

УДК 611.24:616.12-008.331.1+612.273

Р. В. Янко, О. Г. Чака, М. І. Левашов

#### МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЕВОЇ ТКАНИНИ СПОНТАННО-ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ ПЕРЕРИВЧАСТОЇ ГІПОКСІЇ

Мета роботи — дослідити вплив переривчастої нормобаричної гіпоксії (ПНГ) на морфофункціональний стан легеневої тканини спонтанно-гіпертензивних щурів (лінія SHR). Дослідження проведено на 24 щурах-самцях, яким щодня протягом 28 днів подавали гіпоксичну газову суміш (12 % O<sub>2</sub>) у переривчастому режимі: 15 хв деоксигенація / 15 хв реоксигенація протягом 2 год. Морфофункціональні зміни в легенях досліджували за допомогою морфологічних і біохімічних методів. Виявлено, що після впливу ПНГ у щурів спостерігали зменшення розмірів альвеол. Проте їхня кількість і щільність розташування на одиницю площі зросла, що вказує на збільшення загальної площі альвеолярної поверхні й активацію процесів газообміну. У дослідних щурів виявили вірогідне зниження товщини міжальвеолярної перегородки, тенденцію до зниження оксипроліну в легенях, що може свідчити про зменшення кількості елементів сполучної тканини та поліпшення альвеолярно-капілярного обміну газів.

**Ключові слова:** переривчаста гіпоксія, респіраторний відділ легень, спонтанно-гіпертензивні щури.

UDC 611.24:616.12-008.331.1+612.273

R. V. Yanko, O. G. Chaka, M. I. Levashov

#### MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN THE LUNG TISSUE OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS AFTER THE EFFECT OF INTERMITTENT HYPOXIA

The purpose of the work is to investigate the effect of intermittent normobaric hypoxia (INH) on the morphofunctional state of the lungs tissue of spontaneously hypertensive rats (SHR line). The study was conducted on 24 male rats, which were daily given (during 28 days) a hypoxic gas mixture (12% O<sub>2</sub>) in a intermittent mode: 15 minutes deoxygenation / 15 min reoxygenation for 2 hours. Morphofunctional changes in the lungs were studied using morphological and biochemical methods. It was found that after the effects of INH in rats, there was a decrease in the size of the alveoli. However, their number and density of location per unit area increased, indicating an increase in the total area of the alveolar surface and the activation of gas exchange processes. In experimental rats, there was a significant decrease in the thickness of the interalveolar membrane, a tendency to decrease oxyproline in the lungs, which may indicate a decrease in the number of connective tissue elements and an improvement in the alveolar-capillary exchange of gases.

**Key words:** intermittent hypoxia, respiratory part of the lungs, spontaneously hypertensive rats.

УДК 616.853:616-079

О. Е. Духовський<sup>1</sup>, канд. мед. наук,

Г. О. Сон<sup>2</sup>

## ОСОБЛИВОСТІ ЕЛЕКТРИЧНОЇ АКТИВНОСТІ СТРУКТУР МОЗКУ ЩУРІВ ІЗ ПЕНТИЛЕНЕТЕТРАЗОЛОВИМ КІНДЛІНГОМ ЗА УМОВ ЕЛЕКТРИЧНОГО ПОДРАЗНЕННЯ БЛУКАЮЧОГО НЕРВА

<sup>1</sup> Комунальне некомерційне підприємство «Міська клінічна лікарня швидкої та невідкладної допомоги ім. проф. О. І. Мещанінова», Харків,

<sup>2</sup> Одеський національний медичний університет

### Вступ

Електричні подразнення (ЕП) блукаючого нерва спричинюють значні зміни з боку показників електрокортикограми (ЕКоГ) [7; 10]. Останнім часом встановлено, що важливими є множинні зміни в ділянках мозку, які можуть визначатись у вигляді зменшення потужності спектра низькочастотних коливань, що є одним із механізмів

розвитку протисудомного впливу подразнення блукаючого нерва [10].

Установлено, що динамічний характер взаємодії між окремими структурами мозку найбільш репрезентативно подають у вигляді мультиграфа, який будують за показниками як біоелектричної активності мозку [3; 4; 6], так і функціонального стану окремих ділянок — результатами вимірювання погли-

нання глюкози за допомогою позитронної емісійної томографії [8]. Побудова подібного мультиграфа дозволяє визначитись із функціональними зв'язками між окремими утвореннями мозку, причетними до механізмів виникнення та пригнічення судомних проявів [6; 8]. Відомо, що мозочок є частиною антиепілептичної системи мозку [2; 5], функція якого залишається нез'ясованою в контексті реалізації ефектів ЕП блукаючого нерва на епілептиформні прояви.

Тому завданням цього дослідження було вивчення функціональних взаємовідношень між структурами кори головного мозку та мозочка шляхом побудови на основі результатів застосування методу множинної лінійної регресії за умови ЕП блукаючого нерва щурів.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на 27 щурах-самцях лінії Вістар масою 250–300 г, яких утримували за стандартних умов виварію при 12-годинній зміні світла і темряви, постійній температурі 23 °С. Усі дослідження було виконано відповідно до вимог GLP та комісії з біоетики ОНМедУ (протокол № 84 від 10.10.2008 р.).

Щурам під нембуталовим наркозом (40,0 мг/кг) імплантували подразнювальні електроди в ліву гілку блукаючого нерва, а також електроди у фронтальні (AP=1,8; L=2,0) [9], потиличні відділи (AP=-4,8; L=2,0) обох півкуль і в VI часточку (верхівка) палеоцеребелума. Через 7–10 діб з моменту втручання тварин використовували в експериментальних спостереженнях. Реєстрацію електричної активності здійснювали при постійній частоті 0,3–1,0 с, за основу приймали таку систему біполярних відведень: 1 — ліва півкуля (лобно-потиличне відведення); 2 — права півкуля; 3 — лобна кора; 4 — потилична кора; 5 — палеоцеребелум (рис. 1).

Запис електроенцефалограми (ЕЕГ) на жорсткий диск здійснювали при дискретизації 256 за секунду за умов вільної поведінки щурів. Досліджували показники спектральної потужності біоелектричної активності у таких діапазонах частот: дельта (0,5–3,9 Гц); тета (4,0–7,5 Гц); альфа (8,0–12,8 Гц);

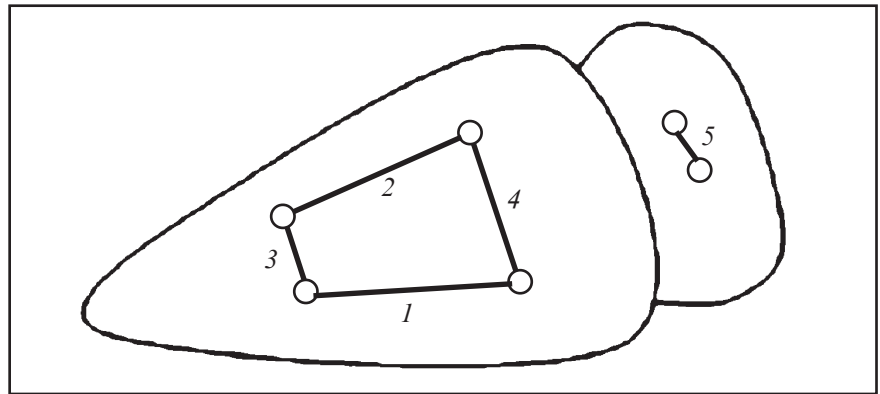


Рис. 1. Розташування електродів та біполярні відведення, які було використано під час реєстрації ЕКоГ: 1 — ліва півкуля (фронтально-потиличне відведення); 2 — права півкуля (фронтально-потиличне відведення); 3 — фронтальна кора; 4 — потилична кора; 5 — кора палеоцеребелума

бета-1 (21,0–32,0 Гц); бета-2 (14,2–18,3 Гц) та гамма (понад 32 Гц).

Формування математичних моделей динаміки ЕЕГ здійснювали за допомогою програми, яка проводила обрахунок показників множинної лінійної регресії та кореляції амплітуди біоелектричних сигналів між зазначеними відведеннями ЕЕГ. Обрахунок здійснювався протягом 10-секундних інтервалів і всього до уваги брали 30 інтервалів (по 5 від кожної експериментальної тварини). В результаті аналізу визначався характер взаємодії між каналами записів (відповідними структурами мозку), які позначались як позитивні та негативні зв'язки, їхній напрямок, а також достовірність взаємних впливів, що відображувалось на відповідних мультиграфах [4; 6]. Відповідні записи здійснювали в період пасивного неспання щурів [6].

Судомну активність викликали у щурів за допомогою повторного застосування пентилететразолу (ПТЗ) дозою 30,0 мг/кг, в/очер ("Sigma-Aldrich", США), який вводили щодоби протягом трьох тижнів [2]. До спостереження залучали щурів, у яких три останні введення епілептогену викликали генералі-

зовані тоніко-клонічні судомні реакції. Тяжкість судом оцінювали за шестибальною шкалою [2].

Електричні подразнення блукаючого нерва здійснювали прямокутними імпульсами електричного струму через попередньо імплантовані електроди на стовбур лівого блукаючого нерва. Використовували частоту ЕП 50 Гц, інтенсивність 0,5–0,8 мА, тривалість імпульсу — 0,5 мс, тривалість ЕП — 5,0 с. Джерелом електричних імпульсів був електростимулятор універсальний ЕСУ-1. Через 24 год з моменту формування кіндлінгової генералізованої судомної активності здійснювали 5 послідовних сеансів ЕП з перервою на 3,0 хв. Для контролю досліджували ЕЕГ щурів, у яких було виконано аналогічні втручання, але не здійснювались ЕП блукаючого нерва.

Оцінку достовірності відмінностей показників спектральної потужності окремих ритмів ЕЕГ здійснювали із застосуванням спареного t-тесту (програма "Primer Biostatistics", США).

### Результати дослідження та їх обговорення

Через 3,5–7,0 хв з моменту застосування тестової дози ПТЗ

у кіндлінгових щурів з хибними ЕП в ЕКоГ реєструвалися спайк-хвильові комплекси з частотою генерування окремих потенціалів від 7 до 10 за секунду та їхньою амплітудою від 100 до 500 мкВ. Середня тривалість комплексів становила 5 с (з коливаннями від 2 до 25 с) та частотою 2–7 за хвилину. У період формування спайк-хвильових комплексів спостерігалися характерні для абсансної епілепсії поведінкові прояви: завмирання тварини, тремор вібрис, поодинокі посмикування м'язів морди. Також зниженими за виразністю були реакції на тактильні та звукові сигнали. Протягом наступних 10,0–15,0 хв у щурів спостерігалися клонічні судоми м'язів тулуба та кінцівок, які супроводжувались виникненням генералізованих судомних нападів з падінням тварин на бік, вегетативними порушеннями та післянападовою депресією.

Введення кіндлінговим щуром тестової дози ПТЗ на тлі ЕП блукаючого нерва супроводжувалось появою спайк-хви-

льових комплексів, які тривали 3,3 с (з коливаннями від 2,1 до 4,5 с) і виникали з частотою 1–3 за хвилину. Протягом виникнення вказаних комплексів у тварин реєструвалися типові для абсансної епілепсії завмирання та тремор вібрис. У 5 із 11 щурів виникали клонічні судоми м'язів тулуба, генералізовані судомні напади були відсутні.

Мультиграф, який відображує взаємовідношення між досліджуваними ділянками мозку до проведення ЕП, характеризувався наявністю взаємних позитивних зв'язків між структурами кори обох півкуль, наявністю взаємних позитивних зв'язків між корою лівої півкулі та фронтальними відділами кори мозку, а також негативних зв'язків із потиличними відділами неокортекса. Водночас між фронтальними відділами кори та корою правої півкулі визначались негативні зв'язки (рис. 2, а). У цей період часу між корою палеоцеребелума та неокортексом лівої півкулі реєструвалися взаємні позитивні зв'язки, тим-

часом як фронтальні відділи кори обох півкуль, спрямовані до кори мозочка, були негативними.

На висоті розвитку судомної активності (15,0–20,0 хв з моменту введення ПТЗ) у хибностимульованих тварин між досліджуваними структурами неокортекса мозку реєструвалися лише взаємні позитивні зв'язки, а загальна кількість позитивних зв'язків порівняно до вихідного фону була вищою — 12 проти 9 (див. рис. 2, б). Характерною для ЕКоГ була відсутність спайк-хвильової активності на тлі синхронізованої епілептиформної активності у досліджуваних структурах мозку.

У щурів з ЕП блукаючого нерва через 15,0–20,0 хв з моменту застосування ПТЗ у структурі мультиграфа між структурами неокортекса визначалися практично такі ж зв'язки, що і у хибностимульованих щурів, за винятком відсутності взаємних позитивних зв'язків між фронтальними та потиличними відділами кори обох півкуль (див. рис. 2, в). Між мозочком і

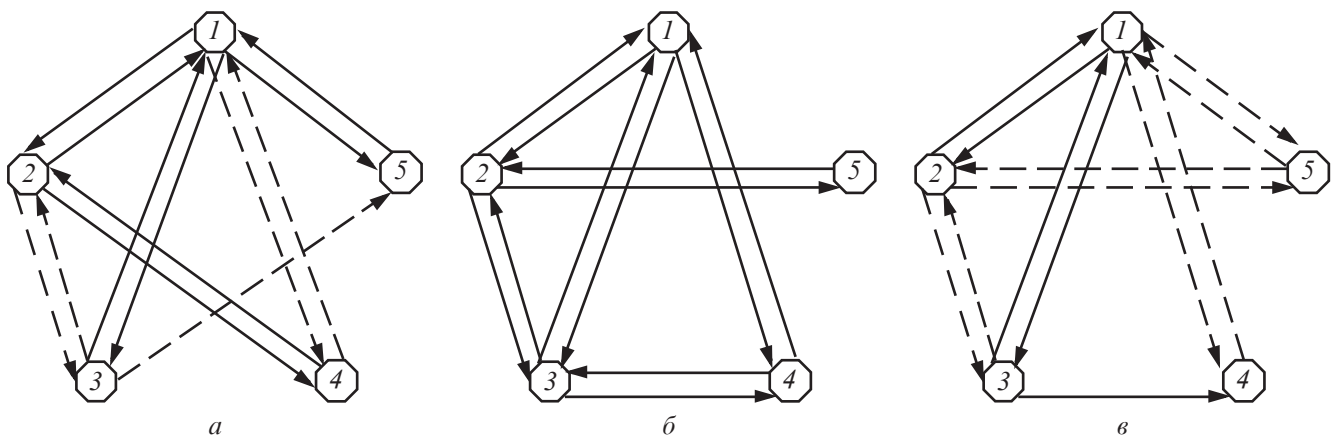


Рис. 2. Динаміка взаємовідношень між структурами головного мозку, які визначені за методом множинної лінійної регресії за умов електричного подразнення блукаючого нерва: а — до введення епілептогену; б — період максимальних проявів судомної активності, 15,0 хв з моменту застосування пентилентетразолу (ПТЗ, 30,0 мг/кг, в/очер); в — 15,5 хв з моменту застосування ПТЗ (30,0 мг/кг, в/очер) та 45,0 хв з моменту електроподразнень блукаючого нерва; 1 — ліва півкуля (фронтально-потиличне відведення); 2 — права півкуля (фронтально-потиличне відведення); 3 — фронтальна кора; 4 — потилична кора; 5 — кора палеоцеребелума. Стрілками позначено напрямки впливу: суцільна лінія — позитивні функціональні впливи, переривчаста лінія — негативні впливи

фронтально-потиличними відділами обох півкуль рееструвались взаємні негативні зв'язки, що не фіксувалося у кіндлінгових шурів за умов розвитку епілептичної активності різного ступеня виразності.

Дослідження показників потужності окремих ритмів у період найбільшої виразності ефекту зниження загальної потужності ЕКоГ (30 хв з моменту припинення ЕП) показало, що у цей період часу спостерігалася редукція потужності дельта-ритму — в корі головного мозку лівої півкулі та в корі мозочка відповідно на 18,3 і 23,2 % ( $p < 0,05$ ; рис. 3, а). Крім того, рееструвалося зниження потужності альфа-ритму в усіх досліджуваних структурах мозку — на 17,4 % у корі правої, на 15,6 % — лівої півкулі і на 18,5 % — у корі мозочка ( $p < 0,05$ ). У корі лівої півкулі рееструвалося зниження потужності ритму бета-1 діапазону на 16,2 % ( $p < 0,05$ ; див. рис. 3, а). Слід зазначити, що в усіх досліджуваних структурах мозку спостерігалася тенденція до зниження потужності тета та бета-2-ритмів ( $p > 0,05$ ), тим часом як потужність гамма-ритму в утвореннях мозочка демонструвала достовірне зростання на 14,8 % ( $p > 0,05$ ) порівняно з показниками у шурів із хибними ЕП блукаючого нерва (див. рис. 3, в).

Таким чином, отримані результати свідчать, що застосування методу мультиграфів на основі результатів аналізу співвідношення амплітуд біоелектричних потенціалів методом множинної лінійної регресії та кореляції дозволило визначити, що у вихідній ЕКоГ активності кіндлінгових шурів спостерігається більш високий ступінь участі кори головного мозку лівої півкулі у формуванні взаємних позитивних зв'язків лівої півкулі

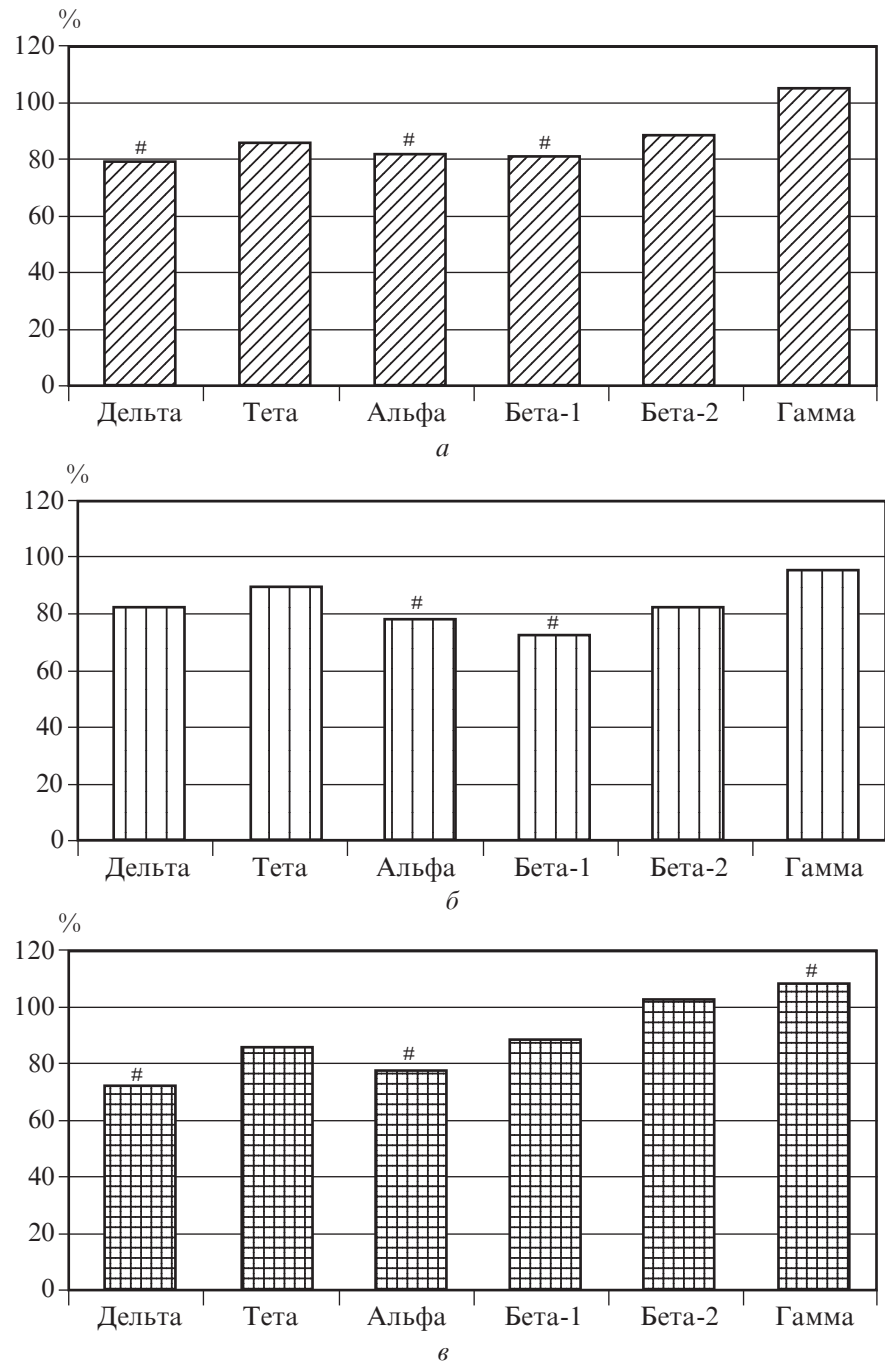


Рис. 3. Динаміка спектральної потужності ЕКоГ за умови застосування електроподразнень блукаючого нерва: а — кора лівої півкулі; б — кора правої півкулі головного мозку; в — кора мозочка (часточка VI палеоцеребелума). За віссю абсцис — досліджувані ритми біоелектричної активності; за віссю ординат — показник потужності ритму у відсотках щодо відповідного показника, який реестрували до електроподразнень блукаючого нерва, які було прийнято за 100 % (контроль); # —  $p < 0,05$  порівняно з контролем (ANOVA + Newman-Keuls тест).

з іншими досліджуваним структурами мозку порівняно зі зв'язками правої півкулі. Також у вихідній активності спостерігалася наявність взаємних негативних зв'язків між структурами мозку.

Тим же часом на висоті розвитку епілептичної активності формуються своєрідні взаємовідношення між структурами мозку, які можна характеризувати як виникнення єдиної сис-



теми взаємовідношень на основі розгалужених взаємних позитивних зв'язків [6]. У цей період на ЕКОГ реєструються гіперсинхронні спайкові розряди, які виникають одночасно в усіх досліджуваних структурах мозку. Подібна картина є характерною для патологічної епілептичної системи — комплексу епілептичних вогнищ, що синхронно генерують спайкові розряди, які є детермінованим провідним вогнищем епілептогенезу [2]. Причому на тлі подібної активності зникають взаємні позитивні впливи між корою мозочка та лівою півкулею і спостерігається поява взаємних позитивних зв'язків між корою правої півкулі та корою мозочка.

При здійсненні ЕП блукаючого нерва та запобігання виникненню генералізованої епілептичної активності відношення між досліджуваними утвореннями мали інший, порівняно з вихідним фоном, характер. Зокрема, спостерігалась поява взаємних негативних зв'язків між корою мозочка та корою головного мозку обох півкуль, що може свідчити про залучення мозочка як структури антиепілептичної системи мозку до контролю збудливості мозку [5].

Зважаючи на той факт, що в період пригнічення спайк-хвильових розрядів суттєво зменшується потужність ритмів альфа- та дельта-діапазонів, можна припустити, що пейсмейкери цих коливань відіграють одну з провідних ролей у формуванні досліджуваних функціональних взаємовідношень між структурами мозку. Також інтерес становлять тенденція до підвищення високочастотних ритмів та достовірне зростання потужності коливань гамма-діапазону в корі мозочка. Відомо, що високочастотний спектр ритмів є характерним для струк-

тур мозочка [1; 5], тому цей результат можна розглядати як ознаку підвищення функціональної активності нейрональних елементів палеоцеребелума, що лежить в основі виникнення негативних функціональних зв'язків між мозочком та корою мозку в період після ЕП блукаючого нерва.

Потрібно наголосити, що дія ЕП блукаючого нерва на нейрони мозочка здійснюється за рахунок висхідних аферентних впливів, топографічний характер яких визначений у дослідженнях, присвячених вивченню участі мозочка в регуляції вегетативних функцій [1].

### Висновки

1. Розвиток протисудомного впливу ЕП блукаючого нерва здійснюється на тлі зниження спектральної потужності дельта- та альфа-ритмів у корі великих півкуль головного мозку та корі палеоцеребелума при одночасній збереженості високочастотних ритмів (бета-2 і гамма-ритми).

2. Протисудомні впливи ЕП блукаючого нерва на моделі кіндлінгових судом здійснюються за участі палеоцеребелярних структур.

3. Негативні функціональні зв'язки між палеоцеребелумом і неокортексом формуються за участі зростання спектральної потужності гамма-діапазону ЕКОГ в структурах мозку.

**Ключові слова:** електричне подразнення мозку, блукаючий нерв, мозочок, епілептична активність, кіндлінг, множинна лінійна регресія.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Братусь Н. В., Левчук О. В., Соловьева Л. А. Влияние повреждения латерального ретикулярного ядра и ядер нижней оливы кошки на электрические реакции коры мозжечка, вызванные раздражением блуждающего

нерва. *Нейрофизиология*. 1977. Т. 9, А&З. С. 290–299.

2. Моделирование и механизмы подавления экспериментального эпилептического синдрома / Л. С. Годлевский, Е. В. Кобелев, А. Ф. Мустяца и др. Одесса, 2010. 320 с.

3. Лобасюк Б. А. Картирование связей — отношений амплитуд и частот ритмов электрокортикограммы разных регионов коры головного мозга крыс. *Одесский медицинский журнал*. 2005. № 1. С. 10–15.

4. Brain and cerebral cortex during seizures / V. N. Zaporozhan, L. S. Godlevsky, G. N. Vostrov et al. Chapter of Book (Leisman G.; Merrick J. (ed.), Considering consciousness clinically. New York: Nova Publisher. P. 201–216.

5. Cause and effect relations in disease; lessons from epileptic syndromes in animals / L. S. Godlevsky, E. L. J. M. van Luijtelaaar, A. A. Shandra, A. M. L. Coenen. *Medical Hypothesis (London)*. 2002. Vol. 58, № 3. P. 237–243.

6. Functional Relationships between Brain and Cerebellar Cortex during Absence and Clonic Seizures / V. N. Zaporozhan, L. S. Godlevsky, G. N. Vostrov et al. *Functional Neurology, Rehabilitation, and Ergonomics*. 2011. Vol. 1, Issue 1. P. 39–52.

7. How does vagal nerve stimulation (VNS) change EEG brain functional connectivity? / F. Bartolomei, F. Bonini, E. Vidal et al. *Epilepsy Res*. 2016 Oct. Vol. 126. P. 141–146. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2016.06.008. Epub 2016 Jul 29.

8. Interregional metabolic connectivity of 2-deoxy-2-[<sup>18</sup>F]fluoro-D-glucose positron emission tomography in vagus nerve stimulation for pediatric patients with epilepsy: A retrospective cross-sectional study / R. Yu, H. J. Park, H. Cho et al. *Epilepsia*. 2018 Dec. Vol. 59 (12). P. 2249–2259. doi: 10.1111/epi.14590. Epub 2018 Oct 28.

9. Paxinos G., C. Watson. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. New York: Acad. Press, 1983. 293 p.

10. Presurgical thalamocortical connectivity is associated with response to vagus nerve stimulation in children with intractable epilepsy / Ibrahim G. M., Sharma P., Hyslop A. et al. *Neuroimage Clin*. 2017 Sep 22. Vol. 16. P. 634–642. doi: 10.1016/j.nicl.2017.09.015. eCollection 2017.

Надійшла до редакції 11.06.2019

Рецензент д-р мед. наук,  
проф. Р. С. Вастьянов,  
дата рецензії 14.06.2019

УДК 616.853:616-079

О. Е. Духовський, Г. О. Сон

**ОСОБЛИВОСТІ ЕЛЕКТРИЧНОЇ АКТИВНОСТІ СТРУКТУР МОЗКУ ЩУРІВ ІЗ ПЕНТИЛЕНЕТЕТРАЗОЛОВИМ КІНДЛІНГОМ ЗА УМОВ ЕЛЕКТРИЧНОГО ПОДРАЗНЕННЯ БЛУКАЮЧОГО НЕРВА**

Впливом електричного подразнення (ЕП) блукаючого нерва (50 Гц, інтенсивність 0,5–0,8 мА, тривалість імпульсу — 0,5 мс, тривалість ЕП — 5,0 с) запобігають генералізованим клоніко-тонічним судомним нападам, викликаним пентилenetетразолом (30,0 мг/кг, в/очер) у кіндлінгових щурів. Множинний лінійний регресійний аналіз електрокортикограми до ЕП блукаючого нерва засвідчив переважну участь кори лівої півкулі мозку у формуванні взаємних позитивних зв'язків між досліджуваними зонами мозку. На висоті розвитку епілептичної активності за умов синхронного генерування спайкових потенціалів у всіх структурах мозку формувалась єдина система на основі виключно позитивних взаємних зв'язків. Після ЕП блукаючого нерва зв'язки між структурами мозку характеризувались розвитком негативних взаємних впливів між мозочком (часточка VI — верхівка) та корою обох півкуль головного мозку, що може свідчити про залучення утворень мозочку до контролю збудливості мозку та пригнічення епілептичної активності викликаних ЕП блукаючого нерва.

**Ключові слова:** електричне подразнення мозку, блукаючий нерв, мозочок, епілептична активність, кіндлінг, множинна лінійна регресія.

UDC 616.853:616-079

O. E. Dukhovskyy, H. O. Son

**ELECTRICAL ACTIVITY OF BRAIN STRUCTURES OF RATS KINDLED WITH PENTYLENETETRAZOL UNDER CONDITIONS OF NERVUS VAGUS STIMULATION**

Electric stimulation (ES) of nervus vagus (50 Гц, 0.5 — 0.8 mA, impulse duration — 0.5 ms, duration of ES trial — 5.0 s) prevented the generalized clonic-tonic seizure fits, induced with pentylenetetrazol (PTZ) (30.0 mg/kg, i. p.) in kindled rats. Multiple regression analysis of electrocorticogram revealed that before ES the left hemisphere contributed mainly to mutual positive functional connections establishing between brain structures which were under investigation. The epileptic system creation based on exclusively mutual positive connections was observed at the height of epileptic activity development which was characterized by synchronized generation of spikes in all brain structures. Nervus vagus ES caused the appearance of negative links between cerebellum (culmen, lobula VI) and the neocortex of both hemispheres. This result is in favor for the involvement of cerebellar structures into the control of brain excitability and suppression of epileptic activity caused by nervus vagus ES.

**Key words:** electric stimulation, nervus vagus, cerebellum, epileptic activity, kindling, multiple line regression.

*Передплатуйте  
і читайте  
журнал*



## ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ

*У випусках журналу:*

**Передплата приймається  
у будь-якому передплатному  
пункті**

**Передплатний індекс 08205**

- ◆ Фундаментальні проблеми медицини та біології
- ◆ Нові медико-біологічні технології
- ◆ Оригінальні дослідження
- ◆ Огляди
- ◆ Інформація, хроніка, ювілеї