

Т. М. Муратова

ОСОБЛИВОСТІ УМОВНО-РЕФЛЕКТОРНОГО АКТИВНОГО УНИКНЕННЯ ПРИ ПЕНТИЛЕНЕТЕТРАЗОЛЕВОМУ КІНДЛІНГУ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 616.33-002.44-084

Т. М. Муратова

ОСОБЕННОСТИ УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНОГО АКТИВНОГО ИЗБЕГАНИЯ ПРИ ПЕНТИЛЕНЕТЕТРАЗОЛЕВОМ КИНДЛИНГЕ

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Актуальность. Для изучения патогенетических механизмов когнитивных нарушений, возникающих при хронической эпилептизации мозга, необходимы экспериментальные модели, воспроизводящие подобные изменения.

Цель исследования состояла в определении пентиленететразол (ПТЗ)-индуцированного киндлинга как модели когнитивных нарушений путем сравнительного исследования воспроизводимости реакций условно-рефлекторного активного избегания (УРАИ) в ранней и поздней фазах киндлинга.

Методы исследований. Киндлинг у крыс вызывали применением ПТЗ в подпороговой дозе (30,0 мг/кг, в/бр) на протяжении трех недель. Выработывали УРАИ путем предъявления 30 условных (звуковых) и безусловных (удар электрическим током) раздражителей ежедневно в течение 4 сут. В качестве информативных показателей использовалось число раздражений, которое завершалось УРАИ, а также латентный период развития реакции избегания.

Результаты исследования. В ранней фазе киндлинга (24 ч после 21-го введения ПТЗ) число воспроизводимых УРАИ снижалось в сравнении с исходным показателем (перед введением эпилептогена) на 43,5 % ($p < 0,05$) и при этом было на 29,1 % меньше показателя в группе контроля ($p < 0,05$). Латентный период УРАИ превышал таковой, регистрировавшийся до начала киндлинга, на 19,1 % ($p < 0,05$). В отдаленном периоде киндлинга (две недели с момента завершения формирования киндлинга и 10 сут. с момента последнего сеанса воспроизведения УРАИ) число воспроизведенных УРАИ было меньше в сравнении с исходным показателем на 35,3 % ($p < 0,05$) и одновременно меньшим, чем у животных группы контроля, на 23,4 % ($p < 0,05$). Латентный период УРАИ в этот период превышал показатель в исходном фоне на 21,0 % ($p < 0,05$). Повторное воспроизведение УРАИ на протяжении 4 сут. вызывало увеличение числа УРАИ и сокращение латентного периода, значения которых не отличались от исходной величины ($p > 0,05$).

Выводы. ПТЗ-индуцированный киндлинг вызывает ухудшение формирования УРАИ — как в раннем, так и отдаленном периоде киндлинга. Этот киндлинг может быть применен в качестве модели хронической эпилепсии, сопровождающейся нарушениями когнитивных функций.

Ключевые слова: пентиленететразоловый киндлинг, обучение, условно-рефлекторное активное избегание.

UDC 616.33-002.44-084

T. M. Muratova

PECULIARITIES OF CONDITIONED ACTIVE AVOIDANCE IN PENTYLENETETRAZOL-INDUCED KINDLING

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Introduction. With the aim of chronic epilepsy induced cognitive disturbances investigations it is necessary to develop experimental models, which are able to develop pathogenetic manifestations corresponded to clinician symptoms.

Aim of investigation was confined to identification of pentylenetetrazol (PTZ)-induced kindling as a model of cognitive disturbances via investigation of the pronouncement of conditioned avoiding reactions (CAR) both at early and postponed phases of kindling.

Methods of investigations. Kindling was induced in Wistar rats through PTZ administrations in subthreshold dosage (30.0 mg/kg, i. p.) during three weeks. CAR have been worked out via 30 times influences upon rat with conditioned (noise signal) and not-conditioned (electric shock), which have been performed daily during four days. The number of CAR as well as the latency of avoidance have been taking into consideration as informative indices.

Results of investigations. The number of CAR, which have been registered at the early stage of kindling (24 hr from the moment of the last kindled epileptogen administration) have been reduced by 43.5% ($p < 0.05$) when compared with the initial value, registered before first PTZ administration ($p < 0.05$). At the same time number of CAR was by 29.1% less when compared with the control group of rats ($p < 0.05$). The latency of CAR exceeded that one before kindling by 19.1% ($p < 0.05$). In postponed period of kindling (two weeks from the moment of kindling induction and 10 days from the moment of last CAR testing) the number of CAR was reduced when compared with the value registered before



kindling by 35.3% ($p < 0.05$) and at the same time was reduced when compared with the rats in control group by 23.4% ($p < 0.05$). The latency of CAR in this period was greater when compared with the initial level by 21.0% ($p < 0.05$). Repeated session of CAR precipitation performed during four days induced the increase of the number of CAR and shortening of their latency, which did not differ with their value from initial ones ($p > 0.05$).

Conclusions. PTZ-induced kindling causes deterioration of CAR working out both in the early and postponed periods of kindling. PTZ-induced model of kindling might be used as such one which corresponds to cognitive functions disturbances under conditions of chronic brain epileptization.

Key words: pentylenetetrazol kindling, learning, conditioned active avoidance.

Вступ

Формування хронічної епілептичної активності пов'язане з виникненням порушень когнітивної функції, навчання та відтворення умовно-рефлекторних поведінкових реакцій [2; 6; 7]. Встановлено ускладнене формування активного уникнення в човниковому тесті за умов моделювання коразолового кіндлінгу у щурів [2], порушення навчання в тестах припіднятого хрестоподібного лабіринту та пасивного умовно-рефлекторного уникнення у мишей з коразол-викликаним кіндлінгом [4]. Однак досі не проводилося досліджень особливостей умовно-рефлекторного активного уникнення (УРАУ) у щурів на різних фазах розвитку хімічного кіндлінгу. Утім, подібні дослідження є важливими, тому що ранній та відсрочений у часі періоди розвитку хімічного кіндлінгу відображують різні патогенетичні механізми епілептизації мозку, які є відповідно чутливими та резистентними до впливу антиепілептичних препаратів [3].

Метою цього дослідження було визначення можливостей пентилентетразолу (ПТЗ)-кіндлінгу як моделі когнітивних порушень шляхом порівняльного вивчення відтворюваності УРАУ у щурів на ранній та пізній фазах формування ПТЗ-індукованого кіндлінгу.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведено за умов гострого експерименту на 25 щурах лінії Вістар масою тіла від 180 до 270 г, яких утримували за звичайних умов доступу до їжі та пиття при 12-годинній

зміні циклу освітлення і температури. Дослідження проводили відповідно до вимог GLP і комісії з біоетики ОНМедУ (протокол № 84 від 10 жовтня 2008 р.). Результати досліджень були схвалені комісією ОНМедУ з питань етичного проведення експериментальних досліджень.

Перед формуванням УРАУ всіх щурів попередньо тестували для визначення їх здібності до навчання. При цьому визначення щурів, які характеризувалися низькою здібністю до навчання, проводили за допомогою тестування у човниковій камері, яка містила два однакових відсіки з електродною підлогою, розділеною навіпіл перегородкою з отвором, за допомогою методики вироблення умовного рефлексу активного уникнення [1]. Безумовне аверсивне подразнення шкіри лап експериментальних тварин електричним струмом проводили після попереднього ізолюваного впливу умовного подразника, у якості якого використовували звук фоно-стимулятора ("DX-systems", Харків) тривалістю 4 с. Для електричного подразнення використовували електричний струм частотою 50 Гц, силою від 0,5 до 1,0 мА. При індивідуальному визначенні сили струму орієнтувалися на виникнення вокалізації та відсмикування кінцівок з відповідним руховим патерном. Інтервал між поданням умовного подразника й електрошкірним подразненням становив 2 с; максимальна тривалість кожного електрошкірного подразнення — 4 с; інтервал між послідовними умовно-рефлекторними подразниками — 20 с. Умовний рефлекс вважався завершеним, коли екс-

периментальна тварина переходила в суміжний відсік камери протягом 6 с після подання умовно-рефлекторного подразника. У кожного щура УРАУ виробляли протягом 4 днів шляхом подання 30 поєднань умовного та безумовного подразників щодоби. За критерій низької здібності до навчання було обрано неспроможність продемонструвати більше 15 (із 30) виконань УРАУ, яка була визначена у 25 % щурів, яких вибракували та не використовували у подальших спостереженнях. Як інформативні показники динаміки формування УРАУ у щурів визначали кількість уникнень, а також латентний період уникнення [1; 5].

Кіндлінг відтворювали шляхом щодобового застосування ПТЗ (30,0 мг/кг, в/очер) протягом 3 тиж. [3]. Досліджували УРАУ у щурів, які у відповідь на останні три ін'єкції епілептогену демонстрували розвиток генералізованих клоніко-тонічних судомних нападів. У групі контролю застосовували щодоби внутрішньочеревне введення 0,9 % фізіологічного розчину NaCl (рис. 1).

Результати дослідження обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента при рівні статистичних відмінностей $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Завданням першої частини дослідження було вивчення особливостей впливу ПТЗ-провокованого кіндлінгу на формування УРАУ, для чого порівнювали показники навчання у вихідному фоні з такими, що реєструвалися протягом 4 днів повторного навчан-



ня у ранньому періоді кіндлінгу (рис. 2).

У групі контролю у вихідному фоні у щурів кількість реалізованих УРАУ становила (22,5±2,3), а на 22-ту добу показник знижувався на 26,7 % ($p < 0,05$; рис. 2, II). При цьому у групі кіндлінгових щурів досліджуваний показник, який у вихідному фоні дорівнював (20,7±1,9), відповідно знижувався на 43,5 % ($p < 0,05$) і при цьому був на 29,1 % меншим порівняно з показником у групі контролю ($p < 0,05$; див. рис. 2, II). Протягом наступних 2–4-ї доби навчання досліджувані показники зростали в обох групах, причому у групі контролю на 3-тю добу відмінності порівняно з вихідним фоном становили 15,6 % і були недостовірними ($p > 0,05$; див. рис. 2, IV), тимчасом як у групі кіндлінгових щурів аналогічні відмінності сягали 26,6 % ($p < 0,05$) і одночасно перевищували показник, який реєструвався на 1-шу добу навчання, на 25,7 % ($p < 0,05$). На 4-ту добу навчання у групі контролю спостерігалось відновлення досліджуваного показника до вихідного рівня, а в групі щурів з кіндлінгом його збільшення становило 28,2 % порівняно з показником, який реєструвався на 1-шу добу тестування. Водночас його значення залишалося на 21,3 % меншим порівняно з показником у вихідному фоні ($p < 0,05$; див. рис. 2, IV). Протягом усього періоду навчання досліджуваний показник у групі кіндлінгових щурів був достовірно меншим, ніж у групі контролю, і відмінності на 4-ту добу становили 26,6 % ($p < 0,05$; див. рис. 2, V).

Визначення кількості відтворених УРАУ у віддаленому періоді кіндлінгу (14 діб з моменту завершення формування кіндлінгу і 10 діб з моменту останнього сеансу відтворення УРАУ) засвідчило, що у групі контролю досліджуваний показник був меншим, ніж у вихідному фоні, на 22,2 % ($p < 0,05$;

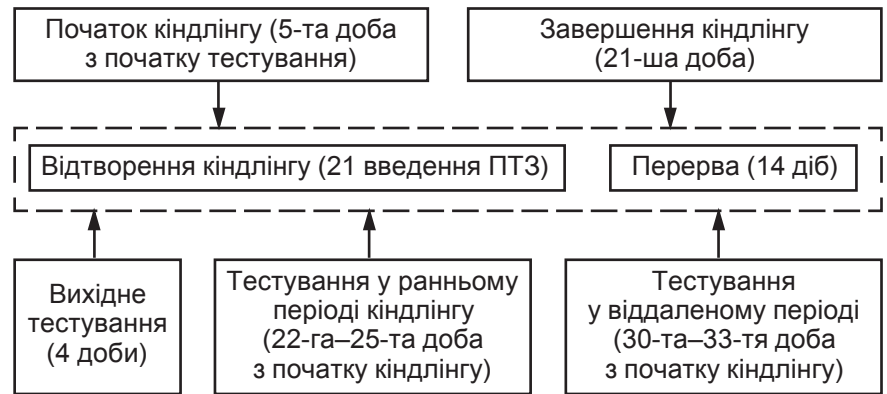


Рис. 1. Схема проведення експерименту

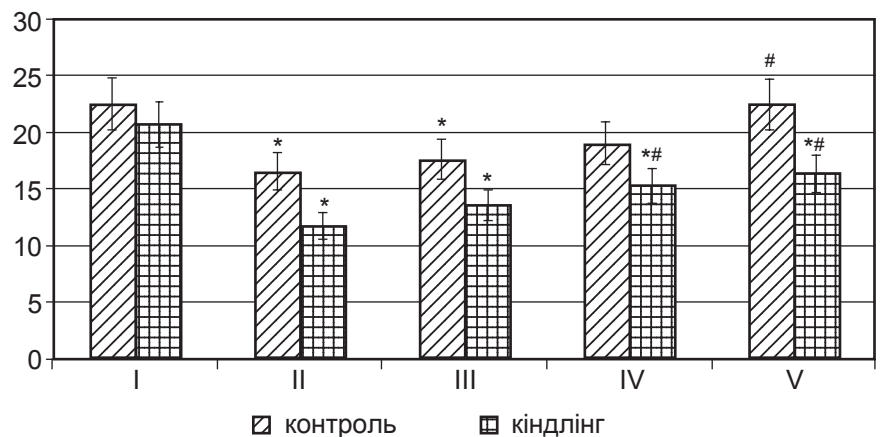


Рис. 2. Відтворюваність умовно-рефлекторного активного уникнення в ранній фазі пентилентетразол-індукованого кіндлінгу. За віссю абсцис: I — показники на 4-ту добу навчання у вихідному фоні; II, III, IV, V — відповідно 1-ша, 2-га, 3-тя та 4-та доба повторного циклу навчання (ранній період кіндлінгу). За віссю ординат — кількість відтворених УРАУ. На рис. 2, 3: * — $p < 0,05$ щодо вихідного показника у групі; # — $p < 0,05$ щодо показника, який реєструвався на 4-ту добу навчання у вихідному фоні (ANOVA + Newman-Keuls тест)

рис. 3, II). При цьому у групі кіндлінгових щурів досліджуваний показник в аналогічний період тестування був меншим щодо вихідного фону на 35,3 % ($p < 0,05$) і одночасно меншим порівняно з показником у групі контролю на 23,4 % ($p < 0,05$). Вже на 2-гу добу навчання у групі контролю кількість відтворених УРАУ не мала достовірних відмінностей з вихідним показником, хоча і залишалася меншою на 16,9 % ($p > 0,05$; див. рис. 3, III), а наприкінці навчання (4-та доба) достовірно на 19,4 % ($p < 0,05$; див. рис. 3, V) перевищувала показник, який реєструвався на 1-шу добу тестування. Водночас у групі кіндлінгових щу-

рів досліджуваний показник залишався достовірно меншим порівняно з вихідним значенням протягом усього періоду навчання. На 4-ту добу відмінності дорівнювали 15,0 % (див. рис. 3, V). При цьому спостерігалось зростання кількості відтворених УРАУ порівняно з показником, який спостерігався в 1-шу добу тестування, на 23,0 % ($p < 0,05$). Протягом усього періоду навчання досліджуваний показник у групі кіндлінгових щурів був достовірно меншим, ніж у групі контролю, і на 4-ту добу відмінності сягали 20,0 % ($p < 0,05$; див. рис. 3, V).

Після завершення вихідного тестування латентний пері-



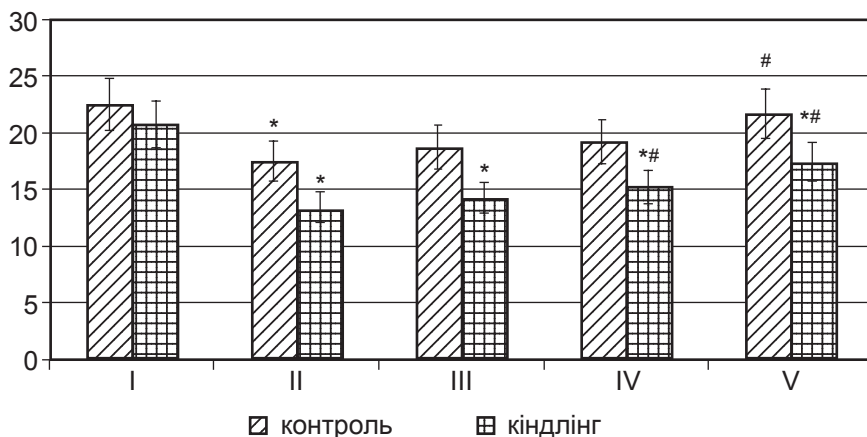


Рис. 3. Відтворюваність умовно-рефлекторного активного уникнення у віддаленому періоді кіндлінгу. За віссю абсцис: I — до початку моделювання кіндлінгу; II — через 14 діб з моменту припинення кіндлінгу та після 1-ї доби відновлення навчання; III, IV, V — відповідно 2-га, 3-тя та 4-та доба навчання; за віссю ординат — кількість відтворених УРАУ

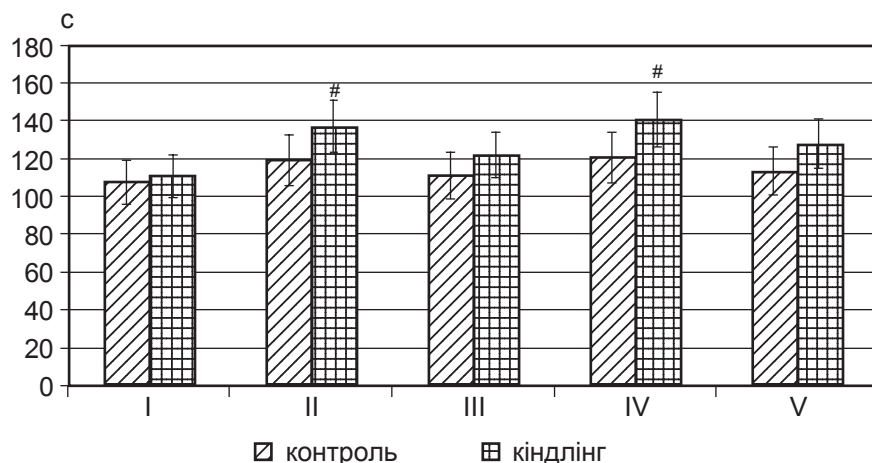


Рис. 4. Латентний період умовно-рефлекторного активного уникнення (сума латентностей уникнення у щурів, які демонстрували наявність рефлексу, тобто мали латентний період менше 6 с). За віссю абсцис: I — 4-та доба вихідного тестування; II, III — відповідно 1-ша та 4-та доба повторного циклу навчання у ранньому періоді кіндлінгу; IV, V — відповідно 1-ша та 4-та доба навчання у віддаленому періоді кіндлінгу; # — $P < 0,05$ порівняно з відповідним показником після вихідного тестування (ANOVA + Newman-Keuls тест)

од УРАУ становив $(107,2 \pm 9,8)$ та $(111,0 \pm 10,8)$ с відповідно у групах контролю та у щурів, у яких згодом викликали кіндлінг (рис. 4). У період повторного тестування, проведеного у ранньому періоді кіндлінгу, латентний період УРАУ у групі контролю перевищував показник, який спостерігався у вихідному фоні, на 11,1 % ($p > 0,05$), тимчасом як у групі кіндлінгових щурів досліджуваній показник перевищував такий у вихідному фоні на 19,1 % ($p < 0,05$; див.

рис. 4, II). Після 4-ї доби навчання латентний період УРАУ перевищував показник у вихідному фоні у групах відповідно на 3,6 та 8,8 % ($p > 0,05$; рис. 4, III). Повторне тестування у віддаленому періоді кіндлінгу засвідчило збільшення латентного періоду УРАУ у щурів групи контролю на 11,0 % ($p > 0,05$) та в групі кіндлінгових щурів — на 21,0 % ($p < 0,05$; див. рис. 4, IV). На 4-ту добу навчання досліджуваній показник перевищував вихідні дані

у групі контролю на 5,3 %, а в групі кіндлінгових щурів — на 13,0 % ($p > 0,05$; див. рис. 4, V).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що за умов відтворення кіндлінгу спостерігаються тенденції до зниження відтворюваності УРАУ — як на етапі його формування, так і після двотижневої перерви після навчання. Разом із тим, відтворення після перерви УРАУ у кіндлінгових щурів відбувалося швидше, ніж в інтактних, а кінцеве значення досліджуваного показника, на відміну від інтактних щурів, перевищувало вихідне значення, яке реєструвалося до двотижневої перерви. Крім того, отримані дані засвідчили, що за умов формування кіндлінгу погіршення когнітивної функції у щурів проявляється збільшенням латентного періоду виникнення реакції уникнення — як у ранньому, так і у відстроченому у часі періоді розвитку кіндлінгу. Повторний цикл навчання в обох випадках виявляється ефективним щодо скорочення латентного періоду УРАУ.

Подібний негативний вплив розвитку кіндлінгу на процес навчання, збереження та відтворення умовно-рефлекторних реакцій підтверджують результати досліджень, які визначили погіршення навчання активного уникнення у човниковому тесті при ПТЗ-кіндлінгу [5; 7]. Причому електроподразнювальний різновид кіндлінгу, який здійснювали шляхом впливу електричним струмом на вентрально-базальні відділи мигдалика, не супроводжувався порушеннями процесів навчання щурів [7].

Адекватність й ефективність застосування кіндлінгової моделі порушень когнітивної функції підтверджується критичним значенням утворень гіпокампа в процесах навчання [2], у структурах якого формується патологічна детермінанта хімічного кіндлінгу [3].

Таким чином, отримані результати свідчать, що модель



погіршення когнітивних функцій, викликана кіндлінговими введеннями ПТЗ, може бути використана для тестування ефектів антиепілептичних засобів щодо їх здатності модулювати когнітивну функцію, що є актуальним для проблеми обґрунтування більш ефективних методів лікування хворих на епілепсію [2].

Висновки

1. Пентиленететразол-індукований кіндлінг супроводжується ускладненнями формування УРАУ — як у ранній період кіндлінгу, так і у відстроченому в часі періоді.

2. Пентиленететразол-індукований кіндлінг можна використовувати як модель порушень когнітивних функцій, притаманних хронічній формі епілептизації головного мозку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Влияние буфотина и гутимины на выработку и сохранность условного рефлекса активного избегания у крыс линии Wistar / А. А. Миронов, В. Н. Крылов, И. В. Мухина, О. П. Тихобразова // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. — 2007. — № 6. — С. 124–128

2. Выработка реакции активного избегания у крыс и морфологические

изменения в гиппокампе при пентиленететразоловом киндлинге / А. Б. Гехт, Н. В. Гуляева, М. Ю. Степаничев, Т. В. Павлова // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. — 2009. — № 2. — С. 213–220.

3. Моделирование и механизмы подавления экспериментального эпилептического синдрома / Л. С. Годлевский, Е. В. Кобольев, В. Ф. Мустяца, Г. А. Дроздова. — Одесса : КП ОГТ, 2010. — 350 с.

4. Mishra A. Age dependent learning and memory deficit in Pentylene-tetrazol kindled mice / A. Mishra, R. K. Goel // Eur. J. Pharmacol. — 2012, Jan 15. — Vol. 674 (2/3). — P. 315–320. doi: 10.1016/j.ejphar.2011.11.010. Epub 2011 Nov 24.

5. Grecksch G. Effect of age on pentylene-tetrazol kindling and kindling-induced impairments of learning performance / G. Grecksch, A. Becker, C. Rauca // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1997, Apr. — Vol. 56 (4). — P. 595–601.

6. Impaired memory following repeated pentylene-tetrazol treatments in kindled mice / K. Takechi, K. Suemaru, H. Kawasaki, H. Araki // Yakugaku Zasshi. — 2012. — Vol. 132, N 2. — P. 179–182.

7. Kindling and its consequences on learning in rats / A. Becker, C. Grecksch, H. L. Ruthrich [et al.] // Behav. Neural. Biol. — 1992 Jan. — Vol. 57(1). — P. 37–43.

REFERENCES

1. Mironov A.A., Krylov V.N., Mukhina I.V., Tikhobrazova O.P. The impact of bufotin and gutimin on the develop-

ment and preserving the conditioned reflex of active avoidance in Wistar line of rats. *Vestnik Nizhegorodskogo Universiteta imeni N. I. Lobachevskogo* 2007; 6: 124–128.

2. Gekht A.B., Gulyayeva N.V., Stepanichev M.Yu., Pavlova T.V. Working out active avoidance reaction in rats and morphometric characteristics of the hippocampus in pentylene-tetrazol kindling. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatelnosti imeni I. P. Pavlova* 2009; 2: 213–220.

3. Godlevsky L.S., Kobolyev Ye.V., Mustyatsa V.F., Drozdova G.A. Modeling and mechanisms of suppression of experimental epileptic syndrome. *Odesa: KP OGT, 2010, 350 p.*

4. Mishra A., Goel R.K. Age dependent learning and memory deficit in Pentylene-tetrazol kindled mice. *Eur. J. Pharmacol* 2012 Jan 15; 674 (2-3): 315-320. doi: 10.1016/j.ejphar.-2011.11.010. Epub 2011 Nov 24.

5. Grecksch G., Becker A., Rauca C. Effect of age on pentylene-tetrazol-kindling and kindling-induced impairments of learning performance. *Pharmacol. Biochem. Behav* 1997 Apr; 56 (4): 595-601.

6. Takechi K., Suemaru K., Kawasaki H., Araki H. Impaired memory following repeated pentylene-tetrazol treatments in kindled mice. *Yakugaku Zasshi* 2012; 132 (2): 179-182.

7. Becker A., Grecksch C., Ruthrich H.L. et al. Kindling and its consequences on learning in rats. *Behav. Neural. Biol.* 1992 Jan; 57 (1): 37-43.

Надійшла 11.03.2015

Передплачуйте
і читайте



ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Передплата приймається у будь-якому передплатному пункті

Передплатний індекс 48717

У випусках журналу:

- ◆ Теорія і експеримент
- ◆ Клінічна практика
- ◆ Профілактика, реабілітація, валеологія
- ◆ Новітні технології
- ◆ Огляди, рецензії, дискусії

