

## ЗМІНИ ЧУТЛИВОСТІ ВЕНТРАЛЬНОГО ГІПОКАМПА ЩУРІВ, ЯКІ ПЕРЕНЕСЛИ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВУ ТРАВМУ, ПО ВІДНОШЕННЮ ДО ВПЛИВУ ЕПІЛЕПТОГЕНІВ

Одеський державний медичний університет

Відомо, що розвиток черепно-мозкової травми (ЧМТ) супроводжується збільшенням збудливості головного мозку, виникненням епілептиформної активності [1; 3]. Патогенез подібних проявів може бути пов'язаний із порушенням ГАМКергічного контролю, збільшенням функціональної активності системи ендогенних збуджувальних амінокислот, модульовальним впливом ендогенної опіатної системи [2; 3]. Новим, ще недостатньо дослідженим аспектом патогенезу посттравматичної епілепсії є роль медіаторів запалення, зокрема системи цитокінів, які можуть провокувати виникнення епілептиформних проявів [3]. Також не вивчено роль утворень вентрального гіпокампа в проявах посттравматичного посиленого нейронального збудження та його вплив на розвиток саме системи прозапальних цитокінів.

**Метою** даного дослідження було вивчення ефектів внутрішньогіпокампальної мікроін'єкції епілептогенів, які мають різний нейрохімічний механізм збуджувального впливу, та особливостей цих ефектів за умов застосування пентоксифіліну, здатного знижувати вивільнення ендогенних прозапальних цитокінів — фактора некрозу пухлин-альфа й інтерлейкіну-1-бета [4].

### Матеріали та методи дослідження

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

Шляхом вільного падіння вантажу (30 г) з висоти 50 см на потиличну зону черепа щурів спричинювали ЧМТ. За умов ефірного рауш-наркозу тварин фіксували так, щоб траєкторія падіння вантажу була перпендикулярною до поверхні черепа [1]. За подібних умов у щурів відтворювалися порушення, характерні для ЧМТ середнього ступеня тяжкості [1].

Вогнища епілептичної активності створювали за допомогою внутрішньогіпокампальної ін'єкції розчину епілептогену через 24 год від моменту ЧМТ. З цією метою застосовували мікроін'єктор "Hamilton" (США), за допомогою якого вводили епілептоген об'ємом 1,0 мкл протягом 1 хв в утворення лівого вентрального гіпокампа за координатами атласу [5]: (AP=-4,8; L=5,0; H=7,8). Групою контролю були інтактні щури, яким здійснювали аналогічне введення епілептогенів. Використовували такі розчини конвульсантів, які готували *ex tempore*: розчин натрієвої солі бензилпеніциліну — 10 000 МО/мл; NMDA ("Sigma", США) — 10,0 мг/мл; кайнової кислоти ("Sigma", США) — 2,0 мг/мл й азотнокислого стрихніну — 30,0 мг/мл.

Запис електричної активності проводили на комп'ютерному електроенцефалографі, який було створено на базі програми Labview 5.0 (США) для реєстрації та аналізу ЕЕГ. Потужність вогнищевої епілептичної активності виражали в умовних одиницях, які розраховували шляхом множення

середньої частоти генерування спайкових розрядів (коливання за 1 с) на їх середню амплітуду (у мілівольтах) протягом 1 хв. Тривалість існування вогнищ визначали від моменту появи першого і до реєстрації останнього спайкового потенціалу, при цьому враховували тільки тих тварин, у яких не визначалося розвитку іктальних розрядів.

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

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

### Результати дослідження та їх обговорення

Проведені дослідження засвідчили, що за умов внутрішньогіпокампальної мікроін'єкції розчину пеніциліну спостерігалось формування вогнищ, які генерували спайкову активність — цей ефект реєструвався як у тварин контрольної групи, так і у щурів із ЧМТ. При цьому латентний період виникнення вогнищ у щурів досліджуваної групи був меншим на 15,2 %, потужність епілептичної активності — більшою на 11,4 %, а тривалість існування вогнищ перевищувала показники контролю на 19,5 %, що, однак, статистично не відрізнялося від контролю ( $P > 0,05$ ) (рис. 1). Водночас мікроін'єкція розчину NMDA спричиню-



вала у щурів досліджуваної групи розвиток спайкових потенціалів, латентний період появи яких був на 62,1 % меншим, ніж у контролі ( $P < 0,01$ ). При цьому протягом 3–10 хв спостерігалось збільшення частоти й амплітуди розрядів, у 4 із 9 тварин — виникнення іктальних розрядів. Потужність вогнищевої активності до початку іктальної активності перевищувала показники у щурів контрольної групи в 2,03 разу ( $P < 0,001$ ). Тривалість існування вогнищ також була в 1,97 разу більшою, ніж у контролі ( $P < 0,001$ ). Внутрішньогіпокампулярна мікроін'єкція розчину каїнової кислоти супроводжувалася розвитком перших спайкових потенціалів, латентний період появи яких був меншим від такого в контролі на 33,9 % ( $P < 0,05$ ). При цьому у 2 щурів із 8 відповідно на 13-й та 18-й хвилини від моменту введення епілептогену спостерігалось формування іктальних розрядів. Тривалість існування епілептичних вогнищ перевищувала таку в контролі на 55,7 % ( $P < 0,01$ ). За умов введення в гіпокамп мозку розчину стрихніну латентний період перших спайкових розрядів перевищував такий у тварин контрольної групи на 8,9 %, потужність епілептичної активності — на 10,3 %, а тривалість існування вогнищ — на 21,2 % ( $P > 0,05$ ) (див. рис. 1).

За умов відтворення ЧМТ у щурів спостерігалось суттєве зниження середноефективної дози  $ED_{50}$ , яка спричинювала клонічні судоми, в 2,36 разу порівняно з відповідним показником у групі інтактних щурів —  $(0,66 \pm 0,05)$  мкг ( $P < 0,05$ ). За умов застосування ПТФ дозою 25,0 мг/кг, в/очер за 60 хв до здійснення ЧМТ, у щурів  $ED_{50}$  NMDA не відрізнялося суттєво від показників групи контролю (інтактні щури) й від тварин з однією ЧМТ ( $P > 0,05$ ) (рис. 2). Заподіяння ЧМТ на фоні використання ПТФ дозою 100,0 мг/кг супроводжува-

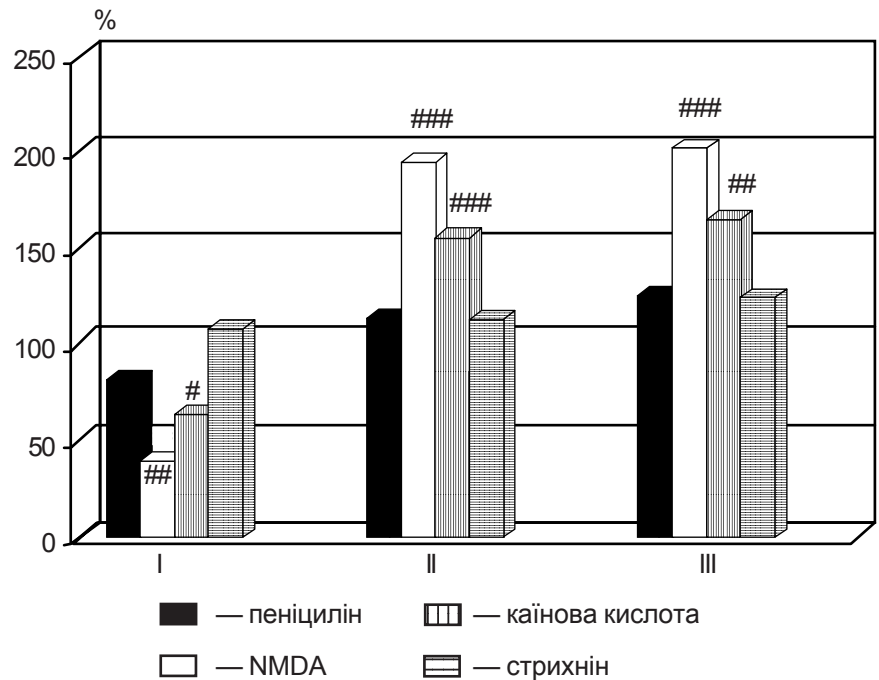


Рис. 1. Епілептогенні ефекти різних конвульсантів при їх внутрішньогіпокампулярному застосуванні у щурів із ЧМТ

Позначення. За віссю абсцис: I — латентний період перших судомних розрядів; II — максимальна потужність вогнищ епілептогенезу; III — тривалість існування вогнищ епілептогенного збудження. За віссю ординат: досліджувані показники у відсотках щодо таких у контролі, який прийнято за 100 %.

# —  $P < 0,05$ ; ## —  $P < 0,01$ ; ### —  $P < 0,001$  порівняно до відповідних показників у групі контролю.

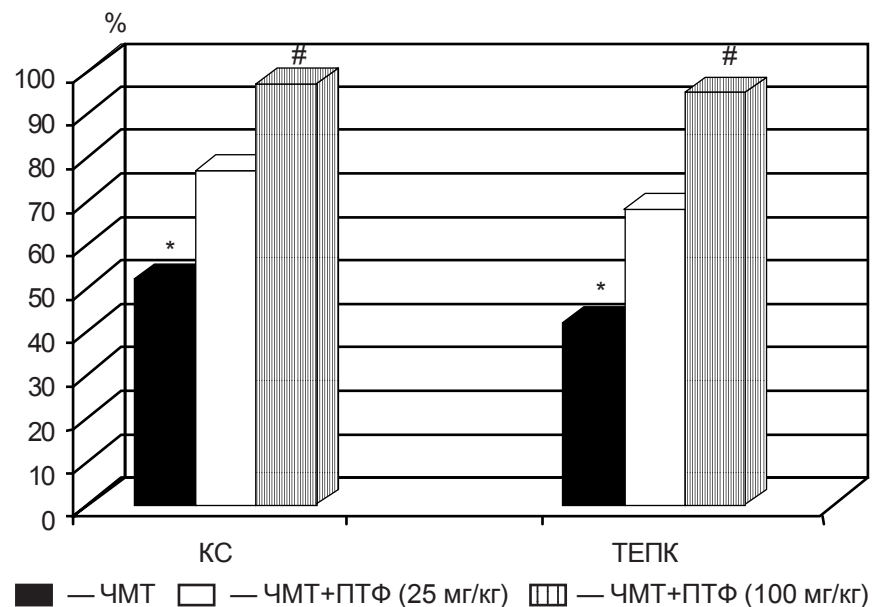


Рис. 2. Вплив пентоксифіліну на судоми, викликані внутрішньогіпокампулярним застосуванням NMDA

Позначення. За віссю абсцис: КС — клонічні судоми; ТЕПК — тонічна екстензія передніх кінцівок. За віссю ординат:  $ED_{50}$  NMDA у відсотках щодо відповідної величини епілептогену в інтактних щурів, прийнятої за 100 %.

\* —  $P < 0,05$  — порівняно з відповідним показником у групі інтактних щурів; # —  $P < 0,05$  — порівняно з показником у групі щурів із ЧМТ без лікування (ANOVA+Newman-Keuls тест).



лося підвищенням ED<sub>50</sub> NMDA порівняно до такої в групі тварин з однією ЧМТ на 55,6 % (P<0,05).

Застосування більш високих доз NMDA (від 0,5 до 6,0 мкг внутрішньогіпокампаально) супроводжувалося виникненням типової ТЕПК у частини піддослідних тварин. При цьому ED<sub>50</sub> NMDA становила (2,7±±0,3) мкг, а у щурів із ЧМТ — на 48,5 % менше (P<0,05) (див. рис. 2). За умов застосування ПТФ ED<sub>50</sub> NMDA була відповідно в 1,5 (ПТФ дозою 25,0 мг/кг; P>0,05) та в 1,9 разу (ПТФ дозою 100,0 мг/кг; P<0,05) вищою, ніж у щурів з однією ЧМТ (див. рис. 2).

Отже, наведені результати свідчать, що в ранньому посттравматичному періоді у щурів спостерігається посилена чутливість утворень вентрального гіпокампа до епілептогенної дії NMDA та каїнової кислоти, тобто до впливу агоністів рецепторів збуджувальних амінокислот. Причому щодо антагоністів ГАМК-рецепторів, блокатора хлорного каналу бензилпеніциліну натрію подібний ефект був відсутній, що свідчить про відносну збереженість функціональної активності ГАМКергічних механізмів мозку. Роль метаботропних рецепторів, які активуються каїновою кислотою, є відповідно порівняно меншою, ніж роль NMDA, оскільки епілептогенні ефекти останньої були виразнішими.

Раніше була встановлена роль вентральних відділів гіпокампа у формуванні детермінанти хронічної епілептичної активності за умов відтворення у щурів коразолового і пікروتоксинового кіндлінгу [2]. Отримані в цьому дослідженні дані дозволяють припустити, що одним із патогенетичних механізмів, які зумовлюють

високу вразливість вентрального гіпокампа до епілептогенних та інших патогенетичних факторів, може бути також їх підвищена чутливість до впливу прозапальних цитокінів, на що вказує висока терапевтична ефективність ПТФ, який блокує вивільнення цих цитокінів [4]. З другого боку, епілептогенний вплив агоністів збуджувальних амінокислот здійснюється шляхом посилення активності прозапальної ендогенної цитокінової системи [6]. Отже, патологічні стани головного мозку, в тому числі зумовлені ЧМТ, можна ефективно коригувати застосуванням ПТФ, а також інших фармакологічних агентів, здатних знижувати вивільнення прозапальних цитокінів.

Незначну тенденцію посилення активності стрихніну, що спостерігалася в проведених дослідженнях, можна пояснити тим, що при розвитку посттравматичних порушень зберігалася функціональна активність стрихнінчутливої ділянки рецепторів збуджувальних амінокислот [8].

Таким чином, отримані результати свідчать про патогенетичне значення підвищеної активності системи збуджувальних амінокислот, а саме NMDA й метаботропних рецепторів вентрального гіпокампа у патогенезі порушень діяльності мозку в посттравматичному періоді. Ці дані є перспективними для розробки патогенетично обґрунтованої терапії невропатологічних синдромів різного походження.

## Висновки

1. У ранньому періоді після моделювання у щурів механічної черепно-мозкової травми середнього ступеня тяжкості спостерігається підвищена

чутливість до впливу агоністів рецепторів збуджувальних амінокислот — NMDA та каїнової кислоти.

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

## ЛІТЕРАТУРА

1. Шандра О. А., Годлевський Л. С., Волохова Г. А. Вплив ушкодження структур мозку каїновою кислотою на судомні реакції тварин, що перенесли черепно-мозкову травму // Фізіол. журнал. — 1993. — № 2-3. — С. 3-14.
2. Шандра А. А., Годлевский Л. С., Брусенцов А. И. Киндлинг и эпилептическая активность. — Одесса: Астропринт, 1999. — 272 с.
3. Bauer R., Fritz H. Pathophysiology of traumatic injury in the developing brain: an introduction and short update // Exp. Toxicol. Pathol. — 2004. — Vol. 56. — P. 65-73.
4. Pentoxiphylline and propentophylline are inhibitors of TNF-alpha release in monocytes activated by advanced glycation endproducts / I. Meiners, S. Hauschildt, K. Nieber, G. Munch // J. Neural. Transm. — 2004. — Vol. 111, N 3. — P. 441-447.
5. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. — Sydney: Academic Press Inc., 1998.
6. The role of TNF-α in amygdala kindled rats / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov et al. // Neuroscience Research. — 2002. — Vol. 42. — P. 147-153.
7. A neuro-pharmacological evaluation of felbamate as a novel anticonvulsant / H. S. White, H. H. Wolf, E. A. Swinyard et al. // Epilepsia. — 1992. — Vol. 33, N 3. — P. 564-572.
8. Woodbury D. M. Convulsant drug: Mechanisms of action // Antiepileptic drugs: Mechanism of action. — N. Y.: Raven Press, 1980. — P. 249-303.

