

## МОДЕЛІ Й ОСНОВНІ ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ХРОНІЧНОЇ ЕПІЛЕПСІЇ

*Одеський державний медичний університет*

Незважаючи на наявність великої кількості експериментальних моделей епілепсії, що використовуються як для дослідження патофізіологічних механізмів розвитку епілептичної активності (ЕпА), так і для проведення фармакологічних досліджень [1; 2], існують усього кілька моделей хронічного епілептичного синдрому. Їх поділяють на моделі епілептичного синдрому, відтворені з допомогою електричних або хімічних впливів, генетичні та *in vitro* моделі.

Електростимуляційні моделі включають кіндлінгову модель і модель, за якої судомі розвиваються спонтанно після тривалого епілептичного статусу, спричиненого безупинною електростимуляцією гіпокампа або мигдалика.

### 1. Модель кіндлінгу

Кіндлінг являє собою модель епілепсії, яку відтворюють з допомогою повторних первинно підпорогових електричних стимуляцій таких лімбічних структур мозку, як мигдалик або гіпокамп [3], що призводить до виникнення і прогресивного збільшення судомної активності з розвитком генералізованих тоніко-клонічних нападів. Протягом останніх 25 років багато дослідників застосовували кіндлінг як модель для дослідження механізмів епілептогенезу, внаслідок чого з'явилося понад 800 публікацій, присвячених різноманітним аспектам кіндлінгу. Детальну характеристику кіндлінгової моделі наведено в оглядах літератури останніх років [4; 5]. Поведінкові й електрографічні прояви кіндлінгу багато в чому відповідають клінічним парціальним вторинно-генералізованим

формам епілептичного синдрому. Кіндлінгова модель дозволяє дослідникам точно контролювати початок виникнення судом, їх розвиток і тривалість. Істотною особливістю кіндлінгу як моделі хронічної епілептизації є те, що стан сформованої підвищеної судомної готовності зберігається протягом тривалого (місяці, роки) часу після припинення епілептогенних впливів, а також проявляється розвитком дегенеративних змін нейрональних структур у лімбічних утвореннях мозку та формуванням спонтанних епілептичних нападів [6].

Кіндлінг може бути відтворений також з допомогою повторних введень, здійснених як системним шляхом, так і локально у різні структури мозку різних хімічних речовин, таких як пентилентетразол, кокаїн, лідокаїн, пікротоксин, пеніцилін, карбахол тощо. Кіндлінг, відтворений за допомогою цих та інших хімічних речовин, дістав назву хімічного кіндлінгу [7]. Повторні електрошокові судомі (ЕШС) також призводили до збільшення їх інтенсивності. Феномен, подібний до кіндлінгу, виникає також за наявності ЕШС, спричинених подразненням рогівки ока у щурів і мишей. Проте класичний варіант кіндлінгу зумовлений повторною електростимуляцією різних структур мозку.

### 2. Патофізіологічні механізми кіндлінгу

Незважаючи на багаторічні дослідження, патофізіологічні механізми кіндлінгу залишаються багато в чому не з'ясованими. В лабораторії Racine отримано дані, які доводять, що

піриформна, енторинальна кора і мигдалик відіграють роль генераторних структур у розвитку кіндлінгу. E. W. Kairiss et al., а також D. C. McIntyre, R. K. Wong виявили, що в структурах амігдаларно-піриформного комплексу є пейсмейкерна група нейронів, яка відіграє важливу роль у синхронізації ЕпА під час кіндлінгу і здатна спонтанно генерувати епілептиформні післярозряди [8; 9]. D. C. McIntyre, R. J. Racine вважають, що такі нейрони локалізовані скоріш у піриформній корі, аніж у мигдалику, проте їх точна локалізація залишається невідомою.

Згідно з іншою гіпотезою, розвиток епілептичного синдрому при кіндлінгу, відтворюваному системним введенням коразолу або пікротоксину, зумовлений формуванням гіперактивної детермінанти в гіпокампі [10]. С. Л. Булдакова, А. А. Шандра, Г. Н. Крыжановский і співавтори у дослідженнях *in vitro* довели, що у зрізах гіпокампа кіндлінгових мишей відзначається значне зниження порога виникнення судомного розряду в ділянці  $CA_1$  та їх тривала генерація після припинення електростимуляцій (ЕС). Такі ж дані були отримані на моделі електростимуляційного кіндлінгу. Результати електрофізіологічних досліджень I. Mody та U. Heineman (1987) на моделі ЕС-кіндлінгу на клітинному рівні свідчать про значне підвищення чутливості нейронів зубчастої звивини гіпокампа до агоністів NMDA-рецепторів. D. Martin і співавтори довели, що активація NMDA-типу рецепторів збуджуючих амінокислот у кіндлінгових щурів відзначається не

тільки у гранулярних клітинах зубчастої звивини, але й у пірамідних нейронах ділянки CA<sub>3</sub> і зберігається протягом 1–2 міс після завершення ЕС-кіндлінгу. D. Martin і співавтори припускають, що зростання потужності NMDA у кіндлінгових щурів, можливо, обумовлено підвищеною експресією NMDA-рецепторів. При цьому, на відміну від глутаматних рецепторів NMDA, ніяких змін у AMPA глутаматних рецепторів у ділянці CA<sub>3</sub> чи у NMDA або AMPA рецепторах у ділянці CA<sub>1</sub> не було відмічено. Цікавими є дані D. G. Rainnie і співавторів, які у дослідженнях *in vitro* за допомогою електрофізіологічних методів довели суттєве підвищення NMDA-рецепторних компонентів глутаматергічної передачі та зниження ГАМК-ергічної передачі при кіндлінгу. На думку авторів, зниження гальмівного контролю при кіндлінгу обумовлено зменшенням кількості гальмівних вставних нейронів у базолатеральному мигдалику. W. Kamphuis і співавтори (1991) також виявили досить тривале зниження ефектів ГАМК у пірамідних нейронах гіпокампа при кіндлінгу. Ці дані є вагомим доказом, що епілептогенез при кіндлінгу, крім підвищення активності системи збуджуючих амінокислот, обумовлений також компрометацією ГАМК-ергічних гальмівних механізмів нейронної активності в гіпокампальних утвореннях. Залишається нез'ясованим питання про стан глутаматергічної системи в неокортексі при кіндлінгу. Співробітниками нашої лабораторії доведено, що у віддаленому періоді кіндлінгу в нейронах зрізів гіпокампа спостерігається значне підвищення чутливості опіатних рецепторів до судомної дії агоністів  $\mu$ -опіатних рецепторів, що, в свою чергу, призводить до підвищення активності агоністів рецепторів збуджуючих амінокислот [11].

Важлива роль гіпокампа в епілептогенезі взагалі, і в кінд-

лінгу зокрема, визначається також нейрофізіологічними особливостями його організації. Найбільш важливими є масивна дивергенція аферентних аксонів першого і наступних порядків у гіпокампальній формації, а також наявність потужної системи полегшуючих інтернейронів, що за певних умов стимуляції призводить до лавиноподібного нарощення збудження в структурах гіпокампа. При цьому спочатку виникає підсумовування і зростання амплітуди збудливого постсинаптичного потенціалу (ЗПСП), а потім генеруються спайкові потенціали. Інтенсивність спайкової активності, що у подальшому підсилюється, сягає такого рівня, коли вона перестає йти слідом за частотою стимуляції і набуває характеру самопідтримуваного епілептичного післярозряду. Одним із факторів, який зумовлює формування епілептичних осередків (у тому числі детермінантних) у тих чи інших утвореннях мозку, є їх різна судомна готовність.

Відомо, що утворення гіпокампальної формації мають приблизно у 10 разів більш низький судомний поріг по відношенню до сенсомоторної кори. В мозочку практично неможливо викликати характерні епілептичні розряди. Одним із важливих факторів, який обумовлює різні судомні пороги мозкових утворень, є різниця в організації іон-селективних каналів мембрани. Так, W. A. Kues і F. Wunder довели, що чутливі до епілептогенних факторів K<sup>+</sup>-канали у найбільшій кількості представлені в утвореннях гіпокампа і практично відсутні в мозочку. M. Madeja і співавтори також виявили відповідність розподілу потенціал-керованих калієвих каналів і судомної чутливості відповідних утворень мозку. Найменша їх кількість була виявлена в мозочку, найбільша — в гіпокампі, проміжна — у неокортексі. Крім того, виявлено

ефаптичне міжнейрональне збудження у гранулярних і пірамідних шарах гіпокампа [12].

Нез'ясованим було питання, які інші утворення мозку залучені до розповсюдження та генералізації кіндлінг-індукованої ЕпА. Було показано, що за умов тривалих кіндлінгових стимуляцій мигдалика, а також при індукції епілептичного статусу електрографічні прояви судомної активності виникали у піриформній корі. Ці, а також інші результати дозволили зробити висновок, що піриформна кора може бути ключовою структурою у процесі генералізації судом при кіндлінгу, а її деструкція значно його утруднює. Зараз тривають подальші дослідження, в яких доведено важливу роль периринальної ділянки кори мозку як складової частини у судомній моторній сітці, що сприяє розповсюдженню епілептичних розрядів на довгастих мозок та спинальні моторні ділянки.

Дослідження характеру поширення ЕпА і вторинної генералізації ЕпА на моделі кіндлінгу мигдалика показали, що епілептиформний післярозряд швидко поширюється на інші структури лімбічної системи іпсилатеральної і контрлатеральної півкуль. На висоті розвитку кіндлінгу ЕпА поширювалася до базальних гангліїв, включаючи неостріатум, чорну речовину, а потім рееструвалася в корі головного мозку [13]. Ці дані були підтверджені в авторадіографічних дослідженнях характеру метаболічної активності мозку з допомогою 2-діоксиглюкози протягом різних фаз кіндлінгу мигдалика у щурів. Дані електроенцефалографічних досліджень, виконаних на кішках і мавпах, довели, що такий характер поширення ЕпА не залежить від виду тварин.

Встановлено, що міжпівкульові комісури переднього мозку істотно не впливають на розвиток генералізованих судом при кіндлінгу, але відігра-

ють важливу роль у «перенесенні» ЕпА (трансфер-феномен) у гомотопічні ділянки протилежної півкулі. Поширення ЕпА за типом трансфер-феномену було описане при кіндлінговій ЕС різних структур мозку.

У деяких дослідженнях робиться спроба дослідити роль різних медіаторних систем мозку в поширенні ЕпА при кіндлінгу. Так, виявлення подібності ефектів, що спостерігаються при ЕС кіндлінгу та кіндлінгу, який відтворювали з допомогою мікроін'єкцій карбахолу в мигдалик, дозволило припустити участь холінергічної системи у розвитку кіндлінгу. Існують також дані про зниження активності холінергери у деяких структурах мозку при кіндлінгових судомах, що може бути проявом компенсаторних механізмів, які впливають на рівень синтезу ацетилхоліну (АХ). З іншого боку, не виявлено змін активності ацетилхолінергери при кіндлінгу. Доведено, що знижена здатність до зв'язування мускаринових рецепторів є скороминою і неспецифічною для кіндлінгу [14]. Ймовірно, що зазначені зміни холінергічної системи є наслідком повторних судом й етіологічно не пов'язані з процесом кіндлінгу.

Проведено дослідження участі норадренергічних механізмів у розвитку кіндлінгу щодо ефектів виснаження норадреналіну, яке здійснювалося на кіндлінговій моделі. Доведено, що виснаження норадреналіну значно полегшує розвиток і вираженість кіндлінгу [15]. Проте ці зміни були неспецифічними для кіндлінгу, і подібне полегшення формування ЕпА відзначалося також при ЕШС і пентилентетразолових судамах. І. В. Ткаченко засвідчив, що ушкодження синьої плями полегшує розвиток хімічного кіндлінгу. Відмічено скороминує зниження концентрації норадреналіну і кількості  $\beta$ -адренорецепторів у структурах

мозку протягом ЕС кіндлінгу. Однак залишається нез'ясованим, чи ці зміни є результатом кіндлінгу чи самих судом.

Становить великий інтерес той факт, що формування кіндлінгу супроводжується зміною функціональної активності структур мозку, які утворюють так звану антиепілептичну систему [16]. Виявлено, що складовими частинами цієї системи є хвостате ядро, мозочок, ретикулярна частина чорної речовини, верхні горбки чотиригорбикового тіла [17; 18]. Зміна функціональної активності зазначених структур істотно модулює ЕпА при кіндлінгу [19].

У цілому наведені дані свідчать, що кіндлінг є моделлю, яка частково відповідає клінічній формі так званої скроневої мезіальної епілепсії. Проте залишається нез'ясованим, які саме клінічні форми скроневої епілепсії відображає кіндлінг. Останній не включає типових, найбільш характерних нейропатологічних змін, властивих скроневої епілепсії, таких як гіпокампальний склероз або мезіальний склероз скроневої частки мозку (зумовлений нейрональними ушкодженнями в мигдалику й енторинальній корі, а точніше у гіпокампальній звивині, та частою наявністю в анамнезі фебрильних судом у ранньому дитячому віці) [20]. При гістологічному дослідженні у гіпотрофованому гіпокампі виявляють склероз мозкової тканини, дегенерацію нейронів, розростання глії.

Протягом останніх років у дослідках механізмів епілептогенезу все більше уваги приділяється не тільки деструктивно-дегенеративним порушенням нейрональних систем, але й патологічному нейрогенезу. З'ясовано, що повторні епілептичні напади призводять до проліферації нейронів у гіпокампі зі значним зростанням щільності мохових волокон (так званий «спрутинг» синдром) і відповідним збільшенням обсягів збудження в головному

мозку [21]. На противагу цьому, при кіндлінгу в шурів не виявляють гіпокампальний склероз або ушкодження нейронів мигдалика [22]. Навіть після 300 кіндлінгових ЕС мигдалика, які призводили до розвитку спонтанних судом, не відзначалося значних ушкоджень гіпокампа, за винятком зниження кількості інтернейронів у зубчастій звивині. Таким чином, наведені дані свідчать про істотні відмінності моделі кіндлінгу від так званих постстатусних моделей хронічної ЕпА.

Методичним недоліком моделі ЕС кіндлінгу як моделі хронічної ЕпА є необхідність імплантувати електроди у такі структури скроневої частки, як мигдалик або гіпокамп, а також травматичне ушкодження мозку, яке спричинене імплантацією електродів, що може відігравати певну роль у процесі кіндлінгу. Доведено, що імплантація електродів у мигдалик *per se* створює прокіндлінговий ефект, тобто підвищує чутливість мозку до подальших ЕС і призводить до виникнення локальних епілептиформних потенціалів у гіпокампі. Механізми, що лежать в основі таких кіндлінгподібних змін, які спостерігаються після внутрішньомозкової імплантації електродів, залишаються нез'ясованими, але є припущення, що функціональні наслідки імплантації електродів у чутливі структури мозку шурів нагадують такі, що виникають у пацієнтів після відкритої черепно-мозкової травми (ЧМТ), яка, як відомо, є однією з причин розвитку скроневої епілепсії у клініці.

### **3. Моделі хронічної ЕпА після перенесеного епілептичного статусу**

Модель епілепсії, що формується після виникнення епілептичного статусу (так звані постстатусні моделі), відтворюваного шляхом самопідтримання тривалої ЕС гіпокампа або мигдалика, характеризується нейропатологічними зміна-



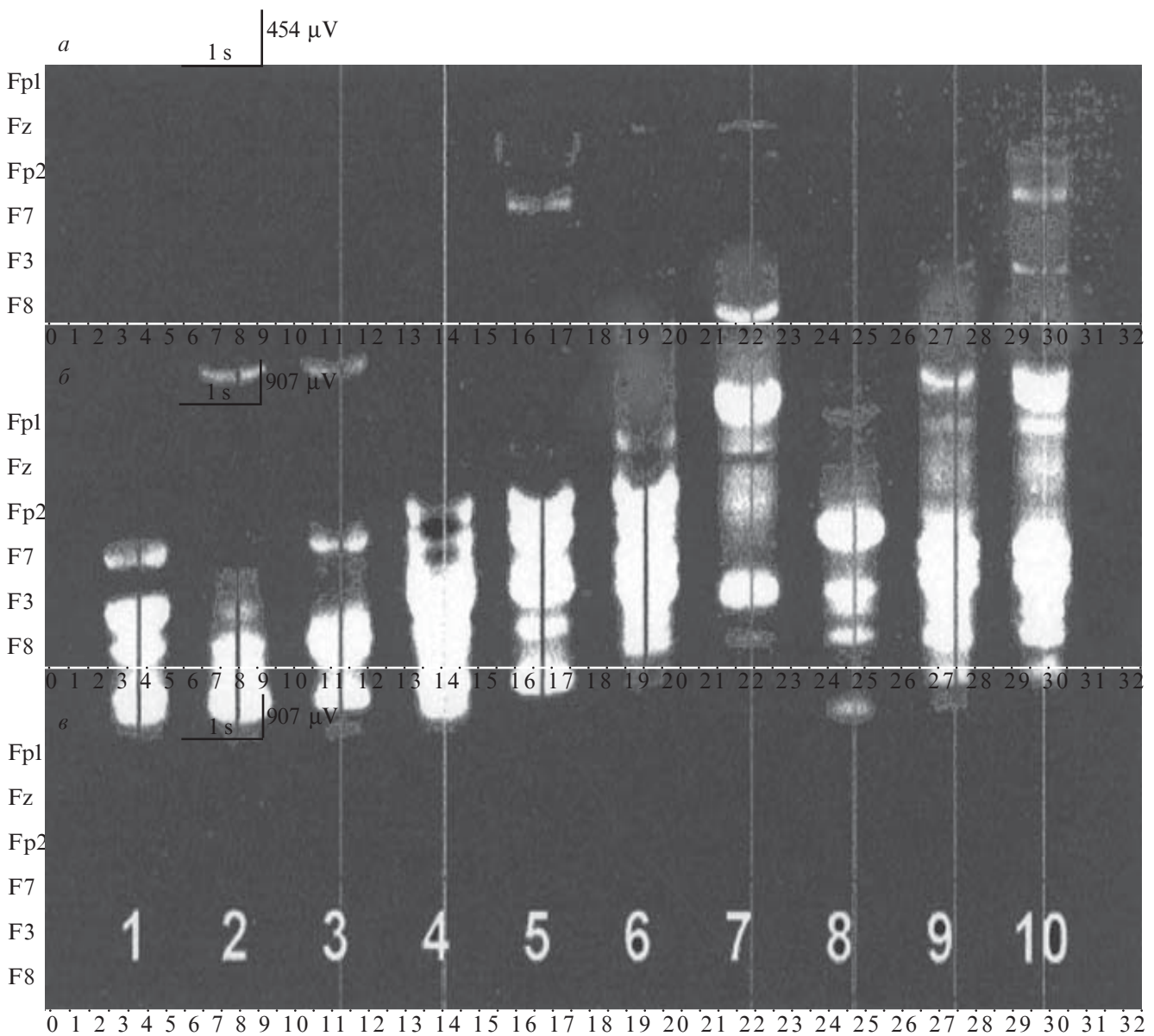
ми, подібними до медіотемпорального склерозу, виявленого у пацієнтів зі скроневою епілепсією та наявністю спонтанних судом, які розвиваються після епілептичного статусу [23]. Як правило, перші спонтанні судоми виникають після латентного періоду, що настає після епілептичного статусу, протягом 3–4 тиж. Критичну роль у їх розвитку відіграє тривалість епілептичного статусу. Щоб викликати розвиток такої хронічної ЕпА, більшість дослід-

ників не переривали епілептичний статус, і у щурів протягом багатьох годин генерувалися фокальна і генералізована ЕпА.

Така модель хронічної ЕпА розвивається після перенесеного епілептичного статусу, відтвореного з допомогою хімічної стимуляції. Так, системне або внутрішньомозкове введення структурного агоніста глутамінової кислоти, тобто збуджувального нейротоксину — каїнової кислоти (КК), щу-

рам або мишам спричинює у них судоми, які переходять в епілептичний статус [24]. Нейроморфологічні зміни, які настають після епілептичного статусу, на думку Y. Ben-Ari, Y. Ben-Ari і співавторів, багато в чому відповідають таким у хворих на скроневу епілепсію [25].

Разом з тим, сумнівна за походженням відповідність наведених моделей хронічної ЕпА до певних клінічних форм епілепсії є одним із обґрунтувань необхідності розробки нових



*Рисунок.* Зміни ЕЕГ у щурів після введення пілокарпіну (280 мг/кг): *а* — фоновая активність; *б* — через 18 хв після введення пілокарпіну; *в* — через 60 хв після введення пілокарпіну  
 Позначення: Fp1 — лобна кора; Fpz — тім'яна кора; Fp2 — потилична кора; F7 — чорна речовина; F3 — хвостате ядро; F8 — вентральний гіпокамп. Відмітка часу — 1 с. Калібровка: 454 мкВ/см (фрагмент *а*), 907 мкВ/см (фрагмент *б* і *в*)

моделей, які б набагато краще відповідали за своїми нейрофізіологічними механізмами епілептичним синдромам у клініці.

#### 4. Пілокарпін-відтворена ЕпА

Судомні ефекти від застосування АХ і фізостигміну були описані в електрофізіологічних експериментальних дослідженнях, виконаних ще в 30-х роках минулого століття (Stostrand, 1937; Miller et al., 1938; Chatfield, Dempsey, 1943; Brenner et Merrit, 1942). Forster (1945) довів, що внутрішньошлуночкове введення АХ спричиняє у кішок поведінкові й електрографічні судоми. Істотним внеском у з'ясування ролі АХ в епілептогенезі були праці Echlin (1959), Grossman (1963), Krnjovic (1969), Girgis (1981), Sheed (1983). Так, у дослідженнях Echlin (1959) на хронічно ізольованій корі у мавп було виявлене різке зростання її чутливості до локальної аплікації АХ, що й дозволило зробити припущення про значну епілептогенну роль АХ у неокортексі. Grossman (1963) довів, що локальне введення кристалів АХ або карбахолу в базолатеральне ядро мигдалика кішок викликає у них тривалі судоми, а Cohen і співавтори (1981), Shead і співавтори (1983) описали поведінкові й електрографічні судомні реакції у щурів, спричинені внутрішньомозковим введенням карбахолу.

Goddard (1969); Vosu and Wise (1975); Wasterlain, Jones (1983); Wasterlain і співавтори (1986) описали хімічний кіндлінг, відтворений з допомогою карбахоліну в щурів [26], а Girgis (1981, 1985) підтвердив участь М-холінергічних механізмів в амігдалярному кіндлінгу результатами дослідів, проведених на кроликах і мавпах.

У дослідженнях Г. М. Крижановського і співавторів (1979), О. А. Шандри (1977) було доведено, що потужний осередок ЕпА, який відтворено

за допомогою АХ, посилює активність в інших, більш слабких осередках, індукованих у неокортексі аплікаціями стрихніну і пеніциліну, об'єднує їх в один багатоосередковий функціональний комплекс ЕпА і визначає характер його активності.

Електрофізіологічні дослідження, виконані з допомогою мікроелектродної техніки, сприяли припущенню про участь АХ у нейронних механізмах епілепсії. Bernardo і D. A. Prince (1982), J. R. Hotson і співавтори (1981) довели, що АХ посилює надходження іонів  $Ca^{2+}$  і  $Na^{+}$  у нейрони, спричинюючи деполяризацію мембрани і розвиток ЕпА.

Разом з тим, одним із аргументів, що заперечують важливу роль холінергічних механізмів у епілептогенезі, до недавнього часу залишався той факт, що антихолінергічні препарати не мають протисудомної дії. Виявлено, що такі холінергічні речовини, як пілокарпін і ареколін, викликали зниження порога ЕШС, а інгібітори холінестерази збільшували чутливість гризунів до дії різних конвульсантів — пентилентетразолу, пікротоксину, стрихніну, тимчасом як уведення таких агоністів М-холінорецепторів, як атропін і скополомін, помітного впливу на вираженість судом не мало.

Протягом останніх років відзначається збільшення кількості праць, присвячених з'ясуванню ролі холінергічних механізмів у епілептогенезі. Велику увагу привернули роботи, в яких показано, що інтраамігдалярне або системне введення різних М-холіноміметичних препаратів (карбахолін, ареколін, бетанекол) призводить до виникнення тривалих судом, які поєднуються зі значним ушкодженням структур переднього мозку. У подальших дослідженнях, виконаних Е. А. Савалheiro та співавторами, виявлено, що як системне, так і внутрішньошлуночкове введення пілокарпіну великими дозами

(300–400 мг/кг —  $ED_{50}$  284 мг/кг) щурам і мишам, спричинює поведінкові й електрографічні судомні прояви. Істотним недоліком цієї моделі є висока летальність тварин — від 28 до 85 % у щурів лінії Sprague-Dowley, а за умови поєднаного введення пілокарпіну і літію вона досягає 90–95 %. Більшість тварин гинула протягом 1–24 год після введення пілокарпіну у разі триваючого епілептичного статусу. Електрографічний аналіз судомної активності, індукованої з допомогою пілокарпіну в щурів, показав, що перші прояви ЕпА виникали в гіпокампі раніше, ніж у мигдалику і неокортексі. Тимчасом D. B. Clifford і співавтори (1987) повідомили, що ЕпА у щурів після введення як пілокарпіну, так і комбінації літію-пілокарпіну починалась у вентральних відділах переднього мозку, зокрема у вентральному відділі блідої кулі і/або n. accumbens.

Дослідження у щурів метаболічної активності з допомогою 2-діоксиглюкози протягом 45 хв після введення пілокарпіну виявило збільшення метаболізму глюкози в структурах гіпокампа, блідої кулі, мигдалика, чорної речовини, у вентробазальних і медіобазальних ядрах таламуса, піриформній корі, лобній і зоровій корі, кірці.

Протягом наступного тривалого періоду пілокарпінових судом у щурів і мишей, які жили після епілептичного статусу, спостерігалось виникнення спонтанних судом. Перші спонтанні судоми, як правило, виникали протягом 5–10 днів після завершення епілептичного статусу. Вони відповідали інтенсивності 4–5 балів кіндлінгових судом і тривали протягом кількох тижнів.

J. W. Olney і співавтори (1983, 1986), М. Р. Nonchar і співавтори (1983) виявили здатність літію знижувати поріг для індукції пілокарпінових судом і пов'язаного з ними ушкодження мозку в щурів.

L. Turski і співавтори (1989) також підтвердили потенціювання під впливом літію (але не цезію та рубідію) ефектів дії пілокарпіну в щурів і відсутність такої взаємодії у дослідах на мишах.

Електрографічні дослідження, проведені на моделі літій-пілокарпінових судом, показали, що спайкові розряди виникали водночас у мигдалику, дорсальному гіпокампі, неокортексі, хвостатому ядрі та блідій кулі й рідко переходили в епілептичний статус.

У наших попередніх дослідженнях було показано, що введення тваринам пілокарпіну дозою 280 мг/кг протягом перших 10–15 хв не супроводжувалося помітними змінами характеру й амплітуди біопотенціалів у досліджуваних утвореннях мозку. Починаючи з 16-ї хвилини, відзначалося поступове зростання потужності біоелектричної активності, яке було найбільш помітним у лобній та тім'яній корі, а також у вентральному гіпокампі. Частотний аналіз електричних процесів у досліджуваних структурах показав, що посилення біоелектричної активності відбувалося, головним чином, за рахунок активації повільнохвильового ритмогенезу  $\delta$ - і  $\theta$ -діапазону. При цьому, на фоні посилення амплітуди біопотенціалів у вентральному гіпокампі, а також лобній і тім'яній зонах кори з'являлися нерегулярні спайк-хвильові комплекси частотою 8–15 на 1 хв і амплітудою — до 1,5 мВ (рисунок, в). Загальна тривалість генерації спайк-хвильової активності становила (57,2 $\pm$ 8,4) хв.

Протягом наступних 40 хв спостереження зазначені зміни ЕЕГ посилювалися і через 1 год з моменту введення пілокарпіну досягали максимуму. Посилення біоелектричної активності було найбільш значним у вентральному гіпокампі — у 3–4 рази, а також у лобній і тім'яній корі — у 4–5 разів ( $P < 0,001$ ). Спектральний аналіз

свідчить, що збільшення потужності ЕЕГ-потенціалів здійснювалося, головним чином, за рахунок посилення  $\delta$ - і  $\theta$ -хвильової активності. Найменш значною складовою потужності біопотенціалів була активність  $\alpha$ -діапазону.

Найбільш значне посилення біоелектричної активності у всіх досліджуваних структурах відзначалося через 60 хв після застосування пілокарпіну. Величина ЕЕГ-потенціалів була найбільшою у вентральному гіпокампі та лобній корі — усереднені значення становили (428,4 $\pm$ 32,1) і (336,5 $\pm$ 21,2) мкВ, відповідно. Амплітудно-частотний аналіз електричних процесів у лобній і тім'яній корі показав, що найбільш сильно (у 6–8 разів), порівняно з початковою фоновою активністю, збільшувалася наявність ритмічної активності  $\alpha$ -діапазону, тимчасом як низькочастотні ритми  $\delta$ - і  $\theta$ -діапазону підсилювалися у 4–5 разів. Таким чином, найпотужніша електрична активність генерувалася нейронами вентрального гіпокампа, а найбільш значною частотною складовою при цьому була активність  $\delta$ -діапазону (311,1 $\pm$ 25,7 мкВ).

На фоні посиленої гіперсинхронної біоелектричної активності після введення пілокарпіну в усіх досліджуваних зонах кори мозку та вентральному гіпокампі реєструвалися спайк-хвильові комплекси, які з'являлися з частотою 2–5 на 1 с та амплітудою до 4 мВ (див. рисунок, в). Загальна тривалість генерації спайк-хвильової активності становила (193,3 $\pm$ 14,7) хв. Отже, результатами наших досліджень встановлено, що генерація епілептиформної активності під впливом пілокарпіну здійснюється, перш за все, за рахунок посилення біоелектрогенезу в утвореннях вентрального гіпокампа та лобної і тім'яної кори мозку.

Таким чином, аналіз наведених суперечливих електрографічних даних не дозволяє зро-

бити висновок про провідну структуру мозку, з якої починається ЕпА і/або яка детермінує формування епілептичної системи при пілокарпін-індукованому епілептичному синдромі. Ці та інші дані свідчать про необхідність подальшого дослідження особливостей цієї моделі, зокрема потрібне вивчення механізмів, залучених до формування епілептичної системи.

Іншим напрямком досліджень, присвячених з'ясуванню патофізіології пілокарпінової моделі епілептичного синдрому, є пошук структур, відповідальних за поширення ЕпА та її вторинну генералізацію. S. Piredda, K. Gale (1985) виявили, що глибока піриформна кора (ГПК), так звана *area tampa*, у щурів відіграє ключову роль у поширенні судом, спричинених системним застосуванням хімічних епілептогенів. Мікроін'єкції агоністів ГАМК — мусцимолу або  $\gamma$ -вініл-ГАМК — у глибоку препіриформну кору пригнічують ЕпА, відтворену з допомогою бікукуліну, але не впливають на вираженість ЕШС. Судоми, спричинені за допомогою пілокарпіну, також пригнічувалися під дією мікроін'єкції мусцимолу в піриформну кору. Подібний ефект на переріг пілокарпінових судом спричинювали також мікроін'єкції антагоністів збуджувальних амінокислот — AP7 і  $\gamma$ -D-GAMS. Дослідження зміни порога розвитку пілокарпін-індукованих судом довело, що мікроін'єкція у ГПК каїнової кислоти викликала його зниження, тимчасом як мікроін'єкція NMDA не мала значного впливу. Таким чином, наведені дані свідчать, що як блокада збуджувальної медіації, так і активація ГАМК-ергічного гальмування в ГПК підвищують поріг розвитку пілокарпінових судом, а локальна мікроін'єкція холіноміметиків збуджувальних амінокислот або антагоністів ГАМК призводить до розвитку лімбічних судом.



Виявлено, що ГПК має більш високу чутливість, ніж мигдалик і гіпокамп, до судомної дії холіноміметиків й антагоністів ГАМК. Наявність високої чутливості ГПК до холінергічної стимуляції порушує питання про її роль у генерації і поширенні ЕпА, відтвореної з допомогою пілокарпіну. Разом з тим, Engel і співавтори (1996) наголошують, що структури мозку, в яких розпочинається ЕпА, не завжди відіграють провідну роль у її поширенні.

Значна кількість праць присвячена з'ясуванню ролі структур чорної речовини мозку в механізмах розвитку і припинення пілокарпін-індукованих судом. Перші з них належать Hayashi (1952, 1953), в яких автор довів роль базальних гангліїв у поширенні судом у мавп, але ці праці були несправедливо забуті. Результати досліджень, отримані в лабораторії К. Gale, свідчили про виражені протіепілептичні ефекти дії речовин, що посилюють ГАМК-ергічне гальмування в чорній речовині, і привернули велику увагу до з'ясування ролі базальних гангліїв у розвитку і припиненні судомної активності. Дуже важливий доказ залучення чорної речовини у поширення ЕпА було отримано у дослідях, дані яких довели, що мікроін'єкції у чорну речовину агоніста ГАМК<sub>A</sub>-рецепторів — мусцимолу або зворотного інгібітора ГАМК-трансамінази- $\gamma$ -вініл-ГАМК — викликають виражені протисудомні ефекти. Після цього з'явилася ціла низка даних, що свідчили про виявлення подібних протисудомних ефектів дії речовин, які посилюють ГАМК-ергічне гальмування в ретикулярній частині чорної речовини, на різних моделях ЕпА.

На моделі пілокарпін-індукованих судом L. Turski та співавтори (1986) довели, що мікроін'єкція в чорну речовину  $\gamma$ -вініл-ГАМК збільшує, а введення інгібітора синтезу ГАМК — ізоніазиду — знижує поріг ви-

никнення судом. Мікроін'єкція  $\gamma$ -вініл-ГАМК у чорну речовину блокувала вираженість моторних судом і електрографічні прояви судом у неокортексі й гіпокампі. Більш того, трансплантація ГАМК-ергічних нейронів призводила до скасування підвищеної чутливості до судомної дії пілокарпіну, індукованої у щурів шляхом руйнування з допомогою іботенової кислоти стріато-нігральних провідних шляхів. Доведено, що введення в чорну речовину антагоніста збуджувальних амінокислот AP7 підвищувало поріг виникнення судом, викликаних з допомогою пілокарпіну, тимчасом як мікроін'єкція NMDA мала протилежний ефект. При цьому модулюючі ефекти дії AP7 і NMDA відзначалися тільки за умови їх локального введення в ретикулярну частину чорної речовини.

Руйнування чорної речовини з допомогою іботенової кислоти спричинювало затримку розвитку пілокарпінових судом. Ці дані узгоджуються з результатами вивчення ефектів хімічного або електролітичного руйнування чорної речовини на моделях ЕШС, амигдалярного кіндлінгу або бікукулін-індукованих судом. Однак цим даним суперечать результати досліджень ефектів електролітичного руйнування чорної речовини в умовах аудіогенних судом.

Подальший аналіз ролі чорної речовини у поширенні ЕпА показав, що протисудомні препарати істотно впливають на нейронну активність чорної речовини у гризунів. Так, бензодіазепіни, барбітурати, вальпроєва кислота і триметадіон пригнічували спонтанну активність нейронів чорної речовини і створювали протіепілептичні ефекти на моделі пілокарпін-індукованих судом. Локальна мікроін'єкція в чорну речовину фенобарбіталу і бензодіазепінів також запобігала розвитку пілокарпінових судом. З іншого боку, етоксукцимід посилював спонтанну

активність нейронів чорної речовини і водночас збільшував чутливість тварин до пілокарпін-індукованих судом. Карбамазепін і дифенілгідантоїн не впливали на активність нейронів чорної речовини і не змінювали інтенсивність пілокарпін-індукованих судом.

Таким чином, наведені дані дозволяють припустити, що чорна речовина відіграє роль релейної структури в поширенні ЕпА і що різні нейромедіатори опосередковують протіепілептичні ефекти чорної речовини. Разом з тим, чорна речовина не є єдиною структурою мозку, що опосередковує ефекти дії протисудомних препаратів, блокуючих поширення ЕпА. Так, виявлено, що мікроін'єкція мусцимолу в ендопедункулярне ядро зменшує інтенсивність пілокарпінових судом. Ці дані дозволяють припустити, що різні ядра, які одержують інформацію від базальних гангліїв, можуть впливати на індукцію і поширення судом у структурах переднього мозку.

Аналіз зазначених моделей хронічної ЕпА дозволяє зробити висновок, що модель пілокарпін-індукованих судом у щурів являє собою модель парціальних форм епілептичного синдрому з вторинною генералізацією, епілептичним статусом, розвитком спонтанних судом і є досить адекватною для дослідження патофізіологічних механізмів розвитку і припинення ЕпА.

Одним із доказів відповідності експериментальної моделі епілептичного синдрому до клінічних форм епілепсії є визначення профілю ефективності антиепілептичних препаратів (АЕП). Показано, що судомам, відтвореним із допомогою пілокарпіну в щурів і мишей, запобігали шляхом системного застосування діазепаму, клоназепаму, фенобарбіталу, вальпроєвої кислоти і триметадіону, а дифенілгідантоїн і карбамазепін були неефективними на цій моделі [27]. Судом-

мам, спричиненим уведенням пілокарпіну, також запобігали за допомогою баклофену, 2-хлораденозину і нестероїдного протизапального препарату — мефенамінової кислоти [28]. Етосукцимід і ацетозоламід спричинювали зниження порога виникнення пілокарпінових судом. Таким чином, наведені дані доводять, що профіль АЕП на моделі пілокарпінових судом не завжди відповідає ефектам їх дії на інших моделях судом [6; 29].

Разом з тим, усі АЕП були неефективними відносно судомної активності в умовах їх введення через 1 год після ін'єкції пілокарпіну, тобто протягом епілептичного статусу. Отже ЕпА, яка спричинюється за допомогою пілокарпіну, відрізняється значною резистентністю і являє собою модель хронічної епілепсії, резистентної до існуючих АЕП. На моделі ЕС-кіндлінгу також відзначалося зниження виразності ефектів дії АЕП у міру розвитку кіндлінгу, подібно до профілю АЕП на моделі пілокарпінових судом. На моделі хімічного кіндлінгу О. А. Шандра і співавтори (1996, 1999) показали, що в посткіндлінговому періоді (через 2 тиж після його завершення) чутливість до дії АЕП різко знижувалася [30]. W. Loscher та С. Rundfeldt (1991) уперше довели на моделі ЕС-кіндлінгу, що серед великої групи кіндлінгових тварин можна виділити підгрупу таких, які є резистентними до антиепілептичних ефектів дії фенітоїну, і пропонували її як першу експериментальну модель епілепсії, резистентної до АЕП.

У подальшому, моделюючи клінічну ситуацію з фармакорезистентною формою скроневої епілепсії, було зазначено, що у кіндлінгових тварин, резистентних до дії фенітоїну (non-responder), відзначалася також істотно менша чутливість до більшості застосовуваних у клініці АЕП. Відомо, що найважливішою характеристикою

фармакорезистентної епілепсії в клініці є те, що у більшості таких хворих спостерігається резистентність до багатьох, а часто до всіх АЕП з різними механізмами дії. На думку W. Loscher, поясненням цьому факту може бути низка факторів, у тому числі формування множинної фармакологічної резистентності, порушення транспортної функції мембранних білків, таких як Р-глікопротеїн і сімейство multidrug-resistance-associated білків, які зараз ідентифіковані у більшості клітин організму, включаючи ендотеліоцити судин гемато-енцефалічного бар'єру.

Разом з тим, однією з моделей вибору для скринінгу АЕП є судоми, які спричинені за допомогою максимальної електрошокової стимуляції. Оскільки більшість нових АЕП було відкрито на моделях ЕШС, можливо, це є однією з причин того, що кількість пацієнтів з фармакорезистентною епілепсією істотно не змінилася після впровадження в клінічну практику нових АЕП [31].

Таким чином, дослідження нових АЕП слід проводити на моделях хронічної ЕпА якомога раніше, щоб збільшити можливість виявлення нових речовин з більш високою антиепілептичною ефективністю і більш низькою побічною дією.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Loscher W. Current status and future directions in the pharmacotherapy of epilepsy // Trends. Pharmacol. Sci. — 2002. — Vol. 23, N 3. — P. 113-118.
2. Goodman J. H., Homan R. W., Crawford I. L. Kindled seizures activate both branches of the autonomic nervous system // Epilepsy Res. — 1999. — Vol. 34, N 2-3. — P. 169-176.
3. Goddard G. V., McIntire D. C., Leech C. K. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation // Exp. Neurol. — 1969. — Vol. 25, N 2. — P. 305-330.
4. 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.
5. Шандра А. А., Годлевский Л. С., Брусенцов А. И. Киндлинг и эпилеп-

тическая активность. — Одесса: Астропринт, 1999. — 191 с.

6. Loscher W. Animal models of drug-resistant epilepsy // Novartis Found Symp. — 2002. — Vol. 243. — P. 149-159.

7. Post R. M. Progressive changes in behavior and seizures following chronic cocaine administration: relationship to kindling and psychosis // E. H. Ellinwood Jr., M. M. Kilbey, ed. Cocaine and other stimulants. — N. Y.: Plenum Press, 1977. — P. 353-372.

8. McIntyre D. C., Wong R. K. Modification of local neuronal interactions by amygdala kindling examined in vitro // Exp. Neurol. — 1985. — Vol. 88, N 3. — P. 529-537.

9. Kairiss E. W., Racine R. J., Smith G. K. The development of the interictal spike during kindling in the rat // Brain Res. — 1984. — Vol. 322, N 1. — P. 101-110.

10. 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. и медицины. — 1985. — Т. 99, № 5. — С. 527-532.

11. Шандра А. А., Гнатковский В. В. Тормозные синаптические эффекты в гиппокампе крыс *in vitro* в отдаленном периоде киндлинга // Вісн. проблем біології і медицини. — 2001. — № 1. — С. 52-57.

12. Madeja M., Musshoff U., Speckmann E. J. Diversity of potassium channels contributing to differences in brain area-specific seizure susceptibility: sensitivity of different potassium channels to the epileptogenic agent pentylene-tetrazol // Eur. J. Neurosci. — 1997. — Vol. 9, N 2. — P. 390-395.

13. McNamara J. O., Bonhaus D. W., Shin C. Role of the substantia nigra in the kindling model of limbic epilepsy // Adv. Exp. Med. Biol. — 1986. — Vol. 203. — P. 139-146.

14. McNamara J. O. Emerging insights into the genesis of epilepsy // Nature. — 1999. — Vol. 399, N 6738. — P. 15-22.

15. Unilateral peri-substantia nigra catecholaminergic lesion and amygdala kindling / B. J. Alcala, S. L. Moshe, J. F. Cubells et al. // Brain Res. — 1986. — Vol. 370, N 2. — P. 388-392.

16. Годлевский Л. С. Функциональные механизмы антиэпилептической системы мозга: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1992. — 40 с.

17. Шандра А. А. Принципы и методы патогенетической терапии эпилепсии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1985. — 45 с.

18. Антиэпилептическая система / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, А. М. Мазарати // Успехи физиол. наук. — 1992. — Т. 23, № 3. — С. 53-77.

19. Крыжановский Г. Н., Шандра А. А., Годлевский Л. С. Роль опиоид-



ных механизмов гиппокампа и черной субстанции в поведенческих и судорожных нарушениях // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 1991. — Т. 111, № 3. — С. 235-239.

20. Engel J. Jr. Introduction to temporal lobe epilepsy // *Epilepsy Res.* — 1996. — Vol. 26, N 1. — P. 141-150.

21. Mossy fiber sprouting after recurrent seizures during early development in rats / G. L. Holmes, M. Sarkisian, Y. Ben-Ari, N. Chevassus-Au-Louis // *J. Comp. Neurol.* — 1999. — Vol. 404, N 4. — P. 537-553.

22. Tuunanen J., Pitkanen A. Do seizures cause neuronal damage in rat amygdala kindling? // *Epilepsy Res.* — 2000. — Vol. 39, N 2. — P. 171-176.

23. Goodman J. H. Experimental models of status epilepticus // *Neuropharmacology methods in epilepsy research* / S. L. Peterson, T. E. Albertson, eds. — CRC Press, Boca Raton, 1998. — P. 95-125.

24. Cavalheiro E. A., Riche D. A., Le Gal La Salle G. Long-term effects of intrahippocampal kainic acid injection in rats: a method for inducing spontaneous recurrent seizures // *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* — 1982. — Vol. 53, N 6. — P. 581-589.

25. Ben-Ari Y., Cossart R. Kainate, a double agent that generates seizures: two decades of progress // *Trends Neurosci.* — 2000. — Vol. 23, N 11. — P. 580-587.

26. Goddard G. V. Analysis of avoidance conditioning following cholinergic stimulation of amygdala in rats // *J. Comp. Physiol. Psychol.* — 1969. — Vol. 68, N 2. — P. 1-18.

27. Loscher W. Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy // *Epilepsy Res.* — 2002. — Vol. 50, N 1-2. — P. 105-123.

28. Differential effects of non-steroidal antiinflammatory drugs on seizures produced by pilocarpine in rats / C. Ikonomidou-Turski, E. A. Cavalheiro, L. Turski et al. // *Brain Res.* — 1988. — Vol. 462, N 2. — P. 275-285.

29. Meldrum B. S. Neuropathological consequences of chemically and electrically induced seizures // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 1986. — Vol. 462. — P. 186-193.

30. 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. 269-274.

31. Loscher W., Schmidt D. New horizons in the development of antiepileptic drugs // *Epilepsy Res.* — 2002. — Vol. 50, N 1-2. — P. 3-16.

УДК 615.213.015.2+557.146.1

О. А. Шандра, О. А. Кашченко

#### МОДЕЛІ Й ОСНОВНІ ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ХРОНІЧНОЇ ЕПІЛЕПСІЇ

Подано огляд літератури, в якому наводяться дані про основні патогенетичні механізми розвитку хронічного епілептогенезу. Розглядаються механізми розвитку епілептичної активності на моделях, серед яких автори приділяють увагу кіндлінгу та епілептичному статусу. Наводяться дані про можливі механізми розвитку фармакологічної резистентності за умов хронічної епілептичної активності. Зроблено висновок про актуальність пошуку та проведення експериментальних досліджень нових моделей хронічного судомного синдрому, які допоможуть вивчити його патогенетичні ланки.

**Ключові слова:** епілептична активність, хронічні форми епілепсії, кіндлінг, пілокарпін.

UDC 615.213.015.2+557.146.1

O. A. Shandra, O. A. Kashchenko

#### THE MODELS AND THE MAIN PATHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF CHRONIC EPILEPSY

The literature data and the data of our own experimental investigations give the information about the main pathogenetical mechanisms of chronic epilepsy. The mechanisms of the epileptic activity development using the kindling and status epilepticus models are discussed. Authors presented the data about the possible mechanisms of the pharmacological resistence development throughout the chronic epileptic activity. One could conclude about the importance of investigating of the new models that could help in the seizure syndrome pathogenesis studying.

**Key words:** epileptic activity, chronic forms of epilepsy, kindling, pilocarpin.

УДК 612.6:616.43

А. А. Зелинский, д-р мед. наук, проф., Е. О. Воскресенская, канд. мед. наук

## ЭНДОКРИННЫЕ ДИЗРУПТОРЫ И СОСТОЯНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

### Сообщение 1

Одесский государственный медицинский университет

Действие ряда чужеродных соединений (ксенобиотиков) подобно гормонам. Оно может проявляться в виде эстрогенных, андрогенных, тиреоидных и иных эффектов, либо в форме той или иной гормональной недостаточности.

По мере расширения списка химических загрязнителей среды стала очевидной неотлож-

ность изучения их отдаленных эффектов.

По современной терминологии, эндокринные дизрупторы (ЭД) — это органические соединения, которые связываются с белками ядерных гормонов [69; 72; 76; 95]. К семейству ядерных гормонов относятся стероиды, тереоиды, ретиноиды и активированные (гидроксилирован-

ные) формы витамина D3. Белки системы ядерных гормонов представлены рецепторами, белками-транспортерами и ферментами.

В Европейском сообществе, США и Японии в 1995–2000 гг. созданы программы по ЭД, под эгидой которых ежегодно проводятся конференции по оценке их риска для здоровья насе-