

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І. І. МЕЧНИКОВА

Біологічний факультет

Кафедра фізіології людини і тварин

**Дипломна робота
бакалавра**

на тему: **«Особливості формування хронічного періоду звичайного та швидкого коразолового кіндлінгу у мишей»**

«The features of the chronic period formation of usual and rapid pentylenetetrazol-induced kindling in mice»

Виконав: студент денної форми навчання
спеціальність 6.040102 Біологія
Макела Мавіла Джонатан

Науковий керівник
кандидат біологічних наук, доцент
Гладкій Тетяна Володимирівна .

Рецензент:
кандидат біологічних наук, доцент
Сорокшн Андрей Вскторович

Рекомендовано до захисту:
Протокол засідання кафедри
№ _____ від «__» _____ р.

Завідувач кафедри
.....
_____ (підпис)

Захищено на засіданні ЕК № 2
Протокол № _____ від «__» _____ р.
Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою, шкалою ECTS, бал)

Голова ЕК
_____ проф. Стойловський В. П.
_____ (підпис)

Одеса – 2017

Анотація

Досліджено особливості судомної активності під час формування класичного та швидкого коразолового кіндлінгу у мишей. Виявили, що зменшення інтервалу введення коразолу не приводило к значним змінам у формування кіндлінгу під час гострого та хронічного періоду.

Через два тижні при моделюванні посткіндлінгу виявили значне зростання судомної готовності у всіх дослідних тварин. Такий перебіг подій характерне для істинно кіндлінгових тварин. Доказано, що модель прискороного формування ЕпА за допомогою коразолових ін'єкцій представляє собою особу форму кіндлінгу.

Роботу викладено на 36 сторінках, вона містить 4 таблиці та 2 рисунки. Наведено посилання на 44 джерел літератури (8 кирилицею та 36 латиницею).

Ключові слова: *звичайний кіндлінг, швидкий кіндлінг, коразол, судоми, миши.*

The features of seizure activity during the formation of usual and rapid pentylenetetrazol-induced kindling in mice were investigated. The reducing of the interval of pentylenetetrazol injections did not lead to significant changes at the kindling formation during the acute and chronic period.

After two weeks after the acute period we modeled the postkindling. Formation of postkindling activity was connected with increasing of seizer's threshold in all experimental animals.

Such development of chronic kindling period is characteristic for true-kindled animals. We proved, that rapid kindling model with pentylenetetrazol injections is a form of special kindling.

Diploma thesis is presented on 36 pages, it contains 4 tables and 2 pictures. It provides links to 44 references (8 cyrillic and 36 latinic).

Key words: *usual kindling, rapid kindling pentylenetetrazol, seizures, mice.*

ЗМІСТ

ВСТУП	5
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Патофізіологічні механізми розвитку епілептиформної активності ..	7
1.2. Кіндлінг, як модель хронічної епілептиформної активності.....	14
1.3. Особливості прискороного формування кіндлінгу	16
2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	19
2.1. Схема експерименту	19
2.2. Моделювання звичайного фармакологічного кіндлінгу.....	19
2.3. Моделювання швидкого фармакологічного кіндлінгу	20
2.4. Методика оцінювання інтенсивності судомних проявів поведінки мишей	20
2.5. Особливості формування хронічного періоду фармакологічного кіндлінгу.....	20
2.6. Моделювання посткіндлінгу.....	21
2.7. Статистична обробка результатів досліджень	21
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	22
ВИСНОВКИ.....	31
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	32

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГАМК – гамма-аміномасляна кислота;

ГПСП – гальмуючий постсинаптичний потенціал;

ЕС – електростимуляція;

ЕпА – епілептиформна активність;

ЗПСП – збуджуючий постсинаптичний потенціал;

ЦНС - центральна нервова система;

NMDA – N-метил-D-аспартат.

ВСТУП

З'ясування нейропатологічних механізмів розвитку епілептиформної активності (ЕПА) є одним з головних питань епілептіології. Дослідження виникнення, розвитку та розповсюдження ЕПА важливе для розуміння патогенезу відповідних клінічних форм епілепсії і стають основою для розробки нових ефективних методів терапії епілепсії [7, 13].

Слід зазначити, що в базисних дослідженнях з вивчення патогенетичних механізмів хронічної ЕПА, часто застосовують кіндлінг, який є найадекватнішою моделлю характерних проявів епілептогенезу - поступового наростання патологічних форм нейрональної активності, вираженим порушенням активності рухових систем організму, тривалим збереженням високого ступеня збудливості утворень мозку в умовах відсутності епілептогенних подразнень [2, 8, 32].

На сьогоднішній день одним із актуальних питань експериментальної епілептіології є створення нових моделей, які дозволяють відслідковувати зміни як в корі, так і в багатьох підкоркоркових структурах під час швидко наростаючої синхронізації та генералізації ЕПА. Нещодавно була запропонована модель гострих судом шляхом повторного введення субконвульсивних доз коразолу протягом усього 70 хвилин [44]. Під час цих експериментів відбувалося формування особливого типу активності, який дослідники назвали «генералізований безсудомний епілептичний статус». Відтворення в експерименті такого типу нейрональної гіперактивності дає можливість дослідити закономірності розвитку, реорганізації епілептогенних та протиепілептогенних систем протягом короткого періоду часу.

Мета роботи полягала у визначенні особливостей формування хронічного періоду епілептиформної активності за умов моделювання звичайного та швидкого коразолового кіндлінгу у мишей.

У зв'язку з чим були поставлені наступні задачі:

1) дослідити та порівняти особливості формування гострого періоду класичного та швидкого коразолового кіндлінгу у мишей;

2) дослідити та порівняти особливості поведінки мишей протягом хронічного періоду формування класичного та швидкого коразолового кіндлінгу;

3) дослідити та порівняти особливості судомних реакцій мишей при формуванні посткіндлінгу через 15 діб після розвитку гострого періоду класичного та швидкого коразолового кіндлінгу.

Об'єкт дослідження: особливості судомної активності під час формування епілептичної системи.

Предмет дослідження: особливості змін поведінки мишей при формуванні хронічного періоду коразолового кіндлінгу за умов різних інтервалів введення конвульсанту.

ВИСНОВКИ

1. При моделюванні гострого періоду коразолового кіндлінгу у мишей як при звичайному типі кіндлінгу, так і при прискореному, зареєстрували поетапний розвиток клонічних судом. Розвиток генералізованих клоніко-тонічних судом спостерігали у 70 % та 37,5 % тварин, відповідно.

2. Протягом хронічного періоду звичайного та швидкого коразолового кіндлінгу у 100 % мишей зареєстрували розвиток судомних поведінкових реакцій. Розвиток тонічних компонентів клонічних судом відбувався у 90 % мишей із звичайним типом формування кіндлінгу та 75 % - із прискореним.

3. При моделюванні посткіндлінгу після звичайного та прискореного типу формування гострого періоду коразолового кіндлінгу у більшості дослідних мишей зареєстрували збільшення рівня судомної готовності із розвитком генералізованих клоніко-тонічних судом у 80 % та 50 % тварин, відповідно.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Биниашивили Р. Г., Вейн А. М., Гафуров Б. Г., Рахимджанов А. Р.* Эпилепсия и функциональные состояния мозга. – Ташкент: Медицина, 1985. – 292 с.
2. *Годухин О. В.* Клеточно-молекулярные механизмы киндлинга // Успехи физиол. наук. – 2005. – Т. 36, № 2. - С. 41 - 54.
3. *Карлов В. А.* Эпилепсия. – М.: Медицина, 1990. – 336 с.
4. *Крыжановский Г. Н., Шандра А. А.* Влияние электрической стимуляции верхних бугорков четверохолмия на очаговую эпилептическую активность в коре головного мозга // Бюллетень эксперим. биологии и мед. – 1993. – Т. 116, № 8. – С. 119 – 122.
5. *Медицинская статистика понятным языком: вводный курс: пер. с англ.* / Банержи А. - Под ред. В. П. Леонова. – М.: Практическая медицина, 2007. – 287 с.
6. *Семьянов А. В., Годухин О. В.* Клеточно–молекулярные механизмы фокального эпилептогенеза // Успехи физиологических наук. – 2001. – Т. 32, № 1. – С. 60 – 78.
7. *Шандра А. А.* Принципы и методы патогенетической терапии эпилепсии: Автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.00.16 - Москва, 1985. - 45 с.
8. *Шандра А. А., Годлевский Л. С., Брусенцов А. И.* Киндлинг и эпилептическая активность. - Одесса: АстроПринт, 1999. – 275 с.
9. *Barborosie M., Avoli M.* CA3-Driver hippocampale-entorinal loop controls rather than sustains in vitro limbic seizures // J. Neurosci. - 1997. – № 17. – С. 9308 – 9314.
10. *Bickson M., Lian J., Hahn P.* Suppression of epileptiform activity by high frequency sinusoidal fields in rat hippocampal slices // J. Physiol. – 2001. – № 531. – P. 181 – 191.

11. *Bliss T. V. P., Lynch M. A.* Long-term potentiation of synaptic transmission in the hippocampus: properties and mechanisms // *Neurology and Neurobiol.* – 1988. – V. 35, № 4. – P. 3 – 72.
12. *Buzsaki G.* The thalamic clock: emergent network properties // *Neurosci.* – 1991. – V. 41, № 2/3. – P. 351 – 364.
13. *Coppola A., Moshé S. L.* Animal models // *Handb. Clin. Neurol.* – 2012. - № 107. – P. 63-98
14. *Charpier S., Leresche N., Deniau J.-M.* On the putative contribution of GABA_B receptors to the electrical events occurring during spontaneous spike and wave discharges // *Neuropharmacol.* – 1999. – V. 38, № 2. – P. 1699 – 1706.
15. *de Curtis M., Avanzini G.* Interictal spikes in focal epileptogenesis // *Prog. Neurobiol.* – 2001. - № 63. – P. 541 – 567.
16. *David M. S., Edward H. B.* Changes in midline thalamic recruiting responses in the prefrontal cortex of the rat during the development of chronic limbic seizures // *Epilepsia.* – 2009. – Vol. 50, № 6 - P. 556 – 565.
17. *Dhir A.* Pentylentetrazol (PTZ) Kindling Model of Epilepsy // *Curr. Protoc. Neurosci.* – 2012. – Vol. 9, № 9. – P. 37 – 39.
18. *Eghbali M., Gage P. W., Birnir B.* Pentobarbital modulates gamma-aminobutyric acid-activated single-channel conductance in rat cultured hippocampal neurons // *Mol. Pharmacol.* – 2000. – V. 58, № 3. – P. 463 – 469.
19. *Frances E. J.* Epilepsy as a spectrum disorder: Implications from novel clinical and basic neuroscience // *Epilepsia.* – 2011. - Vol. 52, Suppl. 1. - P. 1 – 6.
20. *Galanopoulou A. S., Moshé S. L.* The epileptic hypothesis: developmentally related arguments based on animal models // *Epilepsia.* – 2009. - Vol. 50, Suppl. 7. - P. 37 - 42.
21. *Gloor P.* Generalized cortico-reticular epilepsies. Some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge // *Epilepsia.* – 1968. – №. 9 – P. 249 – 263.

22. *Goddard G. V., McIntyre D. C., Leech C. K.* A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation // *Exp. Neurol.* – 1969. – Vol. 25, № 2. – P. 305 – 330.
23. *Holmes M. D., Brown M., Tucker D. M.* Are "generalized" seizures truly generalized? Evidence of localized mesial frontal and frontopolar discharges in absence // *Epilepsia.* – 2004. - Vol. 45, № 6. - P. 1568 – 1579.
24. *Kelly L., McIntyre D.* Hippocampal kindling protects several structures from the neuronal damage resulting from kainic acid-induced status epilepticus // *Brain Res.* – 1994. - Vol. 634. – P. 245 - 256.
25. *Kulik A., Vida I., Lujan R., Haas C., Lopez-Benidito G., Shigemoto R., Frotscher M.* Subcellular localization of metabotropic GABA_B receptor subunits GABA_{B1a/b} and GABA_{B2} in the rat hippocampus // *J. Neurosci.* – 2003. - V. 35, № 23. - P. 11026 - 11035.
26. *Liiders H., Lesser R. P., Dinner D. S., Morris H. H.* Generalized epilepsies: a review // *Cleveland Clinic Quarterly.* – 1984. – V. 51. – P. 205 – 226.
27. *Lopes da Silva F. H., Kamphuis W., Titulaer M.* An experimental model of progressive epilepsy: the development of kindling of the hippocampus of the rat // *Ital. J. Neurol. Sci.* – 1995. – Vol. 16. – № 1 - 2. – P. 45 - 57.
28. *Lopez-Benidito G., Shigemoto R., Kulik A., Paulsen O., Fairen A., Lujan R.* Expression and distribution of metabotropic GABA subunits GABA_BR1 and GABA_BR2 during rat neocortical development // *Eur. J. Neurosci.* – 2002. - № 15. - P. 1766 - 1778.
29. *Lothman E. W.* Kindling with hippocampal seizures / E. W. Lothman, E. H. Bertram. – [ed. by H. Lueders]. - N.Y.: Raven Press Ltd., 1991. - *Epilepsy Surgery.* - P.749 – 756.
30. *McNamara J. O.* Cellular and molecular basis of epilepsy // *J. Neurosci.* – 1994. - Vol. 14, № 6. - P. 3413 – 3425.
31. *Meeren H. K. M., Pijn J. P. M., Van Luijtelaar E. J. M., Coenen A. M. L., Lopes da Silva F. H.* Cortical focus drives widespread corticothalamic networks

- during spontaneous absence seizures in rats // *J. Neurosci.* – 2002. – № 4. – P. 1480 – 1495.
32. *Morimoto K., Fahnestock M., Racine R.* Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain // *Prog. Neurobiol.* – 2004. - № 73. – P. 1 - 60.
 33. *Moshe S. L., Albala B. J.* Maturation changes in postictal refractoriness and seizure susceptibility in developing rats // *Ann. Neurol.* – 1983. – Vol. 13, № 5. – P. 552 - 557.
 34. *Moshe S. L., Albala B. J., Ackermann R. F., Engel J. Jr.* Increased seizure susceptibility of the immature brain // *Dev. Brain Res.* – 1983. – Vol. 7, № 1. – P. 81 – 85.
 35. *Mucha R. F., Pinel J. P. J.* Postseizure inhibition of kindled seizures // *Exp. Neurol.* - 1977. -Vol. 54, № 1. - P. 266 – 282.
 36. *Penfield W. G., Jasper H. H.* Epilepsy and the functional anatomy of the human brain. - Boston: Little, Brown and Co, 1954. – 896 p.
 37. *Pinault D., Leresche N., Charpier S., Deniau J. M.* Intracellular recordings in thalamic neurons during spontaneous spike and wave discharges in rats with absence epilepsy // *J. Physiol.* – 1998. – V. 509. – P. 449 – 456.
 38. *Pugliese A. M., Ballerini L., Passani M. B., Corradetti R.* EPSP-spike potentiation during primed burst-induced long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampal slices // *Neurosci.* – 1994. – Vol. 62, № 4. – P. 58 – 62.
 39. *Schroeder H., Becker A., Loessner B.* Glutamate binding to brain membranes is increased in pentylenetetrazol kindled rats // *J. Neurochem.* – 1993. - Vol. 60. – P. 1007 – 1011.
 40. *Scott R. C., Neville B. G.* Pharmacological management of convulsive status epilepticus in children // *Dev. Med. Child Neurol.* – 1999. – Vol. 41, № 3. – P. 207 - 210.

41. *Semyanov A., Godukhin O.* Kindling-like state in rat hippocampal CA1 slices induced by the repeated short-term extracellular K^+ increases: the role of L-type Ca^{2+} -channels // *Neurosci. Lett.* – 1997. – V. 223, № 6. – P. 177 – 180.
42. *Snead O. C.* Evidence for $GABA_B$ -mediated mechanisms in experimental generalized absence seizures // *Europ. J. Pharmacology.* – 1991. - № 213. - P. 343 - 349.
43. *Sohal V. S., Huntsman M. M., Huguenard J. R.* Reciprocal inhibitory connections regulate the spatiotemporal properties of intrathalamic oscillations // *J. Neurosci.* – 2000. – V. 20. – P. 1735 – 1745.
44. *Wong M., Wozniak D. F., Yamada K. A.* An animal model of generalized nonconvulsive status epilepticus: immediate characteristics and long-term effects // *Experimental Neurology.* – 2003. – Vol. 183. – P. 87 – 99.