // *Epilepsia.* - 1981. - Vol. 27, N 5. - P. 559-568.
453. Martin D. Kindling enhances sensitivity of CA3 hippocampal pyramidal cells to NMDA / D. Martin, J. O. McNamara, J. V. Nadler // *J. Neurosci.* - 1992. - Vol. 12, N 5. - P. 1928-1935.
454. Olney J. W. Seizure-related brain damage induced by cholinergic agents / J. W. Olney, T. de Gubareff, J. Labruyere // *Nature.* - 1983. – Vol. 301, N 5900. – P. 520-522.
455. 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.
456. Barry J. J. Affective disorders in epilepsy / J. J. Barry, A. Lembke, N. Huynh // *Psychiatric Issues in Epilepsy: A Practical Guide to Diagnosis and Treatment* / Ed. by A. Ettinger, A. Kanner. – Philadelphia : Lippincott/Williams and Wilkins, 2001. – P. 45-71.
457. Major depression is a risk factor for seizures in older adults / D. Hesdorffer, W. Hauser, J. Annegers, G. Cascino // *Ann. Neurol.* – 2000. – Vol. 47. – P. 246-249.
458. Causes and consequences of pathogenic processes in evolution: implications from experimental epilepsy in animals / L. S. Godlevsky, G. van Luijtelaaar,

- A. A. Shandra, A. M. L. Coenen // *Medical Hypothesis* (Lond.). - 2002. - Vol. 58, N 3. - P. 237-243.
459. Engel J. Jr. Introduction to temporal lobe epilepsy / J. Jr. Engel // *Epilepsy Res.* – 1996. – Vol.26. – P. 141-150.
460. Sloan D. M. Changes in midline thalamic recruiting responses in the prefrontal cortex of the rat during the development of chronic limbic seizures / D. M. Sloan, E. D. III Bertram // *Epilepsia.* – 2009. – Vol. 50, N 3. – P. 556-565.
461. Persinger M. A. Dissociation between conditioned taste aversion and radial maze learning following seizure-induced multifocal brain damage: quantitative tests of serial vs parallel circuit models of memory / M. A. Persinger, Y. R. Bureau, O. Peredery // *Physiol Behav.* – 1994. – Vol. 56, N 2. – P. 225-235.
462. Подвійність функціональної посилки антиепілептичної системи в механізмах епілептизації кори головного мозку / О. А. Шандра, Л. С. Годлевський, Р. С. Вастьянов [та ін.] // *Одеський мед. журн.* - 1998. - № 6. - С. 64-69.
463. Влияние электростимуляции каудального ретикулярного ядра моста на очаги эпилептической активности в коре головного мозга / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Р. Ф. Макулькин [и др.] // *Бюл. эксперим. биол. мед.* - 1980. - Т. 90, № 11. - С. 533-536.
464. Шандра А. А. Дизрегуляция антиэпилептической системы / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский // *Дизрегуляционная патология нервной системы* / Под ред. Е. И Гусева, Г. Н. Крыжановского. – М. : Медицинское информационное агентство, 2009. – С. 246-274.
465. Babb T. L. Fastigio-bulbar and dentato-thalamic influences on hippocampal cobalt epilepsy in the cat / T. L. Babb, A. G. Mitchell, P. H. Crandall // *EEG Clin. Neurophysiol.* - 1974. - Vol. 3-6, N 1. - P.141-154.
466. Cooke P. M. Some cerebellar influences on electrically induced cerebral seizures / P. M. Cooke, R. S. Snider // *Epilepsia.* - 1955. - Vol. 4, N 1. - P. 19-28.
467. Guyton A. C. *Medical Physiology* / A. C. Guyton, J. E. Hall. - N.Y., Chichester, London, Toronto : W.B.Saunders Co., 1996. - 1024 p.

468. Cerebellum stimulation in alumina gel monkey model: Inverse relationship between clinical seizures and EEG interictal bursts / J. S. Lockard, G. A. Ojemann, W. C. Congdon [et al.] // *Epilepsia*. - 1979. - Vol. 20, N 2. - P. 223-234.
469. Феназепам / С. А. Андронати, Г. Я. Авруцкий, А. В. Богатский [и др.]. - К. : Наукова думка, 1982. - 285 с.
470. Бехтерева Н. П. Здоровый и больной мозг человека / Н. П. Бехтерева. - Л. : Наука, 1980. - 208 с.
471. Крыжановский Г. Н. Роль гиперактивных детерминатных структур в создании функциональных комплексов судорожной активности в коре головного мозга / Г. Н. Крыжановский, Р. Ф. Макулькин, А. А. Шандра // *бюл. эксперим. биол. мед.* - 1977. - Т. 83, № 1. - С. 5-10.
472. Крыжановский Г. Н. Принцип детерминанты и образование комплексов эпилептической активности / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра // *Журн. невропатол. психиатр.* - 1978. - Т. 78, № 4. - С. 547-536.
473. Крыжановский Г. Н. К механизму образования комплексов эпилептической активности в коре головного мозга под влиянием детерминатного очага / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Д. В. Бойко // *Бюл. эксперим. биол. мед.* - 1978. - Т. 86, № 7. - С. 14-19.
474. Шандра А. А. Функциональные взаимоотношения между детерминантными и другими очагами эпилептической активности, созданными в коре головного мозга / А. А. Шандра, Д. В. Бойко // *Бюл. эксперим. биол. мед.* - 1978. - Т. 86, № 8. - С. 142-147.
475. The role of TNF- α in amygdala kindled rats / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov [et al.] // *Neurosci. Res.* - 2002. - Vol. 42. - P. 147-153.
476. Cytokines and absence seizures in a genetic rat model / G. van Luijtelaar, S. Lyashenko, R. Vastyanov [et al.] // *Neurophysiology*. - 2012. - Vol. 43, N 6. - P. 478-486.
477. Вастьянов Р. С. Вплив фактора некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-1-бета на експериментальний судомний синдром / Р. С. Вастьянов, О. А. Шандра // *Вісник психіатр. психофармакол.* - 2007. - № 2 (12). - С. 30-38.

478. Profound increase in sensitivity to glutamatergic but not cholinergic agonist induced seizures in transgenic mice with astrocyte production of IL-6 / H. Samland, S. Huitron-Resendiz, E. Masliah [et al.] // *J. Neurosci. Res.* - 2003. - Vol. 73. - P. 176-187.
479. Yuhas Y. Bidirectional concentration-dependent effects of tumor necrosis factor alpha in *Shigella dysenteriae*-related seizures / Y. Yuhas, A. Weizman, S. Ashkenazi // *Infect. Immun.* - 2003. - Vol. 71.- P. 2288-2291.
480. Allan S. M. Cytokines and acute neurodegeneration / S. M. Allan, N. J. Rothwell // *Nat. Rev. Neurosci.* - 2001. - Vol. 2. - P. 734-744.
481. Schobitz B. Gene expression and function of interleukin-1, interleukin-6 and tumornecrosis factor in the brain / B. Schobitz, E. Ron de Kloet, F. Holsboer // *Prog. Neurobiol.* - 1994. - Vol. 44. - P. 397-432.
482. Ekdahl C.T. Brain inflammation and adult neurogenesis: the dual role of microglia / C.T. Ekdahl, Z. Kokaia, O. Lindvall // *Neuroscience.* – 2009. – Vol. 158, N 3. – P. 1021-1029.
483. Monje M. L. Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis / M. L. Monje, H. Toda, T. D. Palmer // *Science.* -2003. -Vol. 302.- P. 1689-1690.
484. Ransohoff R. M. Three or more routes for leukocyte migration into the central nervous system / R. M. Ransohoff, P. Kivisakk, G. Kidd // *Nat. Rev. Immunol.* - 2003. - Vol. 3. - P. 569-581.
485. Akira S. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity / S. Akira, K. Takeda, T. Kaisho // *Nat.Immunol.* - 2001. - Vol. 2. - P. 675-680.
486. Cooperation between Toll-like receptor 2 and 4 in the brain of mice challenged with cell wall components derived from gram-negative and grampositive bacteria / Laflamme N., Echchannaoui H., Landmann R. [et al.] // *Eur. J. Immunol.* -2003. -Vol.33. -P. 1127-1138.
487. Rivest S. Molecular insights on the cerebral innate immune system / S. Rivest // *Brain. Behav. Immun.* - 2003. - Vol. 17. - P. 13-19.
488. Chakravarty S. Toll-like receptor 4 on nonhematopoietic cells sustains CNS inflammation duringendotoxemia, independent of systemic cytokines / S. Chakravarty, M. Herkenham // *Neurosci.* - 2005. - Vol. 25. - P. 1788-1796.

489. How the blood talks to the brain parenchyma and the paraventricular nucleus of the hypothalamus during systemic inflammatory and infectious stimuli / S. Rivest, S. Lacro L. Vallieres [et al.] // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* - 2000. - Vol. 223. - P. 22-38.
490. Webb A. A. The blood-brain barrier and its role in inflammation / A. A. Webb, G. D. Muir // *J. Vet. Intern. Med.* - 2000. - Vol. 14. - P. 399-411.
491. Krizanac-Bengez L. The cerebral vasculature as a therapeutic target for neurological disorders and its role of shear stress in vascular homeostasis and pathophysiology / L. Krizanac-Bengez, M. R. Mayberg // *Neurol. Res.* - 2004. - Vol. 26. - P. 846-853.
492. Pachter J. S. The blood-brain barrier and its role in immune privilege in the central nervous system / J. S. Pachter, H. E. de Vries, Z. Fabry // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* - 2003. - Vol. 62. - P. 593-604.
493. Lossinsky A. S. Structural pathways for macromolecular and cellular transport across the blood-brain barrier during inflammatory conditions / A. S. Lossinsky, R. R. Shivers // *Histol. Histopathol.* - 2004. - Vol. 19. - P. 535-564.
494. Inflammatory reactions in human medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis / A. Crespel, P. Coubes, M. C. Rousset [et al.] // *Brain Res.* - 2000. - Vol. 952. - P. 159-169.
495. The balance of inhibitory and excitatory cytokines is differently regulated in vivo and in vitro among therapy resistant epilepsy patients / J. Hulkkonen, E. Koskikallio, S. Rainesalo [et al.] // *Epilepsy Res.* - 2004. - Vol. 5. - P. 199-205.
496. Brunson K. L. ACTH treatment of infantile spasms: mechanisms of its effects in modulation of neuronal excitability / K. L. Brunson, S., Avishai-Eliner T. Z. Baram // *Int. Rev. Neurobiol.* - 2002. - Vol. 49. - P. 185-197.
497. Temkin N. R. Antiepileptogenesis and seizure prevention trials with antiepileptic drugs: meta-analysis of controlled trials / N. R. Temkin // *Epilepsia.* - 2001. - Vol. 42, N 4. 515-524.
498. Löscher W. New Horizons in the development of antiepileptic drugs: Innovative strategies / W. Löscher, D. Schmidt // *Epilepsy Res.* - 2006. - Vol. 69, N 3. - P. 183-272.

499. Shandra A. A. Epileptic and antiepileptic systems interrelation as the systemic indicator of the complexity of epileptic activity manifestation / A.A. Shandra, L.S. Godlevsky, R.S. Vastyanov // Pan-Brain Abnormal Neural Network in Epilepsy / Ed. by Feng Ru Tang/. – Singapore : Research Signpost, 2009. – P. 99-120.