

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ПЕРВАК МИХАЙЛО ПАВЛОВИЧ

УДК: 616:621.397.13.398

**ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ЕПІЛЕПТИЧНОГО СИНДРОМУ ЗА
УМОВ ТРАНСКРАНІАЛЬНОГО ПОДРАЗНЕННЯ ПОСТІЙНИМ СТРУМОМ
(експериментальне дослідження)**

Спеціальність 14.03.04 – патологічна фізіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Суми - 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеському національному медичному університеті МОЗ України, м. Одеса.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
ГОДЛЕВСЬКИЙ ЛЕОНІД СЕМЕНОВИЧ,
Одеський національний медичний університет
МОЗ України (м. Одеса), завідувач кафедри
біофізики, інформатики та медичної апаратури

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
РЕГЕДА МИХАЙЛО СТЕПАНОВИЧ,
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького МОЗ України (м. Львів),
ректор, завідувач кафедри патологічної фізіології

доктор медичних наук, професор
КЛИМЕНКО МИКОЛА ОЛЕКСІЙОВИЧ,
Чорноморський національний університет
імені Петра Могили МОН України (м. Миколаїв),
проректор з науково-педагогічної роботи та питань
розвитку, професор кафедри фізичної та медичної
реабілітації, кафедри медичної біології та фізики,
мікробіології, гістології, фізіології та патофізіології

Захист відбудеться « 26 » червня 2020 р. об 11.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті (40000, м. Суми, вулиця Санаторна 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Сумського державного університету (40007, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2).

Автореферат розісланий « » березня 2020 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05
кандидат медичних наук, доцент



О.С. Погорєлова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. На епілепсію сьогодні в усьому світі хворіє близько 70 млн людей (Авакян Г.Н., 2015; Shorvon S.D. et al., 2011; Chen Z. et al., 2018). В Україні розповсюдженість епілепсії складає близько 2,5 - 4,5 на 1000 (Дубенко А.Є. і співав., 2018; Litovchenko T.A. et al., 2019), що збігається з показниками розвинених країн (4-6 на 1000) (Fisher R.S., Velasco A.L., 2014; Kirsten M. et al., 2017). Незважаючи на появу нових, більш ефективних антиепілептичних препаратів (АЕП), протягом останніх двадцяти років не відбулося якісного зрушення ефективності лікування хворих на епілепсію (Glauser T. et al., 2013; Chen Z. et al., 2018). Від 22,5 % (Picot M.C. et al., 2008) до 40 % (Laxer K.D. et al., 2014) пацієнтів, які страждають на епілепсію є нечутливими до АЕП, а 10 % з них мають прогресивну форму хвороби за відсутності показань до хірургічного лікування, тобто протягом життя отримують симптоматичну терапію (Зозуля І.С., Нечай А.Ф., 2011; Brodie M.J. et al., 2012; Laxer K.D. et al., 2014).

На сьогодні парадигма лікування хворих на епілепсію зазнає зміни, які зводяться до якнайшвидшого застосування нефармакологічного лікування хворих на резистентну епілепсію, а саме – хірургічного втручання, або застосування стимуляцій структур мозку (Chen Z. et al., 2018). Подібній зміні парадигми сприяє факт відсутності впливу сучасних АЕП на ключові ланки патогенезу епілепсії (Pitkänen A. et al., 2014). Також важливою обставиною є розширення арсеналу прецизійних неінвазивних методів подразнення структур головного мозку, які довели свою ефективність при резистентних до фармакологічного лікування захворюваннях головного мозку, зокрема застосування транскраніального подразнення постійним струмом (ТППС) (Сперлінг. М.Р., 2016; Yoon K.J. et al., 2012; Ugawa Y., 2013; Kishore A., Pora T., 2014; Vocci T. et al., 2015; Ferrucci R. et al., 2016; Batsikadze G. et al., 2019).

Однією із структур мозку, подразнення якої супроводжуються розвитком протисудомних впливів є мозочок (Годлевский Л.С. и соавт., 2006; 2010; Цимбалюк В.І. і співав., 2013; Fisher R.S., Velasco A.L., 2014; Kros L. et al., 2015; Ferrucci R. et al., 2016). Механізми реалізації подібних впливів включають як трансинаптичне гальмування епілептизованих нейронів, так і здійснення подібних ефектів через вивільнення нейромедіаторів та нейромодуляторів, які забезпечують зниження збудливості нервової тканини за рахунок змін активності внутрішньоклітинних сигнальних систем та базальних метаболічних процесів. Так, збудження ядра шатра мозочка активує PPAR γ , зменшує вміст інтерлейкінів в тканині мозку (Liu B. et al., 2017), які, в свою чергу, забезпечують нейроімунну взаємодію (Клименко М.О., 2014; Регеда М.С., 2015; Шандра О.А., 2015). Тирозин-кіназна активність необхідна для виникнення тривалої депресії кори мозочка (Tsuruno S. et al., 2008), в той час як гальмування тирозин-кіназної активності, так і збудження кори мозочка забезпечують протисудомні впливи (Liu G. et al., 2014; Bender D.K. et al., Chubach V.S. et al., 2015; Kros L. et al., 2015).

Таким чином, є актуальним вивчення особливостей ТППС мозочка на прояви хронічного епілептичного синдрому, викликаного методом хімічного кіндлінгу, та дослідження особливостей патогенезу епілептичного синдрому за умов

комбінованого застосування ТППС та препаратів – модуляторів тирозин-кінази, а також PPAR γ рецепторів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідної роботи Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) на тему «Епігенетичні механізми реалізації дії фізичних факторів на структури головного мозку та гомеостаз» (№ державної реєстрації 0116U008928). Дисертант є співвиконавцем даної науково-дослідної роботи.

Мета дослідження – з'ясувати патофізіологічні механізми епілептичного синдрому за умов ТППС структур мозочка.

Завдання дослідження:

1. Дослідити вплив транскраніальних подразнень постійним струмом (ТППС) кори мозочка на прояви хронічних та гострих епілептиформних проявів – викликаних максимальним електрошоком та застосуванням пентилентетразолу (ПТЗ).

2. Провести порівняльну оцінку ефективності ТППС кори мозку та мозочка за допомогою електродів різної полярності.

3. Вивчити особливості циклу неспання – снання за умови ТППС кори мозку та мозочка за умов моделювання кіндлінгу.

4. Дослідити особливості ЕЕГ у щурів за умови ТППС кори мозку та мозочка на моделі кіндлінгу.

5. Дослідити вплив наночастинок срібла на перебіг кіндлінгових судом за умов застосування інгібітору тирозин-кінази та ТППС мозочка.

6. Дослідити особливості проявів на ранній та пізній стадіях розвитку ПТЗ-кіндлінгу за умов комбінованого застосування ТППС мозочка та кетаміну.

7. Дослідити особливості кіндлінг-викликаної судомної активності на тлі ТППС мозочка та застосування блокатора γ -рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ)-дигліцидилового ефіру бісфенолу А - 2,2-[(1-метилетіліден)біс(4,1-феніленеоксіметілен)] біс-оксірану (BADGE, 100,0 мг/кг, в/очер).

Об'єкт дослідження – поведінкові та електрографічні характеристики судомних проявів.

Предмет дослідження – особливості змін поведінкових та нейроелектрофізіологічних показників гострого та хронічного епілептичного синдрому за умов ТППС структур мозку.

Методи дослідження. Патофізіологічні (моделювання епілептичного синдрому), біофізичні (вплив факторами фізичної природи на структури мозку), хірургічні (стереотаксичне вживлення електродів в структури мозку), нейроелектрофізіологічні (запис та аналіз електричної активності структур мозку), нейрофармакологічні (застосування нейротропних фармакологічних засобів), статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше на моделі ПТЗ-викликаного кіндлінгу встановлено, що ТППС мозочка незалежно від полярності електрода викликало зростання латентного періоду судом, провокованих застосуванням ПТЗ (30,0 мг/кг в/очер), попереджало виникнення генералізованих клоніко-тонічних судомних нападів та зменшувало тривалість іктальної

епілептиформної активності в структурах мозку. Визначено, що хоча ТППС фронтальних відділів кори мозку зменшує кількість щурів із судомними генералізованими нападами, тяжкість судом залишалась більш високою у порівнянні до ТППС мозочка. На моделі гострих ПТЗ-індукованих судом (60,0 мг/кг в/очер) встановлено подовження латентного періоду перших судом при ТППС мозочка.

Вперше на моделі максимальних електрошокових судом встановлено, що протисудомні впливи ТППС мозочка за допомогою анода виникають протягом перших двох годин з моменту подразнення, в той час як протисудомні впливи катода реєструвались через годину і утримувались до десятої години післястимуляційного періоду. Визначено протилежну спрямованість впливів аноду та катода на прояви гострих судом протягом перших півгодини післястимуляційної години спостереження.

Вперше встановлено, що на тлі застосування акситинібу – блокатора тирозинкінази типу В посилюються протисудомні впливи як ТППС мозочка, так і прецизійного подразнення дольки VI старої кори мозочка, а також блокуються проепілептогенні впливи наночастинок срібла (30 нм). Вперше визначено розвиток протисудомних впливів ТППС мозочка на тлі застосування блокатора NMDA рецепторів кетаміну, що є більш виразним на пізній стадії формування кіндлінгу. Вперше встановлено, що блокування γ -рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ) застосуванням BADGE, (100,0 мг/кг в/очер) усуває протисудомні впливи ТППС мозочка.

Вперше встановлено, що ТППС анодом як кори мозочка, так і фронтальної кори мозку кіндлінгових щурів збільшувало тривалість парадоксального сну та зменшувало його фрагментарність, в той час як ТППС катодом кори мозочка збільшувало латентність парадоксального сну, а ТППС катодом кори мозку зменшувало фрагментарність сну. Визначено, що ТППС мозочка катодом зменшувало потужність коливань альфа-діапазону в корі головного мозку, в той час як ТППС анодом зменшувало потужність коливань дельта-, а також альфа-діапазону з одночасним збільшення потужності коливань бета- та гама-діапазонів у фронтальній корі.

Новизна дослідження підтверджується патентом України на корисну модель № 133587 «Спосіб усунення епілептичної активності» Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі від 10.04.2019.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати можуть бути застосовані для оптимізації протиепілептичних ефектів, яких досягають шляхом подразнень електричним струмом структур головного мозку. Зокрема, визначене в роботі посилення протисудомних впливів неінвазивного подразнення утворень старої кори мозочка за рахунок застосування інгібіторів тирозинкінази, а також теоретичне обґрунтування доцільності застосування агоністів PPAR γ рецепторів може бути використане для впровадження в практичну діяльність лікарів-епілептологів, та неврологічних відділень.

Результати обґрунтовують патогенетичну роль, яку відіграють залежні від активності тирозинкінази та рецепторів PPAR γ механізми у формуванні гострого та хронічного епілептичного синдрому. Доведена роль зазначених систем в реалізації

протисудомного впливу структур мозочка, що має перспективне значення для уявлень щодо фундаментальних принципів здійснення функцій мозочка при різних функціональних станах головного мозку.

Результати досліджень впроваджено в науково-педагогічний процес на кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, кафедрі патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету (м.Харків), кафедрі патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедрі медичної фізики, діагностики та лікувального обладнання Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, здійснено планування роботи, визначено мету і задачі дослідження, методичні підходи, виконано всі експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку одержаних результатів, їх оформлення у вигляді таблиць та рисунків, проведено аналіз та узагальнення результатів. Автором особисто сформульовано висновки роботи, написані всі розділи дисертації. Дисертантом самостійно проведено підготовку наукових праць до публікації за основними положеннями дисертації. Співавтори опублікованих робіт надавали консультативну допомогу з теоретичних і методичних питань.

Апробація результатів дисертації. Основні положення та висновки дисертаційної роботи були оприлюднені та обговорені на XXIII всесвітньому конгресі з неврології (Кіото, Японія, 2017), Міжнародній науково-практичній конференції «Вчені майбутнього» (Одеса, 2018, 2019); конференції «Ліки-Людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2018, 2019); форумі з нейронаук «*Neuropus 2018*» (Краків, Польща, 2018); Міжнародній науково-практичній конференції «Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини» (Полтава, 2018); VII Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичній конференції, присвяченій 110-річчю з дня народж. чл.-кор-та АМН СРСР, професора М. Н. Зайка (Полтава, 2018); міжнародній науково-практичній конференції «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2018); X міжнар. симпозіумі «Актуальні проблеми біофізичної медицини» (Київ, 2018); VI міжнар. наук. конф. молодих вчених, ініційованої Фондом Першого Президента Казахстану – Елбасі Південно-Казахстанською мед. Академією (Шимкент, Республіка Казахстан, 2018); 20-му з'їзді Українського фізіол. тов.-ва з міжнар. участю, присвяч. 95-річчю від дня народж. акад. П.Г.Костюка (Київ, 2019).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 21 наукова робота, з них одна монографія (у співавторстві), 6 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 стаття у зарубіжному виданні, 12 тез доповідей на наукових форумах різного рівня. Також отримано патент України.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 189 сторінках комп'ютерного тексту та складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та обговорення результатів власних досліджень, висновків, та списку

використаних джерел у кількості 338, (з них 55 – кирилицею і 283 – латиницею) та додатків. Дисертація проілюстрована 14 таблицями та 26 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліди проводилися на 239 білих щурах лінії Вістар масою від 180 до 350 г. Всі експерименти проводились згідно вимог комісії з біоетики ОНМедУ (протокол № 15 А від 24 лютого 2012 р.).

З метою моделювання хронічної форми епілептичного синдрому відтворювали фармакологічний кіндлінг шляхом трьохтижневого курсу однократних щодобових в/очер введень підпорогових доз коразолу (30,0 мг/кг) експериментальним тваринам [Шандра А. А. и соавт., 1990, 1999]. Залежно від завдань дослідження вивчали прояви раннього кіндлінгу (10-15 введень епілептогену) та розвиненого кіндлінгу (21 ін'єкція ПТЗ).

Гостру форму епілептичного синдрому моделювали в/очер застосуванням коразолу (60,0 мг/кг). Максимальні електрошокові судоми (МЕС) відтворювали шляхом транскорнеального впливу імпульсами електричного струму тривалістю імпульсів 0,6 мс, частотою 60 Гц, силою струму 150 мА при загальній тривалості подразнення 0,2 с [Castel-Branco M.M. et al., 2009].

Цикл неспання-спанья визначали протягом 4 г безперервного спостереження поведінки та електрокортикограми [Шандра та співав., 1999].

Імплантацію електродів проводили за прийнятими методиками [Волошин М.Я., 1987; Буреш Я. та ін., 1991] та координатами стереотаксичного атласу [Raxinos G., Watson C., 1998].

ТППС реалізували через електрод діаметром 3,5 мм, який фіксували на різних ділянках поверхні черепа щура за допомогою клейкої стрічки. Анод розміром 40×45 мм розміщували на шкірі живота щура. Постійний струм (600 мкА) пропускали протягом 15 хв; джерелом був модифікований генератор «ЭТРАНС». Електричні подразнення (ЕП) здійснювали за допомогою електростимулятора універсального ЕСУ-1 частотою 100 Гц, тривалістю імпульса 0,25 мс та силою електричного струму 50-100 мкА. Тривалість окремого сеансу ЕП складала 4,5-5,0 с. При цьому інтенсивність ЕП була на 20 % меншою від такої, яка викликала поведінкові реакції у щурів. Щури контрольної групи піддавались всім маніпуляціям, пов'язаним з ТППС чи ЕП без пропускання стимулюючого струму. Електричну активність структур мозку реєстрували в умовах пасивного неспання тварин за допомогою комп'ютерної системи «DX-5000» (НВО «DX-системи», Харків, Україна).

У роботі використовувалися пентиленететразол («Sigma-Aldrich», США) (30,0 та 60,0 мг/кг в/очер), акситиніб («Sigma-Aldrich», США) –5,0 та 10,0 в/очер, Кетамін («Фармак», ПАО, Київ) – 75,0 мг/кг, в/очер, антагоніст γ -рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ) – BADGE, («Santa Cruz Biotechnology», США, 100,0 мг/кг, в/очер). Наночастинки срібла розміром 30 нм, синтезовані за допомогою цитратного методу [Сърма Е.А. и соавт., 2014] вводили дозою 0,2 мг/кг,

в/очер. Щурам групи контролю за тих же умов застосовували 0,9% фізіологічний розчин NaCl та «Твін-80».

Статистичну обробку значень латентних періодів судом проводили з використанням дисперсійного аналізу (ANOVA) та критерію Ньюмена–Кеулса. Оцінки тяжкості судом та значення тривалості іктальних потенціалів порівнювали із результатами застосування критерію *U* Манна–Уїтні та Kruscal –Wallis.

Результати дослідження та їх обговорення. У кіндлінгових щурів латентний період судом, викликаних ПТЗ (30,0 мг/кг), ставав після ТППС катодом кори мозочка на 38,8 % більшим, ніж у контролі ($p < 0,05$), у 10 із 11 щурів попереджались генералізовані судомні напади ($p < 0,001$) (Табл. 1). При ТППС катодом фронтальної кори судомні напади реєструвались у 5 із 10 кіндлінгових щурів, тяжкість судом була меншою, ніж в контролі ($p < 0,05$). Тяжкість судом при ТППС мозочка була достовірно нижчою, ніж при ТППС фронтальної кори ($p = 0,011$).

Таблиця 1.

Вплив ТППС мозочка та фронтальної кори мозку на ПТЗ-індуковані судоми у кіндлінгових щурів.

Групи спостереження	Число щурів	Число щурів із судомами						p (Kruscal –Wallis)	Латентний період судом (хв)
		Тяжкість судом (бали)							
		0	1	2	3	4	5		
Контроль	10	0	0	0	1	7	2		77,10 \pm 4,38
ТППС за допомогою катода									
ТППС зони фронтальної кори	10	0	0	2	3	5	0	=0,026	90,40 \pm 5,26
ТППС зони мозочка	11	0	2	6	2	1	0	<0,001	107,0 \pm 6,56*
ТППС за допомогою анода									
ТППС зони фронтальної кори	10	0	0	3	4	3	0	=0,005	95,6 \pm 4,75
ТППС зони мозочка	9	0	2	5	2	0	0	<0,001	113,7 \pm 8,5*

Примітка: *- $p < 0,05$ по відношенню до групи щурів контролю (метод ANOVA + тест Newman-Keuls).

На моделі гострих судом (ПТЗ в дозі 60,0 мг/кг, в/очер) в разі застосування ТППС мозочка, яку здійснювали за допомогою катода, латентний період був більшим в середньому на 33,5 % ($p < 0,05$), при ТППС за допомогою аноду – більшим на 44,4 % ($p < 0,05$), ніж у контролі за відсутності впливу на тяжкість судомних проявів.

Застосування ТППС за допомогою аноду знижувало тривалість тонічної екстензії через 0,25 г з моменту відтворення МЕС порівняно з контролем на 33,3 % ($p < 0,05$) і достовірні відмінності зберігались до другої годин спостереження на рівні 29,6 % ($p < 0,05$) (Рис. 1). Тривалість клонічних судом через 0,25 г після ТППС була меншою на 35,1 %, ($p < 0,05$), ніж в контролі і наприкінці другої години відмінності складала 25,0 % ($p < 0,05$) (Рис. 1).

ТППС катодом подовжувало тонічну екстензію через 0,25 та 0,5 г на 25,8 % та на 29,4 % ($p < 0,05$) порівняно до контролю, але через 1,0 г реєструвалось зменшення досліджуваного показника на 33,5 % ($p < 0,05$). Достовірне зниження тривалості тонічної екстензії спостерігалось до 10-ї години включно з моменту здійснення ТППС, коли відмінності з контролем склали 20,3 % ($p < 0,05$). Тривалість клонічних судом достовірно знижувалась через 10,0 г з моменту припинення ТППС (на 30,0 %, $p < 0,05$).

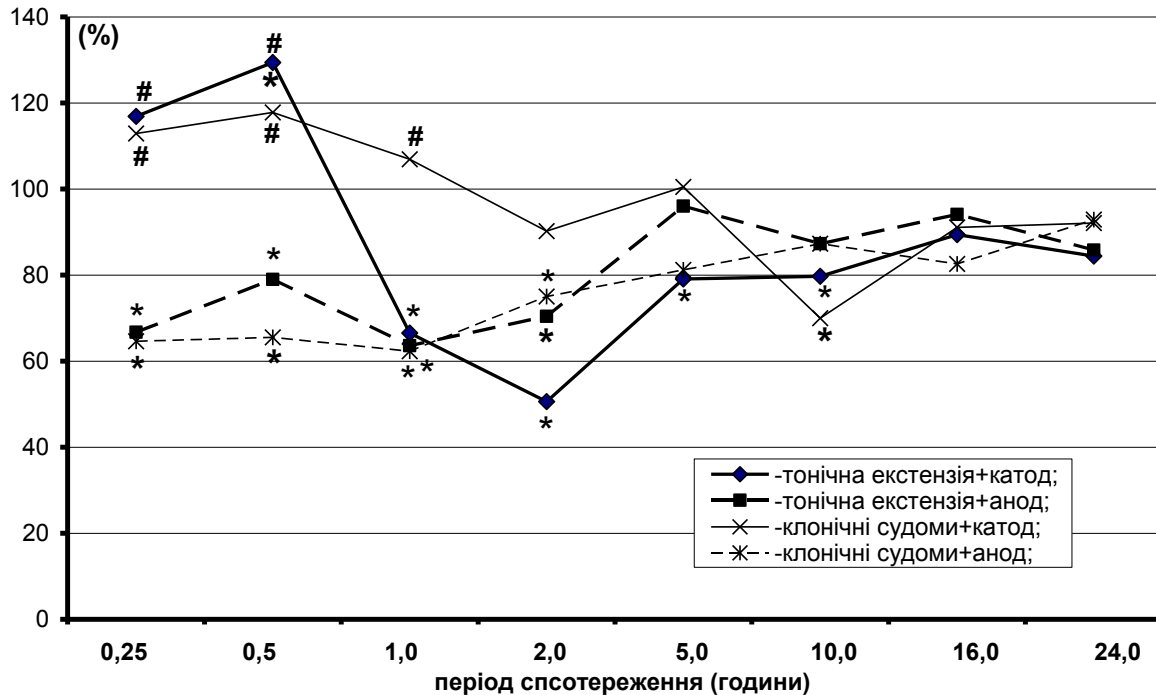


Рисунок - 1. Динаміка ефектів ТППС мозочка електродами різної полярності тривалість тонічних та клонічних компонентів максимальних електрошокових судом.

П о з н а ч к и: по вісі ординат – тривалість тонічної екстензії та клонічних судом у порівнянні до показників в контролі, прийнятих за 100 %. По вісі абсцис – тривалість спостереження.

*- $p < 0,05$ порівнянні до контролю (100 %), #- $p < 0,05$ при порівнянні ефектів катоду та аноду (метод ANOVA + тест Newman-Keuls).

В ранньому післястимуляційному періоді – через 0,25 та 0,5 г тривалість тонічної екстензії за умови ТППС катодом перевищувала таку, яка реєструвалась при ТППС мозочка анодом - на 88,5 % та на 44,2 % ($p < 0,05$). Тривалість клонічних судом була більшою відповідно на 74,1 % ($p < 0,05$), та на 81,3 % ($p < 0,05$), а через 1,0 г - на 71,5 % ($p < 0,05$).

Застосування ТППС мозочка катодом тривалістю 10,0 хв супроводжувалось зростанням латентного періоду судом і зменшенням їх тяжкості відповідно на 68,7 % ($p < 0,05$) та на 25,0 % ($p < 0,05$) у порівнянні до контролю (Табл. 2).

Застосування акситинібу дозою 10,0 мг/кг протягом двох тижнів також спричиняло зростання латентності в 1,94 раз ($p < 0,05$) та на 27,3 % ($p < 0,05$).

Вплив ТППС катодом та акситинібу на судомну активність у щурів із ПТЗ-викликаним кіндлінгом (M±m)

	Доза (мг/кг)/ тривалість ТППС (хв)	Латентний період судом (хв)	Тяжкість судом (бали)
Контроль (кіндлінг) (n=10)	-	1,15±0,12	4,40±0,16
ТППС (n=10)	10,0	1,94±0,20*	3,30±0,30*
Акситиніб (7 діб) (n=10)	5,0	1,83±0,18*	3,9±0,23
Акситиніб (14 діб) (n=11)	10,0	2,17±0,24*	3,18±0,23*
Акситиніб (7 діб) + ТППС (n=9)	5,0 / 10,0	2,23±0,24*	2,89±0,26*
Акситиніб(14 діб) + ТППС (n=9)	10,0 / 10,0	2,86±0,27*#@	2,22±0,32*#@

Примітка: *-p<0,05 по відношенню до групи щурів контролю; #-p<0,05 — порівняно до групи щурів із ТППС; @-p<0,05 порівняно до щурів із застосуванням акситинібу в дозі 10,0 мг/кг (метод ANOVA + тест Newman-Keuls).

Сумісне застосування ТППС катодом мозочка тривалістю 10,0 хв та акситинібу (10,0 мг/кг, протягом 14 діб) супроводжувалось зростанням латентного періоду судом в 2,49 разу порівняно до контролю (p<0,05), а також зменшенням вдвічі тяжкості судом (p<0,05) (Табл. 2). За подібних умов латентний період судом був достовірно вищим, ніж в групах з окремим застосуванням акситинібу (10,0 мг/кг, 14 діб) – на 31,8 % (p<0,05) та із ТППС – на 47,4 % (p<0,05). Також середня тяжкість судом була меншою – на 30,2 % та на 32,7 % відповідно (p<0,05) (Табл. 2).

Зважаючи на значну площу впливу на структури мозочка постійного струму, завданням окремої серії досліджень було вивчення впливу локального ЕП (долька VI), проекція якого на активний електрод знаходилась близько до його центру, на судомні прояви – як самостійно, так і сумісно із застосуванням акситинібу.

Отримані результати засвідчили, що ЕП (100 Гц, 5 сеансів) палеоцеребелуму на тлі застосування акситинібу в дозі 5,0 мг/кг, які при самостійному застосуванні викликали збільшення латентного періоду кіндлінгових судом на 5,4 % та на 14,1 % (p>0,05), при їх сумісному застосуванні супроводжувалось зростанням латентності на 35,0 % порівняно до контролю (p<0,05), що також перевищувало відповідні показники в групах із застосуванням акситинібу (5,0 мг/кг) - на 24,3 % (p<0,05) та ЕП (5 сеансів) - на 31,3 % (p<0,05). За умов сумісного застосування також середня тяжкість судом зменшувалась порівняно до контролю на 38,7 % (p<0,05). Сумісне застосування акситинібу (10,0 мг/кг) та п'яти сеансів ЕП попереджало виникнення іктальних потенціалів в корі головного мозку, які були характерними у групі контролю.

Таким чином, протисудомні ефекти, які викликані ТППС катодом мозочка посилюються на тлі застосування блокатора тирозин-кінази В акситинібу, що відбувається за участі дольки VI мозочка.

Завданням окремої серії спостережень було вивчення перебігу судом на тлі введення наночастинок срібла, які здатні активувати протеїн-кінази, що активуються міогенами, в тому числі тирозин-кіназу [Jiao Z.H. et al., 2014], а також судом на тлі сумісного застосування наночастинок з акситинібом та ТППС мозочка.

Застосування наночастинок срібла (30 нм, 0,2 мг/кг) у кіндлінгових щурів, у яких відтворювали «субмаксимальний» кіндлінг (тяжкість 3-4 бали), супроводжувалось скороченням латентного періоду судом – на 35,4 % ($p < 0,05$) та збільшенням їх тяжкості на 18,2 % ($p < 0,05$) (Табл. 3). При введенні наночастинок срібла на тлі застосування акситинібу (10,0 мг/кг, в/очер) латентний період судом перевищував вдвічі, а тяжкість судом була на 17,0 % нижчою від показників контролю ($p < 0,05$). На тлі застосування наночастинок та ТППС мозочка катодом (15,0 хв) латентність судом перевищувала таку в контролі на 87,0 % ($p < 0,05$), в той час як їх тяжкість не відрізнялась від контролю ($p > 0,05$). При застосуванні наночастинок срібла на тлі ТППС анодом відповідні показники відрізнялись від контролю на 72,8 % ($p < 0,05$) та на 24,6 % ($p < 0,05$) (Табл. 3).

Таблиця 3.

Вплив наночастинок срібла, акситинібу та ТППС мозочка на кіндлінгові судоми (M+m)

	Латентний період судом (хв)	Тяжкість судом (бали)
Контроль (кіндлінг+іонізоване срібло) (n=12)	1,47±0,14	3,58± 0,15
Кіндлінг+наночастинки срібла (n=13)	0,95±0,12*	4,23±0,20*
Акситиніб (10,0 мг/кг, в/очер, 14 діб) + наночастинки срібла (n=10)	2,86±0,27*#	2,97±0,30*#
ТППС (катод) (n=8)	2,75±0,42*#	2,88±0,30*#
ТППС+наночастинки срібла (катод) (n=13)	2,33± 0,24*#	3,38±0,21#
ТППС (анод) (n=8)	2,82±0,33*#	2,63±0,38*#
ТППС+наночастинки срібла (анод) (n=13)	2,54± 0,25*#	2,70±0,37*#

П р и м і т к а : *- $p < 0,05$ по відношенню до групи щурів контролю; #- $p < 0,05$ – порівняно до групи щурів із застосуванням наночастинок срібла (метод ANOVA + тест Newman-Keuls).

На тлі застосування кетаміну, який викликає пригнічення активності кори мозочка шляхом блокування NMDA рецепторів (75,0 мг/кг, в/очер) та ТППС мозочка катодом (5,0 хв) на стадії раннього кіндлінгу (тяжкість судом 1-2 бали) спостерігалось подовження латентного періоду судом на 26,8 %, ($p < 0,05$), в той час як при ТППС анодом зменшувалась тяжкість судом на 28,2 % ($p < 0,05$) у порівнянні до контролю. На стадії розвиненого кіндлінгу ТППС анодом та кетаміну (75,0 мг/кг,

в/очер) подовжували латентність судом на 27,4 % ($p < 0,05$) та зменшували їх тяжкість на 48,1 % ($p < 0,05$). На тлі ТППС катодом та введенні кетаміну зазначені показники відрізнялись від контролю на 45,6 % ($p < 0,05$) та на 21,3 % ($p < 0,05$). Досліджувані показники не мали достовірних відмінностей порівняно з окремим застосуванням ТППС та кетаміну ($p > 0,05$). Самостійне застосування ТППС (5,0 хв) не змінювало латентність та тяжкість судом порівняно до контролю, що свідчить про посилення протисудомних ефектів при сумісному застосуванні чинників, яке є на стадії розвиненого кіндлінгу.

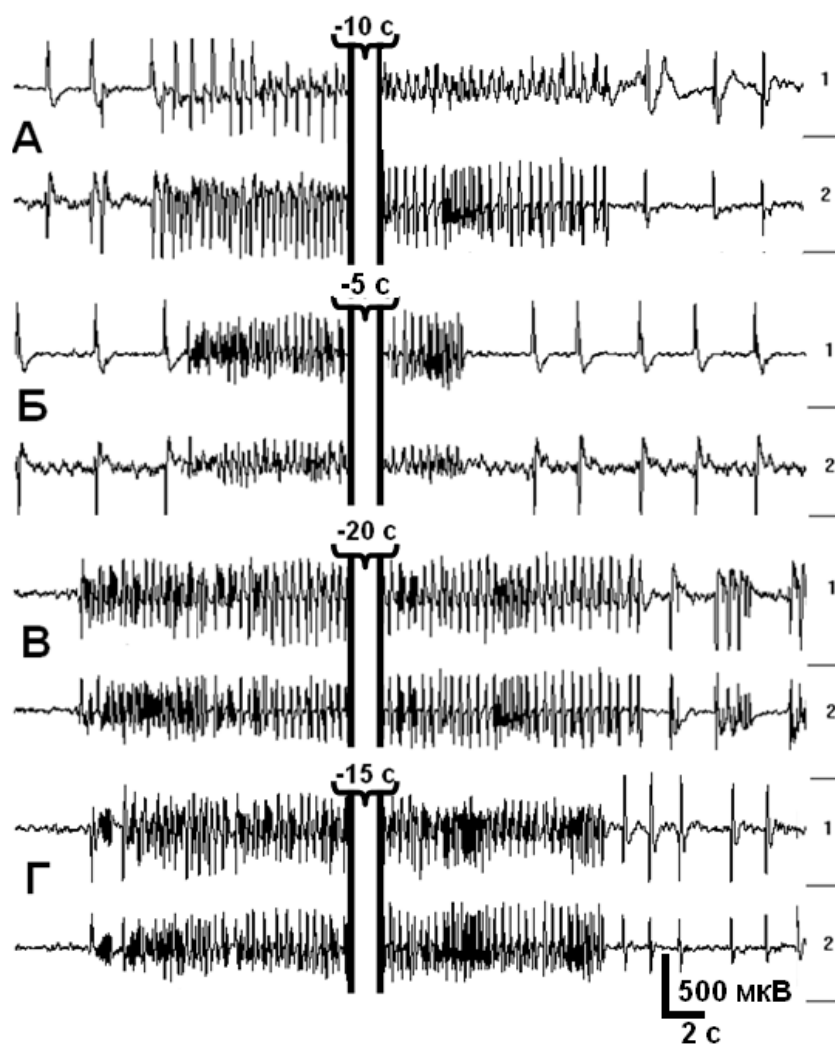


Рисунок - 2. Вплив ТППС та BADGE на електрографічні характеристики викликаних пентилентетразолом (ПТЗ) іктальних потенціалів у кіндлінгових щурів. П о з н а ч к и: А- 15,0 хв з моменту застосування ПТЗ (30,0 мг/кг, в/очер). Б – 22,5 хв з моменту застосування ТППС (вплив катодом силою струму 600,0 мкА протягом 10,0 хв). В – 70,0 хв з моменту уведення BADGE. Г- через 69,5 хв з моменту застосування BADGE та 24,5 хв з моменту ТППС. 1- кора головного мозку, 2- вентральний гіпокамп. Відмітка часу 2 с; калібровочний сигнал 500,0 мкВ.

Латентний період судом на тлі введення BADGE (100,0 мг/кг, в/очер)-блокатора PPAR γ та ТППС склав $69,4 \pm 7,1$ с, що було меншим, ніж в контролі на 11,7 % ($p > 0,05$) та меншим, ніж у щурів з одним ТППС на 31,6 % ($p < 0,05$). За умови застосування BADGE (100,0 мг/кг, в/очер) у 5 із 8 щурів реєструвались генералізовані судомні напади, а середня тяжкість судом була на 13,6 % меншою, ніж в контролі ($p > 0,05$). Після ТППС на тлі застосування BADGE (100,0 мг/кг, в/очер) генералізовані судомні напади реєструвались у 6 із 10 щурів, а середня тяжкість судом була меншою, ніж в контролі на 15,8 % ($p > 0,05$) та водночас достовірно перевищувала таку у щурів із одним ТППС – на 52,3 % ($p < 0,05$).

Середня тривалість іктальних епілептиформних розрядів складала в контролі $33,4 \pm 4,3$ с. На тлі ТППС досліджуваній показник дорівнював $18,6 \pm 2,7$ с ($p < 0,05$), в той час як на тлі застосування BADGE (100,0 мг/кг, в/очер) зростав до $45,8 \pm 5,8$ с ($p < 0,05$). За умови ТППС на тлі введення BADGE тривалість іктальних епілептиформних розрядів зменшувалась порівняно до контролю на 20,1 % - до $26,7 \pm 4,0$ с ($p > 0,05$) і перевищувала аналогічний показник в групі щурів із одним ТППС ($p > 0,05$) (Рис. 2).

Таким чином, наведені результати свідчать щодо реалізації протисудомного впливу ТППС мозочка шляхом активації рецепторів PPAR γ .

ТППС анодом фронтальних відділів кори мозку інтактних щурів викликало зростання фази неспання – на 38,3 % ($p < 0,05$) та латентного періоду парадоксального сну – на 55,9 % ($p < 0,05$) порівняно до контролю (псевдостимульовані щури). За умови ТППС мозочка катодом зростала на 41,5 % ($p < 0,05$) тривалість латентного періоду парадоксального сну.

ТППС фронтальної кори мозку кіндлінгових щурів катодом супроводжувалось зменшенням числа циклів сну на 23,7 % ($p < 0,05$), в той час як ТППС за допомогою аноду на тлі редукції числа циклів сну на 34,5 % ($p < 0,05$) також викликало зростання латентного періоду парадоксального сну на 57,1 % ($p < 0,05$) та його тривалості на 41,2 % ($p < 0,05$) (Рис. 3, А). ТППС анодом мозочка у кіндлінгових щурів викликало дефрагментацію сну (на 27,6 %, $p < 0,05$), зростання тривалості ПС (на 34,2 %, $p < 0,05$), в той час як подразнення катодом супроводжувалось лише зростанням латентності ПС - на 46,7 %, ($p < 0,05$) (Рис. 3, Б).

Таким чином, ТППС як кори мозку, так і мозочка викликало більш численні зміни циклу неспання – спання у кіндлінгових щурів, що більшою мірою стосувалося впливу анодом. Характер впливу аноду та катоду був протилежним у відношенні до тривалості латентного періоду засинання, який за умови застосування аноду був вищим на 58,4 % ($p < 0,05$).

Зазначені зміни показників циклу неспання – спання відбувались на тлі ТППС - провокованих змін спектральної потужності кори головного мозку. Так, ТППС анодом фронтальної кори викликало зниження потужності дельта-коливань на 20,2 % ($p < 0,05$) та альфа-коливань на 25,3 % порівняно до контролю ($p < 0,05$). Потужність коливань альфа-діапазону зменшувалась в потиличній корі – на 29,3 % ($p < 0,05$). Вплив катодом супроводжувався менш виразними змінами з боку зазначених показників, які мали протилежну спрямованість ($p > 0,05$). ТППС катодом мозочка кіндлінгових щурів знижувало потужність коливань альфа-діапазону у фронтальній корі – на 17,2 % ($p > 0,05$), а також в потиличній корі на 24,2 % ($p < 0,05$).

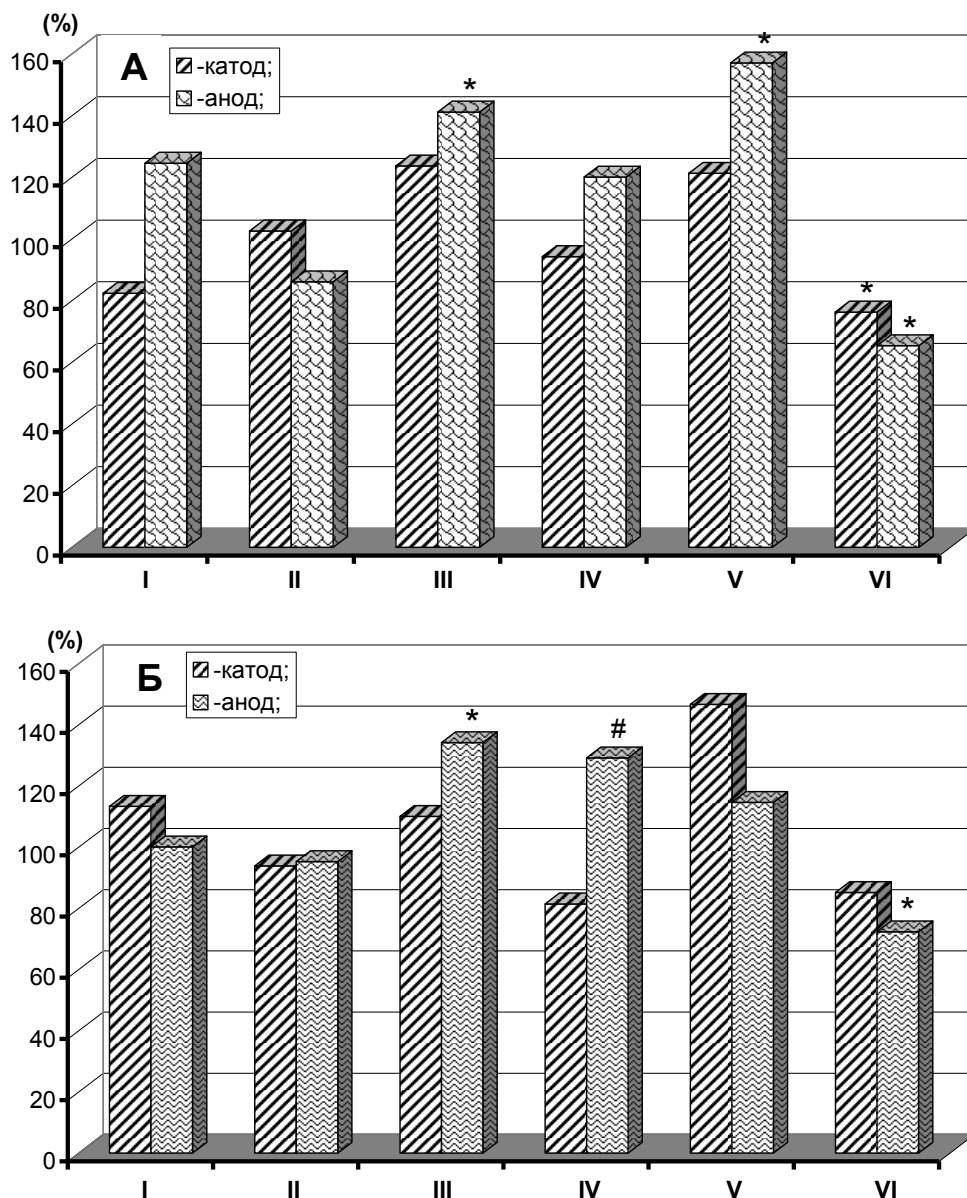


Рисунок - 3. Характеристики циклу неспання – спання у щурів із кіндлінгом за умови ТППС фронтальних відділів кори головного мозку (А) та за умови ТППС мозочка (Б).

П о з н а ч к и: по вісі абсцис – I-неспання; II-повільно-хвильовий сон; III-парадоксальний сон; IV-латентний період засинання; V-латентний період парадоксального сну; VI-число циклів сну. По вісі ординат – досліджувані показники у % порівняно до таких у щурів з псевдо подразненнями, прийнятих за 100%. *- $p < 0,05$ у порівнянні до показника у псевдостимульованих щурів; #- $p < 0,05$ у порівнянні до показника в групі із ТППС за допомогою катода (метод ANOVA + тест Newman-Keuls).

ТППС мозочка анодом знижувало потужність коливань дельта-діапазону на 26,2 % ($p < 0,05$) у фронтальній корі, а також зменшувало потужність коливань альфа-діапазону на 38,6 % ($p < 0,05$) та на 28,1 % ($p < 0,05$) у фронтальних та потиличних відділах кори відповідно. Також спостерігалось зростання потужності коливань бета-діапазону на 37,4 % ($p < 0,05$) та гамма-діапазону – в 1,51 раз ($p < 0,05$) у фронтальній корі.

Зазначені зміни біоелектричної активності є реакцією десинхронізації ЕКоГ, яка є характерною для виникнення протисудомної дії при проведенні ТППС.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено важливе науково-технічне завдання патологічної фізіології, а саме – визначені патофізіологічні механізми епілептичного синдрому за умов застосування транскраніального подразнення постійним струмом.

1. ТППС структур мозку – кори мозочка та фронтальних відділів кори у щурів із ПТЗ-індукованим кіндлінгом викликає протисудомні ефекти. Так, ТППС катодом мозочка збільшувало латентність судом на 38,8 % ($p < 0,05$), попереджало генералізовані судомні напади у 10 із 11 щурів ($p < 0,001$), в той час як при ТППС катодом фронтальної кори судомні напади реєструвались у 5 із 10 щурів ($p < 0,05$). Тяжкість судом при ТППС мозочка була нижчою, ніж при ТППС кори мозку ($p < 0,02$). Тривалість іктальних розрядів у структурах мозку на тлі ТППС мозочка катодом зменшувалась на 42,1 % ($p < 0,02$). ТППС анодом зазначених структур мозку викликало подібний за виразністю протисудомний ефект.

2. Латентні періоди гострих ПТЗ-викликаних (60,0 мг/кг) судом у щурів, в разі застосування ТППС мозочка катодом, були більшими на 33,5 % ($p < 0,05$), при ТППС за допомогою аноду – на 44,4 % ($p < 0,05$) ніж у контролі за відсутності впливу на тяжкість судомних проявів.

3. На моделі максимальних електрошокових судом ТППС анодом мозочка скорочувало тонічну флексію (на 27,6 % - 30,3 %, $p < 0,05$) та екстензію (на 29,6 % - 36,4 %, $p < 0,05$), фазу клонічних судом (на 25,0 % - 35,1 %, $p < 0,05$), а також вдвічі - тривалість чесального рефлексу ($p < 0,05$). Вказані ефекти спостерігались протягом перших двох годин з моменту ТППС. ТППС мозочка катодом також скорочувало тонічну екстензію в період з 1-ї до 10-ї г з моменту ТППС. В ранньому періоді (до 0,5 г включно з моменту здійснення ТППС) ефекти катоду достовірно перевищували виразність ефектів аноду, а також були протилежними за знаком відносно показників контролю.

4. ТППС фронтальної кори катодом зменшувало число циклів сну у кіндлінгових щурів на 23,7 % ($p < 0,05$). ТППС анодом викликало зростання тривалості парадоксального сну на 41,2 %, ($p < 0,05$), а також значне (на 57,1 %, $p < 0,05$) збільшення його латентності та зменшення числа циклів сну на 34,5 % ($p < 0,05$). ТППС мозочка катодом збільшувало латентність парадоксального сну на 46,7 %, ($p < 0,05$), а ТППС анодом збільшувало тривалість парадоксального сну на 34,2 % ($p < 0,05$), редукувало число циклів сну на 27,6 % ($p < 0,05$). Латентний період засинання за умови ТППС анодом був вищим, ніж при ТППС катодом на 58,4 % ($p < 0,05$).

5. Протисудомні ефекти ТППС мозочка здійснюються на тлі пригнічення потужності коливань низькочастотного та зростання потужності коливань високочастотного спектрів ЕКоГ: ТППС катодом мозочка кіндлінгових щурів знижувало потужність коливань альфа-діапазону у фронтальній корі – на 30,6 % ($p < 0,05$) та на 24,2 % ($p < 0,05$) в потиличній корі. ТППС мозочка анодом зменшувало

потужність коливань дельта-діапазону на 26,2 % ($p < 0,05$) у фронтальній корі мозку, редукувало потужність коливань альфа-діапазону на 38,6 % ($p < 0,05$) та на 28,1 % ($p < 0,05$) як у фронтальній так і в потиличній корі, а також збільшувало потужність коливань бета-діапазону на 37,4 % ($p < 0,05$) та гамма-діапазону – в 1,51 раз ($p < 0,05$) у фронтальній корі.

6. Акситиніб – блокатор тирозин-кінази типу В посилює протисудомні впливи ТППС кори мозочка у кіндлінгових щурів, що виявляється у вигляді зростання тривалості латентного періоду судом (в 2,5 рази, $p < 0,05$), а також двократного зменшення їх тяжкості до $2,22 \pm 0,32$ балів ($p < 0,001$), що було менше, ніж у щурів із окремим застосуванням ТППС та акситинібу ($p < 0,05$). Ефекти реалізуються за участі дольки VI палеоцеребелуму, електричне подразнення якої забезпечує потенціювання протисудомної дії акситинібу. Посилення тяжкості судом у кіндлінгових щурів під впливом наночастинок срібла (30 нм) блокувалось застосуванням акситинібу та ТППС мозочка, що вказує на роль тирозин-кінази типу В в його формуванні, а також в реалізації протисудомних впливів мозочка.

7. На тлі сумісного застосування ТППС катодом (5,0 хв) та кетаміну (75,0 мг/кг) – антагоніста NMDA-рецепторів зростала латентність судом як в ранній (на 26,8 %), так і в пізній (на 45,6 %, $p < 0,05$) стадіях кіндлінгу та зменшувалась їх тяжкість на 21,3 % ($p < 0,05$) у щурів із розвиненим кіндлінгом. ТППС анодом (5,0 хв) та кетамін збільшували латентність судом на стадії розвиненого кіндлінгу (на 32,8 %, $p < 0,05$) та зменшувало їх тяжкість як на ранній, так і пізній стадіях кіндлінгу – на 28,2 % ($p < 0,05$) та на 48,1 % ($p < 0,05$) відповідно. Виразність протисудомних ефектів не перевищувала таку, яка спостерігалась при самостійному введенні кетаміну (75,0 мг/кг).

8. Протисудомні впливи ТППС у відношенні поведінкових і електрографічних проявів епілептогенезу у кіндлінгових щурів блокуються застосуванням інгібітору γ -рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ)-дигліцидилового ефіру бісфенолу А - 2,2-[(1-метилетілден) біс (4,1-феніленеоксиметілен)] біс-оксірану (BADGE, 100,0 мг/кг, в/очер), що вказує на патогенетичну роль PPAR γ в здійсненні контролю епілептогенезу з боку мозочка.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Godlevsky L.S., Kresyun N.V., Son H.O., Godovan V.V., Nenova O.N., Pervak M.P., Godlevska T.L., Bidnyuk K.A., Prybolovets T.V. Retina Protection with Cerebellum Activation in Experimental Diabetes and Translational Perspectives. In: Development of the Cerebellum, Clinical and Molecular Perspectives, Severina Fabbri (Editor). Nova Science Publishers Inc., New York, USA. 2018. – P. 147-173. (*Внесок дисертанта: Проведення досліджень, обговорення результатів*).

2. Prybolovets T.V., Pervak M.P., Nenova O.N., Scobeeva V.M., Samchenko I.A., Godlevsky L.S. Proepileptogenic effects of silver nanoparticles on pentylenetetrazol – induced-kindling / Інтегративна Антропологія. – 2017. – №1 (29). – С. 68-70. (*Внесок дисертанта: Проведення експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів*).

3. Godlevsky L.S., Nenova O.M., Pervak M. P., Prybolovets T.V., Bidnyuk K.A. Effects of transcranial direct current stimulation of rat cerebral structures on pentylentetrazole-induced seizures. *Neurophysiology*.- 2017, Vol. 49. – N4. – P. 272–275, doi.org/10.1007/s11062-017-9681-3 (*Внесок дисертанта: Проведення досліджень, обговорення результатів*).

4. Godlevsky L.S., Pervak M.P. Peroxisomal Proliferator-Activated γ -Receptors: Participation in the anti-seizure effects of transcranial direct current stimulation of the cerebellum. *Neurophysiology*. – 2019. – Vol. 51. – No. 1. – P.25-28 doi.org/10.1007/s11062-019-09786-9 (*Внесок дисертанта: Проведення експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів*).

5. Первак М.П. Патолофізіологічні механізми епілептичного синдрому за умов модуляції активності тирозин-кінази. *Досягнення Біології та Медицини*. – 2017. – №2(30). – С.70-75.

6. Первак М.П. Електричні подразнення кори мозочка викликають більш виразний протисудомний ефект на тлі застосування інгібітору тирозин-кінази. *Досягнення Біології та Медицини*. – 2018. – №1(31). – С. 9-13.

7. Первак М.П. Особливості кіндлінгової судомної активності за умов транскраніального подразнення постійним струмом (ТПДС) мозочка на тлі застосування кетаміну. *Досягнення Біології та Медицини*. – 2019. – №2. – С. 9-14.

8. Первак М.П. Особенности цикла бодрствование – сон у крыс с пентилентетразол (ПТЗ) – вызванным киндлингом в условиях транскраниальной стимуляции постоянным током // *East European Science Journal (Польща)*. – 2019. – Т. 5(45), вип.6. – С. 21-24.

9. Godlevsky L. S., Nenova O. M., Voropay T.I., Prybolovets N. V., Pervak M.P. Electrical stimulation of cerebellar vermis induces absence epilepsy-like EEG activity in penicillin treated cats. XXIII World Congress of Neurology: Abstr. of conf., Kyoto, Japan, September 16 – 21, 2017.- *J. Neurol. Sci.* – 2017. – Vol. 381 (Suppl.). – P. 694.

10. Первак М.П., Годлевський Л.С. – Особливості протисудомної дії електричних подразнень мозочка на тлі застосування акситинібу. *Ліки-Людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: тези міжнар. науково-практ. конф., м.Харків, 28-29 бер. 2018 р. м.Харків, 2018. – Т.2. – С. 230.*

11. Первак М.П., Приболовец К.О., Заровна Г.О. Вплив транскраніальної стимуляції постійним струмом мозочка та діазепаму на судомну активність. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини: тези наук. практ. конф. молодих вчених з між нар. участю присвяченої 100-річчю з дня народження С.І. Корхова. м. Одеса, 19 квіт. 2018 р. Одеса, 2018. – С. 28.*

12. Chubach V.S., Pervak M.P., Nenova O.N., Prybolovetz K.O., Godlevsky L.S. Cerebellar suppression of pentylentetrazol (PTZ)–kindled seizures is increased by tyrosine-kinase inhibition. *Neuronus 2018: abstr. of IBRO Neuroscience Forum, April 21-22, 2018, Krakow, Poland, 2018. – P. 125.*

13. Кресюн Н.В., Сон Г.О., Первак М.П., Годлевська Т.Л. – Особливості проявів діабетичної ретинопатії на тлі подразнень кори мозочка. *Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини: тези міжнар. наук. практ. конф., м.Полтава, 4-5 жовт. 2018 р.,м. Полтава, 2018. – С. 53.*

14. Годлевський Л. С., Первак М. П., Нєнова О. М. Трансцеребелярний вплив електродами постійного струму зменшує порушення поведінки щурів з пентиленететразол - викликаним кіндлінгом. Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики: тези VII Пленуму Українського наук. тов.-ва патофізіологів та наук.практ.конф., присв. 110-річчю з дня народж. чл.-кор-та АМН СРСР, проф. М. Н. Зайка, м.Полтава, 11-12 жовт. 2018 р. м.Полтава, 2018. – С. 25-26.

15. Первак М.П., Годлевський Л.С. До механізмів здійснення протиепілептичної дії транскраніальної стимуляції постійним струмом. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези наук. практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 18 жовт. 2018 р., м. Харків, 2018. – С. 175.

16. Первак М.П., Приболовец О.А. Особенности электрографических (ЭЭГ) изменений у крыс с пентилентетразоловым (ПТЗ) киндлингом в условиях применения транскраниальной стимуляции постоянным током (ТСПТ) мозжечка. Перспективы развития биологии, медицины и фармации: материалы VI междунар. научн. конф. Молодых ученых, инициированной Фондом Первого Президента Казахстана – Елбасы и Южно-Казахстанской мед. академией, г. Шымкент, Республика Казахстан, 7 - 8 дек. 2018 г., Вестник Южно-Казахстанской мед. Академии.- 2018.- № 4(84).- Т.II. – С.34-35.

17. Годлевський Л.С., Первак М.П. Блокування PPAR γ рецептора знижує протисудомну дію транскраніального подразнення постійним струмом (ТППС) мозочка: тези 20-го з'їзду Українського фізіол. тов.-ва з міжнар. участю, присвяч. 95-річчю від дня народж. акад. Костюка П.Г., 27-30 трав. 2019 р., м. Київ, 2019, Фізіол. журн., 2019. – Т. 65. – № 3 (Додаток). – С.43.

18. Первак М.П., Годлевський Л.С. Протисудомний вплив транскраніального подразнення мозочка постійним струмом зростає на тлі інгібування тирозин-кінази. Актуальні проблеми біофізичної медицини: тези X міжнар. симп. 16-18 травня 2018 р. м.Київ, 2018. – С. 52-53.

19. Первак М.П., Приболовец К.О., Латипов К.А., Біднюк К.А. Вплив транскраніального подразнення постійним струмом мозочка та кетаміну на пентиленететразол-викликані хронічні судоми. Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для студентів та молодих вчених): наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 90-річчю з дня народження Б. Я. Резніка. Одеса, 18–19 квітня 2019 року : тези доп. — Одеса : ОНМедУ, 2019. — С.21.

20. Первак М.П. Особливості протисудомної дії активації мозочка за умов модуляції активності рецепторів PPAR γ типу на моделі кіндлінгових судом. Ліки-Людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: тези міжнар. науково-практ. конф., м. Харків, 14-15 бер. 2019 р. м.Харків, 2019. – Т.2. – С. 207.

21. Спосіб усунення епілептичної активності / М.П. Первак, Л.С. Годлевський. Патент на корисну модель UA 133587 U, МПК (2019.01) A61N 1/00 A61K 31/00 A61P 25/00. № u 201811694; заяв. 28.11.2018; опубл. 10.04.2019, Бюл. № 7. – 4с.

АНОТАЦІЯ

Первак М.П. Патолофізіологічні механізми епілептичного синдрому за умов транскраніального подразнення постійним струмом (експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Сумський державний університет МОН України, Суми, 2020.

Дисертаційна робота присвячена визначенню патогенетичних механізмів епілептичного синдрому на тлі транскраніального подразнення постійним струмом (ТППС) мозочка та кори мозку та обґрунтуванню умов досягнення виразного протисудомного впливу.

Встановлено, що ТППС мозочка незалежно від полярності електрода викликає протисудомні впливи на моделі пентиленететразол (ПТЗ)-індукованого кіндлінгу, які є більш виразними порівняно до ТППС фронтальної кори. На моделі максимальних електрошокових судом встановлено відмінності динаміки розвитку протисудомних впливів за умов застосування катоду та аноду. Визначено роль старої кори мозочка (долька VI) у реалізації протисудомних впливів та потенціювання їх акситинібом – блокатором тирозин-кінази В. Визначено проепілептогенну дію наночастинок срібла, яка блокується акситинібом та ТППС мозочка. Встановлено роль γ -рецепторів, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ), у розвитку протиепілептичних ефектів та відсутність їх посилення за умов блокування NMDA рецепторів кетаміном. Визначено відновлення порушень показників циклу неспання-спання викликаних кіндлінгом під впливом ТППС мозочка.

Ключові слова: епілептичний синдром, хімічний кіндлінг, стара кора мозочка, транскраніальне подразнення постійним струмом, тирозин-кіназа, γ -рецептори, які активує пероксисомний проліфератор (PPAR γ), пентиленететразол.

АННОТАЦИЯ

Первак М.П. Патолофизиологические механизмы эпилептического синдрома в условиях транскраниального раздражения постоянным током экспериментальное исследование). – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 - патологическая физиология. - Сумской государственной университет МОН Украины, Сумы, 2020.

Диссертация посвящена определению патогенетических механизмов эпилептического синдрома на фоне транскраниального раздражения постоянным током (ТППТ) мозжечка и коры мозга и обоснованию условий достижения выразительного противосудорожного действия.

Установлено, что ТППТ мозжечка независимо от полярности электрода вызывает противосудорожные влияния на модели пентиленететразол (ПТЗ) -

индуцированного киндлинга, которые являются более выразительными по сравнению с ТРПТ фронтальной коры. На модели максимальных электрошоковых судорог установлены различия динамики развития противосудорожных воздействий в условиях применения катода и анода. Определена роль старой коры мозжечка (долька VI) в реализации противосудорожных воздействий и потенцирование их акситинибом - блокатором тирозин-киназы B. Определено проепилептогенное действие наночастиц серебра, которое блокируется акситинибом и ТРПТ мозжечка. Установлена роль PPAR γ , в развитии противоэпилептических эффектов и отсутствие их усиления в условиях блокирования NMDA рецепторов кетамином. Определены восстановления нарушений показателей цикла бодрствование-сна вызванных киндлингом под влиянием ТРПТ мозжечка.

Ключевые слова: эпилептический синдром, химический киндлинг, старая кора мозжечка, транскраниальное раздражение постоянным током, тирозин-киназа, γ -рецепторы, активируемые пероксисомным пролифератором (PPAR γ), пентиленететразол.

SUMMARY

Pervak M.P. Patophysiological mechanisms of epileptic syndrome under conditions of transcranial direct current stimulation (experimental investigation). – Qualifying scientific work on the rights of manuscript.

Thesis for the degree of a Candidate in Medical Sciences in specialty 14.03.04 – Pathological Physiology. – Sumy State University MES of Ukraine, Sumy 2020.

Transcranial direct current stimulation (tDCS) (600 mcA, 15,0min) induced the latency of seizures increase, which were produced via i.p. pentylenetetrazol (PTZ) administration (30,0 mg/kg) – by 38,8 % - 47,5 % pertained to the control data ($p < 0,05$). The prevention of generalized seizure fits along with the reduction of ictal seizure discharges by 42,1 % were registered as well ($p < 0,02$). It was established that tDCS of the frontal cortex significantly reduced the number of rats with generalized seizure fits ($p < 0,05$), while their averaged severity remained to be higher when compared with cerebellar tDCS rats ($p < 0,02$). The increase of the seizures latency by 33,5 % - 44,4 % ($p < 0,05$) caused by cerebellar tDCS was established on the model of acute PTZ-induced (60,0 mg/kg, i.p.) seizures.

It was established that anode – induced antiseizure effects are observed in 0,25- 2,0 h after tDCS, while cathode – induced antiseizure effects are registered appeared at the end of the first poststimulative hour and were clearly defined up to the 10th hour on the model of maximal electroshock seizures.

For the first time the heightening of antiseizure effects of cerebellar tDCS with axitinib, which blocks tyrosine – kinase B activity, have been established. Thus, the latency of kindled seizures after axitinib administration (10,0 mg/kg) and cerebellar tDCS exceeded such one in the control by 2,5 times ($p < 0,05$) and was significantly differ from corresponded data in groups with separate usage of tDCS and axitinib - by 30,2 %-47,4 %, ($p < 0,05$). The combined usage of five trial of electric stimulation (100 Hz) of paleocerebellar lobule VI and axitinib (5,0 mg/kg), which were separately not effective,

reduced the severity of PTZ-induced seizures by 38,7 % ($p < 0,05$) when compared with the control. This fact points on the role of lobule VI as a mediator of antiseizure effects of cerebellar tDCS.

Administration of silver nanoparticles (30,0 nm) to rats with “submaximal” kindling induced the shortening of the seizure latency by 35,4 % ($p < 0,05$) along with the increasing of their severity by 18,2 % ($p < 0,05$). Such facilitation of seizures was blocked with axitinib (5,0 mg/kg, i.p., 7 days), or with cerebellar tDCS performed with cathode.

The development of antiseizure effects was established under conditions of tDCS (5,0 min) performed after blocking of NMDA receptors with ketamine (75,0 mg/kg, i.p.). The blockade of peroxisomal proliferator-activated γ -receptors (PPAR γ) with bisphenol A diglycidyl ether (2,2'-[(1-methylethylidene) bis (4,1-phenyleneoxymethylene)] bis-oxirane, (BADGE, 100 mg/kg, i.p.) abolished the antiseizure effects of cerebellar tDCS on kindled seizures.

For the first time it was established that anode cerebellar tDCS increased the duration of paradoxal sleep by 41,2 %, ($p < 0,05$), decreased its fragmentation by 34,5 %, ($p < 0,05$), as well as prolonged the latency of paradoxal sleep by 57,1 %, ($p < 0,05$) in kindled rats. Cerebellar tDCS with cathode increased the latency of paradoxal sleep by 46,7 %, ($p < 0,05$) and reduced its fragmentation by 23,7 % ($p < 0,05$). It was established that cathode cerebellar tDCS reduced the power of alpha-band oscillations in the frontal brain cortex by 30,6 % ($p < 0,05$), while anode tDCS reduced the power of both delta- and alpha-band power by 26,2 % ($p < 0,05$) and by 38,6 % ($p < 0,05$) correspondently. Anode tDCS also increased the power of beta- by 37,4 % ($p < 0,05$) and gamma oscillations by 1,51 times ($p < 0,05$).

Keywords: epileptic syndrome, chemical kindling, paleocerebellar cortex, transcranial direct current stimulation, tyrosine-kinase, peroxisomal proliferator-activated γ -receptors, pentylentetrazol.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АЕП – антиепілептичні препарати

АЕС – антиепілептична система

ЕЕГ – електроенцефалограма

ЕКоГ – електрокортикограма

ПТЗ – пентилентетразол

ТППС – транскраніальне подразнення постійним струмом

ЕП – електричне подразнення

ВАДGE – 2,2-[(1-метилетіліден) біс (4,1-феніленеоксіметилен)] біс-оксірану

PPAR γ - γ -рецептор, який активує пероксисомний проліфератор