

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова
робота на правах рукопису

ЄГОРЕНКО ОЛЬГА СЕРГІЇВНА

УДК 616.379-008.64: 541.49

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЕПІЛЕПТИЧНОГО СИНДРОМУ, ЗАЛЕЖНІ ВІД
ГІСТАМІНЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ МОЗКУ**

222 «Медицина»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Єгоренко О.С.

Науковий керівник:

Годлевський Леонід Семенович, доктор медичних наук, професор

Одеса – 2025

АНОТАЦІЯ

Сгоренко О. С. Патофізіологічні механізми розвитку експериментального епілептичного синдрому, залежні від гістамінергічної системи мозку. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». – Одеський національний медичний університет МОЗ України, Одеса, 2025.

Епілепсія є захворюванням, яке супроводжується виникненням та розвитком коморбідних станів, серед яких чільні місця займають тривожність, когнітивні розлади, а також депресія. У виникненні судомної активності, а також контролі збудливості структур мозку важливу роль відіграють гістамін-залежні механізми.

Дисертаційна робота присвячена з'ясуванню патогенетичного внеску гістамінергічної регуляції НЗ рецептора гістаміну пітолізантом у виникненні та розвитку гострих та хронічної форм епілептичного синдрому. Також завданням дослідження було вивчення особливостей поєднаного застосування пітолізанту з піоглітазоном - агоністом PPAR- γ рецепторів.

Дисертаційне дослідження виконано протягом 2022-2025 р.р. на кафедрі фізіології та біофізики Одеського національного медичного університету (далі – ОНМедУ).

Зважаючи на те, що пітолізант використовується з метою лікування розладів циклу неспання-спання, а саме нарколепсії, у дослідженні визначено особливості циркадіанних ритмів у щурів з хронічним епілептичним синдромом на тлі застосування пітолізанту.

Експериментальні дослідження проводилися за умов гострого та хронічного експерименту на 172 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою від 180 до 270 г, яких утримували за умов віварію ОНМедУ з вільним доступом

до води та їжі, 12-годинним циклом освітлення, вологістю повітря 60 % та температурою $(22,0 \pm 2)$ °C.

Дослідження динаміки потужності епілептичних вогнищ, провокованих в корі головного мозку застосуванням ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер засвідчило, що пітолізонт дозою 10,0 мг/кг викликав більшу редукцію досліджуваного показника, ніж в дозі 5,0 мг/кг. Відмінності визначались з 10-ї хвилини введення ПТЗ і через годину складала 40,0 %. Зниження потужності епілептичної вогнищевої активності також спостерігалось при уведенні пітолізону дозою 50,0 мг/кг, яка була меншою від контролю на 21,1 % - 34,2 % протягом першої години з моменту застосування препарату.

Однак, сумісне застосування пітолізону (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) супроводжувалось зменшенням потужності вогнищ епілептогенезу на 65,0 % порівняно з групою контролю на 10-й хвилині з моменту введення ПТЗ. У цей період відмінності у порівнянні з групами із застосуванням одного пітолізону (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) склали 61,4 та 65,7 % ($P < 0,05$), відповідно, і достовірні відмінності зберігались впродовж двогодинного спостереження.

Таким чином, на моделі гострої вогнищевої активності, яку було індуковано в корі мозку ПТЗ, зареєстровано синергічний протисудомний вплив пітолізону і піоглітазону.

Застосування пітолізону дозою 10,0 мг/кг викликало подовження латентного періоду перших судом, викликаних ПТЗ дозою 80,0 мг/кг, в/очер на 17,7 % порівняно з контролем. Під впливом піоглітазону відмінності склали 12,0 %. Окреме застосування препаратів не впливало на тяжкість судом. На тлі сумісного застосування пітолізону (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) латентність судом перевищувала таку як в групі контролю – на 22,2 %, так і в групах із введенням пітолізону (5,0 мг/кг) – на 16,4 %, а також піоглітазону – на 12,2 % ($P < 0,05$). Застосування (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг)

попереджало генералізовані судомні напади у половини експериментальних тварин та подовжувало латентність іктальних розрядів на 49,7 % ($P<0,05$).

На моделі максимальних електрошокових судом (МЕС) сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало скорочення тонічної екстензії задніх кінцівок (ТЕЗК) порівняно з контролем на 69,4 % ($P<0,05$), що також було менше порівняно з щурами із застосуванням пітолізанту дозою 5,0 мг/кг – на 43,2 % ($P<0,05$). На тлі сумісного застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) тривалість ТЕЗК зменшувалась порівняно з контролем у 5,38 рази ($P<0,05$) і одночасно була меншою у порівнянні з ефектом пітолізанту дозою 10,0 мг/кг – у 2 рази ($P<0,05$), та в 1,87 рази ($P<0,05$) меншою порівняно з щурами із введенням піоглітазону (50,0 мг/кг). Також ТЕЗК попереджались у 7 із 10 щурів ($z=2,541$, $P=0,011$).

Також сумісне застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало скорочення тривалості тонічної флексії на 35,3 % ($P<0,05$), тривалості клонічних судом на 33,4 % ($P<0,05$), тривалості постсудомного чесального рефлексу на 46,6 %.

Таким чином, препарати, що досліджувалися, виявляли протисудомну ефективність на моделі гострих електрошокових судом, виразність якої достовірно зростала у разі сумісного застосування препаратів та перевищувала таку з окремим їх застосуванням.

Дослідження курсового застосування пітолізанту та піоглітазону на моделі хронічного епілептичного синдрому засвідчило, що протисудомний ефект сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) визначався вже після п'ятого введення ПТЗ у вигляді подовження латентності судом на 27,4 % ($P<0,05$). Подібні відмінності між групами зберігалися протягом наступних застосувань ПТЗ і після одинадцятої ін'єкції латентність судом була вищою від контролю на 37,1 % ($P<0,05$) та перевищувала показники в групах з окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) на

28,0 % ($P < 0,05$) та на 30,1 % ($P < 0,05$), відповідно. Зазначені відмінності між групами зберігалися до 21-го введення ПТЗ, та на тлі застосування пітолізанту (50,0 мг/кг), починаючи з 19-го введення епілептогена латентний період судом достовірно зростав на 27,2-29,3 % порівняно з контролем ($P < 0,05$).

На тлі сумісного застосування пітолізанту та піоглітазону тяжкість судом після 9-го введення ПТЗ зменшувалась на 60,7 % порівняно з контролем ($P < 0,05$) і була достовірно меншою порівняно з окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) – на 52,4 % та на 56,8 %, відповідно ($P < 0,05$). Достовірні відмінності між зазначеними групами в подальшому фіксувалися до кінця спостереження. За умов комбінованого введення препаратів у щурів попереджались генералізовані тоніко-клонічні судомні реакції у порівнянні з групою контролю ($z = 3,048$; $P = 0,002$).

Отримані результати засвідчили, що за динамікою показників латентності та тяжкості судомних проявів поєднане введення пітолізанту та піоглітазону викликало більш ранній розвиток протисудомного ефекту порівняно з окремим їх застосуванням.

На тлі розвинених кіндлінгових судом при однократному сумісному застосуванні пітолізанту та піоглітазону в дозах 5,0 та 50,0 мг/кг латентний період судом перевищував показник в контролі на 18,3 % ($P < 0,05$) і був вищим від окремого застосування препаратів, відповідно, на 10,3 % та на 16,5 % ($P < 0,05$). За умов сумісного застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) попереджалося виникнення генералізованих тоніко-клонічних судом ($z = 2,497$; $P = 0,013$), скорочувалась тривалість іктальних розрядів у корі головного мозку.

Дослідження виразності ангиогенезу у щурів із кіндлінгом засвідчило перевищення щільності мікросудин у корі головного мозку втричі, порівняно з показником у групі контролю ($P < 0,05$). На тлі застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) перевищення складало 2,2 рази ($P < 0,05$) і одночасно показник був на 27,5 %

меншим, ніж у кіндлінгових щурів ($P < 0,05$). Застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) на тлі піоглітазону (50,0 мг/кг) збільшувало відмінності від кіндлінгу без лікування до 55,2 % ($P < 0,05$), що також було на 39,5 % меншим порівняно з кіндлінгових щурів, яким застосовували пітолізант ($P < 0,05$). Крім того, знижувався вміст HIF-1 α у структурах гіпокампа на 38,6 %, порівняно з кіндлінгом ($P < 0,05$).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що за умови кіндлінгу у щурів спостерігається посилений ангіогенез у структурах кори головного мозку, що є свідченням нейроімунного запалення, як механізму патогенезу хронічного епілептичного синдрому, а також реалізації протисудомного впливу пітолізанту та піоглітазону шляхом попередження ангіогенезу.

Викликані ПТЗ-кіндлінгом порушення циклу неспання-спання, а саме скорочення латентності та тривалості фази парадоксального сну та підвищення його фрагментованості ефективно корегувались застосуванням пітолізанту: тривалість парадоксального сну відновлювалась до 11,6 % від загального періоду спостереження, число циклів зменшувалось на 17,2 % і не відрізнялось від контролю ($P > 0,05$). Латентний період парадоксального сну також достовірно (на 34,2 %) був вищим, ніж у кіндлінгових щурів ($P < 0,05$).

За умови формування кіндлінгу в інтеріктальному періоді спостерігалось достовірне, порівняно з контролем, порушення 7 із 14 показників, які досліджували як інформативні до рефлексорної та рухової активності щурів. На тлі застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг достовірні відмінності зберігались для 6 показників. У разі введення дози пітолізанту 10,0 мг/кг або піоглітазону (50,0 мг/кг), відмінності реєструвались для 5 із 7 кіндлінг-викликаних порушень. На тлі сумісного застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) три показники залишались порушеними, а при комбінованому застосуванні пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) – лише два показники. Показовим є відновлення опіат-залежних показників – екзофтальму

та підвищення тону м'язів хвоста. Сумісне введення пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) відновлювало чутливість до больового подразника (3 бали) у 20,0 % експериментальних тварин, а виразність больової реакції не відрізнялась від контролю ($P > 0,05$). За умови сумісного застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) третина кіндлінгових щурів відповідала максимальною больовою реакцією на больове подразнення і показник, досліджувався, був достовірно нижчим порівняно з кіндлінговими щурами, а також з групою щурів ($P < 0,02$) із введенням пітолізанту дозою 5,0 мг/кг ($P < 0,02$).

У тесті відкритого поля у кіндлінгових щурів знижувалось загальне число пересічених квадратів на 36,7 % ($P < 0,05$). Сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) відновлювало локомоторну активність щурів до рівня контролю ($P > 0,05$), у той час як за умови окремого їхнього застосування показник, що досліджувався, залишався нижчим на 26,7 % та на 25,5 %, відповідно ($P < 0,05$). Сумісне застосування препаратів більшою мірою відновлювало здатність пересікати зовнішні квадрати, яка досягала рівня контролю, в той час як число пересічених внутрішніх квадратів залишалось меншим, ніж в контролі, на 23,6 % ($P < 0,05$).

Загальне число стійок у кіндлінгових щурів було в 3,33 рази меншим, ніж у контролі ($P < 0,05$), і залишалось достовірно меншим у разі окремого застосування як пітолізанту – на 54,0 % ($P < 0,05$), так і піоглітазону – на 46,0 % ($P < 0,05$). На тлі сумісного застосування препаратів показник, що досліджувався, був вищим від такого у кіндлінгових щурів на 48,2 % ($P < 0,05$) і не відрізнявся від контролю ($P > 0,05$). Більшою мірою відновлювалось число стійок без опори – у 2,89 рази, порівняно з кіндлінговими щурами ($P < 0,05$). Також у 2,6 рази підвищувалось число зазирань в отвори підлоги ($P < 0,05$), зменшувалось число болюсів до рівня контролю.

Тривалість депресії в плавальному тесті Порсолта у кіндлінгових щурів перевищувала показник у контролі на 35,2 % ($P < 0,01$). Пітолізант дозою 5,0 мг/кг

не впливав, у той час як піоглітазон в дозі 50,0 мг/кг скорочував період депресивного плавання на 19,0 % ($P<0,05$). Сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало зниження показника, що досліджувався, на 26,2 % порівняно до кіндлінгових щурів ($P<0,05$).

Дослідження впливу формування кіндлінгу на збереження навички активного уникнення засвідчило, що після трьохтижневого періоду моделювання кіндлінгу у щурів, яким було відтворено навичку до введень ПТЗ, число звукових сигналів, на які спостерігались реакції уникнення, знижувалось на 57,0 % ($P<0,05$), у той час як в групі контролю зниження складало 26,7 % ($P<0,05$). Одночасно число уникнень у кіндлінгових щурів було меншим, ніж в контролі на 39,32 % ($P<0,05$).

У щурів із ПТЗ-кіндлінгом на тлі застосування пітолізанту дозою 3,0 мг/кг число звукових сигналів, які викликали реакцію активного уникнення склали $6,92 \pm 0,71$ і на 49,4 % перевищували показник, який реєстрували у щурів із кіндлінгом ($P<0,05$). Число звукових сигналів, на які спостерігалась реакція активного уникнення у щурів із МЕС було в 5,7 разів меншим, ніж в контролі ($P<0,05$). Пітолізант (3,0 мг/кг) збільшував досліджуваний показник на 73,1 % ($P<0,05$), порівняно з вихідним рівнем.

У щурів із ПТЗ-кіндлінгом індекс дискримінації (ІД) складав $(41,27 \pm 2,93)$ УО і був на 35,0 % меншим, ніж в контролі ($P<0,05$). На тлі застосування пітолізанту (3,0 мг/кг) ІД перевищував такий при кіндлінгу на 32,7 % ($P<0,05$) і не відрізнявся від контролю ($P>0,05$). ІД щурів з МЕС складав $(33,21 \pm 3,14)$ УО був нижчим від контролю на 47,7 % ($P<0,05$). Пітолізант (3,0 мг/кг) підвищував ІД на 35,4 % порівняно до кіндлінгових щурів ($P<0,05$) та був меншим на 25,4 % від контролю ($P<0,05$).

Дослідження впливу поєднаного застосування препаратів на показники активного уникнення, навчання яким здійснювали після формування розвиненого кіндлінга засвідчило, що активне уникнення на 2-4 подразнення із

10 спостерігали у 8 із 9 щурів (88,9 %), у той час як в контролі 8 із 10 (80,0 %) щурів уникали у відповідь на 8-10 подразнень електричним струмом ($P < 0,001$). За умови сумісного застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону дозою 50,0 мг/кг уникнення на 5-6 подразнень спостерігались у 25,0 % щурів (2 із 8), що було менше від контролю ($P < 0,01$). На тлі сумісного введення пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону дозою 50,0 мг/кг уникнення на 5-6 подразнень реєструвались у 63,6 % щурів (7 із 11), що перевищувало показник у щурів із кіндлінгом без лікування ($P < 0,01$).

На тлі сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) уникання у відповідь на 3-6 із 10 подразнень спостерігали у 9 із 12 щурів, що перевищувало показник в групі із МЕС ($P = 0,01$). Застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало ефективні уникнення 81,8 % (9 із 11) у відповідь на 4-8 подразнень із 10 ($P = 0,002$).

Отримані результати використовують у проведенні навчального процесу на кафедрах загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, на кафедрах патологічної фізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, Львівського національного університету імені Данила Галицького, Івано-Франківського національного медичного університету, Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, Буковинського державного медичного університету, Полтавського державного медичного університету та кафедрі патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Таким чином, у дисертаційній роботі представлене теоретичне узагальнення та практичне вирішення актуальної наукової проблеми: дослідження патофізіологічних механізмів розвитку експериментального епілептичного синдрому, залежних від гістамінергічної системи мозку та

розробка на цій підставі патогенетично обгрунтованого способу корекції судомних та коморбідних поведінкових порушень. Вперше встановлено залежність H3-гістамін-залежних механізмів та PPAR- γ сигнального регуляторного шляху як патогенетичного механізму виникнення та розвитку хронічного епілептичного синдрому

Ключові слова: хронічний судомний синдром, кіндлінг, коморбідні стани, порушення поведінки, запалення, цикл сну-несну, патогенетичні механізми, гістамін, фармакологічна корекція, пітолізант, піоглітазон.

ANNOTATION

Yehorenko O. S. Pathophysiological mechanisms of experimental epileptic syndrome development, depending on the brain's histaminergic system. – Qualification for scientific work on the rights of the manuscript.

The Thesis for the degree of Doctor of Philosophy (Ph.D.) in the field of knowledge 22 “Health care”, specialty 222 “Medicine” – Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Odesa, 2025.

Epilepsy is a disease that is accompanied by the onset and progression of comorbid conditions, including anxiety, cognitive disorders, and depression. Histamine-dependent mechanisms play a significant role in the onset of seizure activity, as well as in regulating brain structure excitability.

The Thesis is devoted to elucidating the pathogenetic contribution of histaminergic regulation by the H3 histamine receptor antagonist/ inverted agonist pitolisant in the onset and development of acute and chronic forms of epileptic syndrome. Another objective of the study was to investigate the peculiarities of combining pitolisant with pioglitazone, a PPAR- γ receptor agonist.

The Thesis research was conducted from 2022 to 2025 at the Department of Physiology and Biophysics of Odesa National Medical University (ONMedU).

Given that pitolisant is used to treat wake-sleep cycle disorders, namely narcolepsy, the study determined the peculiarities of circadian rhythms in rats with chronic epileptic syndrome under the influence of pitolisant.

Experimental studies were conducted under both acute and chronic experimental conditions on 172 sexually mature male Wistar rats, weighing between 180 and 270 g, which were housed in the ONMedU vivarium with free access to water and food, a 12-hour light cycle, 60 % humidity, and a temperature of $(22.0 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

The study of the dynamics of the power of epileptic foci provoked in the cerebral cortex by the use of PTZ at a dose of 50.0 mg/kg, i.p., showed that the pitolisant at a dose of 10.0 mg/kg caused a greater reduction in the studied indicator than at a dose of

5.0 mg/kg. The differences were determined from the 10th minute of PTZ administration and after an hour amounted to 40.0 %. A decrease in the power of epileptic focal activity was also observed with the administration of pitolisant at a dose of 50.0 mg/kg, which was less than the control by 21.1 % - 34.2 % during the first hour after drug administration.

However, the combined use of pitolisant (5.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg) was accompanied by a 65.0 % decrease in the power of epileptogenesis foci compared to the control at the 10th minute after administration of the drugs. During this period, the differences compared to the groups using pitolisant alone (5.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg) were 61.4 % and 65.7 % ($P < 0.05$), respectively, and significant differences persisted during the two-hour observation.

Thus, the synergistic anticonvulsant effect of pitolisant and pioglitazone was recorded in the model of acute focal activity induced in the cerebral cortex by PTZ.

The use of pitolisant at a dose of 10.0 mg/kg caused a prolongation of the latent period of the first seizures induced by PTZ at a dose of 80.0 mg/kg, i.v., by 17.7 % compared to the control. Under the influence of pioglitazone, the differences were 12.0 %. Separate use of drugs did not affect the severity of seizures. Against the background of the combined use of pitolisant (5.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg), the latency of seizures exceeded that in the control group by 22.2 %, and in the groups with the administration of pitolisant (5.0 mg/kg) by 16.4 %, and pioglitazone by 12.2 % ($P < 0.05$). The use of pitolisant (10.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg) prevented generalized seizures in half of the experimental rats and prolonged the latency of ictal discharges by 49.7 % ($P < 0.05$).

In the model of maximal electroshock seizures (MES), the combined use of pitolisant (5.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg) caused a reduction in tonic hindlimb extension (TLE) by 69.4 % ($P < 0.05$) compared to the control, which was also less than in rats with pitolisant at a dose of 5.0 mg/kg – by 43.2 % ($P < 0.05$). Against the background of the combined use of pitolisant at a dose of 10.0 mg/kg and

pioglitazone (50.0 mg/kg), the duration of tonic extension of forelimb extremities (TEFE) was reduced by 5.38 times ($P < 0.05$) and at the same time was less compared to the effect of pitolisant at a dose of 10.0 mg/kg – 2 times ($P < 0.05$), and 1.87 times ($P < 0.05$) less compared to rats with pioglitazone (50.0 mg/kg). In addition, TEFE was prevented in 7 out of 10 rats ($z = 2.541$, $P = 0.011$).

In addition, the combined use of pitolisant (10.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg) caused a 35.3 % ($P < 0.05$) reduction in the duration of tonic flexion, 33.4 % ($P < 0.05$) in the duration of clonic seizures, and 46.6 % in the duration of the post-convulsive scratch reflex.

Thus, the studied drugs showed anticonvulsant efficacy in the model of acute electroshock seizures, the severity of which significantly increased with the combined use of drugs and exceeded that of their separate usage.

A study of the course of pitolisant and pioglitazone in a model of chronic epileptic syndrome showed that the anticonvulsant effect of the combined use of pitolisant (5.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg) was determined after the fifth administration of the drug in the form of prolongation of seizure latency by 27.4 % ($P < 0.05$). Similar differences between the groups persisted during the subsequent applications of PTZ, and after the eleventh injection, the latency of seizures was 37.1 % longer than in the control group ($P < 0.05$). It exceeded the values in the groups with separate use of pitolisant (5.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg) by 28.0% ($P < 0.05$) and 30.1 % ($P < 0.05$), respectively. These differences between the groups persisted until the 21st administration of PTZ. Against the background of pitolisant (50.0 mg/kg), starting from the 19th administration of the epileptogen, the latent period of seizures significantly increased by 27.2-29.3 % compared with the control ($P < 0.05$).

In the context of the combined use of pitolisant and pioglitazone, the severity of seizures after the 9th administration of PTZ decreased by 60.7 % compared with the control ($P < 0.05$) and was significantly less compared with the separate use of pitolisant (5.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg) – by 52.4 % and 56.8 %, respectively

($P < 0.05$). Significant differences between these groups continued until the end of follow-up. Under the conditions of combined administration of drugs in rats, generalized tonic-clonic convulsive reactions were prevented compared to the control group ($z = 3.048$; $P = 0.002$).

The obtained results showed that the dynamics of latency and severity of convulsive manifestations were affected by the combined administration of pitolisant and pioglitazone, causing an earlier development of an anticonvulsant effect compared to their separate use.

Against the background of developed convulsive seizures, a single combined use of pitolisant and pioglitazone at doses of 5.0 and 50.0 mg/kg, the latent period of seizures exceeded the control by 18.3 % ($P < 0.05$). It exceeded the individual use of drugs by 10.3 % and 16.5 %, respectively ($P < 0.05$). Under the conditions of combined use of pitolisant (10.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg), the occurrence of generalized tonic-clonic seizures was prevented ($z = 2.497$; $P = 0.013$), and the duration of ictal discharges in the cerebral cortex was reduced.

The study on the severity of angiogenesis in rats with kindling revealed a threefold increase in the density of microvessels in the cerebral cortex compared to the control group ($P < 0.05$). Against the background of pitolisant (5.0 mg/kg), the excess was 2.2 times ($P < 0.05$), and at the same time, the index was 27.5 % less than in the kindling rats ($P < 0.05$). The use of pitolisant (5.0 mg/kg) in the background of pioglitazone (50.0 mg/kg) increased the difference from the untreated group to 55.2 % ($P < 0.05$), which was 39.5 % less than in the pitolisant rats ($P < 0.05$). In addition, the content of HIF-1 α in hippocampal structures decreased by 38.6 % compared to the kindled group ($P < 0.05$).

Thus, the results obtained showed that under the condition of kindling in rats, there is increased angiogenesis in the structures of the cerebral cortex, which is evidence of neuroinflammation as a mechanism of pathogenesis of chronic epileptic

syndrome, as well as the realization of the anticonvulsant effect of pitolisant and pioglitazone by preventing angiogenesis.

The disorders of the wake-sleep cycle caused by PTZ-kindling, namely, a decrease in the latency and duration of the paradoxical sleep phase and an increase in its fragmentation, were effectively corrected by the use of pitolisant: the duration of paradoxical sleep was restored to 11.6 % of the total observation period, the number of cycles decreased by 17.2 %. It did not differ from the control ($P>0.05$). The latent period of paradoxical sleep was also significantly (by 34.2 %) higher than in the kindled rats ($P<0.05$).

In fully kindled rats during the interictal period, a significant impairment was observed in 7 out of 14 indicators studied, which are informative about the reflex and motor activity of rats, compared to the control. Against the background of pitolisant administration at a dose of 5.0 mg/kg, significant differences were maintained for six indicators. When pitolisant was administered at a dose of 10.0 mg/kg or pioglitazone (50.0 mg/kg), differences were recorded for 5 of 7 kindling-induced disorders. Against the background of the combined use of pitolisant at a dose of 5.0 mg/kg and pioglitazone (50.0 mg/kg), three indicators remained impaired, and with the combined use of pitolisant at a dose of 10.0 mg/kg and pioglitazone (50.0 mg/kg), only two indicators remained impaired. The recovery of opiate-dependent parameters, such as exophthalmos and increased tail muscle tone, is indicative. Co-administration of pitolisant (5.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg) restored sensitivity to painful stimulus (3 points) in 20.0 % of experimental animals, and the severity of the pain response did not differ from the control ($P>0.05$). With the combined use of pitolisant (10.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg), one third of the sham-operated rats showed a maximum pain response to painful stimulation and the studied index was significantly lower compared to sham-operated rats, as well as to the group of rats ($P<0.02$) with the administration of pitolisant at a dose of 5.0 mg/kg ($P<0.02$).

In the open field test, the total number of crossed squares in the kindling rats decreased by 36.7 % ($P < 0.05$). The combined use of pitolisant (5.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg) restored the locomotor activity of rats to the control level ($P > 0.05$). In contrast, their separate use resulted in a 26.7 % and 25.5 % decrease, respectively ($P < 0.05$). The combined use of drugs restored the ability to cross the outer squares to a greater extent, which reached the level of control, while the number of crossed inner (central) squares remained lower than in the control by 23.6 % ($P < 0.05$).

The total number of vertical positions in rats in the kindling rats was 3.33 times less than in the control ($P < 0.05$). It remained significantly lower with the separate use of both pitolisant, by 54.0 % ($P < 0.05$), and pioglitazone, by 46.0 % ($P < 0.05$). Against the background of combined drug use, the studied index was higher than that of the kindling rats by 48.2 % ($P < 0.05$) and did not differ from the control ($P > 0.05$). The number of unsupported vertical positions was restored to a greater extent, 2.89 times compared to the kindling rats ($P < 0.05$). Additionally, the number of floor hole investigations increased by 2.6 times ($P < 0.05$), and the number of boluses returned to the control level.

The duration of depression in the Porsolt swimming test in the kindled rats exceeded that in the control by 35.2 % ($P < 0.01$). Pitolisant at a dose of 5.0 mg/kg had no effect, whereas pioglitazone at a dose of 50.0 mg/kg reduced the period of depressed swimming by 19.0 % ($P < 0.05$). The combined use of pitolisant (5.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg) resulted in a 26.2 % decrease in the studied index compared to the control rats ($P < 0.05$).

The study of the effect of the formation of kindling on the preservation of active avoidance skills showed that after three weeks of modeling kindling in rats that had been learned to avoid before the start of PTZ kindling modelling, the number of sound signals to which avoidance reactions were observed decreased by 57.0 % ($P < 0.05$), while in the control group the decrease was 26.7 % ($P < 0.05$) when compared to initial

level. At the same time, the number of avoidances in kindling rats was less than in the control group by 39.32 % ($P < 0.05$).

In rats with PTZ-kindling in the presence of pitolisant at a dose of 3.0 mg/kg, the number of sound signals that caused an active avoidance reaction was 6.92 ± 0.71 , which exceeded that in rats with kindling by 49.4 % ($P < 0.05$). The number of sound signals to which an active avoidance reaction was observed in rats with MES was 5.7 times less than in the control ($P < 0.05$). The pitolisant (3.0 mg/kg) increased the studied index by 73.1 % ($P < 0.05$) compared to the baseline.

In rats with PTZ-kindling, the discrimination index (DI) was 41.27 ± 2.93 units, which was 35.0 % lower than in the control ($P < 0.05$). Against the background of pitolisant administration (3.0 mg/kg), the ID exceeded that of kindling by 32.7 % ($P < 0.05$) and did not differ from the control ($P > 0.05$). The ID of rats with MES was 33.21 ± 3.14 , which was 47.7 % lower than in the control ($P < 0.05$). Pitolisant (3.0 mg/kg) increased ID by 35.4 % compared to the kindled rats ($P < 0.05$), and was lower by 25.4% than in the control ($P < 0.05$).

The study of the effect of the combined use of drugs on the indicators of active avoidance, which was trained after the formation of advanced kindling formation, showed that active avoidance to 2-4 stimuli out of 10 was observed in 8 out of 9 rats (88.9 %), while in the control 8 out of 10 (80.0 %) rats avoided in response to 8-10 electric current stimuli ($P < 0.001$). With the combined use of pitolisant at a dose of 5.0 mg/kg and pioglitazone at a dose of 50.0 mg/kg, avoidance of 5-6 stimuli was observed in 25.0 % of rats (2 out of 8), which was less than in the control ($P < 0.01$). With the combined administration of pitolisant at a dose of 5.0 mg/kg and pioglitazone at a dose of 50.0 mg/kg, avoidance of 5-6 irritations was recorded in 63.6 % of rats (7 out of 11), which was higher than in rats with untreated kindling ($P < 0.01$).

With the combined use of pitolisant (5.0 mg/kg) and pioglitazone (50.0 mg/kg), avoidance in response to 3-6 of 10 stimuli was observed in 9 out of 12 rats, which was higher than in the MES group ($P = 0.01$). The use of pitolisant at a dose of 5.0 mg/kg

and pioglitazone (50.0 mg/kg) caused effective avoidance of 81.8 % (9 out of 11) in response to 4-8 stimuli out of 10 ($P=0.002$).

The obtained results are used in the educational process at the V.V. Podvysotsky Department of General and Clinical Pathological Physiology of Odesa National Medical University, at the Departments of Pathological Physiology of Bogomolets National Medical University, Danylo Halytsky Lviv National University, Ivano-Frankivsk National Medical University, Gorbachevsky Ternopil National Medical University, and Bukovinian State Medical University Poltava State Medical University and the Department of Pathological Physiology with a course in Normal Physiology at Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

Thus, the thesis presents a theoretical generalization and a practical solution to an urgent scientific problem: the study of pathophysiological mechanisms underlying the development of experimental epileptic syndrome, specifically related to the brain's histaminergic system, and the development of a pathogenetically grounded method for correcting seizure and comorbid behavioral disorders. For the first time, the dependence of H3-histamine-dependent mechanisms and PPAR- γ signaling regulatory pathway as a pathogenetic mechanism of the onset and development of chronic epileptic syndrome was established.

Key words: chronic seizure syndrome, kindling, comorbid states, behavioral disorders, inflammation, sleep-wake cycle, pathogenetic mechanisms, histamine, pharmacological correction, pitolisant, pioglitazone.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Список праць, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Godlevsky L.S., Poshyvak O.B., Pervak M.P., Prybolovets K.O., Yehorenko O.S. Effects of a combination of transcranial DC cerebellar stimulation and pioglitazone administration on pentylenetetrazole-induced seizures in kindled rats. *Neurophysiology*. 2022;53:88–92. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, дизайн та проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).
2. Єгоренко О.С. Коморбідні порушення циклу сну-не сну у кіндлінгових щурів за умов застосування антагоніста Н3-рецепторів пітолізанта. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2023; 22(3):11-15.
3. Poshyvak O, Pinyazhko O, Godlevsky L, Pervak M, Yehorenko O et al. Immunohistochemical neuroinflammatory markers in the hippocampus of ptz-kindled rats under conditions of rapamycin and axitinib treatment. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2023; 1 (44): 23-31. (Особистий внесок здобувача - аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).
4. Єгоренко О.С., Первак М.П. Вплив пітолізанта та транскраніального подразнення постійним струмом на поведінку щурів з хронічним епілептичним синдромом в тесті «відкрите поле». *Актуальні питання транспортної медицини*. 2024; 3(77): 168-173. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, дизайн та проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).
5. Pervak M., Yehorenko O., Poshyvak O., Liashenko S., Onuphrienko O., Denysenko O., Smirnov I., Rozhko P., Tselukh V., Prybolovets K. In: Advances in Health and Diseases. (Editor Dunkan L.T.) Chapter 4. In: *Combined neuro-vascular modulators in the control of epileptic activity*. Nova Science Publishers, Inc., New York, 2024;79:133-162. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури,

проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

6. Єгоренко О.С., Первак М.П. Особливості навчання у щурів із гострим та хронічним епілептичним синдромом за умов застосування пітолізанту. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2025; Т.24, №1 (91): 67-74. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

7. Yehorenko O., Pervak M. Pentylenetetrazol-induced seizures and brain neuroinflammation markers under conditions of pitolisant and pioglitazone use. *Journal of Education, Health and Sport*. Online. 29 April 2025. Vol. 80, P. 64021. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

Список праць, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Poshyvak O.B., Pinyazhko O.R., Abumutair Sh.N., Pervak M.P., Yehorenko O.S., Godlevsky L.S. The synergy of antiepileptic action of combined usage of neurovascular modulators with a wide spectrum of effects upon neuronal tissue. *IV науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», 19 травня 2022. Харків, Україна*. С. 60-63. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

2. Prybolovets K.O., Poshyvak O.B., Pervak M.P., Yehorenko O.S., Godlevsky L.S. Blockade of H₃ histamine receptors facilitates antiseizure action of pentoxiphilline. *Acta Neurobiol. Exp.* 2022. 82: I-CIV, LI. *Abstracts of the 12th “Neuronus-22” Forum, 15-17 October, Krakow, Poland*. Available at: <https://ane.pl/index.php/ane/article/view/2361/2353> (Особистий внесок здобувача - проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

3. Єгоренко О. С., Первак М. П., Годлевський Л. С. До ролі гістамінергічних

механізмів мозку у розвитку гострих пентилентетразол-індукованих судом. *Українські Медичні Вісті*. 2022. Т. 14. № 3–4. С.92–93. *Матеріали XIX Конгреса Світової Федерації Українських Лікарських Товариств (СФУЛТ), 27–29 жовтня 2022 р., м. Ужгород, Україна.* (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

4. Prybolovets K., Yehorenko O., Poshvyak O., Pinyazhko O., Godlevsky L. H3-histamine blockade strengthened rapamicyn abolishing of seizures and comorbidities in pentylenetetrazol (PTZ)-kindled rats. *Abstracts from the 17th World Congress on Controversies in Neurology, March 23-25, 2023, Dubrovnik, Croatia. "Restorative Neurology and Neuroscience."* 2023; 41(1-2):17. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

5. Yehorenko O.S., Pervak M., Latypov R. A., Prybolovets K., Shcheglov I.A., Godlevsky L.S. Daytime sleep - wakefulness cycle disturbances are effectively reversed with pitolisant in pentylenetetrazol-induced kindling. *Abstracts of World Congress in Neurology (WCN)-2023, 15-19 October, Monreal, Canada, Journal of the Neurological Sciences.* 2023;455:121569. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

6. Єгоренко О. С., Годлевський Л. С. Цикл сну – неспання кіндлінгових щурів за умов застосування модулятора H3 гістамінових рецепторів пітолізанта. в науковій конференції (18-19 травня 2023 *XXII читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріал року*). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2023. С.71-73.(Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

7. Єгоренко О.С., Первак М.П., Рябенка О.Д. Структура постсудомного депресивного синдрому на тлі моделювання хронічного епілептичного синдрому за умов застосування пітолізанта. *Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології Клінічна фармакологія сьогодення: шляхи максимальної допомоги*

лікарській спеціальності, 9 - 10 листопада 2023 р. Вінниця – Україна. С.55-57. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

8. Первак М.П., Єгоренко О.С. Порухення циркадіанних ритмів як модель коморбідних проявів при хронічній епілептизації мозку. *Актуальні питання біології та медицини : зб. наук. праць за матеріалами XVIII Всеукраїнської наукової конференції (м. Лубни, 02 червня 2023 р.).* Лубни : Вид-во ДЗ «ЛНУ імені Тараса Шевченка», 2023:160-162. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

9. Щеглов І. А., Аполлонов Д. Р., Варава С. В., Арабаджі Д. Р., Приболовець Т. В., Єгоренко О. С., Первак М. П. Нейродегенеративні та мікросудинні порушення в тканині мозку за умов формування хронічного епілептичного синдрому. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини для здобувачів освіти другого (магістерського) рівня : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 95-річчю з дня народження Л. В. Прокопової. Одеса, 27–28 квітня 2023 року : тези доп.* Електронне видання. Одеса : ОНМедУ, 2023. С. 31-32. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

10. Pervak M.P., Yehorenko O.S., Godlevsky L.S. Suppression of comorbid disorders in the model of chronic epileptic syndrome by combined use of rapamycin and pitolizant. *XXIII читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (16-17 травня 2024 року).* Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2024:16-17. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

11. Pervak M.P., Yehorenko O.S., Onuphrienko O.V., Varava S.V., Litvinenko M.V., Godlevsky L.S. Cerebellar transcranial direct current stimulation (tDCS) and pitolizant prevented behavioral and neuroinflammatory disturbances in pentylenetetrazol (PTZ)-kindling. *Acta Neurobiologiae Experemintale.* 25-27 April 2024. 84: I–CLXVIII.

<https://ane.pl/index.php/ane/issue/view/271/2>. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

12. Yehorenko O., Pervak M., Godlevsky L., Prybolovets K., Bidnyuk V., Ryabenska O. On the role of histaminergic and PPAR mechanisms of the brain in the development of chronic pentylenetetrazol-induced seizures. *Abstracts of 16th World Congress of the International Neuromodulation Society 11 May 2024 - 16 May Vancouver, Canada, 2024. Neuromodulation.* 2025;28(1): S185.(Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

13. Єгоренко О.С., Первак М.П. Патогенетичне обґрунтування контролю судомного синдрому застосуванням пітолізанту та піоглітазону. *Науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», 15 травня, 2025 р. м. Харків – Україна, 2025. С. 140-142.* (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

14. Годлевський Л.С., Єгоренко О.С. Вплив пітолізанту та піоглітазону на поведінку кіндлінгових щурів в міжнападному періоді. *XXIV читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (15-16 травня 2025 року).* Одеса, 2025. С. 59-61 (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ	27	
ВСТУП	29	
РОЗДІЛ 1	СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ПАТОГЕНЕТИЧНОГО ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСОБІВ КОНТРОЛЮ ЕПІЛЕПТИФОРМНИХ ПРОЯВІВ	39
	1.1 Патогенетично-обгрунтовані засоби лікування епілепсії	40
	1.2. Роль нейрозапалення в патогенезі епілепсії	44
	1.3. Гістамін-залежні механізми в розвитку та контролі епілептичної активності	45
	1.3.1. До ролі мастоцитів в контролі збудливості головного мозку	48
	1.3.2. Н3 гістамінові рецептори в контролі збудливості нейронів	54
РОЗДІЛ 2	МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	61
	2.1. Експериментальні тварини та дизайн дослідження	61
	2.2. Модель ПТЗ-індукованого кіндлінгу	63
	2.3. Моделювання гострих судом	65
	2.4. Оперативні втручання	66
	2.4.1. Реєстрація електричної активності мозку	68
	2.5. Поведінкові тести	69
	2.5.1. Цикл неспання-спанья	69
	2.5.2. Оцінка рефлексорних реакцій	70
	2.5.3. Поведінка щурів в тесті «відкрите поле»	72
	2.5.4. Активне уникнення та індекс дискримінації	73
	2.6. Імуногістохімічні дослідження	74
	2.7. Препарати, які було використано в дослідженні	75
	2.8. Статистичні процедури	76
РОЗДІЛ 3	ВПЛИВ ПІТОЛІЗАНТУ ТА ПОГЛІТАЗОНУ НА ГОСТРІ ТА ХРОНІЧНІ ПРОЯВИ ЕПІЛЕПТИЧНОЇ	

	АКТИВНОСТІ	77
	3.1. Гострі пентиленететразолові (ПТЗ) судоми	77
	3.1.1. Динаміка гострої вогнищевої ПТЗ-індукованої епілептичної активності	78
	3.1.2. Динаміка потужності вогнищ епілептогенезу за умов застосування пітолізанту та піоглітазону	84
	3.2. Вплив пітолізанту та піоглітазону на гострі ПТЗ-індуковані генералізовані судоми	87
	3.2.1. Динаміка поведінкових проявів судом	87
	3.2.2. Динаміка електрографічних судомних проявів	89
	3.3. Вплив пітолізанту та піоглітазону на гострі генералізовані судоми, викликані максимальним електрошоком	93
	3.4. ПТЗ-викликані кіндлінгові судоми за умов застосування пітолізанту та піоглітазону	95
	3.4.1. Особливості розвитку ПТЗ-індукованого кіндлінгу за умов експериментальної фармакотерапії	9
	3.4.2. Вплив пітолізанту та піоглітазону на розвинені кіндлінгові судоми	100
	3.4.2.1. Поведінкові судомні прояви	100
	3.4.2.2. Електрографічні судомні прояви	102
	3.5. Ангіогенез в тканині головного мозку за умов застосування пітолізанту та піоглітазону	105
	Висновки за розділом 3	109
РОЗДІЛ 4	ОСОБЛИВОСТІ ПОВЕДІНКОВИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ ЕПІЛЕПТИЧНОМУ СИНДРОМІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТЕРАПІЇ	114
	4.1. Особливості циклу сну-неснування щурів із ПТЗ-індукованим кіндлінгом на тлі застосування пітолізанту	114
	4.2. Рефлекторні реакції кіндлінгових щурів протягом постнападової депресії	117
	4.2.1. Больова чутливість на тлі застосування пітолізанту та піоглітазону	122
	4.3. Поведінка щурів в тесті «відкрите поле» за умов	

експериментального лікування	124
4.4. Показники навчання у щурів із судомним синдромом на тлі експериментального лікування	129
4.4.1. Особливості активного уникнення та розпізнавання нових об'єктів за умов формування кіндлінгу	129
4.4.2. Порівняльна ефективність пітолізанту на показники активного уникнення та індекс дискримінації за умов відтворення гострих та хронічних судом	131
4.4.3. Активне уникнення у щурів із сформованим кіндлінгом на тлі застосування пітолізанту та піоглітазону	134
4.4.3.1. Максимальні електрошокові судоми	134
4.4.3.2. Кіндлінг-провоковані генералізовані судоми	136
Висновки за розділом 4	138
РОЗДІЛ 5 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	142
ВИСНОВКИ	162
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	165
ДОДАТОК А СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ	192
ДОДАТОК Б ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ	197
ДОДАТОК В АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ	199

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АТФ-аденозин-трифостфат	GLU-1 - glucose transporter 1
АФК- активні форми кисню	H3- histamin receptor of third type
ГАМК - гама-аміномасляна кислота	HIF-1 α - hypoxia-induced factor-1 α
ГЕБ - гемато-енцефалічний бар'єр	HMGB1 - patterns -high-mobility group box 1 protein
ГПХС - глибокий повільнохвильовий сон	KCNQ - potassium channels, plays a role in the M-current
ІД - індекс дискримінації	MAPK - mitogen - activated protein kinases
ІЛ - інтерлейкіни (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8)	MCP-1 - monocyte chemoattractant protein-1
МЕШ - максимальний електрошок	MMP - matrix metalloproteinase
МЕС - максимальні електрошочові судоми	TLR - Toll-like receptor
Н - неспання	mTOR - target of rapamycin
ПТЗ - пентилентетразол	NGF - nerve growth factor
ПІН - піоглітазон	NKF- κ B - nuclear factor kappa B
ПІХС - поверхневий повільнохвильовий сон	NMDA - N-methyl-D-aspartate
ПС - парадоксальний сон	OCT3 - organic cation transporter 3
ПТН - пітолізанти	PAMPs - pathogen-associated molecular patterns
ТЕЗК - тонічна екстензія задніх кінцівок	PAR-2 - Protease-Activated Receptor 2
ТМЯ - туберо-мамільярне ядро	Phosphoinositide 3-kinases (PI3Ks)
ФНО- α - фактор некроза пухлин альфа	PKB - Protein kinase B family
ЦНС - центральна нервова система	PKA - protein kinase A
цАМФ - циклічний аденозин-монофосфат	PMAT - plasma membrane monoamine
AMPA - ionotropic glutamate receptor	

	transporter
BMEC - brain microvascular endothelial cells	PPAR- γ - peroxisome proliferator-activated receptor
CADM1 - cell adhesion molecule 1	TNF- α - tumor necrosis factor alpha
cAMP - cyclic adenosine monophosphate	TGF β - transforming growth factor beta
CGRP - calcitonin gene-related peptide	VCAM-1 - vascular cell adhesion molecule 1
DAMPs - damage-associated molecular	VEGFA - vascular endothelial growth factor-A
ERK - extracellular signal-regulated kinase	VGLUT - vesicular glutamate transporter
Fc ϵ RI - Високоафінний рецептор IgE	VGSC - voltage-gated sodium channel
GFAP - glial fibrillar acidic protein	VMAT2 - vesicular monoamine transporter

ВСТУП

Актуальність проблеми. Епілепсія є одним із найбільш тяжких захворювань нервової системи і характеризується пароксизмальними судомними проявами, а також виникненням коморбідних станів [3, 13, 15, 16, 18, 20, 21, 23, 30, 41, 43, 47, 73, 88, 120, 152, 156]. Розповсюдженість захворювання на епілепсію складає від 4 до 10 на 1000 населення [73, 152]. За даними ЕСОЗ, на початок 2025 року, в Україні зареєстровано понад 169 000 людей з діагнозом епілепсія [42]. Зважаючи на тяжкі прояви, прогресивний характер розвитку захворювання та соціальні наслідки, проблема лікування хворих на епілепсію не втрачає актуальності. Не дивлячись на те, що понад тридцять препаратів, які є в розпорядженні у епілептологів, у третини хворих на епілепсію судоми залишаються неконтрольованими і визначаються як резистентна до фармакотерапії форма епілепсії [23, 41, 152].

Крім життєво небезпечних судомних нападів, для хронічної епілепсії характерними є виникнення коморбідних розладів, до яких відносяться порушення когнітивних функцій, тривожність, а також депресія, дефіцит уваги та підвищення агресивності [16, 23, 156]. Хоча б одне із зазначених станів спостерігають у 50 % хворих на епілепсію. Когнітивний дефіцит, розлади навчання та пам'яті складають окремі прояви міжнападового стану хворих на епілепсію, які негативно впливають на якість життя та працездатність пацієнтів [156, 238]. Важливо зазначити, що внесок коморбідних станів щодо погіршення якості життя хворих на епілепсію є більшим, ніж власне судомних проявів [153].

Імуногістохімічне картування мозку свідчить про наявність двох основних компартментів гістаміну – нейронального, який локалізований у туберо-мамільарній зоні в задній третині гіпоталамуса, [58, 119, 221] та позанейронального, джерелом якого є мастоцити – як резидентні клітини тканини мозку, так і мастоцити асоційовані із гледенькими мязевими волокнами судин мозку [205, 206]. Причому за умов норми більша частина (60-80 %) всього

гістаміну знаходиться в нейрональному компартменті [220]. Гістамін виконує функцію нейромедіатора як в головному, так і спинному мозку [56, 119, 199]. Активність гістамінергічних нейронів забезпечує фундаментальні функції мозку, зокрема підтримку циркадіанних ритмів неспання-спання, контроль збудливості нейрональних структур, забезпечення когнітивних функцій [181, 192, 245, 250, 253].

Одним із важливих ефектів позасинаптичного пулу гістаміну мозку є збільшення проникності капілярів, що дозволяє здійснювати еміграцію імунокомпетентних клітин крові, а також проникнення імуноглобулінів до зони наявності патогена в зоні запалення [55, 63, 64]. Крім того, важливим є вплив на ендотеліальні клітини, які також здатні мігрувати і в подальшому приймають участь в ангіогенезі [72, 211, 220]. Вказані особливості гістаміну є важливим, зокрема для тканини головного мозку та свідчать про причетність місцевих як нейрональних, так і позанейрональних компартментів гістаміну в підтримці нейрозапалення, як одного із фундаментальних механізмів патогенезу хронічного епілептичного синдрому.

Нейрозапалення визначається, як характерний патогенетичний механізм на моделі ПТЗ-індукованого кіндлінгу, яка дозволяє відтворювати судомні прояви резистентної до лікування епілепсії, а також стійкі порушення поведінки в період між судомними пароксизмами [82, 233-236, 246]. Тому важливим є дослідження модуляторів гістамінергічної регуляції, зокрема антагоніста/інверсного агоніста H₃ рецепторів пітолізанту на даній моделі [51, 52, 68, 210]. H₃ рецептор є пресинаптичним гетерорецептором, який знаходиться на терміналях не тільки гістамінергічних, але й інших медіаторних систем, а модуляція активності H₃ рецептора забезпечує численні прямі та опосередковані ефекти на цикл неспання-спання, а також збудливість нейронів головного мозку [49, 66 83, 89, 145, 181]. Зокрема пітолізант застосовується для лікування нарколепсії [129, 228]. Однак до останнього часу не вивчалися питання корекції процесів навчання за умов

моделювання хронічного епілептичного синдрому, а також ролі PARP-γ рецепторів, з якими відбувається тісна взаємодія в розвитку відповідних ефектів гістамінергічної системи за умов розвитку запального процесу. Також важливо зазначити перспективність застосування агоністів PARP-γ рецепторів як протисудомних засобів [53, 117, 155, 219, 248, 251].

Тому значною науковою перспективою є вивчення особливостей патогенезу хронічного епілептичного синдрому, що викликаний за допомогою пентиленететразолового кіндлінгу за умов застосування пітолізанту, а також його комбінованого застосування з агоністом PARP-γ рецепторів піоглітазоном.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Матеріали дисертації є фрагментами науково-дослідних робіт кафедри фізіології та біофізики Одеського національного медичного університету (далі – ОНМедУ) МОЗ України в межах держбюджетної НДР МОЗ України «Підвищення ефективності контролю епілептичної активності застосуванням фармакологічних препаратів та неінвазивного подразнення структур мозку» Держреєстрація за № 0121114510 (2022-2024) та НДР «Дослідити нейроповедінкові коморбідності при хронічній фармакорезистентній епілепсії на прикладі електростимуляційного та хімічного кіндлінга з метою розробки фармакологічних методів їх корекції» Держреєстрація за №0121U113811 (2022-2026).

Дисертант є співвиконавцем вказаних науково-дослідних тем.

Мета роботи – дослідження ролі гістамінергічних механізмів в патогенезі епілептичного синдрому та розробці патогенетично обгрунтованого методу припинення його проявів із застосуванням модулятора Н3 рецептора гістаміну пітолізанту.

Відповідно до мети роботи сформульовані наступні **завдання дослідження:**

1. Дослідити динаміку гострих вогнищевих судомних проявів, викликаних у щурів пентиленететразолом за умов застосування пітолізанту.

2. Вивчити особливості проявів гострого епілептичного синдрому викликаного пентилентетразолом, а також максимальними електрошоковими судомами на тлі уведень пітолізанту.

3. Дослідити протисудомну динаміку ПТЗ-індукованих кіндлінгових судом, а також особливості розвинених кіндлінгових судом на тлі застосування пітолізанту.

4. Дослідити ангіогенез, а також вміст маркера запалення HIF-1 α та в структурах кори головного мозку кіндлінгових щурів за умови застосування пітолізанту та піоглітазону.

5. Дослідити особливості циклу неспання – сну щурів із хронічним епілептичним синдромом за умови модуляції гістамінергічної системи мозку пітолізантом.

6. Дослідити виразність міжнападкових поведінкових порушень щурів в тестах рефлексії на вимушене надання пози, а також в тесті Порсолта, механічного больового відчуття за умов уведень пітолізанту.

7. Дослідити особливості формування навички активного уникнення, а також індексу дискримінації у щурів із кіндлінговим синдромом а також з максимальними електрошоковими судомами за умов експериментальної фармакологічної корекції.

8. Оцінити ефективність поєднаного застосування піоглітазону та пітолізанту на прояви гострих та хронічних судом, а також коморбідні стани у кіндлінгових щурів.

Об'єкт дослідження – патогенетичні механізми епілептичного синдрому.

Предмет дослідження – динаміка поведінкових, електрографічних та імуногістохімічних маркерів епілептичного синдрому.

Методи дослідження: патофізіологічні, поведінкові, імуногістохімічні, фармакологічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше на моделі гострої вогнищевої активності, індукованої в корі головного мозку введенням ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер встановлено протисудомну дію пітолізанту, а також прискорення пригнічення потужності епілептогенезу на тлі застосування агоніста PARP-γ пітолізанту. На моделях гострих генералізованих тоніко-клонічних поведінкових судом, індукованих застосуванням ПТЗ дозою 80,0 мг/кг, в/очер, а також максимальних електрошокових судом встановлено протисудомну ефективність пітолізанту. Визначено пригнічення іктальної електрографічної активності в структурах кори мозку, попередження генералізованих судомних нападів на тлі посилення протисудомної дії сумісним застосуванням пітолізанту та піоглітазону.

Вперше на моделі хронічного епілептичного синдрому, індукованого повторним застосуванням ПТЗ дозою 35,0 мг/кг, в/очер, визначено подовження латентного періоду та попередження виникнення генералізованих судом на тлі курсового застосування пітолізанту, а також посилення протисудомного впливу піоглітазону. Вперше визначено попередження ангіогенезу – зниження щільності мікросудин у щурів з хронічним епілептичним синдромом, а також вмісту маркера запалення NF-1α в тканині мозку на тлі застосування пітолізанту, яке посилювалось сумісним застосуванням піоглітазону.

Визначена ефективність пітолізанту у відношенні до попередження порушень циклу неспання-спання за умови моделювання кіндлінгового синдрому. Вперше визначено попередження піоглітазоном порушень поведінки кіндлінгових щурів в тесті відкритого поля, які свідчать про відновлення пошукової активності, пригнічення тривожного стану, а також попередження рефлекторних порушень, усунення екзофтальму, м'язевого гіпертонусу, відновлення больової чутливості, усунення депресивного плавання в тесті Порсолта. Вперше визначено прискорення згасання навички під час формування кіндлінга. Визначено особливості формування навички активного уникнення, а

також здатності до розпізнавання нових об'єктів у щурів із сформованим кіндлінгом та у щурів із максимальними електрошоковими судомами. Вперше встановлено попередження втрати навичок активного уникнення та індексу дискримінації на тлі застосування пітолізанту.

Вперше визначено синергічний механізм усунення поведінкових кіндлінг-індукованих розладів, які спостерігаються в міжнападному періоді застосуванням пітолізанту та піоглітазону.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій. Отримані результати ґрунтуються на чітко спланованому дизайні експериментальних досліджень, достатньому числі експериментальних груп та спостережень, ретельному виборі груп контролю, застосуванні надійних та високоінформативних методів досліджень, статистичній обробці отриманих даних. До формулювання наукових положень та висновків залучено виключно результати, які мають статистично достовірні відмінності порівняно до груп контролю.

Наукове значення роботи. Вперше за експериментальних умов досліджено особливості реалізації гістамінергічних механізмів формування хронічної епілептичної активності. Зокрема, встановлена роль порушень залежних від стану H3 гістамінових рецепторів порушень циркадіанних ритмів сон-неспанья, динаміки когнітивних порушень за умови формування хронічного епілептичного синдрому за допомогою повторних уведень пентилентетразолу.

Вперше доведено синергію коригуючого впливу антагоніст/зворотнього агоніста H3 рецепторів пітолізанту та агоніста PARP-γ рецепторів піоглітазону, що має перспективне значення при вивченні патогенезу нейрозапалення.

Доповнено уявлення щодо механізмів та особливостей реалізації нейротропного, протисудомного впливу пітолізанту, а також його коригуючого

впливу на коморбідні стани за умов розвитку хронічного епілептичного синдрому.

Доповнено уявлення щодо ролі гістамінергічної системи у формуванні гострих та хронічних форм епілептичного синдрому.

Практичне значення одержаних результатів. Вперше за показниками електрографічних та поведінкових проявів визначено особливості протисудомного впливу пітолізанту на вогнищеві та генералізовані форми гострих судом, викликаних ПТЗ. Вперше визначено порівняльну ефективність протисудомної дії пітолізанту на моделях максимальних електрошокових судом, та гострих судом, індукованих ПТЗ.

На моделі кіндлінга, сформованого трьохтижневим застосуванням пентилентетразолу визначено здатність пітолізанту попереджати виникнення генералізованих судом. Вперше визначено кореляцію протисудомної дії пітолізанту зі зниженням ангіогенезу вмісту HIF-1 α як патогенетичного маркера нейрозапалення в структурах кори головного мозку у кіндлінгових щурів.

Доведено, що сумісне застосування пітолізанту та піоглітазону забезпечує виникнення синергічного протисудомного впливу на моделях гострих та хронічних судомних проявів, а також у відношенні до коморбідних порушень когнітивних функцій, циркадіанних ритмів рефлексорних реакцій утримання пози та больової чутливості.

Отримані результати використовують у проведенні навчального процесу на кафедрах загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, на кафедрах патологічної фізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, Львівського національного університету імені Данила Галицького, Івано-Франківського національного медичного університету, Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, Буковинського державного медичного університету,

Полтавського державного медичного університету та кафедрі патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є особисто виконаною науковою працею автора. Дисертантом за консультативної допомоги заслуженого діяча науки і техніки України професора Л.С. Годлевського досліджено та проаналізовано інформаційні ресурси, визначено актуальність проблеми та розроблено загальну концепцію роботи. Дизайн проведення експериментальних досліджень, мету, завдання окремих серій досліджень, визначення об'єкта та предмета досліджень, що були сформульовані автором. Дисертантом визначено методичні підходи для аналізу та узагальнення особисто отриманих первинних результатів.

Автором виконані всі експериментальні дослідження. Особисто проведено експериментальні дослідження з вивчення сумісного застосування пітолізанту та піоглітазону на гострі судоми, викликані застосуванням пентиленететразолу та на моделі кіндлінга, а також поведінкові порушення в інтеріктальному періоді хронічного епілептичного синдрому. Також особисто проведено порівняння впливу препаратів на прояви максимальних електрошокових судом. Внесок автора був ключовим у проведенні оцінки впливу препаратів на поведінку активного уникнення експериментальних тварин з хронічним епілептичним синдромом в тесті активного уникнення, а також на морфологічні прояви з боку мікросудин в тканині мозку.

Інтерпретація та аналіз результатів проведені автором.

Ідеї та концепції співавторів колективно опублікованих робіт у дослідженні не використовувалися. Загальна комплексна оцінка отриманих результатів експериментальних досліджень обговорена з науковим керівником, з ним також опрацьовано та узгоджено остаточну редакцію наукових положень та висновків дослідження.

Апробація результатів дослідження. Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на IV науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 19 травня 2022 р.), Міжнародному форумі з нейронаук за підтримки IBRO «Neuronus-22» (Краків, Польща, 15-17 жовтня, 2022 р.), XIX Конгресі Світової Федерації Українських Лікарських Товариств (СФУЛТ), (Ужгород, 27–29 жовтня 2022 р.), 17-му Всесвітньому Конгресі із Суперечностей в Неврології, (Дубровнік, Хорватія, 23-25 березня, 2023 р.), Всесвітньому Конгресі з Неврології (WCN 2023) (Монреаль, Канада, 5-19 жовтня 2023 р.), V науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 18 травня 2023 р.), науковій конференції «XXII читання В.В. Підвисоцького» (Одеса, 18-19 травня 2023 р.), XII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Клінічна фармакологія сьогодення: шляхи максимальної допомоги лікарській спеціальності», (Вінниця, 9-10 листопада 2023 р.), XVIII Всеукраїнській науковій конференції «Актуальні питання біології та медицини», (Лубни, 02 червня 2023 р.), науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 95-річчю з дня народження Л. В. Прокопової «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини для здобувачів освіти другого (магістерського) рівня» (Одеса, 27–28 квітня 2023 р.), Міжнародному форумі з нейронаук за підтримки IBRO «Neuronus-24», (Краків, Польща, 25-27 квітня, 2024 р.), науковій конференції «XXIII читання В. В. Підвисоцького» (Одеса, 16-17 травня 2024 р.), 16-му Всесвітньому Конгресі з Нейромодуляції, (Ванкувер, Канада, 11-16 квітня, 2024 р.), IV науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 15

травня 2025 р.), науковій конференції «XXIV читання В. В. Підвисоцького» (Одеса, 15-16 травня 2025 р.).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 21 наукову працю, з числа яких одна одноосібна, зокрема 7 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України (з їхнього числа дві статті в наукометричних виданнях, які індексуються базою Scopus), одна стаття є розділом колективної монографії, 14 тез доповідей на науково-практичних міжнародних конференціях та конгресах за фахом дисертаційної роботи, з яких 5 абстрактів надруковано в журналах індексованих базою Scopus (Q3-Q1).

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 206 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, двох розділів результатів власних експериментальних досліджень, розділу аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Список використаних джерел містить 265 найменувань, із яких 47 викладено кирилицею. Дисертація ілюстрована 10 таблицями та 20 рисунками.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ПАТОГЕНЕТИЧНОГО ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСОБІВ КОНТРОЛЮ ЕПІЛЕПТИФОРМНИХ ПРОЯВІВ

Епілепсія є одним із найбільш тяжких захворювань головного мозку, яке відрізняється прогресивним характером судомних проявів, а також пароксизмальними періодами порушення поведінки, які унеможливають соціальну адаптацію та згодом викликають втрату працездатності хворого. Тяжка форма інвалідності при невиліковних формах епілепсії, таких як синдром Ленокса-Гасто, синдром Дравера може виникати в дитячому віці. Дебют захворювання в дорослому віці та за умов нечутливості до сучасних засобів лікування, прогресивному розвитку судомних проявів та наявності протипоказань до хірургічних методів лікування, що реєструється у більш ніж 10 % резистентних форм епілепсії, є фактором приреченості та скорочення тривалості життя хворих [21, 23, 152].

В Україні розповсюдженість епілепсії складає близько 2,5-4,5 чол. на 1000. У світі за різними даними число хворих на епілепсію складає 65-70 млн. Незважаючи на появу нових, більш ефективних антиепілептичних препаратів (АЕП), до 40 % пацієнтів, які страждають на епілепсію є нечутливими до фармакологічного лікування.

Зважаючи на прогресивний характер та тяжкість перебігу захворювання, інвалідизацію пацієнтів та значні соціально-економічні негативні наслідки, розробка нових підходів до лікування резистентних форм захворювання є високо актуальним завданням.

Тому важливим напрямком в експериментальній епілептології є вивчення патогенезу епілептичного синдрому та пошук нових підходів до забезпечення стійкого протисудомного впливу досліджуваних засобів [15, 17, 20, 21, 25, 26, 29, 34, 116, 153, 235]. Особливе значення мають дослідження хронічних форм

епілептичного синдрому, зокрема моделі ПТЗ-індукованого кіндлінгу, яка відтворює довготривалі порушення збудливості мозку, а також поведінки верифіковані на сьогодні в якості основних еквівалентів клінічних проявів епілепсії [7, 8, 10, 11, 26, 156].

1.1. Патогенетично-обґрунтовані засоби лікування епілепсії

В клінічній епілептології після встановлення діагнозу епілепсії вибір антиепілептичного препарату значною мірою залежить від класифікації типу нападу. У найзагальнішому розумінні напади можна класифікувати як парціальні або генералізовані. Парціальні напади можна поділити на такі, що не впливають на свідомість (прості парціальні), і такі, що впливають (складні парціальні).

Прості парціальні напади вражають вогнищеві ділянки мозку, які, в свою чергу, викликають вогнищеві неврологічні симптоми, такі як втрата рухової функції однієї кінцівки, сенсорна дисфункція в певній ділянці тіла або зміни зору чи мовлення, не впливаючи на усвідомлення події. Складні парціальні напади схожі, але включають короткі моменти сплутаності свідомості, які швидко проходять після закінчення нападу.

Генералізовані напади вражають все тіло і можуть існувати у вигляді тоніко-клонічних нападів (при яких спочатку м'язи скуті, що супроводжується посмикуванням і спазмами тіла), абсансів (при яких люди можуть дивитися в простір і спостерігається коротка втрата свідомості, яку часто плутають із сновидіннями) та атонічних нападів (при яких відбувається раптова втрата м'язового тону, що часто призводить до падінь).

Міжнародна ліга боротьби з епілепсією (ILAE) рекомендує діагностувати епілепсію за наявності будь-якої з наступних ознак: наявність в анамнезі двох неспровокованих нападів з інтервалом не менше 24 годин, або неспровокований напад, коли ризик наступного нападу перевищує 60 % після двох

неспровокованих нападів протягом наступних 10 років, або напади, які є частиною епілептичного синдрому.

Дослідження механізмів хронічної епілепсії та патогенетичне обґрунтування застосування відповідних модуляторів в якості протисудомних засобів є актуальним напрямком патофізіології нервової системи [5-7, 10-11, 24, 27, 31-33, 35, 48, 54, 77, 91, 92, 113, 179, 203, 207, 232].

На сьогодні метод лікування за допомогою фармакологічних засобів залишається основним, не зважаючи на резистентність до лікування, яка спостерігається за останніми оцінками у 30 – 40 % пацієнтів, а також наявність значного арсеналу трьох генерацій протиепілептичних препаратів [247]. Причому, генерації препаратів не відрізняються за ознакою механізмів дії чи структурними особливостями, а розподіл стався за хронологією впровадження в медичну практику [217]. Між тим, основною концепцією щодо патогенетичного обґрунтування їх застосування є активація ГАМК-ергічної гальмівної системи та пригнічення глутаматергічної збуджуючої системи мозку [86, 133, 169].

Важливим механізмом здійснення протисудомної дії препаратів є регуляція активності збудливої мембрани шляхом впливу на активність іонних каналів нейронів [50]. Так, представниками третьої генерації препаратів (2008-2016 р.р.) за хронологією появи генериків є взаємодія з вольт-залежними натрієвими каналами (VGSC), зниження активності яких забезпечують еслікарбазепін, ріфінамід а також лакозамід [50, 133]. VGSC модулює повільну інактивацію каналів як результат взаємодії з протеїнами сімейства колапсину (CRMP), а саме CRMP-2, активність якого забезпечує пригнічення активності каналів та формування протисудомного ефекту. Бріварацетам викликає протисудомну дію через взаємодію з SV2A протеїном – механізм подібний до дії леветірацетаму другої генерації АЕП. Езогабін – підвищує внутрішньоклітинний вміст калію за рахунок модуляції KCNQ-йонного каналу, який є вольт-залежним калієвим каналом сімейства Kv7 і який є ключовим в регуляції активності нейронів та

кардіоцитів. Таким чином, зазначені механізми впливу препаратів дозволяють розглядати модуляцію активності іонних каналів збудливої мембрани як основний механізм їх протисудомного впливу [50, 110, 152]. В той же час класичними представниками, які підвищують тонус ГАМК-ергічної системи мозку є вігабатрін, який активує синтез ГАМК за рахунок пригнічення ГАМК-трансамінази. Також клобазам модулює активності ГАМК-А рецептора, а зниження активності ендогенної системи збуджуючих амінокислот забезпечує пірампанел за рахунок модуляції АМРА рецепторів [133, 180]. Таким чином, патогенетичне обґрунтування здійснюється з урахуванням загальної фундаментальної концепції ролі ГАМК-ергічної та глутуматергічної систем мозку у підтриманні балансу гальмування та збудження нейронів.

Перспективним є пошук фармакологічних протисудомних засобів препаратів – модуляторів активності білків, які транспортують глюкозу (GLU-1) і тим самим покращують енергетичний обмін клітини [85, 117, 155, 248]. Так, застосування піоглітазону, який викликає активацію PPAR- γ рецепторів, знижує продукцію фактору росту нервів (NGF), знижує активність m-TOR сигнального шляху, а також рівень білків – переносників глюкози – GLUT-1 та GLUT-3 порівняно з мишами із розвиненим ПТЗ-кіндлінгом [90]. Також автори вказують на виразний нейропротекторний вплив піоглітазону, який досягається завдяки зазначеним механізмам дії препарату. В дослідженні [113] визначено протисудомну активність розіглітазону, який також є агоністом PPAR- γ рецепторів. Автори на моделі ПТЗ-кіндлінгу (40,0 мг/кг, в/очер) у мишей лінії C57BL/6 показали, що застосування розіглітазону дозою 0,1 мг/кг попереджало виникнення генералізованих судомних проявів, а також зменшувало вміст прозапальних цитокінів: ІЛ-17А, ФНО- α , а також інтерферону гама з одночасним зростанням вмісту протизапального цитокіну ІЛ-10. Також у мишей спостерігалась редукція числа каспаза-3 позитивних клітин, а також гліального

фібрилярного кислого протеїну, що є свідченням впливу різоглітазону шляхом реалізації протизапальних та антиапоптичних шляхів.

Слід підкреслити, що з позицій патогенезу ПТЗ-індукованого епілептичного синдрому важливою є роль окремих структур мозку у його формуванні. Так, дослідженнями останнього часу встановлено, що однією із структур, яка першочергово залучається до виникнення судомних та поведінкових розладів, є гіпокамп. Зокрема, йдеться про зону зубчастої звивини, субгранулярний шар, а також зони дорзального гіпокама, роль яких є важливою у виникненні морфофункціональних порушень на етапі формування первинних вогнищевих змін під час розвитку хронічної епілепсії [90, 107, 146, 194, 198, 237]. Крім того, гіпокамп відіграє провідну роль у розвитку порушень когнітивних функцій мозку за умов його хронічної епілептизації [52, 61, 265]. З іншого боку, у формуванні судомних проявів важливими є процеси залучення структур мозку, які здатні гальмувати епілептогенне збудження, що може бути реалізовано як на рівні первинних вогнищ – за рахунок індуктивної активації місцевих ГАМК-ергічних інтернейронів, або ж дистантно локалізовані структури, зокрема ядра та кора мозочка, ядра таламуса та інші [10, 11, 104, 106, 163, 170, 213]. Відповідно до регуляторного стану збудження/гальмування на рівні нейромедіаторного контролю в процесах розповсюдження та обмеження епілептичної активності. Причому, активність нейрональних структур, залучених до контролю збудливості нейрональних структур лімбічної системи, неокортексу є регульованими ендогенними факторами, які модулюють процеси нейрозапалення.

Дослідження міжнападкових порушень поведінки, викликані ПТЗ-кіндлінгом у мишей, засвічує розвиток тривожності, депресії та когнітивних порушень [85]. Подібні прояви супроводжувались виразним посиленням перекисного окиснення в структурах мозку – тканині гіпокампу та префронтальної кори, зменшення вмісту глутатіону та BDNF.

Таким чином, наведені результати свідчать щодо важливого значення нейрозапалення, як патогенетичної основи виникнення кіндлінг-індукованих хронічних проявів епілептичної активності, а також підґрунтя для застосування препаратів, які здійснюють протизапальну дію, в якості протисудомних засобів.

1.2. Роль нейрозапалення в патогенезі епілепсії

В основі стійкого характеру поведінкових порушень, а також підвищення судомної готовності мозку є розвиток нейрозапалення [87, 108, 136, 185]. Виходячи із патогенетичного значення нейрозапалення у формуванні хронічного епілептичного синдрому, з метою пригнічення судомних проявів можливим є застосування препаратів, які є надійними протизапальними засобами, зокрема бетаметазону [108].

Систематичні дослідження патогенезу хронічних форм епілептичного синдрому засвідчили прямий зв'язок між нейрозапаленням та епілептиформними проявами: запалення тканини мозку відіграє етіопатогенетичну роль у формуванні нападів, а розвиток судомних нападів в свою чергу викликає нейрозапалення [234-236]. Підкреслюється критична роль прозапальних цитокінів, що полягає в індукції внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, які сприяють апоптозу, довготривалому перебігу запалення із залученням гліальних клітин, специфічними змінами навколочлітинного простору, зростанню проникливості ГЕБ та міграцією імунокомпетентних клітин в зону запалення [193]. Слід підкреслити, що застосування специфічних протизапальних засобів зменшує виразність та попереджає судомні напади [233-236].

Однією з форм ініціації запалення є вивільнення молекулярних патернів, пов'язаних з ушкодженням (DAMPs), білків високомобільної групи box 1 (HMGB1), АТФ та інших з клітин, які зазнають деструкції внаслідок судом і які запускають запальну реакцію [193, 234]. Це сполуки, які ініціюють запальні сигнальні шляхи. Розрізняють позаклітинні індуктори такі як патоген-

асоційовані молекулярні патерни (PAMPs) (наприклад, структурні елементи, знайдені в клітинних стінках бактерій) а також внутрішньоклітинні індуктори, які є сполуками, що виробляються стресованими, або пошкодженими клітинами та тканинами такі як DAMPs, HMGB1, гістони, АТФ, а також активні форми кисню (АФК) [84, 242]. При нейродегенеративних захворюваннях запалення може бути спровоковане накопиченням агрегатів модифікованих білків, які також можна розглядати в якості DAMPs [137].

Зазначені медіатори є тригерами активації мікроглії та астроцитів в паренхимі мозку, а згодом інфільтрація тканини мозку прийдешніми імунними клітинами запускає тривалий запальний процес [73]. Причому запалення може тривати без втрати нейронів, завдяки значному рівню їх активації [107, 132, 146]. Важливо зазначити, що нейрозапалення може виникати до початку епілепсії: порушення регуляції імунно-запальної функції глії може спричинити або безпосередньо сприяти виникненню судомних нападів [171, 197, 233]. Відповідно, реактивність астроцитів призводить до різких змін у гомеостазі глутаматних транспортерів, що викликає підвищення збудливості, екситотоксичності і, зрештою, до появи судом [195, 197].

Таким чином, патогенетично обґрунтованим є використання протизапальних препаратів для зниження реактивності астроцитів та отримання протисудомного ефекту на моделях хронічного епілептичного синдрому, зокрема резистентного до фармакотерапії [74].

1.3. Гістамін-залежні механізми в розвитку та контролі епілептичної активності

У ссавців, включаючи людину, єдиним джерелом нейронного гістаміну в ЦНС є скупчення нейронів в межах туберо-мамільарної зони, а також мережа гістамінергічних нейронів розкинута навколо третього шлуночка і мамільарного тіла у вентральному задньому гіпоталамусі [99, 199]. Кількість нейронів у ЦНС,

здатність яких синтезувати гістамін з L-гістидину підтверджується експресією гістидиндекарбоксилази, оцінюється в діапазоні 60-125 тисяч і може змінюватися при різних розладах (наприклад, збільшуватися при нарколепсії) [58, 129, 228]. При цьому число гістамінергічних нейронів у мозку людини є значно вищим, ніж у мозку миші та щура, і вони займають пропорційно більшу частину заднього гіпоталамуса [149].

Слід підкреслити, що прецизійні електричні подразнення заднього гіпоталамусу викликають зниження судомних проявів, а також усувають надмірну агресивність пацієнтів із фармакологічно резистентною формою епілепсії [106]. Причому транскриптомний аналіз засвідчив позитивну модуляцію нейронної мережі, відповідальної за виникнення агресивності на рівні активності генів, які є відповідальними за агресивну поведінку, нейрональну комунікацію, пластичність, а також формування нейрозапалення [106]. Подібний результат засвідчує залучення гістамінергічної системи мозку саме до проявів епілепсії – як власне судом, так і коморбідних розладів.

Важливо зазначити, що в контексті порушень циркадіанних ритмів, гістамінергічна система відповідає за виникнення фази неспання і активного стану головного мозку, в той час як за умови втрати гістамінергічних нейронів, або ж порушення їх функції домінує фаза повільнохвильового сну [249]. Аксони гістамінергічних нейронів туберо-мамільарної зони дифузно іннервують майже всі регіони ЦНС, включаючи найщільніші аксональні проекції, які направляються в кору головного мозку (переважно в лобову, тім'яну та потиличну частки), гіпокамп та мигдалик, вентральний тегментум, блакитне ядро та чорну субстанцію, середній відділ таламуса, смугасте тіло, мозочок, довгастий мозок та спинний мозок [149, 163, 196].

Важливо зазначити, що гістаміну в тканині мозку притаманні як нейромодуюча (позасинаптична), так і класична нейромедіаторна – транссинаптична дії [119]. Перший з ефектів здійснюється дифузно на ефекторні

клітини і потребує певного часу активації внутрішньоклітинних сигнальних систем через взаємодію з метаботропними рецепторами гістаміну [143]. Трансинаптичні впливи здійснюються значне швидше і пов'язані з вивільненням гістаміну в синаптичну щілину та активацією H3 рецептора, який розташований на постсинаптичній мембрані, з подальшою зміною функціонального стану (відкриттям або закриттям) контрольованого іонного каналу і зміною проникності клітинної мембрани [111].

Взаємозв'язок між гістаміном та нейрозапаленням є надзвичайно складним, особливо у випадку нейрогенезу [70]. По-перше, залежно від цитокінового профілю, ГК може локально опосередковувати про- або протизапальну відповідь. Різні концентрації ГК можуть супроводжуватися змінами в цитокіновому складі з переважанням прозапальних (наприклад, інтерлейкін 1 бета (IL-1 β), IL-33 та фактор некрозу пухлин альфа (TNF α)) або протизапальних (наприклад, трансформуючий фактор росту бета (TGF β) цитокінів [87, 259].

Гістамін впливає на рівень цитокінів і тому спричинює опосередкований вплив на процеси нейродегенерації та нейропротекції. Гістамін зберігається в сомі гістамінергічного нейрона і за необхідності в результаті дії судинного моноамінного транспортера VMAT2 переміщується з аксональною течією до пресинаптичного закінчення [182, 243]. Подібний процес відрізняє функціональне значення нейронального гістаміну від гістаміну, який вивільнюється в результаті дегрануляції мастоцитів [62, 78]. Слід підкреслити, що прикінцевий ефект вивільнення гістаміну в синаптичну щілину, наступної активації збуджуючих H1 та H2 рецепторів, а також гальмівного H3 рецептора залежить від подальшого впливу інших нейромедіаторних систем [89, 230]. Подібним пояснюється той факт, що нейрозапалення може виникати на тлі дефіциту гістаміну, а також на тлі надмірного його вивільнення. Цікавим з позицій власне нейроімунного запалення є те, що ГЕБ є бар'єром для гістаміну,

який знаходиться в крові дорослих, але в ранньому періоді розвитку ГЕБ є проникним для гістаміну [162].

Слід зазначити, що в регуляції локальної концентрації гістаміну активну участь приймають астроцити та нейрони, які можуть здійснювати зворотне вилучення гістаміну з навколишньоклітинного середовища. В цих клітинах є гістамін-транспортні системи, які специфічні для транспорту органічних катіонів (ОСТ3) та плазматичний мембранний моноаміновий транспортер (РМАТ) [167, 249]. Крім регуляції зовнішньоклітинного рівня гістаміну, астроцити також відіграють ключову роль у нейрогенезі – забезпеченні життєздатності, міграції, напрямку росту дендритів, участі у формуванні синапсів, розвитку нейронної мережі [75].

Нарешті досить широким є спектр захворювань, які є наслідком порушень розвитку нервової системи, пов'язаних із механізмами патогенезу нейрозапалення, і в яких важливу роль відіграють гістамін-залежні процеси [70, 194, 264]. Подібні захворювання підрозділяють на дві групи: 1) порушення в період розвитку нервової системи, серед яких розповсюдженими є порушення комунікативних здібностей, аутизм, гіперактивність з дефіцитом уваги, природжені порушення рухової активності – синдром Турета, специфічні порушення здібностей до навчання, а також шизофренія [63]; 2) нервово-психічні (нейродегенеративні) порушення, які включають хворобу Паркінсона, Альцгеймера, Гентінхтона, депресію, а також нарколепсію [202].

1.3.1. До ролі мастоцитів в контролі збудливості головного мозку

Потужним джерелом гістаміну в тканині мозку є мастоцити, які відіграють важливу роль як в контролі гомеостазу нервової тканини зовнішньоклітинного простору, який забезпечує функціонування нервових функціональних одиниць – нейронів, глії та мікросудин, так і у формуванні нейрозапалення, контролю

імунореактивності нервової тканини за умов виникнення хронічних захворювань мозку [136].

В тканині мозку мастоцити переважно знаходяться в просвіті судин мозкової оболонки, енторинальній корі, хоріоїдному сплетінні, ольфакторних бульбах, таламусі, а також гіпоталамусі, де вони взаємодіють з нейронами, гліальними клітинами, ендотеліальними клітинами [206, 226]. Важливо зазначити, що мастоцити локалізовані на базальній мембрані ГЕБ [95]. Встановлена ключова роль мастоцитів в регуляції когнітивних функцій, емоціональній поведінці [95, 147, 168, 258]. Визначається роль мастоцитів в якості “першої лінії реагування” мозку на флогогенні чинники, яка полягає у активації каскадів нейрозапалення у відповідь на пошкодження тканини мозку, особливо кори головного мозку, яка найбільш часто підпадає під дію механічного пошкодження [130, 135, 215].

Мастоцити є основним джерелом гістаміну та серотоніну в тканині ЦНС та в головного мозку зокрема [139, 168, 223]. Експериментальні та клінічні дослідження свідчать щодо ролі ендогенного гістаміна як протиепілептичного нейротрансміттера, який підвищує поріг судом, знижує судомну готовність нейронів на моделях електростимуляційного та хімічного кіндлінга – ефекта, який може бути опосередкованим H1 рецепторами [66, 114, 170, 254]. Можливо вважати, що зазначена роль ендогенного гістаміну визначає патогенетичну роль мастоцитів як основних його постачальників в патогенезі невропатологічних синдромів, а також нейродегенеративних хронічних захворювань, зокрема і при епілепсії [130].

Наразі подібна роль визначена при інших тяжких захворюваннях нервової системи, в основі яких знаходиться нейрозапалення з наступними нейродегенеративними змінами – хворобах Альцгеймера, Паркінсона, аміотрофічному латеральному склерозі [130]. Визначено, що амілоїдні пептиди при хворобі Альцгеймера викликають дегрануляцію мастоцитів за рахунок

активації Panx1 каналів зовнішньоклітинної мембрани мастоцитів [110]. Прозапальні медіатори в чорній субстанції викликають дегенерацію дофамінергічних нейронів при хворобі Паркінсона [118, 130]. Подібні процеси за участі мастоцитів визначають у нервово-м'язових синапсах при боковому аміотрофічному склерозі [227].

Нейрозапалення є критичним патогенетичним механізмом виникнення та розвитку багатьох захворювань головного мозку, а також складає патогенетичний базис їх відповідної патогенетичної терапії [134, 185]. Приймаючи до уваги значення гістамінергічних механізмів у формуванні запалення, та роль мастоцитів як основного джерела гістаміну в нервовій тканині, на сьогодні актуальним є напрямок вивчення їх ролі у формуванні захворювань головного мозку, яка визнається все більшою мірою паралельно до визнаної імуногенної ролі мікроглії та астроцитів [112, 208]. Причому, мастоцити є не тільки основним джерелом гістаміну в тканині мозку, але й b -триптази, фактора некрозу пухлин-альфа ($\text{TNF-}\alpha$), а також інтерлейкіну-1 b (IL-1b) [239]. Слід зазначити, що принаймні половина загальної кількості гістаміну в ЦНС є результатом дегрануляції мастоцитів [112]. Також важливим є те, що мастоцити є єдиними клітинами в ЦНС, які здатні накопичувати ФНО- α [157]. Мастоцити приймають участь у численних сигнальних шляхах активації завдяки наявності відповідних специфічних рецепторів, серед яких – протеази-активуємі рецептори другого типу (PAR2), мітоген-активуєма протеїнкіназа (MAPK), ядерний фактор kb (NF-kB), гістамінові рецептори першого типу (H1R)/ H4R-MAPK , а також сигнальні каскади, які активують фосфатидилінозитол-3-кіназа (PI3K)/та протеїнкіназа B (AKT)- NFkB [87, 263].

Крім зазначених функціональних можливостей, мастоцити здійснюють двонаправлену взаємодію з мікроглією та астроцитами, що забезпечує посилення розвитку запального процесу [112]. Активація мастоцитів забезпечує підвищення рівня цитокінів та хемокинів, які викликають активацію мікроглії [174]. Крім

того, мастоцити вивільнюють протелітичні ензими, які активують PAR-2 рецептори на мікрогліальних клітинах, що і забезпечує вивільнення прозапальних цитокинів, зокрема TNF- α , IL-1 β , та IL-6 [87, 187, 257]. Прозапальна дія мастоцитів визначається не тільки в сірій речовині, але й у білій речовині мозку, яка також здійснюється за рахунок вивільнення протеолітичних ензимів, вивільнення IL-33 із астроцитів за рахунок активації специфічних сигнальних каскадів. Зокрема йдеться про збудження p38, ERK1/2 MAPKs, а також NF- κ B сигнальних шляхів, із залученням астроцитів до розвитку запального процесу [136]. Гістамін, який вивільнюється під час дегрануляції мастоцитів модулює активність мікроглії та астроцитів, які мають відповідні гістамінові рецептори на клітинній мембрані [87, 94, 159, 206]. Активовані таким чином гліальні клітини в свою чергу здійснюють зворотній вплив на мастоцити, індукують підвищену активність PAR-2 та дзвіноподібні подібні рецептори другого та четвертого типів (TLR2)/ TLR4 завдяки чому додатково вивільнюється гістамін, а також IL-6, та ФНО- α [256, 257]. IL-33, який також вивільнюється активованими астроцитами і приймає участь в подальшій індукції та вивільненні IL-6, IL-8, та IL-13 як гліальними клітинами, так і мастоцитами [100, 125]. Таким чином, спостерігається тісна взаємодія мастоцитів, мікроглії та астроцитів під час виникнення нейрозапалення.

Гістамін в тканині головного мозку суттєвим чином впливає також на активність нейронів за участі адгезивної молекули першого типу (CADM1), N-кадгерину, та дегрануляції самих мастоцитів. CADM1 відіграє ключову роль в адгезії мастоцита та нейрона, що забезпечує обмін інформацією, важливою для формування імунної відповіді [109]. Взаємодія між мастоцитами та нейронами полегшується за участі синапс-подібної структури, у створенні якої важливу роль відіграє N-кадгерин [103]. Встановлено, що при контакті виникає трансгрануляція мастоцитів та вивільнення гепарину в сому нейрона, що порушує кальцієвий гомеостаз та пригнічує його активність [240]. В свою чергу

активація мастоцитів може відбуватися під впливом низки нейропептидів, зокрема субстанції Р, пептида-регулятора гена кальцитоніна (CGRP), нейротензіна, а також фактора росту нервів (NGF), які вивільнюються нейронами і активують цитокіни та хемокіни такі як протеїн хемотаксису моноцитів-1 (MCP-1), ІЛ-8, та С-С хемокіновий ліганд п'ятого типу (CCL5) [136, 141].

Важливо зазначити, що мастоцити виконують нейропротекторну та відновлювальну роль шляхом регулювання нейромедіаторних процесів. Так, встановлено, що секреція гістаміну мастоцитами послабляє нейрональну ексайтотоксичність, викликану N-метил-D-аспартатною кислотою (NMDA) а також глутаматну нейротоксичність через активацію сигнального шляху циклічний аденозинмонофосфат (сАМР)/ протеїнкіназа А (РКА), а також шляхом посилення транспортної системи глутамату та посилення активності глутамінсинтази [122].

Крім того, мастоцити здатні стимулювати нейрогенез шляхом секреції фактора росту нервів (NGF) та індукції експресії нейропептидів, що знижує поріг генерування потенціалів дії та полегшує міжнейрональну взаємодію [97]. NGF також зв'язується зі специфічними рецепторами мікроглії, активує внутрішньоклітинний тирозинкіназа А-сигнальний шлях, що супроводжується полегшенням ендоцитозу. В результаті стимулюється фагоцитоз, зокрема β -амілоїду, що забезпечує нейропротекторний ефект [186].

Крім зазначених механізмів впливу мастоцитів активацією високоафінного рецептора IgE (FcεRI)-залежного сигнального шляху, лігандами TLR, а також NGF, мастоцити також синтезують та вивільнюють ангіогенін [142], який підтримує відновлення моторних нейронів та нейрогенез в цілому [217]. Також в гіпокампі мастоцити секретують серотонін, який ключовим чином впливає на гіпокамп-залежні форми поведінки та посилює нейрогенез [168].

Важливою є роль мастоцитів в регуляції проникності ГЕБ [124, 244]. Дослідження показали, що мастоцити часто розташовані в безпосередній близькості до активних ділянок матриксних металопротеїназ (ММР) [222]. Вони впливають на проникність ГЕБ шляхом активації ММР, які руйнують більшість білкових компонентів позаклітинного матриксу, таких як колаген, еластин, фібронектин і вітронектин [57, 216]. Також під вплив ММР попадають місця щільних з'єднань ендотеліоцитів мікросудин мозку (ВМЕС), дозволяючи ендотеліоцитам від'єднуватися від позаклітинного матриксу [150]; зрештою, ключові компоненти ММР, а саме ММР-2 і ММР-9, можуть безпосередньо розщеплювати компоненти базальної мембрани мікросудин, зокрема колаген IV типу [81, 261]. Крім того, мастоцити секретують триптазу, активують рецептори PAR-2 для посилення експресії молекули адгезії судинних клітин-1 (VCAM-1), TLR4 і ФНО-а, одночасно знижуючи експресію оклюдину та клаудину-5, тим самим індуючи збільшення проникності ГЕБ [183]. Також триптаза безпосередньо порушує цілісність ГЕБ, руйнуючи білки оклюдину та клаудину-5, що асоціюються з щільними контактами ендотеліоцитів [121]. Значна кількість гістаміну, яку вивільнюють мастоцити, зв'язується з H1 і H2 рецепторами на ендотеліальних клітинах, що призводить до посилення регуляції експресії Р-селектину і, як наслідок, підвищує проникності ГЕБ [63, 82]. Надмірне збільшення запальних факторів після травми або розладу мозку є основною причиною порушення ГЕБ [244]. Причому самі компоненти ГЕБ, а також близько розташовані компоненти міжклітинного матриксу, мастоцити є основним джерелом цих запальних факторів, що сприяють порушенню ГЕБ при патологічних станах.

Наприклад, секреція ФНП- α мастоцитами викликає активацію сигнального шляху NF- κ B, тим самим знижуючи рівень експресії клаудину 5, що призводить до порушення щільних контактів ендотеліальних клітин і подальшої загибелі ВМЕС [71]. Крім того, IL-1 β , що секретується мастоцитами, порушує ГЕБ за

допомогою двох механізмів, а саме, по-перше, він індукує експресію гіпоксія-індукованого фактора-1 (HIF-1) та його гена-мішені – VEGFA в астроцитах, таким чином ініціюючи порушення ГЕБ [55]. По-друге, IL-1 β сприяє секреції IL-6 і TNF- α , підвищуючи парацелюлярну проникність клітин ГЕБ [144].

Роль гістамінергічної системи в патогенезі нейрозапалення, яка є одним із важливих механізмів виникнення та розвитку хронічних форм епілепсії, дозволяє визначити важливе значення модуляції її активності в якості патогенетичного обґрунтування нових методів лікування епілепсії. Подібний підхід відрізняється залученням до виникнення та розвитку судомної активності не тільки нейронів, але й мікросудин та гліальних клітин, модуляція активності яких є важливою як для патогенезу нейрозапалення, так і для контролю збудливості структур головного мозку [171, 233].

1.3.2. H3 гістамінові рецептори в контролі збудливості нейронів

Гістамінові рецептори H3 локалізовані в структурах кори головного мозку, стріатумі, гіпокампі, смугастому тілі, а також в гіпоталамусі і розташовані як на соматичній мембрані, так і в аксонах та дендритах нейронів [201, 214]. На відміну від інших підтипів гістамінових рецепторів (H1, H2 і H4), H3 є не тільки в складі постсинаптичних рецепторних структур, але представлений і пресинаптичним рецептором, який проявляє постійну тонічну активність. Зокрема, H3-рецептори беруть участь у гальмуванні вивільнення гістаміну, проходженні імпульсу по гістамінергічних нейронах (соматодендритний рецептор) і синтезі гістаміну. Важливо зазначити, що H3-рецептори також локалізовані пресинаптично на серотонінергічних, норадренергічних, дофамінергічних, глутаматергічних, ГАМК-ергічних, а також холінергічних нейронах і їх активація викликає гальмівану функцію. Відповідно їх блокада антагоністами H3 рецепторів забезпечує посилення активності зазначених нейромедіаторних систем. Зважаючи на зростання вивільнення гістаміну при блокуванні H3 рецепторів,

збільшується активація H1 та H2 гістамінових рецепторів. Таким чином здійснюються сомнотропні, протисудомні та протианоректичні (через постсинаптичні H1-рецептори) і прокогнітивні впливи (через постсинаптичні H1- і H2-рецептори) блокування H3 рецепторів [201].

Постсинаптичні H3 рецептори, які розташовані у вентральному та дорзальному стріатумі формують гетеродимери з дофамінергічними рецепторами першого та другого типів [89]. Важливою з точки зору контролю збудливості нейронів, є роль H3 рецепторів в складі гетерорецепторного комплексу, який включає також дофамінові рецептори першого типу, рецептори NMDA, активація яких попереджає нейродегенерацію [188].

Агоністи H3 рецепторів пригнічують аденілатциклазу і таким чином обмежують утворення цАМФ, але активують мітоген-активуємі протеїнкінази (МАРК) та фосфоіназотид 3-кіназний (PI3K) сигнальні шляхи [175]. МАРК та PI3K сигнальні шляхи забезпечують фосфорилування позаклітинних сигнал-регулюємих кінази (ERK) та протеїнкінази типу В, які в свою чергу гальмують Akt/глікоген синтазну кіназу 3-бета [190, 191]. Крім того, активація H3 рецепторів попереджає відкриття потенціал-залежних Ca^{2+} каналів [154], та активує іонні калієві канали надходження до клітини, що має своїм результатом блокування деполяризації мембрани [50, 83], що, в свою чергу попереджає вивільнення як гістаміну, так і інших нейротрансмітерів, таких як глутамат, ГАМК, норадреналін, ацетилхолін та серотонін. Вплив активації H3 рецепторів на стан інших нейромедіаторних систем може також здійснюватись опосередковано через зниження активності холінергічних інтернейронів, що має своїм наслідком зменшення вивільнення дофаміна структурами вентральних відділів стріума [230].

В контексті регуляції збудливості нейронів H3 рецепторами слід зазначити, що гістамін може гальмувати вивільнення ГАМК пресинаптичними терміналами вентромедіальних гіпоталамічних нейронів шляхом гальмування

пресинаптичних P/Q- Ca_2^+ каналів [126]. Активація H3 рецепторів попереджає залучення швидкого збуджуючого постсинаптичного локального потенціала до генерування популяційного епілептиформного спайку гранулярними клітинами зубчатої звивини гіпокампа, а також гальмує як ТМЯ гістамінергічні нейрони, так і гальмівні нейрони ретикулярної частини чорної субстанції [83, 230, 260, 264].

На загал ефекти H3 рецепторів зводяться переважно до пригнічення збудливості нейронів різних за функцією та локалізацією. Однак в кожній із структур мозку прикінцевий ефект залежить від того, який тип H3 рецепторів (пре-, чи посинаптичний) є активованим, а також опосередковані іншими нейромедіаторними системами ефекти активації за рахунок модуляції активності H3 гетерорецепторів.

Гістамінові H3-рецептори відіграють важливу роль у патогенезі багатьох неврологічних захворювань, зокрема епілепсії [101, 199]. Встановлено, що застосування антагоніста H3-рецепторів E177 зумовлює протисудомний ефект, позитивно впливає на порушення навчання у щурів із ПТЗ-індукованим кіндлінгом [199]. Крім того, блокування H3-рецепторів попереджає прояви оксидантного стресу і супроводжується зростанням вмісту відновленого глутатіону, активності каталази, супероксиддисмутази, а також зменшенням вмісту малонового діальдегіду. H3 гетеро-рецептори, які розташовані на глутаматергічних терміналях в мигдалику, супроводжується пригніченням секреції глутамату і, таким чином, забезпечує зменшення збудливості нейронів [123, 260]. В дослідженні [160] за допомогою методу зв'язування $[3\text{H}](\text{R})\alpha$ -метилгістаміна в коронарних зрізах префронтальної кори щурів із генетично детермінованими абсансними (Wag/Rij) та аудіогенними судомами. Автори визначили редукцію зв'язування з H3 рецепторами в нижньо-лімбічних, прелімбічних та задніх відділах агранулярної мигдаликової кори, у щурів із абсансною епілепсією, а також визначили наявність зниження зв'язування в ростральній частині піріформної кори у щурів із аудіогенною епілепсією.

Зроблено висновок, що порушення гістамінергічної модуляції специфічних аферентних волокон префронтальної кори відіграють патогенетичну роль в розвитку успадкованих форм епілепсії.

Встановлено, що антагоніст/обернений агоніст НЗ рецепторів пітолізант, а також інші споріднені за структурою фармакологічні модулятори НЗ рецепторів викликають протисудомну дію [191].

В роботах [190, 210] досліджували вплив лігандів НЗ рецептора – ароматичного ефіру, похідних діефіру (1-12), які відносяться до класу неімідазольних лігандів, на прояви максимальних електрошочових судом, а також ПТЗ-індукованих кіндлінгових судом у щурів. Раніше було встановлено високу афінність досліджуваних сполук до НЗ рецепторів *in-vitro*. В якості референс-препарату було використано фенітоїн, а також структурно подібний агоніст/антагоніст НЗ рецептора пітолізант. Автори встановили чотири перспективні сполуки, які доза-залежним чином (5, 10 та 15 мг/кг, в/очер) редукували тривалість тонічної екстензії передніх кінцівок в тесті максимального електрошоку. Проективний ефект похідного 1-(3-(3-(4-хлорофеніл)пропокси)пропіл)-3-метилпіперидину в дозі 10 мг/кг, в/очер був значно більш виразним порівняно з пітолізантом і блокувався центральним введенням антагоніста Н1 рецептора піриламину (10 мг/кг). Протективний ефект фенітоїну в дозі 5 мг/кг, яка не впливала на прояви максимальних електрошочових судом, значно посилювався на тлі попереднього застосування вказаного деривату в дозі 5 мг/кг, в/очер. На тлі застосування деривату етилфеноксигексил-піперидина (10 мг/кг, в/очер), який не впливав на судоми, викликані максимальним електрошоком, спричинював зростання латентного періоду виникнення міоклонічних судом, скорочував загальний період судомних проявів у щурів із ПТЗ-викликаним кіндлінгом, яке було більш виразним у порівнянні з ефектами фенітоїну та пітолізанту.

Пітолізанти зменшують прояви запалення та в значних дозах (50 мг/кг) викликає протибольову дію [257]. Разом з тим застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг не впливає на больовий поріг, механічних подразнень, в той час як висока доза препарату (50,0 мг/кг) викликає значне підвищення порогу термічного больового подразника [257]. Автори зазначають, що периферійні сенсорні нейрони знижують здатність реагувати підвищенням кальцієвої проникності мембрани, індукованої застосуванням капсаїцину – селективного активатора ванілоїдних рецепторів першого типу під впливом пітолізанту. Також висока доза пітолізанту викликає гіпотермію.

Таким чином, больовий нейропатологічний синдром також входить до спектру регульованих з боку гістамінергічної системи, а саме H₃ рецептора гістаміну.

Гістамінергічна система мозку відіграє також важливу роль в регуляції емоційної поведінки, а саме тривожності, а також депресії [260]. Зокрема, визначена роль гістамінергічного контролю нейронів централатеральних відділів мигдалика. Так, в дослідженні [260] встановлено, що вивільнення гістаміну супроводжується селективним пригніченням збуджуючих глутаматергічних синапсів нейронів базолатеральних відділів мигдалика на нейронах з позитивними імуногістохімічними маркерами протеїнкінази C-дельта (PKC- δ) та соматостатину. Причому, гальмівний вплив забезпечують H₃ гістамінергічні нейрони, які експресовані на пресинаптичних терміналях, на яких експресовані везикулярні глутаматні транспортери першого та другого типу – VGLUT1 та VGLUT2. Оптигенетична стимуляція гістамінергічних аферентних волокон, які походять із туберомамільного ядра також супроводжувалась пригніченням глутаматергічної трансмісії. В дослідженні доведено, що ефект пригнічення гістаміном активності глутаматергічних синапсів на пов'язаний з активацією інших типів глутаматергічних рецепторів – H₁, H₂ чи H₄.

Таким чином, пресинаптичні гетерорецептори НЗ відіграють критичну роль в утриманні балансу збудження та гальмування синаптичної трансмісії в нейронах базолатеральних відділів мигдалика, що обумовлює патогенез як епілептичного збудження в структурах лімбічної системи, так і виникненні коморбідних станів.

В той час як активація PPAR- γ викликає зниження дегрануляції мастоцитів і, таким чином спостерігається певна форма антагонізму між функцією НЗ рецепторів та несинаптичним пулом гістаміну, можливим є і синергічний характер взаємодії на рівні регуляції синаптичного компартменту гістаміну в тканині мозку та агоністами PPAR- γ [224]. Так, агоністи пероксисомального рецептора гама типу, який активує проліферація (PPAR- γ) широко застосовуються в якості протидіабетичних засобів [53]. Подібні препарати здатні регулювати рівень глюкози та ліпідний метаболізм, диференціацію органел та пригнічувати запалення. Останнім часом встановлено, що агоністам PPAR- γ , таким як піоглітазон і розіглітазон, крім гіпогліємічного впливу притаманна нейротропна дія [113], а також нейропротекторна ефективність, здатність усувати нейрозапалення [48]. Також важливо зазначити, що активація PPAR- γ здійснює нейропластичний вплив, підтримує нейромедіаторний гомеостаз, а також викликає протисудомний вплив [262]. Протизапальна дія розіглітазону також здійснюється за рахунок модуляції активності інтерлекинів IL-17, IL-10, IL-6, а також TNF- α [54].

Таким чином, важливою є взаємодія гістамін-залежних механізмів з активацією PPAR- γ , які також приймають участь в контролі збудливості нейронів. Так, в дослідженні [113] застосування розіглітазону (0,1 мг/кг, в/очер) попереджало виникнення ПТЗ-індукованих кіндлінгових судом у мишей, зменшувало вміст прозапальних цитокинів – IL-17, ФНО- α , інтерферона-гама в тканині гіпокампа з одночасним збільшенням вмісту в IL-10. Також попереджалося збільшення активності каспази-3 та вмісту GFAP (гліального

ацидофільного фібрилярного протеїну). Автори дійшли висновку, що активація PPAR- γ рецепторів забезпечує протизапальну та антиапоптичну дію в тканині головного мозку кіндлінгових мишей.

Yu et al. [252] встановили пригнічення літій-пілокарпінового судомного статусу під впливом розіглітазону, що автори пояснюють виразним антиоксидантним впливом препарату. В той же час на моделі аудіогенних судом, а також іботенат-індукованого судомного синдрому PPAR- γ агоніст не викликав протисудомної дії [155]. Слід підкреслити, що розіглітазон, а також інші агоністи PPAR- γ рецепторів є перспективними для застосування в період після травми головного мозку, епілептичному статусі, а також при церебральній гіперперфузії [117, 198, 219, 251].

Таким чином, наведений огляд літератури, який свідчить щодо патогенетичного значення запалення в механізмах виникнення та розвитку епілепсії, а також зважаючи на роль гістаміну як в безпосередньому контролі активності нейронів, так і в контролі проявів нейрозапалення, свідчить щодо перспективності досліджень гістамінергічної системи в патогенезі хронічного епілептичного синдрому модельованого методом фармакологічного кіндлінгу. Зокрема, важливим є вивчення впливу модулятора H3 рецептора пітолізанту у відношенні до судомних пароксизмів, а також поведінкових розладів, які спостерігаються в міжнападковому періоді за умов відтворення пентилентетразолового кіндлінгу. Також важливим є порівняння результатів, отриманих за умови вивчення хронічних судом з гострими моделями епілептичної активності.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Експериментальні тварини та дизайн дослідження

Бібліометричний аналіз публікацій за темою моделювання кіндлінгу свідчить щодо зростання числа досліджень з використанням щурів в якості найбільш розповсюдженого об'єкта експериментальних спостережень [189]. В дослідженні автори проаналізували 13018 публікацій, починаючи з 1969 по 2023 роки, які були цитовані загалом 44 824 разів в рейтингових журналах починаючи з 1969 по 2023 роки. Автори дійшли висновку, що чільне місце та найбільш поширеними моделями судом, які було відтворювані у щурів, як найбільш вживаного об'єкту спостереження, є судами, викликані пентиленететразолом, а також електрошокові судами [189].

Роботу з експериментальними тваринами проводили відповідно до вимог та регламенту, які викладені у вітчизняних та міжнародних рекомендаціях та нормативних документах щодо поводження з лабораторними тваринами під час проведення експериментальних наукових досліджень (Конвенція Ради Європи, 1986; Закон України «Про захист тварин від жорсткого поводження» від 21.02.2006, №3447-IV). Утримання експериментальних тварин здійснювалось на базі віварію Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) відповідно до чинних вимог GLP. Евтаназію тварин здійснювали з урахуванням вимог, регламентованих додатком №8 («Правила гуманного обігу з лабораторними тваринами») до «Санітарних правил по обладнанню, устаткуванню й змісту експериментально-біологічних клінік (віваріїв)» за №1045-73. Усі процедури проводились у відповідності до рекомендацій Керівництва з догляду та використання лабораторних тварин, прийнятого Національними інститутами здоров'я (Бетесда, США) та Гельсінської декларації,

а також відповідно до дозволу комісії з біоетики Одеського національного медичного університету (протокол за № 3 від 14.03.2018).

Експериментальні дослідження проводились за умов хронічного експерименту на 172 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-250 г. Тварин утримували в стандартних умовах температури (23 ± 2) °C, вологості 60 % та 12-годинного циклу зміни освітлення з вільним доступом до води та їжі.

Експериментальні групи було розподілено наступним чином:

Гострі судоми, викликані застосуванням ПТЗ дозою 80,0 мг/кг, в/очер – включали групи числом від 6 до 8 щурів – загальним числом експериментальних тварин 41;

Гостра вогнищева активність, в корі головного мозку модельована застосуванням ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер – в серії спостережень включали від 6 до 7 тварин, загальне число склало 32 щура;

Максимальні електрошокові судоми – групи включали від 8 до 10 щурів, загальним числом 52 тварини;

Дослідження гістамін-залежних механізмів патогенезу на моделі хронічної епілептичної активності проведено в двох серіях спостережень:

- ефекти пітолізанту на розвиток кіндлінгу – включало 33 експериментальні тварини;
- вплив на розвинені кіндлінгові судоми та поведінкові тести – 38 тварин.

Загалом 22 щури груп контролю попередніх досліджень на моделях гострих судом було включено до наступного спостереження при моделюванні ПТЗ-індукованого кіндлінгу.

2.2. Модель ПТЗ-індукованого кіндлінгу

На сьогодні модель ПТЗ-індукованого кіндлінгу є однією з найбільш розповсюджених в експериментальній епілептології. Перевага використання цієї

моделі полягає в можливості відтворення прогресуючого і стійкого розвитку нападів, які імітують клінічні особливості епілепсії. На відміну від інших моделей, кіндлінг створює тривале підвищення схильності до нападів, не спричиняючи значного пошкодження тканин. Це робить його добре придатним для розуміння хронічної природи і потенціалу прогресування парціальних складних нападів – типу епілепсії, що часто не піддається лікуванню. У період з 1980 по 2023 роки у базі даних Web of Science (WoS) було знайдено 1053 документи із ключовими словами «модель Кіндлінгу», опубліковані в 307 джерелах. Найбільша кількість публікацій спостерігалася у 2022 році – 51 стаття, згідно з даними PhilArchive [68].

Встановлено, що ПТЗ викликає судоми шляхом компрометування ГАМК-ергічного гальмування в центральних структурах нервової системи. Причому, більш виразним є вплив на ГАМК-А у порівнянні з ГАМК-Б рецепторами [91, 131, 164]. Причому, вплив на ГАМК-А рецептор включає взаємодію з трьома функціональними структурними компонентами, а саме ділянками зв'язування бензодіазепинів, пікротоксину а також безпосередньо ділянкою зв'язування ГАМК. Таким чином, блокування перерахованих компонентів забезпечує епілептизацію нейрональної мембрани та виникнення судом. Слід зазначити, що важливим у виникненні подібного прикінцевого результату є зниження провідності хлорного каналу іноформного комплексу, що ускладнює гіперполяризацію мембрани, яка зазвичай попереджає її неконтрольоване збудження.

Методика моделювання ПТЗ кіндлінгу передбачає дотримання певного за тривалістю інтервалу між ін'єкціями епілептогену. Крім того, перед початком моделювання у щурів можуть визначати вихідну чутливість до ПТЗ, застосовуючи різні дози препарату. За відсутності подібної процедури, яка дозволяє відібрати схильних до кіндлінгу тварин, його відтворення може потребувати від 26 до 36 щодобових ін'єкцій ПТЗ [68, 77, 158, 207].

Пришвидщення формування розвинених кіндлінгових судом спостерігається при застосуванні ПТЗ кожну другу добу [203]. Причому, при 48-годинному проміжку число ін'єкцій скорочується до 13-19, а сам період відтворення кіндлінгу триває від 4 до 6 тижнів [131]. Також використовують менш відомі дизайни відтворення кіндлінгу, наприклад, чотирикратне застосування ПТЗ протягом доби, після чого витримують 22-добовий проміжок часу вільний від застосування конвульсанта, а в наступні три доби знову вводять щодобово одноразово ПТЗ в субконвульсивній дозі [80].

Важливо зазначити, що прикінцевий рівень підвищення судомної готовності мозку деякі автори визначають контрольним застосуванням ПТЗ, в той час як низка авторів обходиться без цієї процедури і задовольняється виконанням загального протоколу відтворення кіндлінгу [92, 203]. Наприклад, після 12-19 ін'єкцій ПТЗ дозою від 30,0 до 35,0 мг/кг, в/очер задля впевненості виникнення високого рівня судомної готовності можливо застосувати ПТЗ в тестовій дозі 70,0 мг/кг і оцінити тяжкість судомних проявів за загальноприйнятою шкалою Расіна [92, 203]. Необхідність даної процедури визначається застосуванням біохімічних досліджень тканин щурів, незважаючи на високу летальність в результаті застосування відносно високої дози епілептогена, яка може складати до 60 % всіх щурів [77, 92, 203].

Модель епілепсії, викликаной пентилентетразолом (ПТЗ), була індукована, як описано раніше [10, 11, 32, 46, 105, 246]. ПТЗ (P6500, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) розчиняли в 0,9 % розчині NaCl *ex tempore* й вводили внутрішньочеревно (в/очер) у дозі 35,0 мг/кг протягом трьох тижнів (19-24 ін'єкції ПТЗ). У всіх включених до спостережень щурів після кожного з трьох останніх уведень ПТЗ спостерігали судомні тяжкості 4–5 балів. Щурам групи контролю вводили в/очер 0,9 % фізіологічний розчин NaCl.

Після кожної ін'єкції щурів поміщали наодинці в ізольовану прозору клітку з оргскла й оцінювали тяжкість судом протягом 30 хв за шестибальною шкалою

[10, 11]. Тяжкість судом оцінювали за такою шкалою: 0 – відсутність судом; 1 – завмирання, тремор і міоклонічні посмикування окремих груп м'язів; 2 – клонічні судоми всього тіла; 3 – клонічні нападів судоми передніх кінцівок тіла з підведеннями на задні лапи; 4 – генералізовані клоніко-тонічні судоми з утратою рівноваги та падіннями; 5 – повторні напади, як на 4 стадії, або летальний кінець у результаті нападів.

2.3. Моделювання гострих судом

Гострі судоми відтворювали у щурів застосуванням ПТЗ дозами 50,0 та 80,0 мг/кг, в/очер. Застосування дози 50,0 мг/кг забезпечувало виникнення міклонічних судом з формуванням вогнищевої епілептичної активності в структурах кори головного мозку.

Оцінку виразності епілептичної активності при застосуванні ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер здійснювали за показниками частоти та амплітуди спайк-хвильових епілептичних розрядів, а також їх потужності, яку розраховували в динаміці шляхом множення середньої частоти на амплітуду щохвилини впродовж двогодинного спостереження. Також приймали до уваги тривалість реєстрації епілептичної активності.

При застосуванні ПТЗ дозою 80,0 мг/кг, в/очер спостерігали і оцінювали тяжкість судомних проявів, оцінювали латентний період та тривалість іктальних судомних розрядів.

Максимальні електрошокові судоми викликали шляхом транскорнеального впливу імпульсами електричного струму тривалістю 0,6 мс, частотою 60 Гц та силою 150 мА протягом 0,2 с [37]. Подразнення здійснювали за допомогою електричного стимулятора Grass S48 (США). Перед відтворенням судомної реакції щурам в кон'юнктивальний мішок інстилювали 0,9 % фізіологічний розчин NaCl, який містив лідокаїн. Оцінку виразності судомних проявів проводили за числом щурів із наявністю тонічної екстензії задніх кінцівок (ТЕЗК),

а також тривалістю тонічної флексії, екстензії кінцівок, тривалістю клонічних судом та чесального рефлексу [37].

2.4. Оперативні втручання

Анестезію тварин здійснювали введенням кетаміну (100 мг/кг, в/очер., «Фармак», Україна). Перед розсіченням м'яких тканин черепа вибривали шерсть та обробляли поверхню розчином йоду (Geiger et al., 2008).

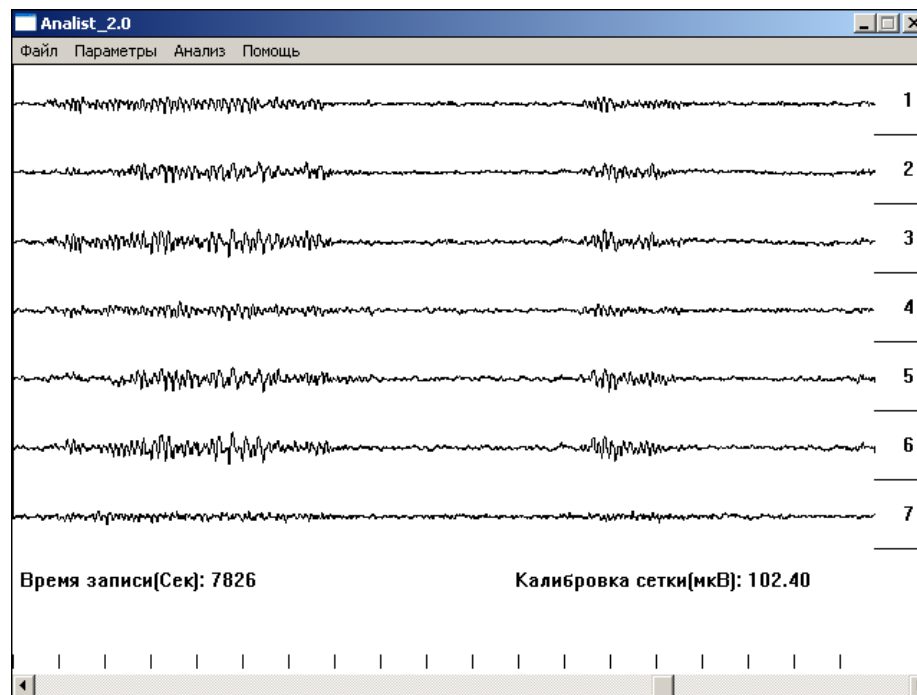


Рис. 2.1. Приклад цифрового запису ЕЕГ щура із спайк-хвильовими епілептиформними розрядами в корі головного мозку

П р и м і т к и:

1-3 – ліва півкуля;

4-6 – права півкуля головного мозку;

7 – кора мозочка.

До аналізу приймали запис за каналами №3 та №6 (фронтальна кора головного мозку. Відмітки часу – вертикальні лінії внизу фрагмента

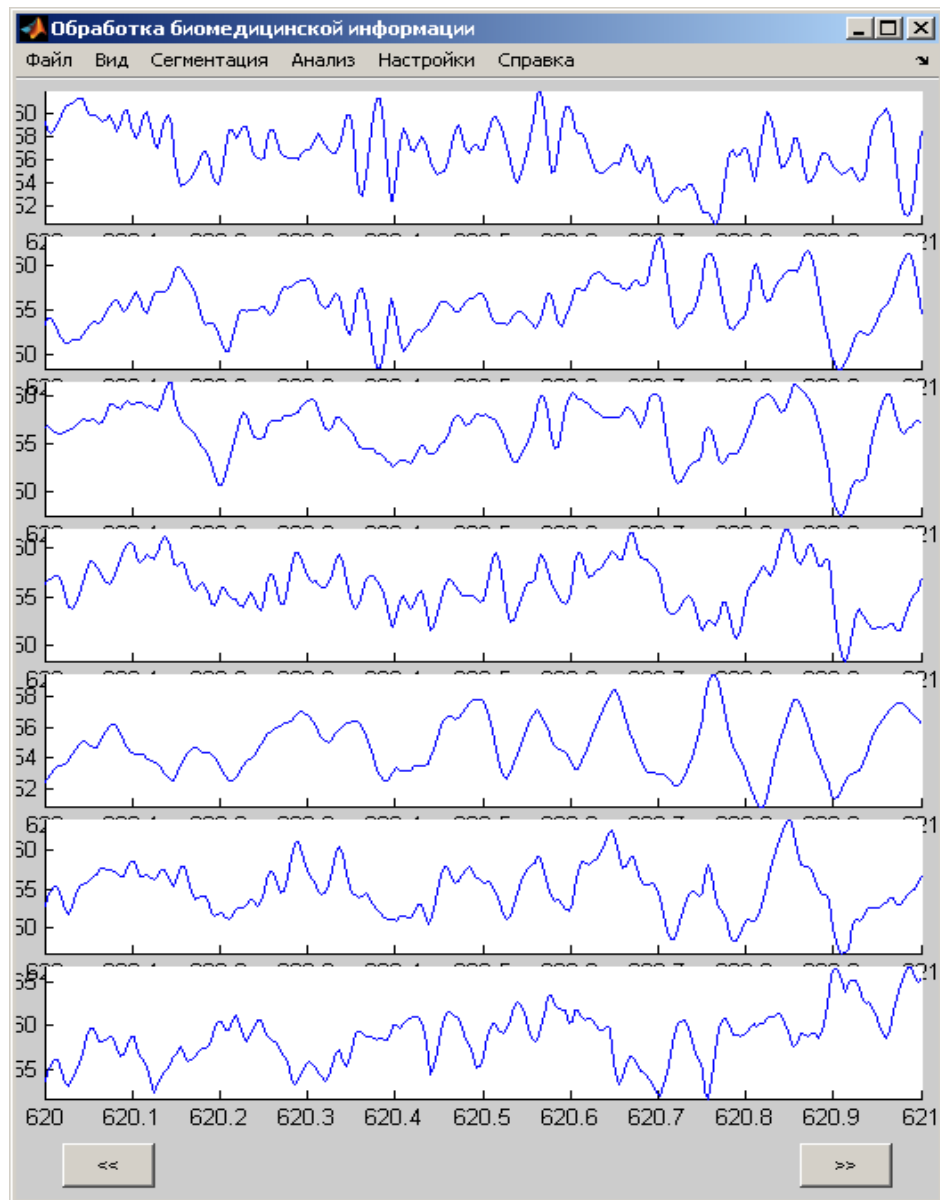


Рис. 2.2. Пример сегментов ЭЕГ – спайк-хвильових судонних розрядів, виділених для подальшого аналізу в програмі MatLab 7.0

П р и м і т к а. Внизу – час реєстрації (крок в 0,1 с).

Час для аналізу – починаючи з моменту з 620,0 (нижня шкала рисунка).

Щурів фіксували в стереотаксичному приладі «СЕЖ-5» (Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця, Київ, Україна) і точки тиску, а також зону розсічення тканин анестезували локальною інфільтрацією 0,5 % розчину новокаїну («Дарниця», Київ, Україна).

Розсічення тканин довжиною 2 см здійснювали вздовж сагітальної лінії і м'які тканини видаляли в зоні фіксації реєструючих електродів. Для введення останніх в кістках черепа висвердлювали за допомогою стоматологічного свердла «Кольт 1», (Харків, Україна) отвори діаметром 1,0 – 2,0 мм. Ніхромові реєструючі електроди імплантували в зону фронтальної кори (AP= 1,7-2,2; L= 2,5-3,0; H=0,5-1,0) обох півкуль мозку у відповідності до стереотаксичних координат [177].

Індиферентний електрод розміщували по сагітальній лінії в носовому відділі черепа. Електроди фіксували за допомогою швидкотвердіючої стоматологічної пластмаси. Задля запобігання дегідратації тварин наприкінці оперативного втручання вводили 0,9 % розчин NaCl (5,0 мл, 35 °C, в/очер). Також вводили свіже виготовлений розчин калієвої солі бензилпеніциліну (100.000 МО/кг, в/м'язово), які повторювали кожні 12 год протягом 48 год післяопераційного періоду. Тварин розміщували в індивідуальних клітках протягом 10-14 діб післяопераційного періоду, після чого використовували їх в спостереженнях.

2.4.1. Реєстрація електричної активності мозку

Електричну активність реєстрували за допомогою комп'ютерних систем «DX – 5000» (Харків), а також “Neuropack Four” (Nihon Kohden, Японія) монополярно, для чого індиферентний електрод кріпили в носових кістках черепа. Оцінку ЕЕГ проводили за допомогою комп'ютерного аналізу (рис. 2.1).

При цьому частота опитування каналів склала 256 імп/с – дані візуалізували на екрані і записували на жорсткий диск для подальшої off-line

обробки. Частотний діапазон сигналів склав 0,5-40 Hz. Подальшу off-line обробку сигналів проводили за допомогою програми “Matlab 7,0” (рис. 2.2.).

Показники епілептичної активності визначали за частотою, амплітудою епілептичних розрядів, а також їх потужністю [4, 10, 11]. В якості їх характеристики іктальних потенціалів враховували латентний період їх появи та їх тривалість.

2.5. Поведінкові тести

Порушення поведінки за умови моделювання фармакологічного кіндлінгу є стійкими і характерними проявами хронічного епілептичного синдрому, які включають появу тривожності, депресії, порушення когнітивних функцій та збій циркадіанних ритмів [2, 9-11, 13, 23, 46]. Тому дослідження поведінкових характеристик в інтеріктальному періоді є важливою перевагою використання моделі кіндлінгу в дослідженнях патогенезу епілепсії [38, 40, 47, 105, 116, 152].

2.5.1. Цикл неспання – снання

Реєстрація циклу неспання – снання проводилась при безперервному спостереженні щурів в індивідуальних боксах за відсутності шуму та при денному освітленні в період з 10.00 до 14.00 год [39, 166]. За поведінковими характеристиками визначали наступні показники:

- активне та пасивне неспання;
- повільнохвильовий сон (ПХС);
- парадоксальний сон (ПС).

Крім того, досліджували латентні періоди засинання (ЛПЗ) та парадоксального сну (ЛППС). Кожну верифіковану фазу тривалістю більше, ніж 30 с, реєстрували у вигляді у вигляді діаграм (рис. 2.3).

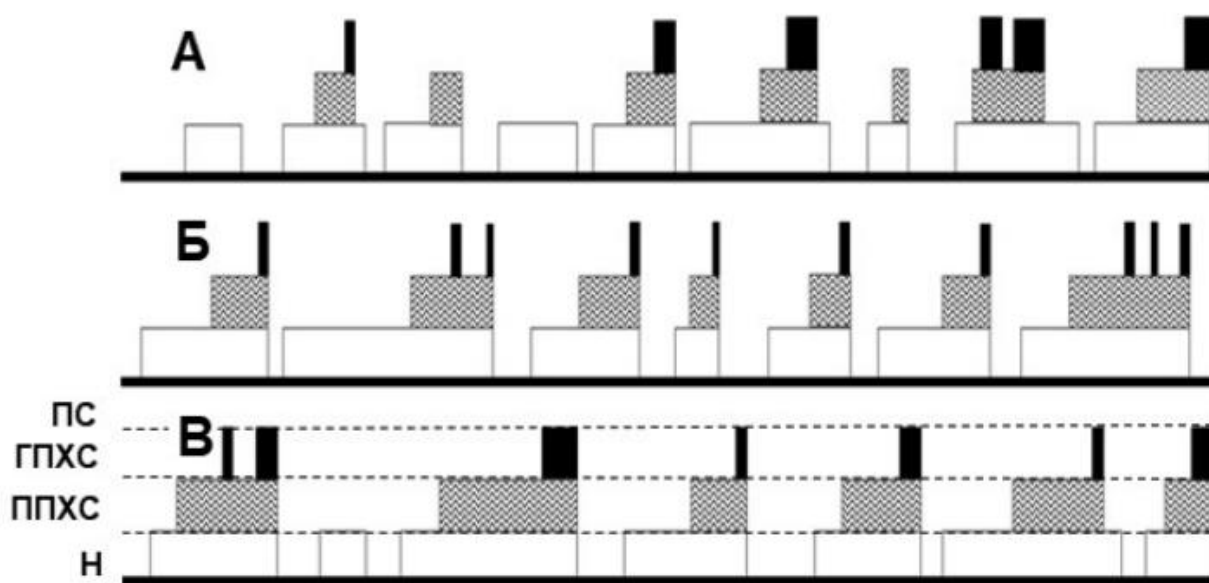


Рис. 2.3. Цикли сання-несання кіндлінгових щурів за умов застосування пітолізанту

Примітки:

А – контроль;

Б – кіндлінг;

В – кіндлінг+пітолізант;

ПС – парадоксальний сон;

ГПСХ – глибокий повільнохвильовий сон;

ППХС – поверхневий повільнохвильовий сон;

Н – неспання.

Оцінку результатів досліджень проводили з використанням статистичних критеріїв – ANOVA + Newmann – Keuls.

2.5.2. Оцінка рефлексорних реакцій

З метою дослідження поведінкових реакцій тварин з експериментальним синдромом судомної активності, використовували раніше апробовані тести [45, 231], які дозволяють дослідити опіат-обумовлені компоненти поведінки тварини. Слід зазначити, що здійснення даного тесту забезпечує також ідентифікацію нейрорептичних змін, тобто тих змін, які пов'язані із зниженням активності дофамінергічних систем мозку.

Проведення даного тесту включає ряд проб, що забезпечують комплексну оцінку стану тварин:

1. Оцінка положення передніх кінцівок тварин при їх розміщенні на горизонтальному майданчику. Виділяли два типи симптомів, які виникали за цих умов: а) лапи широко розставлені, б) лапи знаходяться під тулубом (приведені).

2. Рефлекс перевертання. Рефлекс вважали нормальним, якщо після перевертання на бік тварина приймала вихідне вертикальне положення протягом 5 с. Якщо щур приймав вихідне положення більше, ніж за 5 с, рефлекс вважали порушеним.

3. Очні симптоми. Визначали наявність або відсутність екзофтальму і птозу.

4. Рефлекс рогівки. Рефлекс рогівки досліджували, проводячи по рогівці тварини тонким м'яким пензликом. Рефлекс вважали нормальним, якщо тварина при доторканні до рогівки негайно заплющувала око. Якщо щур заплющував око через 2 і більше секунд, рефлекс вважали порушеним.

5. Положення задніх лап при підніманні тварини за хвіст (вимушена поза). Щура піднімали за хвіст так, щоб передні лапи залишалися на поверхні столу, а задні піднімалися над поверхнею. Виділяли три типи поведінки тварини в даній пробі: а) лапи приведені до тулуба, б) лапи відведені від тулуба, в) лапи займають проміжне положення між відведенням і приведенням.

6. Тонус хвоста. Після закінчення дослідження "вимушеної пози" плавно відпускали хвіст тварини. В тому випадку, якщо хвіст залишався на вазі протягом 5-10 с, тонус хвоста вважали нормальним. Якщо хвіст зберігав тонічну напругу і утримувався не торкаючись підлоги більше, ніж 15 с, тонус вважали підвищеним; якщо тонус хвоста зберігався протягом 1-5 с його вважали зниженим. Нарешті, якщо при опусканні хвоста він відразу ж падав на поверхню столу, визначали відсутність тонусу.

7. Захват передніми лапами. Щурів утримували у висячому положенні за хвіст. До передніх лап тварини торкалися олівцем і визначали здійснює тварина захват олівця чи ні.

8. Тест "місток". Передні і задні лапи тварини поміщали на горизонтальну щаблину, що відстояла одна від одної на довжину тулуба тварини. Тест вважали позитивним, якщо тварина зберігала надану їй позу протягом 30 с і більше.

9. Тест "вертикальний стрижень". Тварину поміщали на верхівку вертикально поставленого стрижня діаметром 3 см. Тест вважали позитивним, якщо щур залишався на верхівці стрижня протягом 10 с і більше.

10. Больовий рефлекс. Реакцію тварин на больове подразнення визначала за характером поведінки щурів при заціпуванні корнцангом кінчика хвоста протягом 30 с з моменту здійснення заціпування. Ступінь реакції на больовий подразник виражали в балах, прийнявши наступну шкалу оцінки : 0 балів – щур залишається нерухомим, не реагує на больовий чинник, 1 бал – в момент накладення заціпування підстрибує вперед, гризе і кусає розташовані перед ним предмети, не локалізуючи джерело подразнення, 2 бали – повертається у бік джерела больових відчуттів, гризе поверхню столу, пищить, але точно не локалізує подразник, 3 бали – щур чітко локалізує джерело болю, кидається на корнцанг, гризе, пищить, намагається звільнитися. У окремих дослідженнях визначали також латентний період виникнення больової реакції.

2.5.3. Поведінка щурів в тесті «відкрите поле»

Тестування поведінкових реакцій проводили в 9.00 – 12.00 год, через 24 год з моменту останнього використання коразолу. Спостерігали тільки тих щурів, у яких останні три введення коразолу супроводжувались виникненням генералізованих клоніко-тонічних судомних нападів.

Дослідження поведінки щурів у відкритому полі проводили протягом 3 хв [36]. Визначали загальне число пересічених квадратів, число пересічених

центральных квадратов, число вертикальных стоек с опорой та без опоры на стенку камеры для спостереження, число зазірань у отвори підлоги, число епізодів грумінгу, уринацій та дефекацій. Проводилась кількісна оцінка локомоторної активності щурів – горизонтальна та вертикальна за числом пересічених квадратів та вертикальних стоек, пошуково-дослідницька поведінка – за числом зазірань в отвори підлоги. Тривожність щурів оцінювали за показником пересічення центральных квадратів, а також числом болюсів та уринацій.

2.5.4. Активне уникнення та індекс дискримінації

Моделювання активного уникнення щурів проводили у відповідності до загальноприйнятої методики [37, 93]. Відпрацювання активного уникнення у щурів проводили в період до індукції МЕС, а також до початку формування кіндлінгу. Зважаючи на значний період від вироблення активного уникнення та формування кіндлінгу і можливе зниження досліджуваних показників, окремо проводили порівняння активного уникнення у щурів групи контролю (три тижні введення 0,9 % фізіологічного розчину NaCl) та кіндлінгових щурів через три тижні від моменту вироблення активного уникнення та початку формування кіндлінгу.

Кожного щура розміщували в клітці з електродною підлогою, в якій на висоті 5-7 см знаходилась площадка, на яку тварина уникала подразнень. Щурів тренували уникненню 3 рази на добу і застосовували для подразнення струм напругою 80 В та частотою імпульсів 5 Гц, якому передував стандартний звуковий сигнал частотою 1000 Гц та силою 50 ДБл. Тренування щурів проводили щодобово протягом двох тижнів і тих тварин, які демонстрували здатність до уникнення в кожному з трьох останніх тренувань використовували для подальшого спостереження. Дослідження активного уникнення після МЕС здійснювали через 10-15 хв з моменту відтворення судом, коли у тварин

відновлювались поведінкові реакції. За цих умов здійснювали 10 послідовних подразнень кожному щурові з підрахуванням загального числа уникнень.

Тест розпізнавання нових об'єктів (new object recognize test – NORT) для гризунів проводили за загальноприйнятою методикою [178]. Після попереднього 30-хвилинного ознайомлення тварин з полем (65×65 см²), висота 45 см), в якому проводили спостереження проводили перше тренувальне випробування під час якого в полі розміщували два однакових об'єкти, і щур вільно досліджував їх протягом 5 хвилин. Період дослідження враховувався, коли голова щура була орієнтована на об'єкт, а ніс знаходився на відстані 2 см від об'єкта. Через годину проводили друге випробування, в якому один об'єкт був замінений на інший, а досліджуваність оцінювали протягом 5 хвилин. Результати виражалися у відсотках часу, проведеного з новим об'єктом, по відношенню до загального часу.

2.6. Імуногістохімічні дослідження

Для проведення імуногістохімічного дослідження згідно раніше наведеного методу [179, 180] використовували антитіла Collagen IV: sc-29010, HIF-1 α : sc-144 (Santa Cruz Biotechnology), Collagen IV (ColIV; goat, SouthernBiotech 1340-01, 1:250, Birmingham, AL, США). Тканини головного мозку фіксували в 10 % формальдегіді і згодом парафінізували. З парафінізованих блоків виготовляли зрізи товщиною 5 мкм за допомогою ротаційного мікротома, розміщували їх на предметному склі, вкритого полі-L-лізином. Для визначення відмінностей у експресії колагену IV, як маркеру росту судин, у тканині мозку використовували авідин-біотинпероксидазну методику [179].

Зображення отримували за допомогою світлового мікроскопа Olympus BX53 та EVOS® FL Auto Imaging System (Life Technol., ltd.) і аналізували

візуально. Підрахунок числа судин проводили сліпим методом. В 10 полях з зрізів кори мозку, які було отримано в межах 2,0-1,5 мм фронтально і каудально від брегми кожного щура визначали число мікросудин (капілярів) малого діаметра (7-10 мкм в полях розміром 500 x 500 мкм (0,25 мм²) при збільшенні x400. Особливістю реєстрації наявності ангіогенезу здійснювали за характерними ознаками наявності «бруньок росту», а також наявності мітозу ендотеліальних клітин. Вміст HIF-1 α визначали за допомогою вимірювання відносної щільності забарвлення препаратів з використанням програмного забезпечення у відкритому доступі “ImageJ” [180].

2.7. Препарати, які було використано в дослідженні

У роботі використовувалися наступні препарати: пентиленететразол (“Sigma Aldrich”, США), натрієва сіль бензілпеніциліну, хлорид натрію – ізотонічний розчин, нембутал, ефір, стрептоміцин, біцилін-3, новокаїн, дикаїн (“Немі Лінсг”, Австрія). Анестезію виконували введенням кетаміну (100,0 мг/кг, в/очер) (Дарниця, Україна).

Розчин епілептогену готували безпосередньо перед введенням, для чого ПТЗ розчиняли у фізіологічному розчині NaCl.

Препарати – пітолізант (Selleck, США) та піоглітазон (Actiza Pharmaceutical Pvt.Ltd., Індія) розчиняли в DMSO, а також готували емульсію в «Twin-80» і вводили в/очер. Щурам груп контролю за однакових умов застосовували DMSO та «Twin-80». Препарати застосовували в/очер за 30 хв до введення ПТЗ. Щурам групи контролю за аналогічних умов вводили розчинник пітолізанту диметилсульфоксид. В окремих групах контролю тваринам застосовували 0,9 % фізіологічний розчин NaCl.

2.8. Статистичні процедури

Статистичні описові та аналітичні процедури виконували із застосуванням статистичної програми SPSS 21.00 (США) із застосуванням метода ANOVA та тесту Newman-Keuls post, який супроводжувався post-hoc Tukey HSD тестом. Нормальність розподілу верифікували із застосуванням тесту Shapiro-Wilk. Також використовували критерій “z” порівняння двох пропорцій. Тяжкість судом оцінювали із застосуванням критерія Kruscal-Wallis який супроводжувався post-hoc Dunn`s тестом. Відмінності між групами вважали достовірними при $P < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ВПЛИВ ПІТОЛІЗАНТУ ТА ПОГЛІТАЗОНУ НА ГОСТРІ ТА ХРОНІЧНІ ПРОЯВИ ЕПІЛЕПТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ

3.1. Гострі пентиленететразолові (ПТЗ) судоми

ПТЗ застосовується в якості епілептогена для моделювання як гострих, так і хронічних генералізованих судом [2, 4, 6, 9-11, 14, 22, 34, 77, 89, 92]. Останнім часом модель ПТЗ-індукованого кіндлінгу привертає значну увагу науковців, так як дозволяє відтворювати стійку форму підвищення судомної готовності мозку, порушення поведінки – коморбідні стани, зокрема когнітивні порушення, які є експериментальними аналогами клінічних форм епілепсії та мають характеристики резистентності до фармакологічного лікування [128, 131, 164, 203].

Гострі та хронічні моделі епілепсії в своїй основі мають первинне формування епілептогенного вогнища в структурах лімбічної системи, зокрема в гіпокампі із вторинним поширенням генералізованої судомної активності на синаптично зв'язані структури мозку [2, 9, 11, 152]. Виникнення вогнищевої та вторинно-генералізованої форми синдрому є залежним від дози епілептогену при його одноразовому застосуванні, в той час як генералізована епілептична активність є ознакою виникнення розвиненого кіндлінгового синдрому, який викликаний початково підпороговою дозою ПТЗ.

Слід зазначити, що формування вогнища епілептогенезу в структурах лімбічної системи та генерування локальних спайкових потенціалів супроводжується виникненням міоклонічних судом, які за механізмами патогенезу відрізняються від генералізованих судом та складають ранні прояви хронічного кіндлінг-викликаного епілептичного синдрому [45, 46].

Приймаючи до уваги первинне значення патогенетичних механізмів формування вогнища епілептогенного збудження, доцільним є визначення динаміки вогнищевого епілептогенезу за умови застосування пітолізанту.

Тому в даній частині роботи проведено дослідження впливу пітолізанту на вогнищеву епілептичну активність, викликану одноразовим застосуванням відносно значної дози ПТЗ (50,0 мг/кг, в/очер).

Зважаючи на відповідність міоклонічних проявів генеруванню спайкових потенціалів в структурах сенсомоторної кори [2, 11, 45], проведено оцінку амплітудно-частотних характеристик спайкових потенціалів у фронтальних відділах кори головного мозку за умови окремого та поєднаного застосування пітолізанту та піоглітазону.

3.1.1. Динаміка гострої вогнищевої ПТЗ-індукованої епілептичної активності

Через 1,7-3,5 хв із моменту введення ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер у щурів у фронтальних відділах кори головного мозку виникали перші спайкові розряди, амплітуда й частота яких в умовах триваючої аплікації зростали протягом наступних 5,0-10,0 хв спостереження, досягаючи величин відповідно 1,3-2,0 мВ і 22-32 розрядів за хв (рис. 3.1, А,1). Стійка епілептична активність в групі контролю відзначалася протягом наступних 10-15 хв, після чого протягом 50-130 хв відбувалося зниження частоти й амплітуди генерування розрядів (рис. 3.1, А, 2-4). Через дві години з моменту застосування ПТЗ реєструвались розряди, які мали частоту від 5 до 18 за хв та амплітуду 350-600 мкВ (рис. 3.1, А, 4).

На тлі застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг застосування ПТЗ (50,0 мг/кг, в/очер) викликало виникнення спайкових розрядів в корі мозку через 2,0-4,0 і через 5,0-10,0 хв реєструвалось генерування спайкових потенціалів частотою від 17 до 30 розрядів за хвилину, амплітудою 1,0-1,7 мВ (рис. 3.1, Б, 1). Ще через

20 хв частота розрядів в корі мозку складала від 17 до 20 в хв, а їх амплітуда – від 0,5 до 1,0 мВ (рис. 3.1, Б, 2). Протягом наступних 30-90 хв спостереження реєструвалось подальше зменшення частоти та амплітуди розрядів епілептичних вогнищ до 10-15 розрядів за хв та амплітуди до 0,3-0,5 мВ (рис. 3.1, Б, 4).

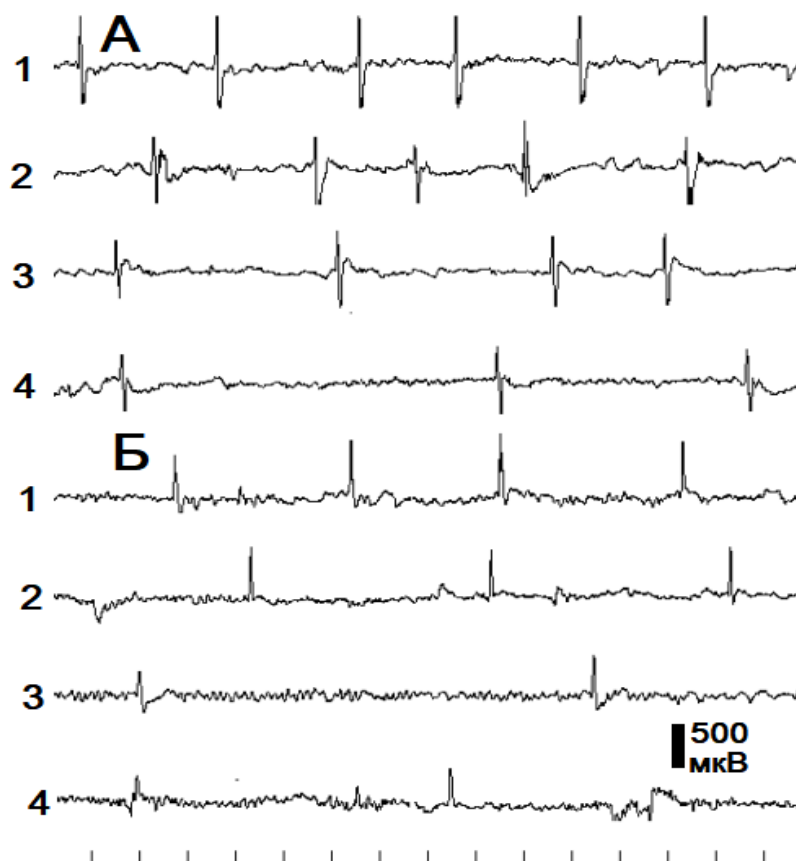


Рис. 3.1. Динаміка вогнищевої епілептиформної активності в корі головного мозку, викликаній застосуванням ПТЗ за умов введення пітолізанту дозою 5,0 мг/кг

П р и м і т к и:

А – група контролю – введення ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер, в/очер;

Б – введення пітолізанту (5,0 мг/кг, в/очер) за 60 хв до застосування ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер;

1-10 хв з моменту застосування ПТЗ;

2-30 хв з моменту застосування ПТЗ;

3-60 хв з моменту застосування ПТЗ;

4-120 хв з моменту застосування ПТЗ.

Відмітка часу – вертикальні штрихи внизу рисунка – 1 с, калібровочний сигнал – 500 мкВ.

Введення ПТЗ (50,0 мг/кг, в/очер) на тлі застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг, в/очер викликало спайкову активність в корі мозку через 3,0-5,5 хв і через 5,0-10,0 хв частота спайкових потенціалів складала від 15 до 25 розрядів за хв, амплітудою 0,9-1,6 мВ (рис. 3.2, Б, 1).

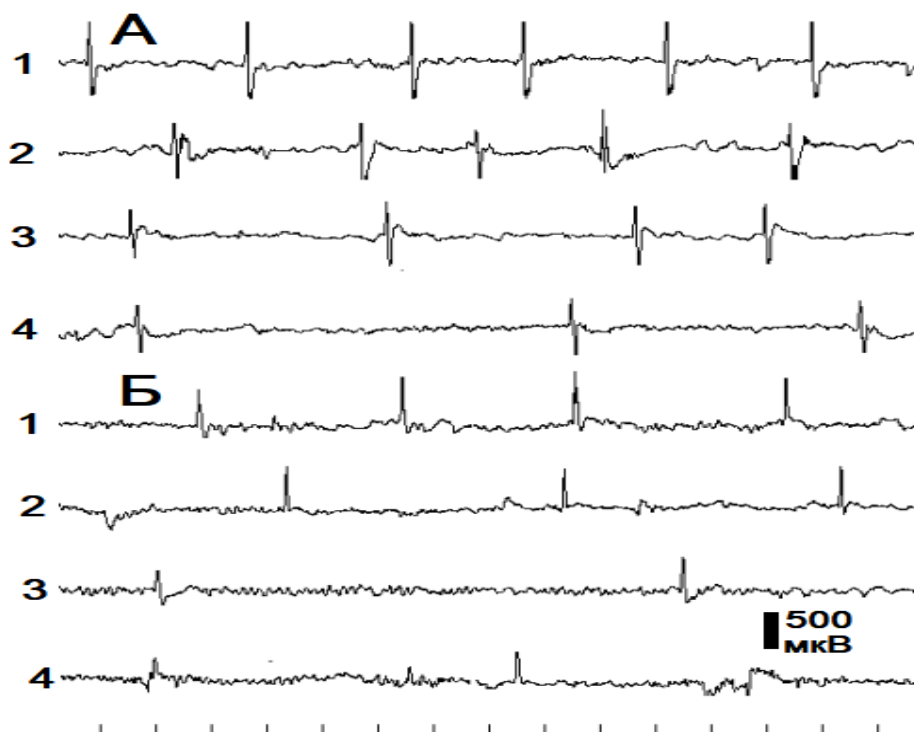


Рис. 3.2. Динаміка вогнищевої епілептиформної активності, викликаной застосуванням ПТЗ за умов введення пітолізанту дозою 10.0 мг/кг

П р и м і т к и:

А – група контролю – введення ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер, в/очер;

Б – введення пітолізанту (10,0 мг/кг, в/очер) за 60 хв до застосування ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер;

1-10 хв з моменту застосування ПТЗ;

2-30 хв з моменту застосування ПТЗ;

3-60 хв з моменту застосування ПТЗ;

4-120 хв з моменту застосування ПТЗ.

Відмітка часу – вертикальні штрихи внизу рисунка – 1 с, калібровочний сигнал – 500 мкВ.

Ще через 20 хв частота розрядів в корі мозку складала від 10 до 18 в хв, а їх амплітуда – від 0,45 до 0,9 мВ (рис. 3.2, Б, 2). Протягом наступних 30-90 хв спостереження реєструвалось зменшення частоти та амплітуди розрядів епілептичних вогнищ і через дві години з моменту застосування ПТЗ частота складала 5-12 за хв, а величина – 0,3-0,5 мВ (рис. 3.2, Б, 4).

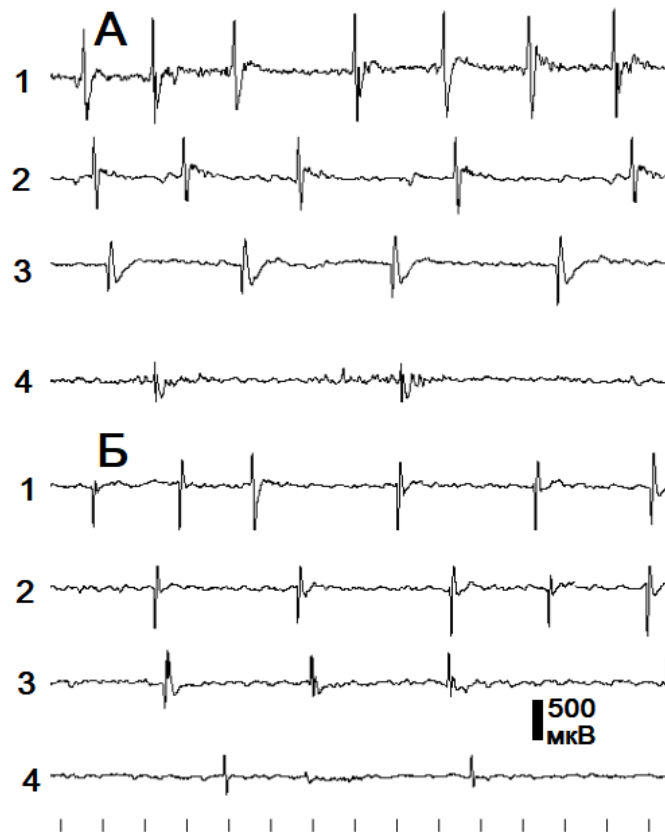


Рис. 3.3. Динаміка вогнищевої епілептиформної активності, викликаній застосуванням ПТЗ за умов введення піоглітазону

П р и м і т к и:

А – група контролю – введення ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер , в/очер;

Б – введення піоглітазону (50,0 мг/кг, в/очер) за 60 хв до застосування ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер.

1-10 хв з моменту застосування ПТЗ;

2-30 хв з моменту застосування ПТЗ;

3-60 хв з моменту застосування ПТЗ;

4-120 хв з моменту застосування ПТЗ.

Відмітка часу – вертикальні штрихи внизу рисунка – 1 с, калібровочний сигнал – 500 мкВ.

За умови застосування піоглітазону (50,0 мг/кг, в/очер) латентний період спайкових потенціалів, викликаних в корі мозку введенням ПТЗ (50,0 мг/кг, в/очер) склав 2,9-3,8 хв з моменту введення епілептогена. На десятій хвилині після застосування ПТЗ частота та амплітуда розрядів складали від 20 до 30 за хв та 1,0-1,9 мВ (рис. 3.3., Б, 1). В наступні 20-110 хв спостерігалось поступове зменшення амплітудно-частотних характеристик і наприкінці другої години з моменту застосування ПТЗ величина спайків складала 0,5-0,8 мВ, а частота їх генерування – 8-15 за хв (рис. 3.3., Б, 4).

Застосування ПТЗ (50,0 мг/кг, в/очер) на тлі сумісного введення пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) супроводжувалось виникненням спайкових розрядів, латентний період появи яких складав 3,5-5,5 хв і на десятій хвилині з моменту застосування епілептогена їх величина та частота генерування складали від 0,7 до 0,9 мВ та 5 до 15 за хв відповідно (рис. 3.4. Б, 1). Через годину з моменту застосування ПТЗ частота генерування розрядів складала від 4 до 10 за хв при амплітуді потенціалів не вище 0,5 мВ (рис. 3.4.,Б, 3). Через дві години з моменту введення ПТЗ лише у трьох щурів із шести реєструвались окремі потенціали, які не перевищували 0,35 мВ (рис. 3.4., Б, 4). Причому, ефект пригнічення спайкової активності протягом вказаного періоду реєстрації епілептичної активності був статистично достовірним (значення з критерія відмінностей двох пропорцій склало 2,13 при $P = 0,033$).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що динаміка частотно-амплітудних характеристик залишалась достаньо високою при застосуванні пітолізанту в нижчій дозі (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) порівняно з контролем. У той же час, застосування пітолізанту у вищій дозі (10,0 мг/кг) супроводжувалось менш виразним епілептогенним впливом ПТЗ, зниженням амплітуди та частоти спайкових потенціалів протягом двох годин безперервного спостереження.

На тлі сумісного застосування пітолізанту та піоглітазону в дозах, які самостійно не забезпечували значного попередження спайкової активності, спостерігалось виразне пригнічення вогнищевої активності, провокованої застосуванням ПТЗ.

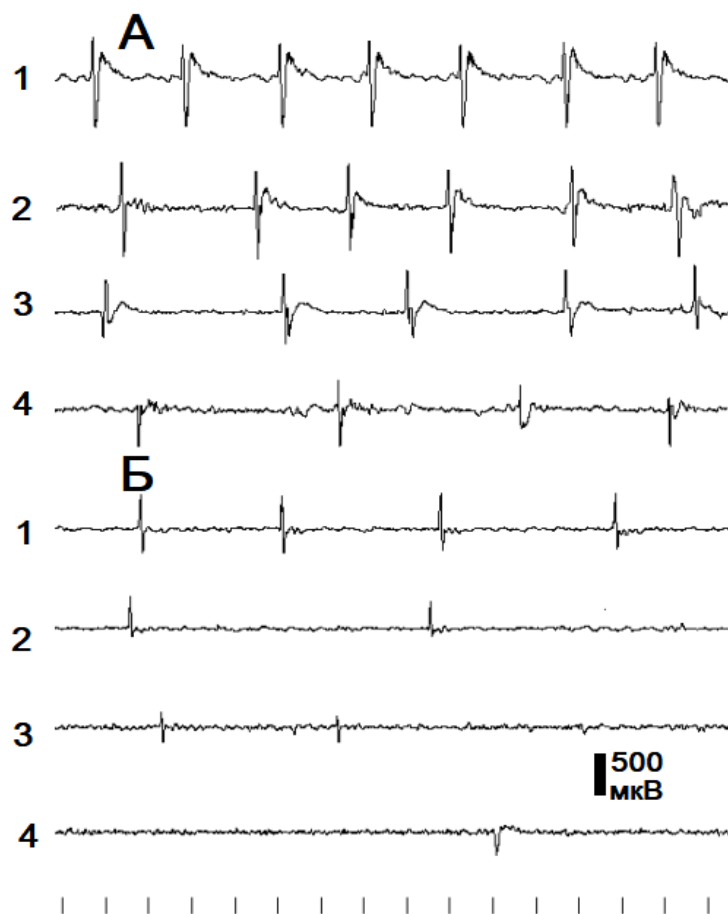


Рис. 3.4. Динаміка вогнищевої епілептиформної активності, викликаной застосуванням ПТЗ за умов сумісного введення пітолізанту та піоглітазону

П р и м і т к и:

А – група контролю – введення ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер , в/очер;

Б – введення пітолізанту (5,0 мг/кг, в/очер) та піоглітазону (50,0 мг/кг, в/очер) за 60 хв до застосування ПТЗ дозою 50.0 мг/кг, в/очер;

1-10 хв з моменту застосування ПТЗ;

2-30 хв з моменту застосування ПТЗ;

3-60 хв з моменту застосування ПТЗ;

4-120 хв з моменту застосування ПТЗ.

Відмітка часу – вертикальні штрихи внизу рисунка – 1 с, калібровочний сигнал – 500 мкВ.

Причому, спайкова вогнищева активність достовірно пригнічувалась у половини експериментальних тварин протягом другої години спостереження ($P < 0,05$), що вказує на синергічний характер протисудомного впливу пітолізанту та піоглітазону при їх поєднаному застосуванні на моделі вогнищевої гострої епілептичної активності, викликаній ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер.

3.1.2. Динаміка потужності вогнищ епілептогенезу за умов застосування пітолізанту та піоглітазону

З метою оцінки ефектів препаратів було здійснено аналіз динаміки показника потужності епілептогенного збудження, який є важливим критерієм кількісної міри протисудомної дії препаратів [10, 11, 45].

Дослідження динаміки потужності епілептичних вогнищ за умов фармакологічної корекції засвідчило, що у щурів групи контролю (кіндлінгові щури з в/очер введенням 0,9 % розчину NaCl) потужність досягала максимальних значень через 10 хв з моменту застосування ПТЗ з наступним зменшенням в наступні 20 хв на 34,3 % (табл. 3.1). Через годину з моменту введення ПТЗ зменшення потужності епілептиформної активності складало 59,3 % від максимального значення (10-а хв після введення ПТЗ), а через 2 години – 80,5 %.

Через 10 хв після введення ПТЗ на тлі застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг потужність епілептичної вогнищевої активності була на 9,4% нижчою від такої в групі контролю ($P > 0,05$), а на 30-ту хв зниження потужності склало 18,8 % ($P < 0,05$) (табл. 3.1). Через годину з моменту застосування епілептогену відповідні відмінності склали 16,8 % ($P > 0,05$), а через дві години – 13,6 % ($P > 0,05$).

Введення ПТЗ на тлі застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг супроводжувалось виникненням вогнищевої епілептичної активності, потужність якої на 10-й хв з моменту застосування ПТЗ була на 40,8 % нижчою порівняно з контролем ($P < 0,05$). Досліджувальний показник також був достовірно нижчим (на 34,5 % порівняно з показником в групі щурів, яким

вводили пітолізант в дозі 5,0 мг/кг ($P<0,05$). В термін 30 та 60 хв з моменту застосування ПТЗ потужність епілептичної активності зберігалась достовірно нижчою порівняно з контролем відповідно на 38 %, та 40,0 % ($P<0,05$). Через дві години спостереження відмінності склали 15,4 % ($P>0,05$) (табл. 3.1).

На тлі застосування піоглітазону (50,0 мг/кг), через 10 хв з моменту введення ПТЗ потужність вогнищевої епілептичної активності була нижчою на 21,1 % порівняно з контролем ($P<0,05$) (табл. 3.1). Через 30 та 60 хв з моменту застосування ПТЗ відмінності у порівнянні з контролем склали 34,2 % та 28,1 % ($P<0,05$). У той же час, через дві години після застосування ПТЗ потужність вогнищевої активності залишалась меншою на 22,4 % у порівнянні з контролем, але відмінності не були достовірними ($P>0,05$).

Введення ПТЗ на тлі поєднаного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало вогнищеву епілептичну активність, потужність якої на 10-й хв з моменту застосування епілептогену була на 65,0 % нижчою, ніж в контролі ($P<0,05$) (табл. 3.1). Одночасно досліджуваний показник був меншим, ніж в групах із застосуванням одного пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) відповідно на 61,4 та на 65,7 % ($P<0,05$). Достовірні відмінності порівняно з контролем у групі із сумісним застосуванням препаратів зберігались впродовж наступного періоду спостереження і складали через 30 та 60 хв відповідно 66,9 % та 66,4 % ($P<0,05$), а через дві години – 60,0 % ($P<0,05$). Слід зазначити, що на 30-й та 60-й хв з моменту введення ПТЗ достовірні відмінності порівняно з групою щурів із застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) складали відповідно 59,1 % та 58,0 % ($P<0,05$). Також відповідне достовірне зменшення спостерігалось у порівнянні до групи щурів із застосуванням піоглітазону (50,0 мг/кг), яке складало 70,0 % та 53,3 % на 30-й та 60-й хв з моменту застосування ПТЗ ($P<0,05$).

Таблиця 3.1.

Динаміка потужності вогнищ епілептичної активності за умов лікування із застосуванням пітолізанту та піоглітазону ($M \pm SD$)

Час після введення ПТЗ (хвилини)	Групи спостереження				
	Контроль (n=7)	Пітолізант (5,0 мг/кг) (n=6)	Пітолізант (10,0 мг/кг) (n=6)	піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=6)	Пітолізант (5,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=7)
10,0	44,11 $\pm$ 4,93	39,97 $\pm$ 6,60	26,12 $\pm$ 7,47 *#	34,82 $\pm$ 5,22 *	15,44 $\pm$ 4,28 *#@
30,0	28,97 $\pm$ 4,81	22,72 $\pm$ 5,20 *	17,62 $\pm$ 4,14*	19,07 $\pm$ 3,38 *	9,30 $\pm$ 3,95 *#@
60,0	17,97 $\pm$ 4,29	14,95 $\pm$ 4,06	10,63 $\pm$ 3,44*	12,92 $\pm$ 2,81 *	6,03 $\pm$ 3,85 *#@
120,0	8,59 $\pm$ 2,99	7,43 $\pm$ 2,78	7,27 $\pm$ 2,43	6,67 $\pm$ 2,09	3,44 $\pm$ 2,84 *

П р и м і т к и:

*-P<0,05 – порівняно з контролем;

#- P<0,05 – порівняно з групою з введенням пітолізанту в дозі 5,0 мг/кг;

@-P<0,05 – порівняно з групою з введенням піоглітазону (ANOVA+ Newman-Keuls тест).

Таким чином, наведені результати засвідчили, що відповідно до динаміки потужності вогнищ епілептогенезу, застосування пітолізанту та піоглітазону викликають протисудомний вплив на моделі гострої вогнищової епілептичної активності, викликаній застосуванням ПТЗ в дозі 50,0 мг/кг. Подібний вплив виявляється в зниженні потужності вогнищ епілептогенезу і за умов сумісного застосування препаратів виявляється синергічний протекторний вплив, виразність якого достовірно перевищує вплив окремого застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг).

3.2. Вплив пітолізанту та піоглітазону на гострі ПТЗ-індуковані генералізовані судоми

Завданням наступної частини досліджень було вивчення особливостей проявів генералізованої тоніко-клонічної форми судомного синдрому, модельованого шляхом застосування відносно високої дози ПТЗ (80,0 мг/кг, в/очер).

Подібна модель відтворює особливості генералізованих судомних нападів з порушенням свідомості, супроводжується виразним постсудомним депресивним синдромом та відрізняється резистентністю до дії протиепілептичних препаратів [10, 11, 45, 105].

3.2.1. Динаміка поведінкових проявів судом

Латентний період перших судом зростав на 6,9 % порівняно з контролем за умови застосування пітолізанту в дозі 5,0 мг/кг ($P>0,05$) (табл. 3.2).

В той же час, досліджуваний показник перевищував показник в групі контролю на 17,7 % на тлі застосування пітолізанту в дозі 10,0 мг/кг, що одночасно було вищим на 11,6 % ($P<0,05$) порівняно з групою щурів із застосуванням пітолізанту дозою 5,0 мг/кг.

На тлі застосування піоглітазону досліджуваний показник був вищим від контролю на 12,0 % ($P<0,05$). Латентний період перших судом на тлі сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) перевищував відповідний показник як в групі контролю – на 22,2 %, так і в групах із введенням пітолізанту (5,0 мг/кг) – на 16,4 %, а також піоглітазону – на 12,2 % ($P<0,05$).

За умов сумісного застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) латентний період судом був вищим від контролю на 28,2 %, а також вищим від показників в групах із застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) – на 23,0 % та піоглітазону (50,0 мг/кг) – на 19,0 % ($P<0,05$). Також досліджуваний показник

перевищував такий в групі із введенням пітолізанту дозою 10,0 мг/кг – на 12,8 % ($P<0,05$) (табл. 3.2).

Таблиця 3.2.

Вплив пітолізанту та піоглітазону на гострі ПТЗ-індуковані генералізовані судоми ($M\pm SD$)

	Групи спостереження	Латентний період судом (секунди)	Тяжкість судом (бали)					P (Kruskal Wallis+Dunn)
			1	2	3	4	5	
1	Контроль (ПТЗ, 80,0 мг/кг, в/очер) (n=8)	58,3 $\pm$ 3,7	-	-	1	4	3	>0,05
2	Пітолізант (5,0 мг/кг) (n=6)	62,6 $\pm$ 4,3	-	-	-	4	2	>0,05
3	Пітолізант (10,0 мг/кг) (n=6)	70,8 $\pm$ 5,2 *#	-	-	1	4	1	>0,05
4	Піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=8)	65,8 $\pm$ 3,9 *	-	-	-	6	-	>0,05
5	Пітолізант (5,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=7)	74,9 $\pm$ 5,5 *#@	-	-	2	4	1	>0,05
6	Пітолізант (10,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=6)	81,2 $\pm$ 6,4 *#@	-	-	3	3	-	$P_6 - P_1 = 0,022$; $P_6 - P_2 = 0,017$

П р и м і т к и:

*- $P<0,05$ – порівняно з контролем;

#- $P<0,05$ – порівняно з групою з введенням пітолізанту (5,0 мг/кг);

@- $P<0,05$ порівняно з групою з введенням піоглітазону (50,0 мг/кг) (ANOVA+Newman-Keuls тест).

Дослідження тяжкості судомних проявів засвідчила, що у щурів в групах із застосуванням пітолізанту в обох досліджуваних дозах, а також при застосуванні піоглітазону спостерігались генералізовані клоніко-тонічні напади ($P>0,05$) (табл. 3.2). Важливо зазначити, що подібні напади реєструвались також у 5 із 7 щурів, яким застосовували сумісне введення пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0

мг/кг) ($P>0,05$). В той же час, сумісне застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) попереджало генералізовані судомні напади у половини експериментальних тварин (табл. 3.2). При цьому зниження тяжкості судом було достовірним у порівнянні як з контролем, так і з групою із застосуванням пітолізанту дозою 5,0 мг/кг) ($P<0,05$) (табл. 3.2).

3.2.2. Динаміка електрографічних судомних проявів

У відповідності до поведінкових реакцій за умов застосування досліджуваних препаратів було проведено порівняння тривалості іктальних потенціалів. До спостереження залучали щурів, у яких реєстрували іктальні потенціали при тяжкості судом 4-5 балів.

Отримані результати засвідчили, що на тлі генералізованих тоніко-клонічних судом у фронтальних відділах кори головного мозку спостерігається виникнення спайкових високочастотних потенціалів частотою 18-22 за секунду, тривалість яких складала в групі контролю (введення ПТЗ дозою 80,0 мг/кг) від 9,2 до 22,0 секунд (рис. 3.5, 1).

У той же час в групі щурів із застосуванням пітолізанту дозами 5,0 та 10,0 мг/кг досліджуваний показник складав 9,3- 23,7 та 8,0-14,2 сек відповідно (рис. 3.5, 2), в групі щурів із введенням піоглітазону – 11,0-15,4 сек (рис. 3.5, 3). Тривалість іктальних потенціалів у щурів із комбінованим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг та 10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) складала 7,0-15,0 сек та 7,7-10,5 сек відповідно (рис. 3.5.4).

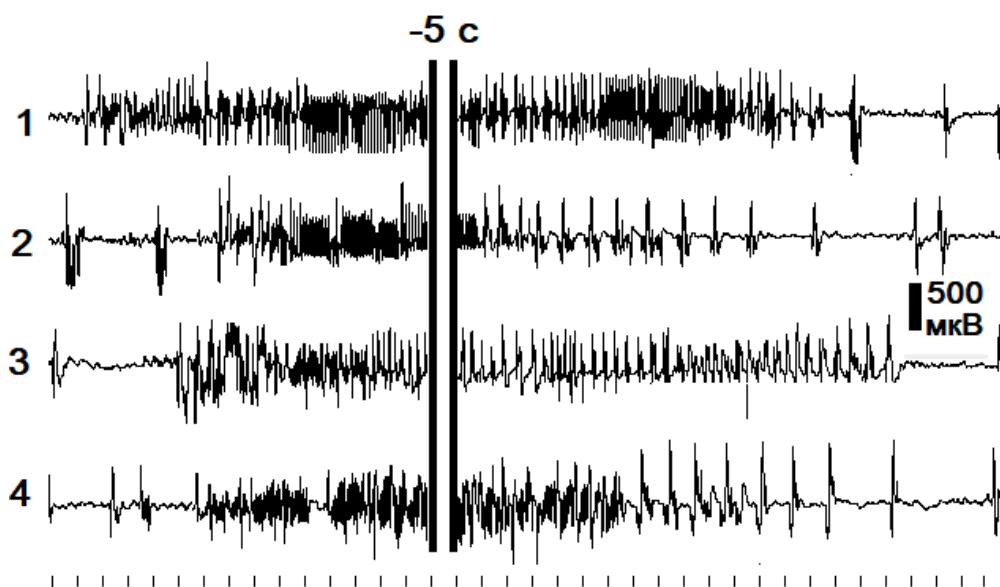


Рис. 3.5. Іктальні потенціали викликані у фронтальних відділах кори головного мозку застосуванням ПТЗ у щурів за умов експериментального лікування

П р и м і т к и:

1 – через 5,5 хв з моменту застосування ПТЗ дозою 80,0 мг/кг у інтактного щура (контроль);

2 – 7,0 хв з моменту застосування ПТЗ на тлі введення пітолізанту дозою 10,0 мг/кг;

3 – 7,5 хв з моменту застосування ПТЗ у щура на тлі введення піоглітазону (50,0 мг/кг);

4 – 6,5 хв з моменту застосування ПТЗ у щура на тлі комбінованого введення пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг).

Із ілюстрації видалено п'ятисекундний проміжок часу безперервного спостереження.

Позначки часу – 1 с, калібровочний сигнал – 500 мкВ.

Дослідження середніх показників латентного періоду іктальних потенціалів при гострих ПТЗ-індукованих судомомах засвідчило наявність достовірних відмінностей між групами ($F_{(5,29)}=5,32$; $P=0,002$) (табл. 3.3).

Так, на тлі застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг спостерігається подовження латентності на 42,2 % порівняно з контролем ($P_1-P_6=0,004$). Також

більш тривалим був досліджуваний показник в групі щурів із сумісним застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) – на 49,7 % ($P_1-P_3=0,027$). При цьому латентний період у групі із комбінованим введенням препаратів достовірно перевищував аналогічний показник у щурів із застосуванням піоглітазону (50,0 мг/кг) ($P_4-P_6=0,011$) (табл. 3.3).

Порівняння тривалості іктальних потенціалів засвідчило відсутність достовірних відмінностей між групами: $F_{(5,65)}=0,466$; $P=0,798$. Однак, слід зазначити, що у всіх групах з експериментальним лікуванням спостерігалась тенденція до скорочення іктальних розрядів в порівнянні з контролем найбільш виразне при застосуванні поєднання пітолізанту з піоглітазоном в дозах 10,0 та 50,0 мг/кг (табл. 3.3.).

Таким чином, наведені результати засвідчили, що як окреме застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг, так і його комбіноване застосування з піоглітазоном (50,0 мг/кг) забезпечують протисудомний ефект на моделі гострих генералізованих тоніко-клонічних судом, викликаних ПТЗ (80,0 мг/кг), який проявляється у подовженні латентного періоду іктальних потенціалів.

Слід також зазначити, що в даному дослідженні було визначено ефективність попередження тяжких судом (4-5 балів) під впливом комбінованого застосування досліджуваних препаратів пітолізанту (10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг), яке визначалось у 3 із 6 щурів, що також супроводжувалось попередженням виникнення іктальних потенціалів в структурах мозку (табл. 3.3). Наявність подібної тенденції ($z=1,473$; $P=0,141$) дозволяє сподіватися, що при збільшенні вибірки спостережень подібний ефект може досягти значень достовірних відмінностей.

Таблиця 3.3.

Латентний період та тривалість іктального потенціала за умов застосування пітолізанту та піоглітазону ($M \pm SD$)

	Групи спостереження	Число іктальних потенціалів		Латентний період перших розрядів (хвилини)	Тривалість іктальних потенціалів (секунди)
		Первинні	Повторні		
1	Кіндлінг (контроль) (n=7)	7	3	3,37+1,04	14,88+4,41
2	Пітолізант (5,0 мг/кг) (n=6)	6	2	4,52+ 1,72	12,61+ 4,69
3	Пітолізант (10,0 мг/кг) (n=4)	4	1	5,83+ 1,0*	11,67+2,36
4	піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=6)	6	-	3,60+ 0,76	13,28+2,22
5	Пітолізант (5,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=4)	4	1	4,90+ 0,93	10,56+3,38
6	Пітолізант (10,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=3)	3	-	6,70+1,15*#	9.2 $\pm$ 1,41

П р и м і т к и:

*- $P < 0,05$ – при порівнянні з групою із застосуванням контролю;

#- $P < 0,05$ – при порівнянні з групою із застосуванням піоглітазону (ANOVA+Tukey HDS тест).

Подібна ймовірність також узгоджується з визначеному в дійсному дослідженні достовірному подовженні латентного періоду іктальних потенціалів за умов застосування пітолізанту та піоглітазону дозами 10,0 мг/кг та 50,0 мг/кг відповідно.

3.3. Вплив пітолізанту та піоглітазону на гострі генералізовані судоми, викликані максимальним електрошоком

Встановлена ефективність комбінованого застосуванні пітолізанту та піоглітазону у відношенні до попередження ПТЗ-індукованих гострих тоніко-клонічних судом, актуалізує питання щодо подібної дії препаратів на інших моделях гострих генералізованих судом.

Таблиця 3.4.
Максимальні електрошокові судоми (МЕС) за умов застосування пітолізанту та піоглітазону

	Групи спостереження	Тривалість проявів МЕС (секунди)				Число щурів без ТЕЗК(%)
		Тонічна флексія	Тонічна екстензія	Клонічні судоми	Чесальний рефлекс	
1	Контроль (ПТЗ, 80,0 мг/кг, в/очер) (n=8)	4,87± 1,11	11,63± 1,84	10,53± 1,35	4,89± 1,57	-
2	Пітолізант (5,0 мг/кг) (n=8)	4,47± 1,13	6,27± 1,24*	10,02± 1,39	4,36± 1,65	1 (12,5)
3	Пітолізант (10,0 мг/кг) (n=9)	4,15± 1,21	4,31± 1,40*	9,12± 1,25	3,17± 0,84	2 (22,2)
4	Піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=7)	4,35± 1,16	4,05± 1,35*	9,67± 1,43	4,11± 1,70	2 (28,6)
5	Пітолізант (5,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=8)	3,72± 0,98	3,56± 1,20*#	8,02 0,94*#@	2,61± 0,83*#	4 (50,0)
6	Пітолізант (10,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=10)	3,15± 0,86 *#@	2,16± 0,76*#@	7,12 0,86*#@	2,15± 0,58*#@	7 (70,0)

П р и м і т к и:

*-P<0,05 порівняно з контролем;

#-P<0,05 порівняно з пітолізантою дозою 5,0 мг/кг;

@-P<0,05 порівняно з введенням піоглітазону (50,0 мг/кг) (ANOVA+Newman-Keuls тест).

Тому завданням наступною частини досліджень було вивчення протисудомної ефективності пітолізанту та піоглітазону на моделі гострих генералізованих судом, викликаних максимальним електрошоком (МЕШ).

Тривалість тонічної флексії, викликаного МЕШ в групі щурів була достовірно меншою в групі щурів із сумісним застосуванням пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) порівняно з групою контролю на 35,3 % ($P<0,05$) (табл. 3.4.). Одночасно цей показник був меншим порівняно з такою в групах із застосуванням пітолізанту дозою 5,0 мг/кг – на 29,5 % ($P<0,05$), а також в групі із застосуванням піоглітазону (50,0 мг/кг) – на 27,6 % ($P<0,05$).

Тривалість тонічної екстензії задніх кінцівок (ТЕЗК) скорочувалась за умови застосування пітолізанту в обох дозах – відповідно на 46,1 % ($P<0,05$) та на 63,0 % ($P<0,05$). За умови застосування піоглітазону зменшення тривалості тонічної екстензії склало 65,2% ($P<0,05$).

Сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало скорочення досліджуваного показника порівняно з контролем на 69,4 % ($P<0,05$), що було одночасно достовірно менше порівняно з групою щурів із застосуванням пітолізанту дозою 5,0 мг/кг – на 43,2 % ($P<0,05$). Причому тільки половина всіх щурів демонструвала розвиток ТЕЗК ($z=1,732$, $P=0,083$) (табл. 3.4.). На тлі комбінованого застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) тривалість ТЕЗК, яка спостерігалась у 30 % експериментальних тварин ($z=2,541$, $P=0,011$), зменшувалась порівняно з контролем в 5,38 раза ($P<0,05$). Причому, досліджуваний показник був меншим порівняно з такою, як в групі із застосуванням пітолізанту дозою 5,0 мг/кг – в 2,9 раза ($P<0,05$) та пітолізанту дозою 10,0 мг/кг – 2 раза ($P<0,05$), а також меншим порівняно з групою щурів із застосуванням піоглітазону (50,0 мг/кг) – в 1,87 раза ($P<0,05$) (табл. 3.4.).

За умов сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) тривалість фази клонічних судом скорочувалась порівняно з контролем на

23,8 % ($P<0,05$). Досліджуваний показник також був достовірно меншим порівняно з групою щурів із окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) – на 20,0 % ($P<0,05$) та піоглітазону (50,0 мг/кг) – на 17,1 % ($P<0,05$). Поєднане застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) забезпечувало зменшення фази клонічних судом на 33,4 % ($P<0,05$). Одночасно показник був меншим у порівнянні з окремим застосуванням пітолізанту (10,0 мг/кг) – на 22,0 % а також у порівнянні з окремим застосуванням піоглітазону (50,0 мг/кг) – на 26,4 % ($P<0,05$).

Тривалість постсудомного чесального рефлексу за умови застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) була на 46,6 % меншою ніж в контролі ($P<0,05$), а також меншою на 40,1 % порівняно з щурами із застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг). При комбінованому введенні пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) тривалість чесального рефлексу зменшувалась в 2,27 рази ($P<0,05$) порівняно з контролем, а також на 32,2 % порівняно зі щурами із застосуванням пітолізанту (10,0 мг/кг) та на 47,7 % порівняно з групою щурів із застосуванням піоглітазону (50,0 мг/кг) ($P<0,05$) (табл. 3.4).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що у щурів на моделі максимальних електрошокових судом (МЕС) сумісне застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) скорочувало тривалість тонічної екстензії задніх кінцівок – в 5,38 рази, тривалість клонічних судом зменшувалась на 23,8 % ($P<0,05$), тривалість періоду чесального рефлексу зменшувалась в 2,27 рази ($P<0,05$) що було достовірно менше у порівнянні з окремим застосуванням препаратів ($P<0,05$).

3.4. ПТЗ-викликані кіндлінгові судоми за умов застосування пітолізанту та піоглітазону

Завданням наступної частини досліджень було вивчення особливостей хронічних судомних проявів на моделі фармакологічного кіндлінгу,

індукованого повторним застосуванням ПТЗ. Досліджували особливості динаміки генералізованих судомних проявів за умов застосування пітолізанту та піоглітазону, а також вплив препаратів на прояви розвинених тоніко-клонічних судомних нападів.

3.4.1. Особливості розвитку ПТЗ-індукованого кіндлінгу за умов експериментальної фармакотерапії

Після п'яти ін'єкцій ПТЗ в підпороговій дозі (35,0 мг/кг, в/очер), латентний період виникнення перших судом в групі контролю складав ($172,5 \pm 20,7$) с, в той час як в групі із комбінованим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) досліджуваний показник був вищим на 27,4% ($P < 0,05$) (рис. 3.6.).

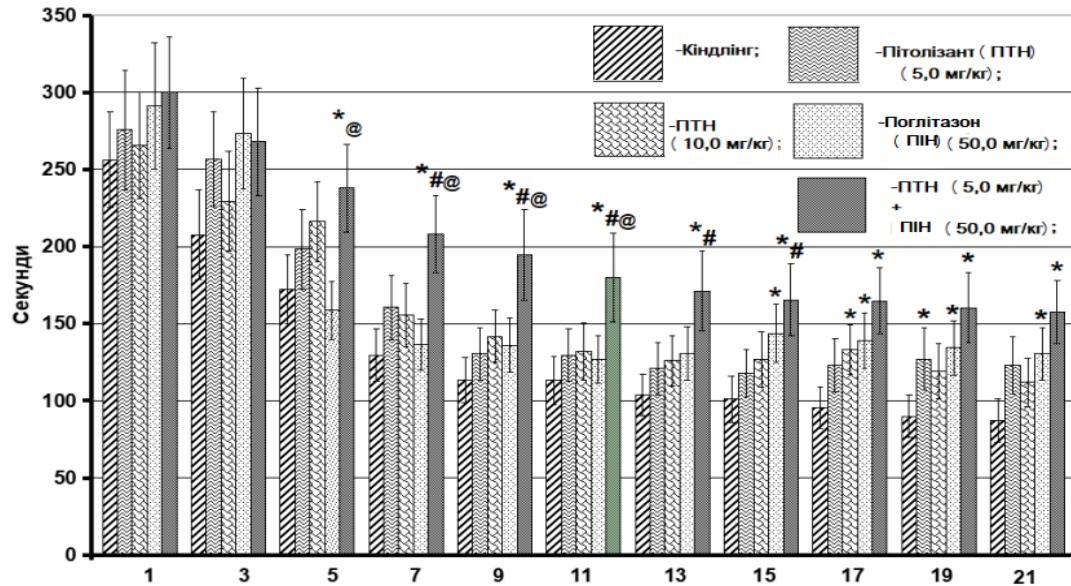


Рис. 3.6. Динаміка латентного періоду судом в процесі відтворення кіндлінгу та за умов експериментальної терапії ($M \pm SD$)

П р и м і т к и:

*- $P < 0,05$ – порівняно з групою контролю;

#- $P < 0,05$ – порівняно з групою із застосуванням пітолізанту дозою (5,0 мг/кг);

@- $P < 0,05$ порівняно з групою із застосуванням піоглітазону дозою 50,0 мг/кг (ANOVA+ Tukey HSD post-hoc test).

по осі ординат – досліджуваний показник (секунди), по осі абсцис – введення ПТЗ дозою 35,0 мг/кг, в/очер (добу).

Одночасно він перевищував відповідний показник в групі із окремим введенням піоглітазону на 33,3 % ($P < 0,05$). Після сьомого введення епілептогену латентний період судом у групі із комбінованим застосуванням досліджуваних препаратів був вищим від такого в групі контролю на 37,7 % ($P < 0,05$) та вищим від показника в групі із застосуванням піоглітазону на 34,4 % ($P < 0,05$). Подібні відмінності між групами зберігалися протягом наступних чотирьох застосувань ПТЗ і після одинадцятої ін'єкції досліджуваний показник був вищим від контролю на 37,1 % ($P < 0,05$) та перевищував показники в групах з окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) на 28,0 % ($P < 0,05$) та на 30,1 % ($P < 0,05$) відповідно.

Після тринадцяти введень епілептогену латентний період судом в групі із комбінованим застосуванням пітолізанту та піоглітазону перевищував показник в контролі на 39,9 % ($P < 0,05$) і залишався вищим від показника в групі із застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) на 29,4 % ($P < 0,05$) за відсутності відмінностей у порівнянні з групою щурів із застосуванням піоглітазону ($P > 0,05$). Після п'ятнадцятого застосування ПТЗ аналогічні відмінності між зазначеними групами складали 39,0 % та 28,9 % ($P < 0,05$) при наявності достовірного перевищення досліджуваного показника в групі із застосуванням піоглітазону порівняно з групою контролю – на 29,7 % ($P < 0,05$).

В період з сімнадцятого до двадцять першого введення епілептогену включно реєструвалось достовірне перевищення тривалості латентності перших судом в групах із комбінованим застосуванням препаратів, яке складало від 42,0 % (17-а ін'єкція) до 44,5 % (після 21-ї ін'єкції) та в групі із застосуванням піоглітазону, в якій подібні відмінності складали 31,3 % ($P < 0,05$) та 33,1 % ($P < 0,05$) відповідно. Причому, застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг також викликало подовження латентного періоду судом, яке складало 27,2 та 29,3 % відповідно після сімнадцятого та дев'ятнадцятого застосування ПТЗ ($P < 0,05$) (рис. 3.6).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що розвиток ПТЗ-індукованого кіндлінгу супроводжувався скороченням латентного періоду перших судом. На тлі застосування пітолізанту протисудомний вплив препарату реєструвався з 15-го по 21-е введення ПТЗ, у вигляді подовження латентності судом. В той же час, комбіноване застосування препаратів спричиняє подовження латентності перших судом в ранньому періоді кіндлінгу, що спостерігалось після п'яти застосувань ПТЗ. Таким чином, за динамікою показника перших судомних проявів поєднане введення пітолізанту та піоглітазону викликало більш ранній розвиток протисудомного ефекту порівняно з окремим їх застосуванням.

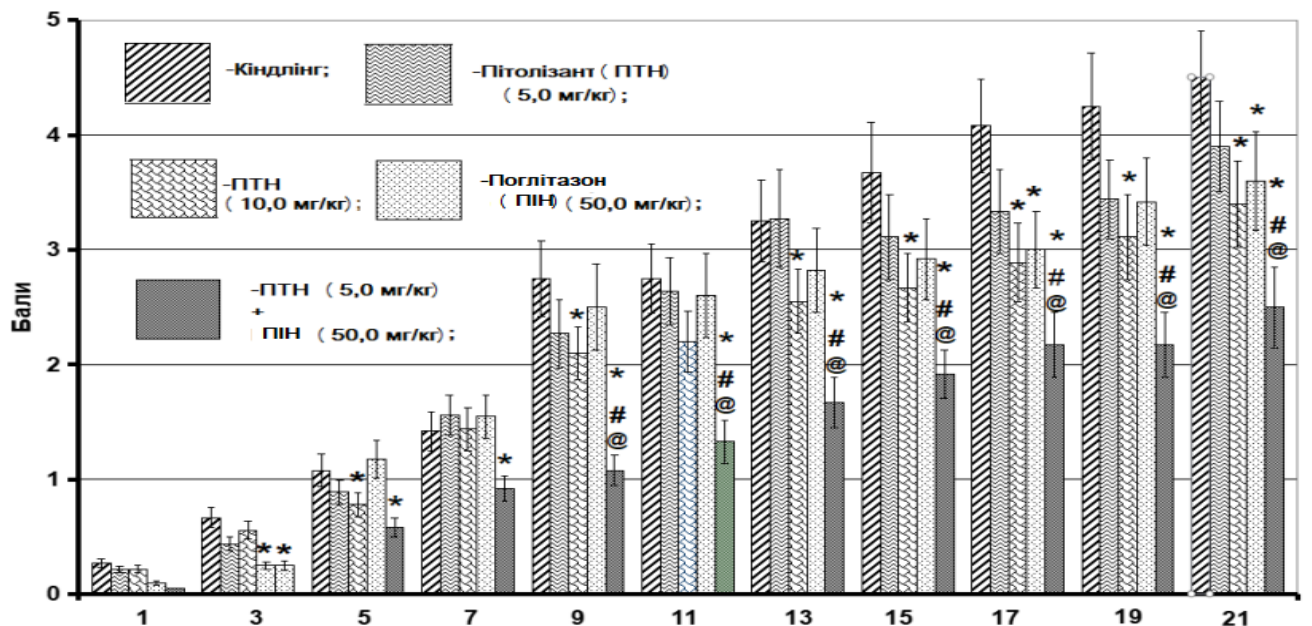


Рис. 3.7. Динаміка тяжкості судом в процесі відтворення кіндлінг-викликаних судом та за умов експериментальної терапії ($M \pm SD$)

П р и м і т к и:

*- $P < 0,05$ – порівняно з групою контролю;

#- $P < 0,05$ – порівняно з групою із застосуванням пітолізанту дозою (5,0 мг/кг); @- $P < 0,05$ порівняно з групою із застосуванням піоглітазону дозою 50,0 мг/кг (Kruskal-Wallis+ Dunn's test).

По осі ординат – досліджуваний показник (бали), по осі абсцис – введення ПТЗ дозою 35,0 мг/кг, в/очер (добы).

У ранньому періоді кіндлінгу, після третьої ін'єкції ПТЗ, на тлі виникнення слабких судомних проявів у експериментальних тварин реєструвалось достовірне зниження загальної тяжкості судом в групах, яким застосовували піоглітазон дозою 50,0 мг/кг як самостійно, так і у комбінації з пітолізантом (5,0 мг/кг) – в 2,68 раза порівняно з контролем ($P<0,05$) (рис. 3.7). Однак, вказаний протисудомний вплив протягом наступних чотирьох-п'яти введень ПТЗ залишався стабільним тільки у відношенні до поєднаного застосування препаратів і зниження тяжкості складало 35,2 % у порівнянні з групою контролю після сьомого застосування ПТЗ. Після дев'ятого введення ПТЗ реєструвалось зниження тяжкості судом в групі із введенням пітолізанту та піоглітазону на 60,7 % порівняно з контролем ($P<0,05$). Одночасно, ефект зниження тяжкості судом був достовірним порівняно з окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) – на 52,4 % та на 56,8 % відповідно ($P<0,05$). Достовірні відмінності між зазначеними групами в подальшому до кінця спостереження (рис. 3.7.).

Слід зазначити, що після дев'ятого застосування ПТЗ пітолізант дозою 10,0 мг/кг викликав достовірне порівняно з контролем зменшення тяжкості судом, яке складало 23,6 % ($P<0,05$). Починаючи з 11-го застосування ПТЗ і до кінця спостереження реєструвалось достовірне зниження тяжкості судомних проявів при кожному застосуванні пітолізанту (10,0 мг/кг). При цьому після 21-го введення зменшення тяжкості судомних проявів складало 24,4 % ($P<0,05$). Важливо зазначити, що після прикінцевого застосування ПТЗ піоглітазон також викликав достовірне зменшення судомних реакцій порівняно з контролем – на 20,0 % ($P<0,05$) (рис. 3.7). За цих умов у щурів попереджались генералізовані тоніко-клонічні судомні реакції у порівнянні з групою контролю ($z=3,048$; $P=0,002$).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що застосування пітолізанту та піоглітазону попереджають виникнення кіндлінг-провокованих

судомних проявів при їх самостійному введенні. Причому, якщо ефективність їх сумісного застосування була достатньо високою як на ранній стадії, так і у віддаленому періоді кіндлінгу, протисудомні впливи самостійного застосування пітолізанту були ефективними у віддаленому періоді і визначались при застосуванні високої дози (10,0 мг/кг) препарату, а ефективність піоглітазону реєструвалась лише після останнього (21-го) введення епілептогена. Також потрібно прийняти до уваги, що нестабільний характер протисудомних ефектів досліджуваних препаратів в динаміці раннього періоду кіндлінгу (з першого по сьоме-восьме застосування епілептогена) може пояснюватися слабким характером самих судомних проявів, які складали вузький діапазон коливань їх тяжкості, так і можливим менш виразним слабким кумулятивним ефектом повторного їх застосування, в той час як в пізньому періоді кіндлінгу ці фактори були більш значущими і протисудомні ефекти препаратів визначались при кожному застосуванні епілептогенів.

3.4.2. Вплив пітолізанту та піоглітазону на розвинені кіндлінгові судоми

3.4.2.1. Поведінкові судомні прояви

Зважаючи на отримані результати ефективності комбінованого застосування пітолізанту та піоглітазону щодо гострих генералізованих клоніко-тонічних судомних проявів (підрозділ 3.2.), завданням наступної частини досліджень було вивчення ефективності застосування препаратів в період формування генералізованих судомних нападів у щурів із ПТЗ-викликаним кіндлінгом.

Застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) у щурів із розвиненим кіндлінгом супроводжувалось подовженням латентного періоду виникнення судом на 8,8 % порівняно з групою контролю ($P < 0,05$) (табл. 3.5). На тлі застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг подовження латентного періоду склало 21,7 %

($P < 0,05$), що також перевищувало показник в групі щурів із застосуванням пітолізанту в меншій дозі ($P < 0,05$). Латентність перших судом у щурів із застосуванням піоглітазону (50,0 мг/кг) була більшою, ніж в контролі на 13,2 % ($P < 0,05$). На тлі комбінованого застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) латентний період перевищував його величину в контролі на 18,3 %, а в дозі пітолізанту 10,0 мг/кг – на 23,9 % ($P < 0,05$). В обох групах досліджуваний показник був більшим порівняно з групою з окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) – відповідно на 10,3 % та на 16,5 % ($P < 0,05$). Крім того, латентність судом в групі із застосуванням пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) перевищувала показник в групі із окремим застосуванням піоглітазону на 12,3 % ($P < 0,05$) (табл. 3.5).

Тяжкість судом при сумісному застосуванні піоглітазону та пітолізанту в обох досліджуваних дозах була достовірно нижчою порівняно з такою в групі контролю ($P < 0,02$) (табл. 3.5). За умов застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг сумісно з піоглітазоном (50,0 мг/кг) попереджалося виникнення генералізованих тоніко-клонічних судом ($z = 2,497$; $P = 0,013$). Крім того, тяжкість судом в групі із застосуванням пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) була меншою порівняно з групами щурів із окремим застосуванням піоглітазону (50,0 мг/кг) ($P < 0,05$).

Таким чином, отримані результати визначили ефективність самостійного застосування пітолізанту та піоглітазону на прояви розвинених кіндлінгових судом, які реєструвались у вигляді подовження латентного періоду перших судом, а при застосуванні піоглітазону – зниженні тяжкості судомних проявів, попереджанні повторних генералізованих тоніко-клонічних нападів. Комбіноване застосування препаратів супроводжувалося більш виразним протисудомним ефектом, який може свідчити щодо сумарної протисудомної дії препаратів.

Таблиця 3.5.

Вплив пітолізанту та піоглітазону на розвинені ПТЗ-індуковані кіндлінгові генералізовані судоми ($M \pm SD$)

	Групи спостереження	Латентний період судом (секунди)	Тяжкість судом (бали)					P (Kruskal Wallis+ Dunn)
			1	2	3	4	5	
1	Контроль (ПТЗ, 35,0 мг/кг, в/очер) (n=7)	67,3 $\pm$ 3,0	-	-	-	4	3	>0,05
2	Пітолізант (5,0 мг/кг) (n=6)	73,8 $\pm$ 4,1*	-	-	1	4	1	>0,05
3	Пітолізант (10,0 мг/кг) (n=6)	86,0 $\pm$ 5,3 *#	-	-	2	3	1	>0,05
4	Піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=6)	77,5 $\pm$ 4,8 *	-	-	2	4	-	P ₄ - P ₆ = 0,047
5	Пітолізант (5,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=7)	82,4 $\pm$ 5,7 *#	-	1	2	3	-	P ₅ - P ₁ = 0,015
6	Пітолізант (10,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=6)	88,4 $\pm$ 6,6 *#@	-	2	3	1	-	P ₆ - P ₁ = 0,0005; P ₆ - P ₂ = 0,016

П р и м і т к и:

*-P<0,05 – порівняно з контролем;

#- P<0,05 – порівняно з групою з введенням пітолізанту (5,0 мг/кг);

@-P<0,05 – порівняно з групою з введенням піоглітазону (50,0 мг/кг) (ANOVA+ Newman-Keuls тест).

3.4.2.2. Електрографічні судомні прояви

Завданням наступної частини досліджень було вивчення латентного періоду та тривалості іктальних потенціалів, які реєстрували у кіндлінгових щурів у фронтальних відділах кори головного мозку за умови застосування досліджуваних препаратів.

В групі контролю через 3,7-9,0 хв з моменту застосування ПТЗ (35,0 мг/кг, в/очер) у фронтальній корі мозку реєструвались синхронізовані спайкові потенціали частотою 18-11 за сек, які мали тривалість від 12,0 до 40,5 сек (рис. 3.8,

1). На тлі застосування пітолізанту дозами 5,0 та 10,0 мг/кг латентність виникнення розрядів складала від 3,0 до 12,4 та від 6,5 до 14,7 хв відповідно, а їх тривалість – від 4,5 до 14,0 та від 7,9 до 20,2 сек (рис. 3.8, 2).

За умови введення піоглітазону (50,0 мг/кг) застосування ПТЗ (35,0 мг/кг) супроводжувалось виникненням іктальних потенціалів через 4,6 – 11,3 хв, а тривалість іктального потенціалу складала 5,5-11,5 сек (рис. 3.8,3). На тлі сумісного введення пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) виникнення іктальних потенціалів спостерігалось через 5,2 – 10,0 хв з моменту застосування ПТЗ, а тривалість іктальних розрядів – від 5,3 до 9,5 сек (рис. 3.5, 4). Порівняння середніх показників тривалості латентного періоду іктальних потенціалів засвідчило відсутність достовірних відмінностей між групами: $F_{(4,22)} = 1,548$; $P = 0,23$ (табл. 3.6.).

В той же час дослідження тривалості іктальних потенціалів засвідчило наявність достовірних відмінностей між групами: $F_{(4,45)} = 5,468$; $P = 0,0012$. За умов застосування пітолізанту у вищій дозі (10,0 мг/кг) тривалість іктального потенціалу знижувалась порівняно з групою контролю на 40,2 % ($P = 0,029$).

Також достовірним було зниження досліджуваного показника на тлі окремого застосування піоглітазону (50,0 мг/кг) ($P = 0,004$) та його комбінованого застосування із пітолізантом дозою 5,0 мг/кг ($P = 0,006$).

Таким чином, на тлі розвинених ПТЗ-викликаних кіндлінгових судом ефективним було як окреме застосування пітолізанту (10,0 мг/кг), а також піоглітазону (50,0 мг/кг), так і сумісне застосування препаратів.

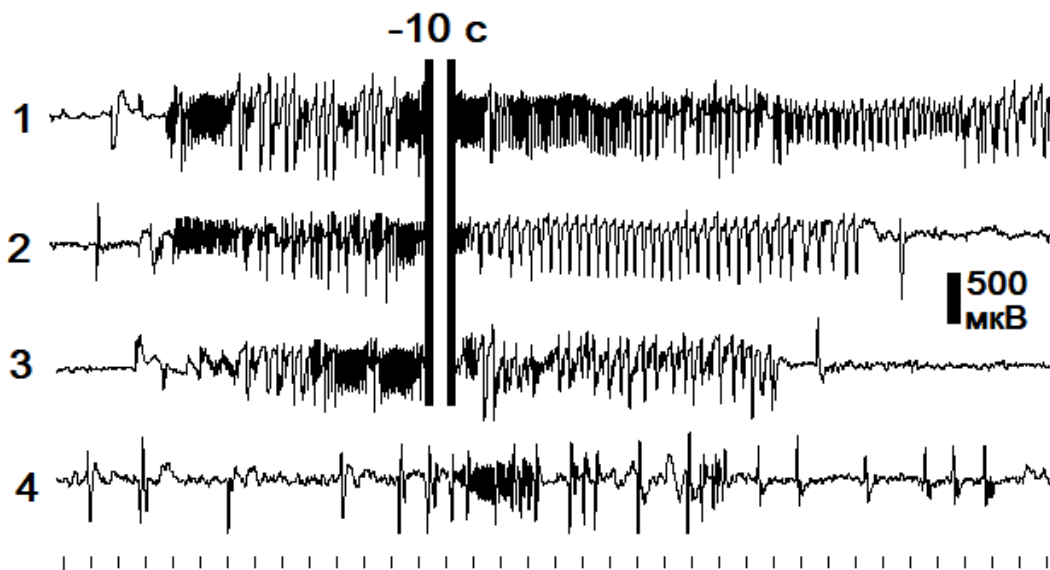


Рис. 3.8. Іктальні потенціали, викликані у фронтальних відділах кори головного мозку щурів із розвиненим ПТЗ-кіндлінгом у щурів за умов експериментального лікування

П р и м і т к и:

1 – через 5,5 хв з моменту застосування ПТЗ дозою 80,0 мг/кг у інтактного щура (контроль);

2 – 7,0 хв з моменту застосування ПТЗ на тлі введення пітолізанту дозою 10,0 мг/кг;

3 – 7,5 хв з моменту застосування ПТЗ у щура на тлі введення піоглітазону (50, 0 мг/кг);

4 - 6,5 хв з моменту застосування ПТЗ у щура на тлі комбінованого введення пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг).

Із ілюстрації видалено 10-секундний проміжок часу безперервного спостереження. Позначки часу – 1 с, калібровочний сигнал – 500 мкВ.

Протисудомний вплив визначався у вигляді скорочення тривалості іктиальних потенціалів. Слід підкреслити, що порівняння протисудомної ефективності досліджуваних препаратів у щурів із кіндлінговими судомами до гострих генералізованих тоніко-клонічних судом виявляє їх більшу виразність, що визначалось у виразному попередженні тяжких судомних проявів на моделі кіндлінгового судомного синдрому. Разом з тим, на моделі ПТЗ-індукованого кіндлінгу рідше йшлося про суматійний характер протисудомного впливу препаратів.

Таблиця 3.6.

Латентний період та тривалість іктального потенціала у щурів із ПТЗ-індукованим кіндлінгом за умов застосування пітолізанту та піоглітазону ($M \pm SD$)

№ з/п	Групи спостереження	Число іктальних потенціалів		Латентний період перших розрядів (хвилини)	Тривалість іктальних потенціалів
		Первинні	Повторні		
1	Кіндлінг (контроль) (n=7)	7	3	6,70 $\pm$ 3,31	22,55 $\pm$ 9,76
2	Пітолізант (5,0 мг/кг) (n=6)	5	1	6,88 $\pm$ 3,50	11,85 $\pm$ 5,73
3	Пітолізант (10,0 мг/кг) (n=6)	4	1	11,25 $\pm$ 3,74	13,48 $\pm$ 5,6*
4	Піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=6)	4	-	7.40 $\pm$ 2.89	8,38 $\pm$ 2,97*
5	Пітолізант (5,0 мг/кг)+ піоглітазону (50,0 мг/кг) (n=7)	3	-	6.60 $\pm$ 2,96	7,33 $\pm$ 2,1*

П р и м і т к а. *-P<0,05 – при порівнянні з групою із застосуванням контролю (ANOVA+Tukey HDS тест).

3.5. Ангіогенез в тканині головного мозку за умов застосування пітолізанту та піоглітазону

Однією із важливих патогенетичних механізмів виникнення хронічної епілептичної активності є активація ангіогенезу, як однієї із характеристик формування хронічного нейроімунного запалення [234-236].

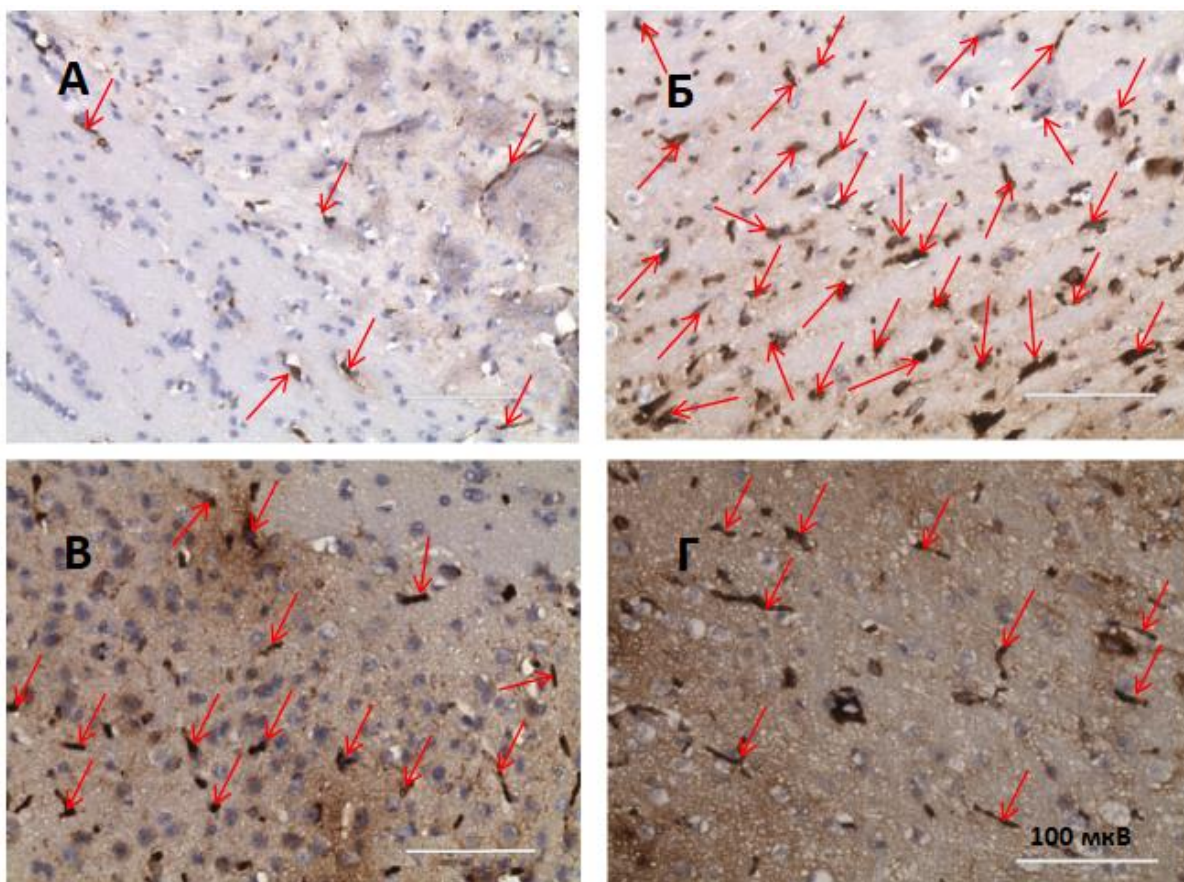


Рис. 3.9. Динаміка імуногістохімічного фарбування на колаген IV тканини фронтальних відділів мозку у щурів з ПТЗ-індукованим кіндлінгом за умов застосування пітолізанту та піоглітазону

П р и м і т к и:

А – інтактна тварина з введенням 0,9 % фізіологічного розчину NaCl;

Б – розвинений кіндлінг;

В – кіндлінг за умов застосування пітолізанту (5,0 мг/кг);

Г – кіндлінг за умови комбінованого застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг).

Типові мікросудини, які приймали до уваги при підрахунку позначені червоними стрілками. Калібровка – 100 мкм.

Тому завданням окремої частини дослідження було вивчення динаміки щільності мікросудин за імуногістохімічним фарбуванням колагену IV, як маркера новоутворених капілярів [233].

У щурів із розвиненим кіндлінгом щільність мікросудин за їх характерним коричневим забарвленням визначалась як більш значна в структурах фронтальних відділів кори головного мозку у кіндлінгових щурів (рис. 3.9, Б) і

перевищувала таку у щурів групи контролю втричі: $52,7 \pm 4,8$ проти $(17,3 \pm 1,9)$ мікросудин ($P < 0,05$) (рис. 3.10, А, Б).

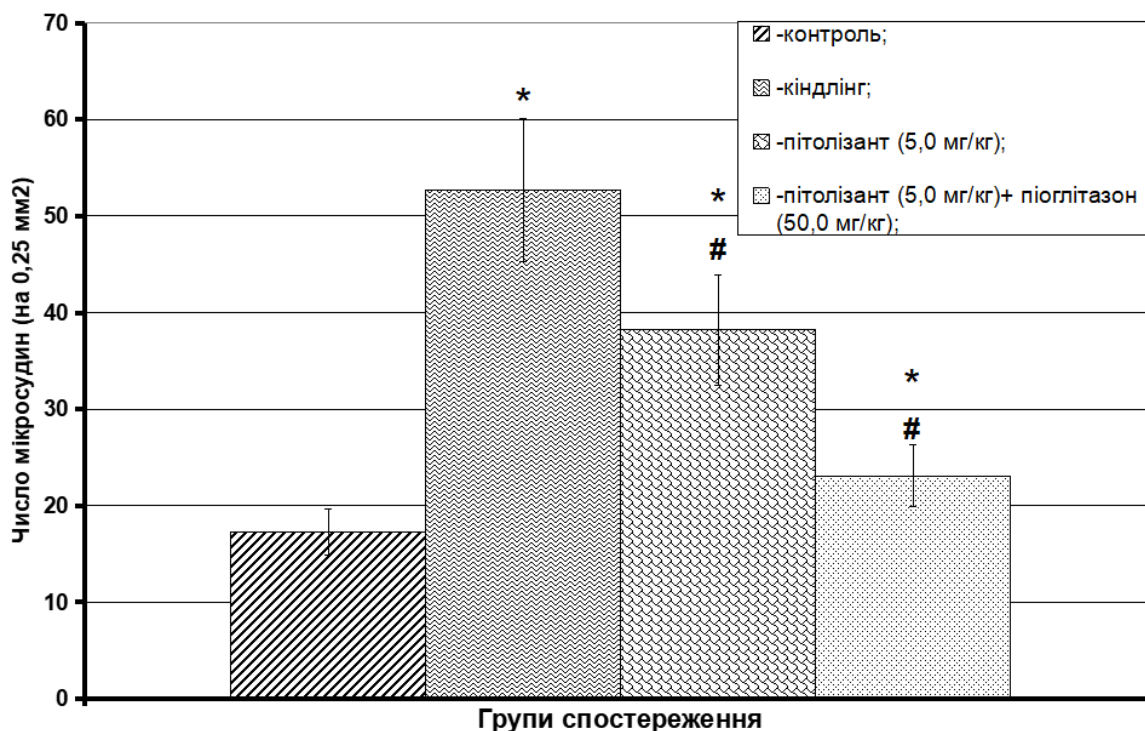


Рис. 3.10. Кількісна оцінка ангиогенезу у кіндлінгових щурів в корі головного мозку за умови застосування пітолізанту та піоглітазону

П р и м і т к и:

* – $P < 0,05$ у порівнянні з групою інтактних щурів;

– $P < 0,05$ у порівнянні з групою кіндлінгових щурів (ANOVA+ Newman- Keuls).

Щільність мікросудин у % по відношенню до групи інтактних щурів, прийнятих за 100% (ордината) в групах спостереження (абсциса).

У кіндлінгових щурів із застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) подібні відмінності складали 2,2 раза ($38,2 \pm 3,2$) мікросудин ($P < 0,05$), однак досліджуваний показник був достовірно меншим на 27,5 % порівняно з такою у кіндлінгових щурів ($P < 0,05$) (рис. 3.10).

Водночас за умови застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) на тлі попереднього введення піоглітазону (50,0 мг/кг) досліджуваний показник перевищував такий в групі контролю на 25,1 % ($P < 0,05$) і був меншим, ніж у щурів із кіндлінгом на

55,2 % ($P<0,05$). Крім того, щільність судин була також меншою порівняно з такою в групі із одним застосуванням пітолізанту – на 39,5 % ($P<0,05$) (рис. 3.10),

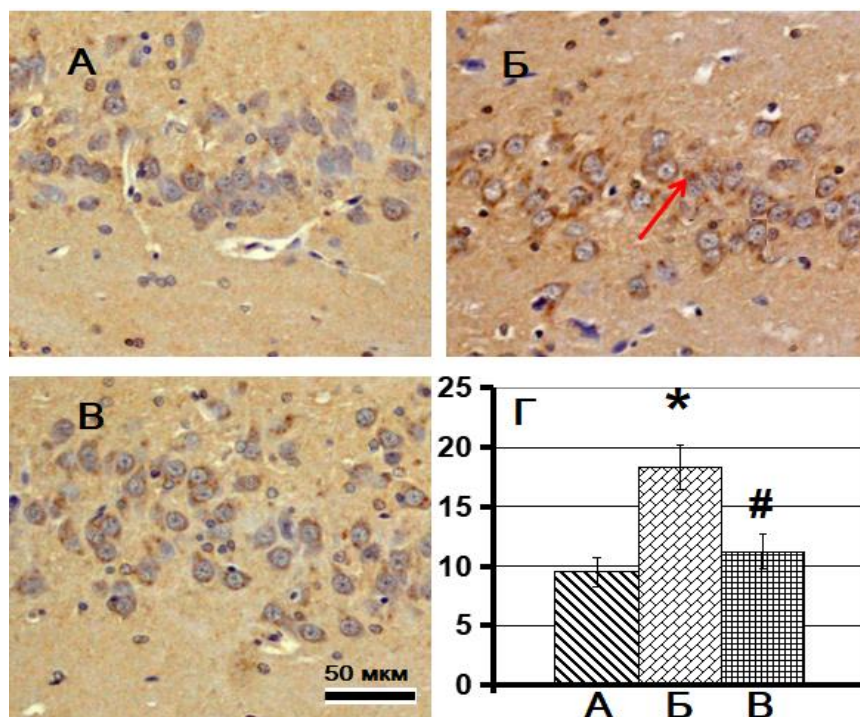


Рис. 3.11. Вміст HIF-1 α в зубчастій звивині гіпокампу щурів із ПТЗ-індукованим кіндлінгом за умов експериментального лікування

П р и м і т к и:

А — контроль;

Б — кіндлінг;

В — кіндлінг + введення пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг);

Г — % інтенсивності забарвлення (де ордината, умовні одиниці (УО)), абсциса – групи спостереження – за порядком фрагментів гістологічних зображень;

*- $P<0,05$ у порівнянні з групою контролю (А);

#- $P<0,05$ у порівнянні з кіндлінгом (Б) (ANOVA+Tukey post-hoc тест).

Визначення вмісту HIF-1 α за інтенсивністю імуногістохімічного забарвлення в зоні зубчастої звивини гіпокампа засвідчило його підвищення порівняно з групою контролю на 48,1 % (з $9,5 \pm 1,2$) УО до $(18,3 \pm 1,5)$ УО ($P<0,05$) (рис. 3.11). В той же час на тлі застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та пітолізанту (50,0 мг/кг) досліджуваний показник складав $(11,2 \pm 1,4)$ УО ($P>0,05$).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що за умови кіндлінгу у щурів спостерігається посилений ангіогенез в структурах кори головного мозку, що є свідченням активного нейрозапалення, як провідного елемента патогенезу хронічного епілептичного синдрому [234-236]. Чітким підтвердженням є також зростання вмісту маркера нейрозапалення HIF-1 α , який також має здатність викликати ангіогенез [234]. На тлі застосування пітолізанту подібні зміни зменшувались за своєю інтенсивністю, в той час як при сумісному застосуванні пітолізанту та піоглітазону виразність протективного ефекту щодо виникнення ангіогенезу та підвищення вмісту HIF-1 α значно посилювалася. Подібне посилення може пояснюватися суматійним характером протизапальної дії препаратів.

Висновки за розділом 3:

1. Сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало синергічну протисудомну дію на моделі гострих вогнищ епілептичної активності, викликаних ПТЗ дозою 50,0 мг/кг. На тлі сумісного застосування препаратів потужність вогнищ була достовірно меншою у порівнянні як з контролем ($P < 0,05$), так і з окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) відповідно на 61,4 та 65,7 % ($P < 0,05$).

2. На моделі максимальних електрошокових судом (МЕС) сумісне застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) скорочувало тривалість тонічної екстензії задніх кінцівок – в 5,38 рази, тривалість клонічних судом зменшувалась на 23,8 % ($P < 0,05$), тривалість періоду чесального рефлексу зменшувалась в 2,27 рази ($P < 0,05$) що було достовірно менше у порівнянні з окремим застосуванням препаратів ($P < 0,05$).

3. Сумісне застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало подовження латентного періоду гострих судом, індукованих ПТЗ дозою 80,0 мг/кг на 28,2 %, що перевищувало показники в групах із

застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) – на 23,0 % та піоглітазону (50,0 мг/кг) – на 19,0 % ($P<0,05$). Достовірне зниження тяжкості судом спостерігалось лише за умови сумісного застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) ($P<0,05$), а також подовжувалась латентність іктальних потенціалів на 49,7 % ($P<0,05$).

4. Подовження латентного періоду судом на 27,4 % ($P<0,05$), яке виникало на тлі сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) визначалось вже після п'ятого введення ПТЗ, а після одинадцятого застосування ПТЗ досліджуваний показник перевищував такі в групах із окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) на 28,0 % ($P<0,05$) та на 30,1 % ($P<0,05$). За умов комбінованого введення препаратів у щурів попереджались генералізовані тоніко-клонічні судомні реакції у порівнянні з групою контролю ($z=3,048$; $P=0,002$).

5. Ангіогенез, як прояв запалення тканини головного мозку, а також вміст HIF-1 α зазнають позитивну динаміку на тлі виникнення кіндлінгових судом і попереджається застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) – зменшення щільності мікросудин склало 27,5 % ($P<0,05$) порівняно з групою кіндлінгових щурів, а на тлі сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) зменшення склало 55,2 % ($P<0,05$).

Результати даного розділу опубліковані в наступних наукових роботах:

1. Godlevsky L.S., Poshyvak O.B., Pervak M.P., Prybolovets K.O., Yehorenko O.S. Effects of a combination of transcranial DC cerebellar stimulation and pioglitazone administration on pentylenetetrazole-induced seizures in kindled rats. *Neurophysiology*. 2022;53:88–92. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, дизайн та проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).
2. Poshyvak O, Pinyazhko O, Godlevsky L, Pervak M, Yehorenko O et al.

Immunohistochemical neuroinflammatory markers in the hippocampus of ptz-kindled rats under conditions of rapamycin and axitinib treatment. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2023; 1 (44): 23-31. (Особистий внесок здобувача - аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

3. Pervak M., Yehorenko O., Poshyvak O., Liashenko S., Onuphrienko O., Denysenko O., Smirnov I., Rozhko P., Tselukh V., Prybolovets K. In: Advances in Health and Diseases. (Editor Dunkan L.T.) Chapter 4. In: *Combined neuro-vascular modulators in the control of epileptic activity*. Nova Science Publishers, Inc., New York, 2024;79:133-162. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

4. Yehorenko O., Pervak M. Pentylenetetrazol-induced seizures and brain neuroinflammation markers under conditions of pitolisant and pioglitazone use. *Journal of Education, Health and Sport*. Online. 29 April 2025. Vol. 80, P. 64021. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

5. Poshyvak O.B., Pinyazhko O.R., Abumutair Sh.N., Pervak M.P., Yehorenko O.S., Godlevsky L.S. The synergy of antiepileptic action of combined usage of neuro-vascular modulators with a wide spectrum of effects upon neuronal tissue. *IV науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», 19 травня 2022. Харків, Україна*. С. 60-63. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

6. Prybolovets K.O., Poshyvak O.B., Pervak M.P., Yehorenko O.S., Godlevsky L.S. Blockade of H₃ histamine receptors facilitates antiseizure action of pentoxiphiline. *Acta Neurobiol. Exp.* 2022. 82: I-CIV, LI. *Abstracts of the 12th “Neuronus-22” Forum, 15-17 October, Krakow, Poland.* Available at:

<https://ane.pl/index.php/ane/article/view/2361/2353> (Особистий внесок здобувача - проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

7. Єгоренко О.С., Первак М.П. Особливості навчання у щурів із гострим та хронічним епілептичним синдромом за умов застосування пітолізанту. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2025; Т.24, №1 (91): 67-74. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

8. Єгоренко О. С., Первак М. П., Годлевський Л. С. До ролі гістамінергічних механізмів мозку у розвитку гострих пентилентетразол-індукованих судом. *Українські Медичні Вісті*. 2022. Т. 14. № 3–4. С.92–93. *Матеріали XIX Конгреса Світової Федерації Українських Лікарських Товариств (СФУЛТ), 27–29 жовтня 2022 р., м. Ужгород, Україна*. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

9. Щеглов І. А., Аполлонов Д. Р., Варава С. В., Арабаджі Д. Р., Приболовець Т. В., Єгоренко О. С., Первак М. П. Нейродегенеративні та мікросудинні порушення в тканині мозку за умов формування хронічного епілептичного синдрому. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини для здобувачів освіти другого (магістерського) рівня : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 95-річчю з дня народження Л. В. Прокопової. Одеса, 27–28 квітня 2023 року : тези доп.* Електронне видання. Одеса : ОНМедУ, 2023. С. 31-32. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

10. Yehorenko O., Pervak M., Godlevsky L., Prybolovets K., Bidnyuk V., Ryabenka O. On the role of histaminergic and PPAR mechanisms of the brain in the development of chronic pentylenetetrazol-induced seizures. *Abstracts of 16th World Congress of the International Neuromodulation Society 11 May 2024 - 16 May Vancouver, Canada, 2024. Neuromodulation*. 2025;28(1): S185. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

11. Єгоренко О.С., Первак М.П. Патогенетичне обґрунтування контролю судомного синдрому застосуванням пітолізанту та піоглітазону. *Науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», 15 травня, 2025 р. м. Харків. Україна. 2025: 140-142.* (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

РОЗДІЛ 4

ОСОБЛИВОСТІ ПОВЕДІНКОВИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ ЕПІЛЕПТИЧНОМУ СИНДРОМІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТЕРАПІЇ

Дослідження поведінки щурів в міжіктальному періоді кіндлінгових щурів дозволяє стверджувати щодо значних змін емоційного стану тварин та моделювання відповідних порушень, які відомі в клінічній практиці в якості коморбідних станів [265]. Серед інших, визначають підвищення тривожності, як одна із основних форм порушення поведінки [91, 131] хоча визначено також наявність проявів депресії [33, 197]. Також важливими є порушення навчання, що поряд із зазначеними порушеннями входить до переліку коморбідних станів, які добре співвідносяться в якості експериментальних еквівалентів відповідних клінічних форм поведінкових розладів у хворих на епілепсію [164].

Крім зазначених порушень, також характерними є розлади циркадіанних ритмів, порушення циклу сон-неспанння [39, 204]. Причому, в контексті патофізіологічних механізмів розвитку епілепсії, доведено як протисудомна функція окремих фаз сну, зокрема парадоксального сну, так і проепілептогенні ефекти повільнохвильової фази сну [10, 11, 45, 105].

Зважаючи на те, що пітолізанти в клінічній практиці застосовуються з метою лікування нарколепсії, як одного з різновидів порушення механізмів сну, завданням першої частини досліджень було вивчення особливостей циклу неспанння-спанння за умови застосування пітолізанта.

4.1. Особливості циклу спанння-неспанння щурів із ПТЗ-індукованим кіндлінгом на тлі застосування пітолізанта

Модель хронічної епілептизації мозку, яка створюється шляхом повторного застосування епілептогену в підпороговій дозі, адекватно відтворює ознаки клінічних форм захворювання, зокрема порушення циклу неспанння-спанння [10, 11, 105].

На сьогодні, однак, не досліджувався характер циклу сну-несну у щурів із хронічною формою епілептичного синдрому за умови застосування блокаторів H3-рецепторів, хоч для впливу подібних препаратів характерним є модуляція вмісту в тканині гіпокампу ацетилхоліну та норадреналіну, які регулюють циркадіанні цикли [51, 200].

Завданням окремої частини дослідження було вивчення характеристик циклу сну-несну у щурів із ПТЗ-індукованим кіндлінгом за умови застосування антагоніста H3-рецепторів пітолізанту дозою 3,0 мг/кг, в/очер.

У щурів групи контролю стан несну займав 27 % всього часу спостереження (рис. 4.1). Водночас загальна тривалість фаз парадоксального та повільнохвильового сну становила 12,5 % та 60,1 % від усього періоду спостереження відповідно. Латентний період засинання та парадоксального сну становили відповідно $30,7 \pm 4,5$ та $(50,3 \pm 5,3)$ хв. Число повних циклів сну дорівнювало $12,33 \pm 3,56$.

У щурів із розвиненими кіндлінговими судомами стан несну займав 21,8 % ($P > 0,05$), парадоксального сну – 7,1 % ($P < 0,05$), та повільнохвильового сну – 71,1 % від тривалості періоду спостереження ($P > 0,05$) (рис. 4.1). Латентний період парадоксального сну був на 24,0 % меншим від показника в групі контролю ($P < 0,05$). Число циклів сну-несну перевищувало показник у групі контролю на 39,7 % ($P < 0,05$). Застосування пітолізанту супроводжувалось недостовірним зростанням тривалості фази несну, яке становило 29,0 % від загального часу спостереження ($P > 0,05$). Водночас тривалість парадоксального сну становила 11,6 % ($P > 0,05$) та фази повільнохвильового сну – 59,4 % ($P > 0,05$). Число циклів сну-несну недостовірно перевищувало показник у групі контролю на 17,2 % ($P > 0,05$).

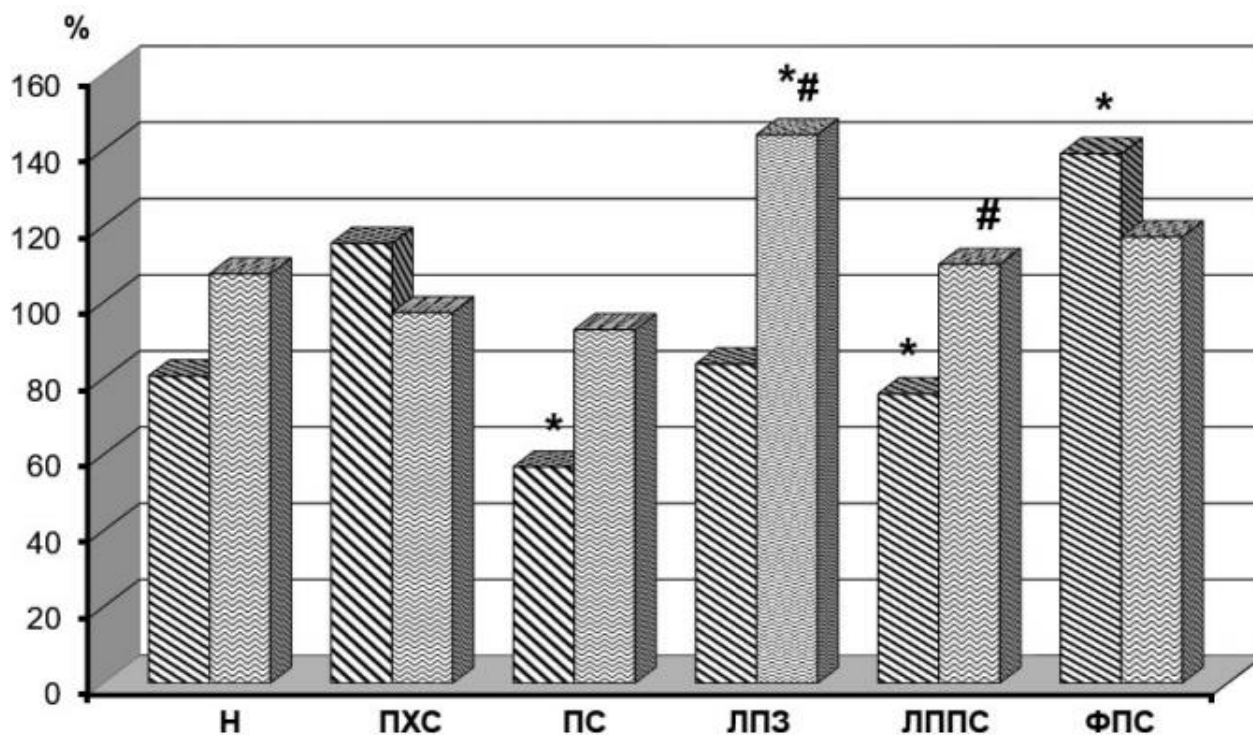


Рис. 4.1. Характеристики циклу неспання-спанння у кінділгових щурів за умови застосування пітолізанту

П р и м і т к и:

Н – неспання;

ПХС – повільнохвильовий сон;

ПС – парадоксальний сон;

ЛПЗ – латентний період засинання;

ЛППС – латентний період парадоксального сну;

ФПС – фрагментованість парадоксального сну;

*- $P < 0,05$ порівняно з контролем;

#- $P < 0,05$ порівняно з кінділговими щурами (ANOVA + Newmann– Keuls).

По осі ординат – показники в групі контролю, які прийнято за 100 %.

Під впливом пітолізанту латентний період засинання перевищував показник у групі контролю на 44,1 % ($P < 0,05$), у групі кінділгових щурів – на 60,2 % ($P < 0,05$). Латентний період парадоксального сну також достовірно (на 34,2 %) був вищим, ніж у кінділгових щурів ($P < 0,05$) (рис.4.1).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що формування ПТЗ-кінділгу супроводжується скороченням латентного періоду виникнення та

загальної тривалості парадоксальної фази сну, а також зростанням його фрагментованості. Блокування НЗ-гістамінових рецепторів пітолізантом у період формування кіндлінгу введеннями пентиленететразолу запобігає виникненню розладів циклу неспання-спання.

4.2. Рефлекторні реакції кіндлінгових щурів протягом постнападової депресії

Постнападова депресія являє собою механізм припинення судом, в основі розвитку якої знаходиться активування ендогенних протиепілептичних механізмів мозку [9, 10, 11, 105]. Одним з таких механізмів є підвищення тону опіатергічної системи мозку, активність якої поступово зростає в процесі формування кіндлінгового синдрому, що проявляється зростанням числа компонентів післянападової депресії, обумовлених діяльністю ендогенної опіатної системи [151, 161]. Тому метою окремої частини нашого дослідження було визначення позо-тонічних та рухових реакцій щурів, окремі з яких здійснюються завдяки опіатергічному або нейролептичному механізму виникнення [151, 161] у щурів з коразол-індукованим кіндлінгом за умов застосування пітолізанту та піоглітазону. Ці дослідження було проведено через 24 год з моменту завершення формування кіндлінг-синдрому.

Положення передніх кінцівок щурів знаходились у приведеному до тулубу стані у 13,3 % кіндлінгових щурів, в той час як в контролі реєструвалось відведення кінцівок у 10,0 % щурів ($P > 0,05$). Однак на тлі застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) з пітолізантом (5,0 мг/кг) відведення кінцівок спостерігали відповідно у 36,0 % та 42,0 %, що перевищувало показник кіндлінгових щурів – $z=1,972$; $P=0,049$ та $z=2,286$; $P=0,022$ відповідно.

У кіндлінгових щурів спонтанні підстрибування реєструвались у 36,0 %, що, однак, не відрізнялось від показника в групі контролю ($z=1,919$; $P=0,055$).

На тлі застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг у 36,0 % спостерігали екзофтальм, що достовірно відрізнялось від контролю ($z=2,311$; $P=0,021$), в той

час як на тлі введення більшої дози препарату (10,0 мг/кг) екзофтальм реєстрували у 27,0 % щурів ($z=1,806$; $P=0,071$). За умови застосування піоглітазону (50,0 мг/кг) екзофтальм спостерігали у 40,0 % щурів ($z=2,469$; $P=0,014$), а на тлі поєднаного застосування піоглітазону (50,0 мг/кг) з пітолізантом (5,0 мг/кг) прояви екзофтальму мали місце у 17,0 % щурів, що не відрізнялось від показників в контролі ($z=1,158$; $P=0,247$) та від кіндлінгових тварин ($z=0,875$; $P=0,381$). У щурів із застосуванням пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) екзофтальм спостерігали в одному випадку (9,0 %), що також не мало відмінностей від показника в групах контролю ($z=1,158$; $P=0,381$) та кіндлінгу ($z=0,875$; $P=0,381$).

Таким чином, отриманий результат засвідчив, що за умови застосування пітолізанту та піоглітазону дозами 5,0 та 50,0 мг/кг відповідно не спостерігається достовірного усунення екзофтальму, як одного із найбільш характерних проявів активації ендогенної опіатергічної системи. В той же час застосування пітолізанту у вищій дозі (10,0 мг/кг) викликає зниження прояву екзофтальму. Протективна дія препаратів посилюється при їх сумісному застосуванні, коли екзофтальм спостерігався лише у 9,0-17,0 % кіндлінгових щурів.

Підвищений тонус хвоста реєструвався у 93,0 % кіндлінгових щурів ($z=5,201$; $P=0,000$), в той час як на тлі застосування пітолізанту дозами 5,0 мг/кг та 10,0 мг/кг цей прояв спостерігали у 72,7 % та 54,5 % ($z=1,201$; $P=0,072$) щурів відповідно. За умови застосування піоглітазону (50,0 мг/кг) підвищений тонус хвоста реєстрували у 50,0 % кіндлінгових тварин, що перевищувало показник в контролі ($z=2,944$; $P=0,003$) та одночасно було меншим порівняно з групою кіндлінгових щурів ($z=1,983$; $P=0,047$). Сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) знижувало число тварин з гіпертонусом хвоста до 33,3 %, що перевищувало показник в контролі ($z=2,19$; $P=0,029$) та одночасно було меншим від показника у кіндлінгових щурів ($z=2,868$; $P=0,004$). На тлі сумісного застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг)

підвищений тонус хвоста спостерігали у 27,0 % щурів за відсутності відмінностей порівняно з групою контролю ($z=1,806$; $P=0,070$) та достовірному зниженні порівняно з кіндлінговими щурами ($z=3,071$; $P=0,002$) (табл. 4.1).

Позу “місток” утримували 13,3 % кіндлінгових щурів ($z=3,583$; $P=0,000$), в той час як на тлі застосування пітолізанту в дозах як 5,0, так і 10,0 мг/кг подібна здатність спостерігалась відповідно у 36,0 % тварин ($z=2,056$; $P=0,04$), а при застосуванні піоглітазону (50,0 мг/кг) – у 20,0 % щурів ($z=2,599$; $P=0,009$). Разом з тим, сумісне застосування препаратів – 5,0 мг/кг пітолізанту та 50,0 мг/кг піоглітазону, а також 10,0 мг/кг пітолізанту та 50,0 мг/кг піоглітазону забезпечувало утримання пози “місток” у 42,0 % та 45,0 % щурів відповідно. Вказані показники не мали статистичних відмінностей у порівнянні з групою контролю та кіндлінгових щурів ($P>0,05$).

Утримання на вертикальному стрижні спостерігали у 33,3 % кіндлінгових щурів ($z=3,958$; $P=0,000$). Досліджуваний показник залишався статистично відмінним від контролю у всіх групах із застосуванням препаратів, причому найбільшу здатність утримуватися реєстрували у 55,0 % щурів із застосуванням пітолізанту та піоглітазону у вищих із досліджуваних доз (10,0 мг/кг та 50,0 мг/кг відповідно) ($z=2,760$; $P=0,006$).

Захват передніми лапами предметів (олівця) при утриманні щурів на висоті за хвіст спостерігали у 40,0 % кіндлінгових щурів ($z=2,785$; $P=0,005$). Статистичні відмінності від контролю спостерігали в усіх експериментальних групах порівняно з контролем ($P<0,01$).

Разом з тим, низька здатність кіндлінгових щурів в тестах утримування пози «місток», перебування на вертикальному стрижні та захоплення передніми лапами предметів в момент утримання щурів за хвіст засвідчили наявність дискоординації рухової активності. Подібна здатність забезпечує підвищену чутливість кіндлінгових щурів до виникнення сторонніх ефектів застосування протиепілептичних препаратів – карбамазепіну, фенobarбіталу, вальпроату, а

також діазепаму. Причому, провідними порушеннями було визначено виникнення атаксії, прояви якої визначались у вигляді дискоординації рухів та зниження здатності утримуватися на стрижні, що обертається (ротарод – тест) (Hönack D, Löscher W. 1995).

Кіндлінгові щури при піднятті за хвіст демонстрували приведення задніх кінцівок від тулуба, яке спостерігалось у 86,7 % щурів, в той час як в контролі подібне положення лап не реєструвалось ($z=4,899$; $P=0,000$). Навпаки, у 50,0 % інтактних щурів реєстрували відведення задніх кінцівок, яке не спостерігалось у кіндлінгових щурів ($z=2,862$; $P=0,004$). У щурів із застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) приведення кінцівок реєстрували у 36,0 % щурів, що перевищувало показник в контролі ($z=2,311$; $P=0,021$) і водночас було меншим від показника у кіндлінгових щурів ($z=2,265$; $P=0,023$). Досліджуваний показник спостерігався у 45,5 % щурів, яким пітолізант застосовували дозою 10,0 мг/кг і, таким чином залишався вищим, ніж в контролі ($z=2,784$; $P=0,005$), але не відрізнявся від показника у кіндлінгових щурів ($z=1,819$; $P=0,069$).

На тлі застосування піоглітазону (50,0 мг/кг) приведення задніх кінцівок реєстрували у 30,0 % щурів, що не відрізнялось від контролю ($z=1,936$; $P=0,053$) та було нижчим, ніж в групі кіндлінгових щурів ($z=2,469$; $P=0,014$). За умови застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) кінцівки були приведені у 16,7 %, що не мало відмінностей від контролю ($z=1,134$; $P=0,257$), але було менше, ніж у кіндлінгових щурів ($z=3,248$; $P=0,001$), а на тлі комбінованого використання пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) реєструвалось зниження досліджуваного показника до 18,2 %, що було достовірно менше порівняно з групою кіндлінгових щурів ($z=3,102$; $P=0,002$).

Таблиця 4.1.

Рухові та рефлекторні прояви щурів із ПТЗ-індукованим кіндлінгом за умов експериментального лікування

		Положення передніх кінцівок		Рефлекс збереження пози	Стрибання	Офтальмологічні прояви		Рогівковий рефлекс	Положення задніх кінцівок (підняття)			Тонус хвоста		Поза “місток”	Утримання на стрижні	Захват передніми лапами
		При веденні	Відведенні			Екзофтальм	Птоз		Приведенні	Відведенні	Підвищений	Знижений				
1	Інтактні (n=20)	-	2	-	-	-	-	-	0	10	-	-	16	20	18	
2	Кіндлінг (n=15)	2	-	2	4	6**	2	2	13***	0**	14***	-	2****	5****	6**	
3	ПТЛ(5,0 мг/кг) (n=11)	2	3	1	2	4*	-	1	4*#	2	8***	2	4*	3***	3**	
4	ПТЛ (10,0 мг/кг) (n=11)	1	4#	-	1	3	1	1	5**	4#	6**	3	4*	5****	4**	
5	ПЮ (50,0 мг/кг) (n=10)	1	3	1	2	4*	1	-	3#	3	5***#	1	2**	2****	3**	
6	ПТЛ (5,0 мг/кг)+ ПЮ(50,0 мг/кг) (n=12)	2	5#	-	1	2	2	1	2##	4	4*##	2	5	5****	4**	
7	ПТЛ (10,0 мг/кг)+ ПЮ (50,0 мг/кг) (n=11)	-	3	-	-	1	2	-	2##	5#	3##	3	5	6**	5**	

Примітки:

ПТЛ- пітолізант

ПЮ- піоглізон

*-P<0,05;

**-P<0,01 порівняно до показника в групі інтактних щурів (контроль).

#-P<0,05

##-P<0,01 у порівнянні до відповідного показника в групі кіндлінгових щурів (критерій з порівняння двох пропорцій).

На тлі застосування піоглітазону дозою 10,0 мг/кг відведення кінцівок спостерігали у 36,4 % кіндлінгових щурів, що було вище від показника до лікування ($z=1,991$; $P=0,047$). На тлі застосування піоглітазону (50,0 мг/кг) спостерігалась тенденція до зниження проявів до 30,0 % порівняно з групою контролю ($z=1,936$; $P=0,053$). При поєднанні піоглітазону (5,0 мг/кг) та пітолізанту (50,0 мг/кг) відведення кінцівок реєструвалось у 33,3 % щурів і не відрізнялось від показника до лікування ($z=1,861$; $P=0,063$). В той же час при поєднанні з піоглітазоном (50,0 мг/кг) вищої дози пітолізанту (10,0 мг/кг) відведення кінцівок спостерігали у 45,5 % щурів ($z=2,382$; $P=0,017$).

Таким чином, за умови формування кіндлінгу спостерігається достовірно, порівняно з контролем, порушення 7 із 14 показників, які досліджували в якості інформативних щодо рефлекторної та рухової активності щурів. На тлі застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг достовірні відмінності зберігались для 6 показників. При введенні дози пітолізанту 10,0 мг/кг, або піоглітазону (50,0 мг/кг) достовірні відмінності реєструвались для 5 із 7 кіндлінг-викликаних порушень. На тлі сумісного застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) порушеними залишалось три показники, а при комбінованому застосуванні пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) – лише два показники. Подібний результат засвідчує, що відновлення поведінкових рефлекторних реакцій відбувається за механізмом взаємного посилення впливів пітолізанту та піоглітазону.

4.2.1. Больова чутливість на тлі застосування пітолізанту та піоглітазону

Одним із проявів високої активності опіатергічної системи в тестах [6, 7, 45] є визначення больової реакції у відповідь на заціплення корнцангом кінчика хвоста щура. Тому завданням окремої частини дослідження було вивчення

особливостей больової реакції кіндлінгових щурів на тлі застосування пітолізанту та піоглітазону.

Таблиця 4.2.

Виразність больової реакції щурів за умов застосування пітолізанту та піоглітазону

	Групи спостереження	Число щурів із больовими реакціями (бали)				P (Kruskal Wallis+ Dunn)
		0	1	2	3	
1	Інтактні щури (n=20)	-	2	6	12	
2	Кіндлінг (n=15)	1	9	5	-	$P_1 - P_2 < 0,001$
3	Пітолізант (5,0 мг/кг) (n=10)	1	6	3	-	$P_1 - P_3 < 0,001$
4	Пітолізант (10,0 мг/кг) (n=10)	-	5	4	1	$P_1 - P_4 = 0,0045$
5	Піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=9)	-	4	4	1	$P_1 - P_5 = 0,012$
6	Пітолізант (5,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=10)	-	3	5	2	$P_1 - P_6 = 0,064$
7	Пітолізант (10,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=9)	-	2	4	3	$P_1 - P_7 = 0,25;$ $P_2 - P_7 = 0,015;$ $P_3 - P_7 = 0,017$

П р и м і т к а. Показник “Р” наведений тільки для статистично підтвердженої достовірності відмінностей між відповідними групами.

Більшість щурів контролю (60 %) демонстрували високу больову чутливість: локалізували джерело болю та намагалися звільнитися від корнцанга

(табл. 4.2). Кіндлінгові щури не демонстрували подібної реакції і виразність больової реакції була достовірно меншою порівняно з групою контролю ($P < 0,001$).

Подібна за виразністю реакція спостерігалась у щурів із застосуванням пітолізанту в обох досліджуваних дозах, а також на тлі самостійного застосування піоглітазону дозою 50,0 мг/кг. На тлі сумісного введення пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) у 20,0 % експериментальних тварин відновлювалась чутливість до больового подразника (3 бали), а виразність больової реакції не мала статистичних відмінностей від контролю ($P > 0,05$). За умови сумісного застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) третина кіндлінгових щурів відповідала максимальною больовою реакцією на больове подразнення і досліджуваний показник був достовірно нижчим порівняно з групою кіндлінгових щурів, а також з групою щурів ($P < 0,02$) із введенням пітолізанту дозою 5,0 мг/кг ($P < 0,02$) (табл. 4.2).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що у кіндлінгових щурів у постсудомному періоді спостерігається зниження больової чутливості на моделі больового синдрому, викликаного механічним заціпленням хвоста. Самостійне застосування пітолізанту не викликало протибольової дії, що може пояснюватися недостатнім залученням опіатергічних механізмів мозку до здійснення ефектів пітолізанту. Разом з тим, сумісне застосування пітолізанту з піоглітазоном супроводжується виразним протибольовим ефектом, який можливо пояснити залученням ендогенної опітанної системи при модуляції гістамінергічної системи саме через активацію механізмів ендогенної опіатергічної системи [11, 45].

4.3. Поведінка щурів в тесті «відкрите поле» за умов експериментального лікування

Завданням даної частини досліджень було вивчення дослідницької поведінки щурів в тесті «відкрите поле» за умов роздільного та поєднаного

використання пітолізанту та піоглітазону. Вказаний тест відрізняється достатньою чутливістю до дії нейротропних препаратів і може бути використаний для вивчення дослідницької поведінки рівня тривоги, а також проявів депресії [12, 17, 26, 36].

Число пересічених квадратів в групі контролю склало $24,3 \pm 1,8$ і у щурів із розвиненим кіндлінгом було на 36,7 % меншим ($P < 0,05$) (рис. 4.2, А, І). Досліджуваний показник залишався нижчим за умови застосування як пітолізанту (5,0 мг/кг), так і піоглітазону (50,0 мг/кг) – на 26,7 % та на 25,5 % відповідно ($P < 0,05$). На тлі сумісного застосування препаратів загальне число пересічених квадратів складало $23,7 \pm 1,8$ і не відрізнялось від показника в групі контролю ($P > 0,05$). Число зовнішніх пересічених квадратів у кіндлінгових щурів було меншим від показника в контролі на 34,1 % ($P < 0,05$) (рис. 4.2, А, ІІ). Відповідно, на тлі застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) цей показник залишався нижчим на 29,5 %, а на тлі введення пітолізанту відмінності складали 26,8 % ($P < 0,05$). За умови сумісного застосування препаратів досліджуваний показник був меншим від контролю на 4,7 % ($P > 0,05$). Число пересічених внутрішніх квадратів у щурів із кіндлінгом було більш, ніж вдвічі (в 2,12 раза) меншим порівняно з групою контролю і залишалось нижчим на тлі окремого застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) – на 36,1 % та піоглітазону – на 39,4 % ($P < 0,05$) (рис. 4.2, А, ІІІ). За умови сумісного використання препаратів відмінності складали 23,6 % ($P < 0,05$).

Загальне число стійок у щурів із розвиненим кіндлінгом було в 3,33 раза меншим, ніж в контролі ($P < 0,05$) (рис. 4.2, Б, ІІ). На тлі введення пітолізанту досліджуваний показник залишався меншим на 54,0 % ($P < 0,05$), в той час як за умови застосування піоглітазону відмінності склали 46,0 % ($P < 0,05$) і число стійок перевищувало таке у щурів із кіндлінгом на 44,4 % ($P < 0,05$). Сумісне застосування препаратів викликало відновлення загального числа стійок, яке

перевищувало показник у щурів із кіндлінгом на 48,2 % ($P < 0,05$) і не відрізнялось від показника в контролі ($P > 0,05$).

Число стійок з опорою було меншим у кіндлінгових щурів порівняно з групою контролю в 3,86 раза ($P < 0,05$) (рис. 4.2, Б, II), тоді як за умови застосування пітолізанту та піоглітазону відмінності складали 2,89 та 2,45 раза ($P < 0,05$). Сумісне застосування препаратів супроводжувалось збільшенням відмінностей порівняно з кіндлінговими щурами, яке складало 58,0 % ($P < 0,05$) і одночасно залишалось на 38,3 % меншим, ніж в контролі ($P < 0,05$).

Число стійок без опори у кіндлінгових щурів було на 52,6 % меншим, ніж в контролі (рис. 4.2, Б, III). На тлі окремого застосування пітолізанту та піоглітазону досліджуваний показник зростав вдвічі та в 2,33 раза відповідно порівняно з кіндлінговими щурами ($P < 0,05$). За умови сумісного застосування препаратів зростання складало 2,89 раза ($P < 0,05$). Причому, у всіх групах із застосуванням препаратів досліджуваний показник не мав достовірних відмінностей порівняно з групою контролю ($P > 0,05$).

Число зазирань в отвори підлоги у кіндлінгових щурів було меншим в 2,33 раза порівняно з групою контролю (рис. 4.2, В, II) ($P < 0,05$). Окреме застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) супроводжувалось зростанням досліджуваного показника порівняно з групою контролю – в 2,4 та в 2,0 раза відповідно ($P < 0,05$). Причому, за умови введення пітолізанту число зазирань було меншим, ніж в контролі на 37,5 % ($P < 0,05$). На тлі сумісного введення препаратів відмінності з кіндлінговими щурами склали 2,6 разів ($P < 0,05$).

Число болюсів у кіндлінгових щурів на 42,9 % перевищували показник в групі контролю ($P < 0,05$) (рис. 4.2, В, III). На тлі сумісного застосування препаратів досліджуваний показник зменшувався порівняно з таким у кіндлінгових щурів вдвічі ($P < 0,05$).

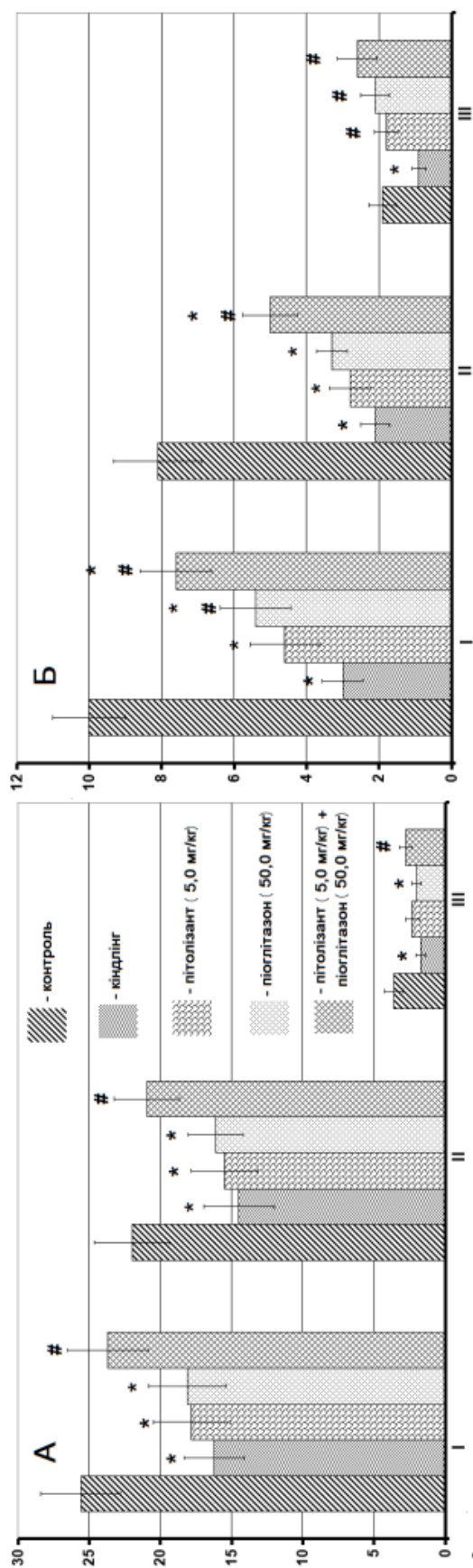


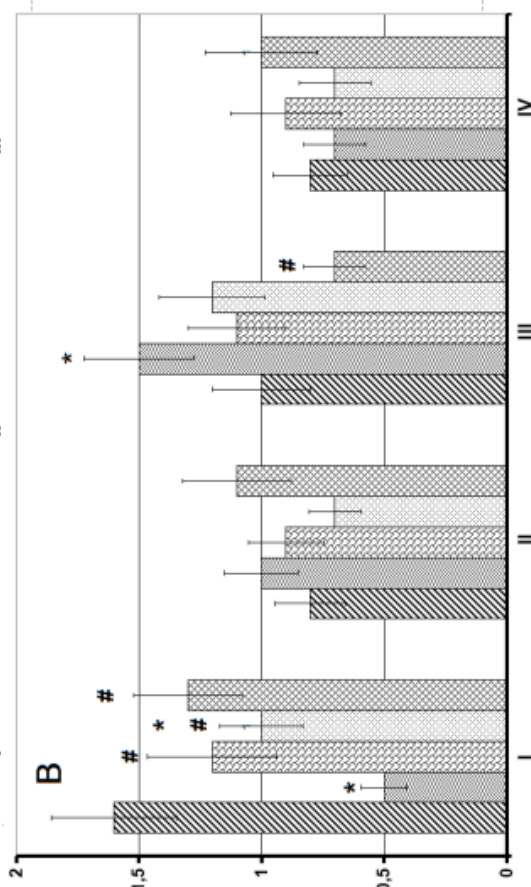
Рис. 4.2. Показники поведінки щурів в тесті “відкрите поле” на тлі введення піктолізанту та піктолізону.

Примітки:

А-число пересічених квадратів: загальне (I), зовнішніх (II) та внутрішніх (III).

Б-число стійок: загальне (I), з опорою (II) та без неї (III). В - число зазірань в отвори підлоги (I), число ґрунтингу (II), число болюсів (III) та уринацій (IV).

*- $P < 0,05$ порівняно до контролю, #- $P < 0,05$ порівняно до групи щурів з кіндлінгом (ANOVA+ Neuman-Keuls тест).



Таким чином, отримані результати засвідчили, що у кіндлінгових щурів під впливом застосування пітолізанту та піоглітазону спостерігалось відновлення локомортної дослідницької рухової активності, зростання числа пересічених квадратів, зокрема центральних, а також вертикальних стійок, зменшення числа болюсів, що є свідченням протитривожної дії препаратів. Вказані ефекти були більш виразними при сумісному застосуванні препаратів.

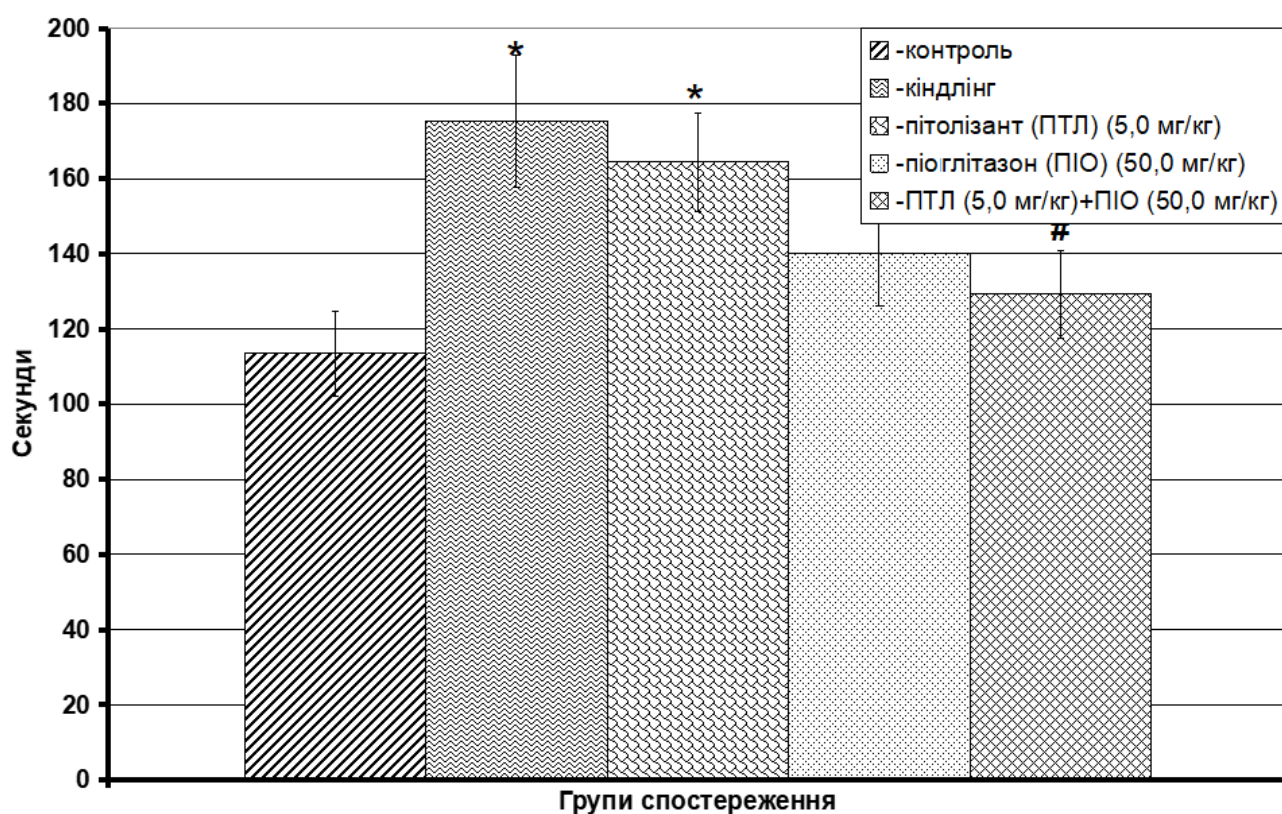


Рис. 4.3. Тривалість депресії в Порсолт тесті примусового плавання кіндлінгових щурів за умови застосування пітолізанту та піоглітазону

П р и м і т к и:

*- $P < 0,05$ – порівняно з контролем;

#- $P < 0,05$ – порівняно з групою кіндлінгових щурів (ANOVA+ Newman Keuls тест).

Порівняння тривалості депресії в плавному тесті Порсолта засвідчило подовження досліджуваного показника на 35,2 % порівняно до

групи контролю ($F_{(4, 39)}=5,13$; $P=0,002$) (рис. 4.3). За умови застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг тривалість депресії перевищувала таку в групі контролю на 31,0 % ($P<0,05$). На тлі застосування піоглітазону (50,0 мг/кг) досліджуваний показник був вищим на 19,0 % від інтактних щурів ($P>0,05$) і не мав достовірних відмінностей порівняно з кіндлінговими тваринами ($P>0,05$) (рис. 4.3). Сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало зниження досліджуваного показника – на 26,2 % порівняно з групою кіндлінгових щурів ($P<0,05$) (рис. 4.3).

Таким чином, отриманий результат засвідчив, що пітолізант в дозі 5,0 мг/кг не викликав антидепресивного впливу в тесті примусового плавання Порсолта, в той час як піоглітазон в дозі 50,0 мг/кг викликав зниження депресивних проявів. Сумісне застосування препаратів супроводжувалось виникненням більш виразного антидепресивного ефекту.

4. 4. Показники навчання у щурів із судомним синдромом на тлі експериментального лікування

Зважаючи на погіршення процесів навчання у щурів із хронічним епілептичним синдромом [33, 37], завданням окремої частини досліджень було вивчення когнітивних функцій кіндлінгових щурів в тесті активного уникнення, а також визначення здатності до розпізнавання нових об'єктів за індексом дискримінації (ІД) [178].

4.4.1. Особливості активного уникнення та розпізнавання нових об'єктів за умов формування кіндлінгу

Зважаючи на тривалий період відтворення кіндлінга, завданням окремої частини роботи було дослідження відтворюваності навички активного уникнення у щурів із розвиненим кіндлінгом після трьох тижневого періоду з моменту формування реакції активного уникнення (рис. 4.2). Щурам групи контролю після відтворення реакції активного уникнення протягом трьох тижнів в/очер застосовували 0,9 % фізіологічний розчин NaCl.

До спостереження залучали щурів, у яких після 21-го застосування ПТЗ спостерігались генералізовані тоніко-клонічні судомні напади.

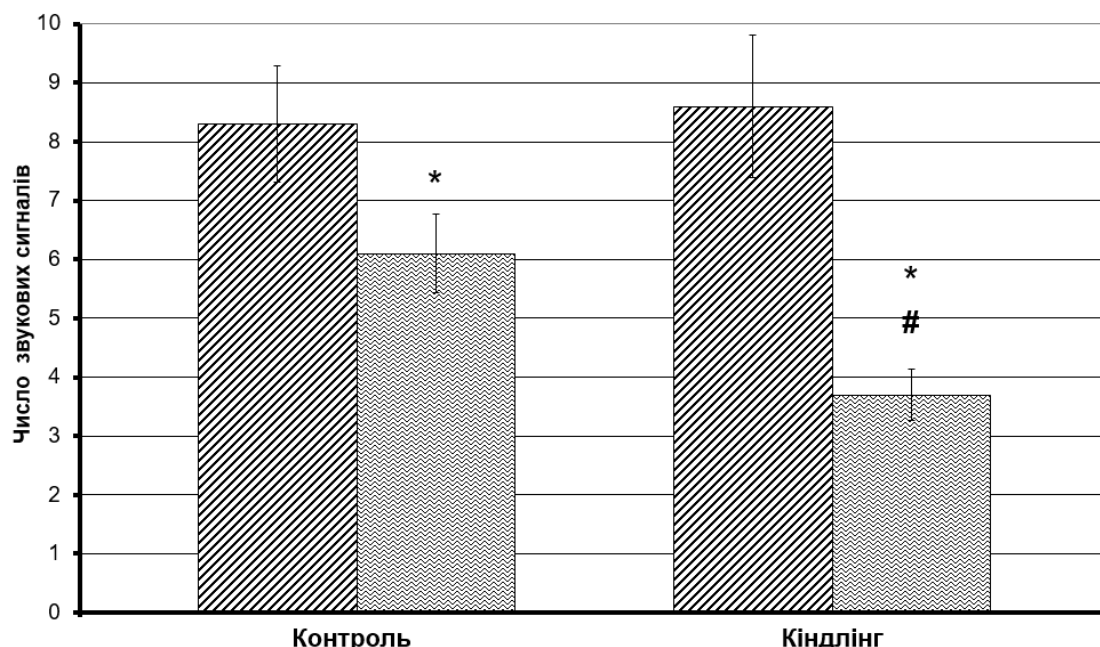


Рис. 4.4. Відтворюваність навички активного уникнення у щурів після трьохтижневого моделювання ПТЗ-індукованого кіндлінгу

П р и м і т к и:

*- $P < 0,05$ порівняно до початку введення 0,9 % фізіологічного розчину NaCl (контроль) та ПТЗ (кіндлінг);

#- $P < 0,05$ порівнянні з відповідною групою контролю (ANOVA+Newman-Keuls тест).

Перший стовпчик – до початку формування кіндлінгу; другий стовпчик – через 24 г з моменту 21-го застосування ПТЗ.

В групі контролю число звукових сигналів, на які спостерігалась реакція до тритижневої перерви складало $8,32 \pm 0,91$, в той час як після тритижневої перерви цей показник знижувався на 26,7 % ($P < 0,05$). В групі щурів із ПТЗ-модельованим кіндлінгом зниження порівняно з вихідним рівнем $8,63 \pm 1,27$ складало 57,0 % ($P < 0,05$). Досліджуваний показник також був меншим, у порівнянні з групою контролю після тритижневої перерви на 39,32 % ($P < 0,05$). (рис. 4.4).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що за умов формування кіндлінгу спостерігається виразне зниження навички активного уникнення, що свідчить про порушення механізмів пам'яті на тлі повторних судом, які характеризуються досягненням максимальних судомних генералізованих проявів.

4.4.2. Порівняльна ефективність пітолізанту на показники активного уникнення та індекс дискримінації за умов відтворення гострих та хронічних судом

Завданням даної частини досліджень було вивчення особливостей відтворення реакцій активного уникнення у щурів на моделі гострих судом, викликаних максимальним електрошоком (МЕШ) та хронічних судомних проявів у щурів з ПТЗ-індукованим кіндлінгом. Крім того, завданням досліджень також було порівняння виразності впливу пітолізанту на показники активного уникнення, а також індексу дискримінації (ІД) у щурів з гострими максимальними електрошоковими судомами (МЕС) та ПТЗ-викликаним кіндлінгом.

Число звукових сигналів, на які спостерігалась реакція активного уникнення у щурів із МЕС складала $1,54 \pm 0,23$ і була в 5,7 раза меншим порівняно з групою контролю ($P < 0,05$) (рис. 4.5). Застосування пітолізанту дозою 0,5 мг/кг, в/очер супроводжувалось зростанням досліджуваного показника – на 52,2 % ($P < 0,05$), який, однак, залишався меншим порівняно з контролем на 63,2 % ($P < 0,05$). На тлі застосування пітолізанту (3,0 мг/кг, в/очер) число ефективних звукових сигналів зростало до $5,73 \pm 0,41$, що перевищувало показник у щурів із МЕШ на 73,1 % ($P < 0,05$), але залишалось на 29,6 % меншим порівняно з групою контролю.

У щурів із ПТЗ-викликаним кіндлінгом досліджуваний показник на початок експерименту був меншим порівняно з групою контролю на 59,8 % ($P < 0,05$) і на тлі застосування нижчої дози пітолізанту відмінності з групою контролю (0,5 мг/кг, в/очер) склали 44,0 % ($P < 0,05$) (рис. 4.5). По осі абсцис –

групи спостереження, МЕШ – максимальний електрошок, по осі ординат – досліджуваний показник. В групі контролю – перший стовпчик – інтактні щури із в/очер введенням 0,9 % фізіологічного розчину NaCl; другий та третій стовпчики – інтактні щури з в/очер введенням пітолізанту дозами 0,5 та 3,0 мг/кг, в/очер відповідно. В групах спостереження – перший стовпчик – щури із судомами та в/очер введенням 0,9 % фізіологічного розчину NaCl; другий та третій стовпчики – щури із судомами та застосуванням пітолізанту дозами 0,5 та 3,0 мг/кг, в/очер відповідно

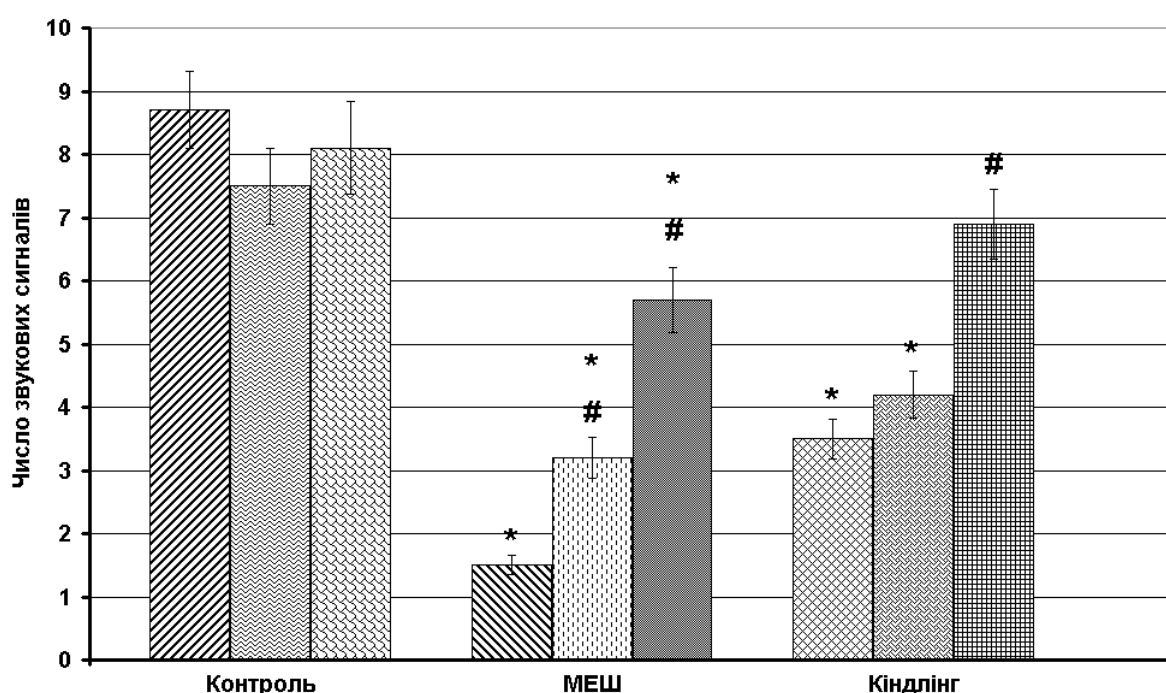


Рис. 4.5. Показники активного уникнення у щурів із судомами на тлі застосування пітолізанту

П р и м і т к и:

*- $P < 0,05$ порівняно з відповідною групою контролю;

#- $P < 0,05$ порівняно з групою з судомами без застосування пітолізанту (ANOVA+Neman-Keuls тест).

За умови застосування пітолізанту вищою (3,0 мг/кг, в/очер) дозою число звукових сигналів, на які спостерігались реакції активного уникнення

склали $6,92 \pm 0,71$, що на 49,4 % перевищувало показник, який реєстрували у щурів із розвиненим ПТЗ-кіндлінгом ($P < 0,05$) (рис. 4.5).

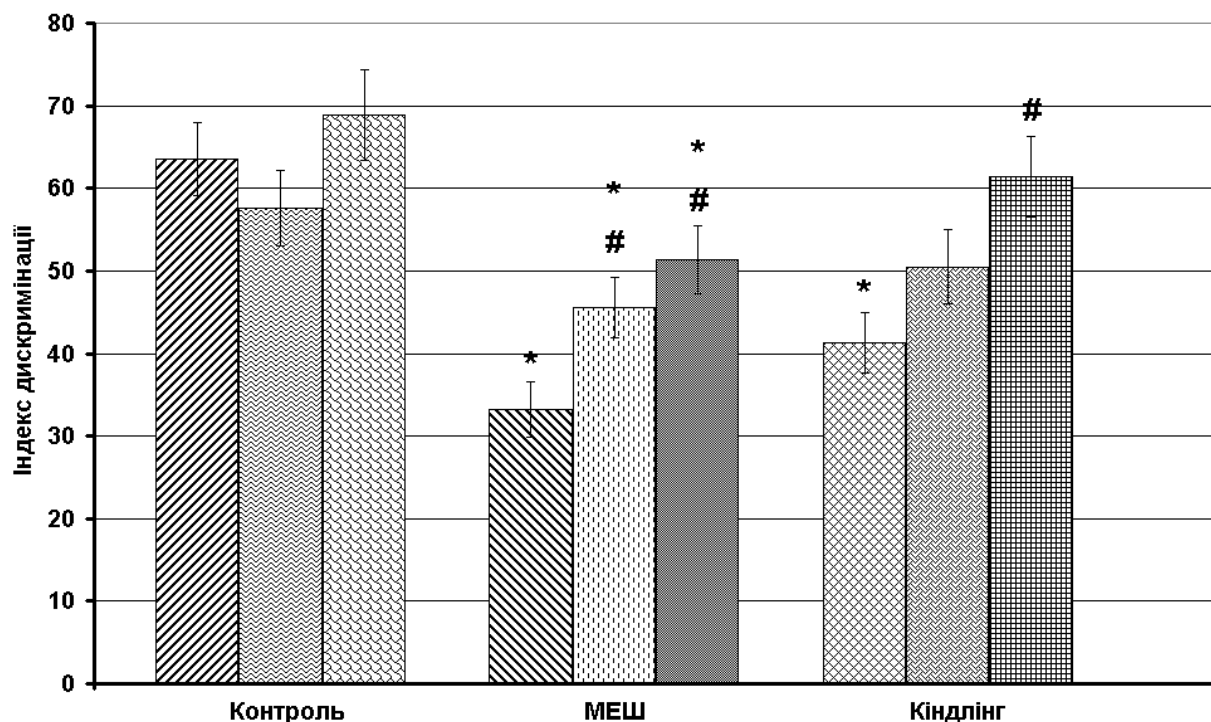


Рис. 4.6. Показник індексу дискримінації у щурів з судомами на тлі застосування пітолізанту

П р и м і т к и:

*- $P < 0,05$ порівняно з відповідною групою контролю;

#- $P < 0,05$ порівняно з групою з судомами без застосування пітолізанту (ANOVA+Neman-Keuls тест).

ІД у щурів, які перенесли МЕС, зменшувався порівняно з групою контролю на 47,7 % ($P < 0,05$) і складав ($33,21 \pm 3,14$) умовних одиниць (УО) (рис. 4.6). Застосування пітолізанту в дозі 0,5 мг/кг, в/очер супроводжувалось зростанням ІД до $45,6 \pm 3,8$, що перевищувало показник у щурів із МЕС на 27,2 % ($P < 0,05$), але залишалось меншим порівняно з групою контролю (введення 0,5 мг/кг пітолізанту інтактним щурам) на 20,1 % ($P < 0,05$). ІД на тлі застосування пітолізанту у дозі 3,0 мг/кг, в/очер перевищував показник у щурів із МЕС на 35,4 % ($P < 0,05$) та був меншим, ніж в групі контролю (введення пітолізанту в дозі 3,0 мг/кг, в/очер інтактним щурам) на 25,4 % ($P < 0,05$) (рис. 4.6).

У щурів із розвиненим ПТЗ-кіндлінгом ІД складав $(41,27 \pm 2,93)$ УО і був на 35,0 % меншим, ніж в контролі ($P < 0,05$) (рис. 4.6). На тлі застосування пітолізанту в нижчій дозі (0,5 мг/кг, в/очер) досліджуваний показник складав $(50,51 \pm 4,42)$ УО і залишався нижчим порівняно з групою контролю на 12,3 %, ($P > 0,05$). За умови застосування пітолізанту дозою 3,0 мг/кг, в/очер ІД перевищував такий в групі кіндлінгових щурів на 32,7 % ($P < 0,05$) і не відрізнявся від показника в групі контролю ($P > 0,05$) (рис. 4.6).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що розвиток хронічних судом – ПТЗ-індукованого кіндлінгу викликає зниження навички активного уникнення, здатності щурів розпізнавати нові об'єкти в дискримінантному тесті, виразність якого є відносно меншою порівняно з впливом гострих генералізованих судом, викликаних МЕС. Відповідні порушення усуваються при застосуванні піоглітазону, що свідчить про важливе значення гістамін-залежних механізмів у відтворюваності навичок та покращенні навчання.

4.4.3. Активне уникнення у щурів із сформованим кіндлінгом на тлі застосування пітолізанту та піоглітазону

Зважаючи на встановлені в даному дослідженні синергічні впливи пітолізанту та піоглітазону на судомні прояви, а також визначені позитивні впливи пітолізанту на кіндлінг-провоковані порушення навички активного уникнення, завданням окремої частини досліджень було вивчення впливу сумісного застосування препаратів на показники активного уникнення. Спостереження впливу окремого та поєднаного застосування препаратів проводили на моделях гострих (МЕС) та розвинених генералізованих кіндлінгових судах.

4.4.3.1. Максимальні електрошокові судоми

В групі контролю більшість щурів – 8 із 12 (66,7 %) уникали електричного подразнення на електродній підлозі не менше, ніж на 80 %

тестових ввімкнень електричного подразнення (табл. 4.3). У щурів після МЕШ-викликаних судом не спостерігали вище п'яти уникнень на 10 подразнень і більшість щурів 9 із 12 (75,0 %) уникали лише один-три рази на 10 тестових подразненнях ($P < 0,05$).

Таблиця 4.3.

Активне уникнення у щурів із максимальними електрошоковими судомами за умов застосування пітолізанту та піоглітазону

	Групи спостереження	Число тестувань з позитивними реакціями активного уникнення										P (Kruskal Wallis+ Dunn)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	Інтактні щури (n=12)	-	-	-	-	-	2	2	3	3	2	
2	МЕС (n=12)	3	4	2	2	1	-	-	-	-	-	
3	Пітолізонт (5,0 мг/кг) (n=11)	1	4	3	2	1	-	-	-	-	-	
4	Пітолізонт (10,0 мг/кг) (n=11)	-	4	1	3	2	1	-	-	-	-	
5	Піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=10)	-	3	3	2	1	1	-	-	-	-	
6	Пітолізонт (5,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=12)	-	1	2	4	2	2	1	-	-	-	$P_6 - P_1 = 0,0029$ $P_6 - P_2 = 0,010$;
7	Пітолізонт (10,0 мг/кг)+ піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=11)	-	-	2	3	2	2	1	1	-	-	$P_7 - P_1 = 0,02$; $P_7 - P_2 = 0,0018$;

П р и м і т к а. Показник “Р” наведений тільки для статистично підтвердженої достовірності відмінностей між відповідними групами.

На тлі застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) також більшість щурів - 8 із 11 (72,7 %) демонстрували активне уникнення на 1-3 подразнення з 10 ($P > 0,05$). В той же час на тлі застосування пітолізанту вищою дозою (10,0 мг/кг) 5 із 11 щурів (54,5 %) уникали 4-6 подразнень із 10 ($P > 0,05$). На тлі застосування

піоглітазону (50,0 мг/кг) у 4 із 10 щурів (40,0 %) уникнення спостерігали у відповідь на 4-6 подразнень із 10 ($P>0,05$).

За умов сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) 9 із 12 щурів уникали подразнень у відповідь на 3-6 подразнень із 10, що достовірно перевищувало показник в групі із застосуванням МЕШ ($P=0,01$) і залишалось нижчим від показника в групі контролю ($P=0,003$).

Застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало підвищення числа уникнень, яке реєстрували у 9 із 11 щурів (81,8 %) у відповідь на 4-8 подразнень із 10 ($P=0,002$). Однак зберігались відмінності порівняно з групою контролю ($P=0,02$) (табл. 4.3).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що порушення активного уникнення, яке було викликане МЕШ судомами у інтактних щурів значно покращувалось на тлі застосування пітолізанту у поєднанні із піоглітазоном.

4.4.3.2. Кіндлінг-провоковані генералізовані судоми

Завданням наступної частини дослідження було вивчення активного уникнення у щурів із сформованим ПТЗ-індукованим кіндлінгом на тлі застосування пітолізанту та піоглітазону.

Більшість щурів групи контролю (повторні в/очер введення 0,9 % фізіологічного розчину NaCl) – 8 із 10 (80,0 %) демонстрували активне уникнення у відповідь на 8-10 подразнень електричним струмом (табл. 4.4). Натомість, 8 щурів із 9 (88,9 %), у яких було сформовано хронічні кіндлінгові судоми відповідали уникненням на 2-4 подразнення із 10, що було достовірно нижче у порівнянні з контролем ($P<0,0001$). Подібні достовірні відмінності у порівнянні з контролем зберігались в групах із окремим застосуванням препаратів на рівні ($P<0,0001$).

Таблиця 4.4.

Активне уникнення у щурів із ПТЗ-індукованим кіндлінговим синдромом за умов застосування пітолізанту та піоглітазону

	Групи спостереження	Число тестувань з позитивними реакціями активного уникнення										P (Kruskal Wallis+ Dunn)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	Інтактні щури (n=10)	-	-	-	-	-	-	2	3	4	1	$P_1-P_2 < 0,0001$
2	Кіндлінг (n=9)	-	2	3	4	-	-	-	-	-	-	
3	Пітолізант (5,0 мг/кг) (n=9)	-	1	2	5	-	1	-	-	-	-	
4	Пітолізант (10,0 мг/кг) (n=8)	-	1	4	2	1	-	-	-	-	-	
5	Піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=10)	-	-	3	5	1	1	-	-	-	-	
6	Пітолізант (5,0 мг/кг) + піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=8)	-	-	2	4	-	1	1	-	-	-	
7	Пітолізант (10,0 мг/кг) + піоглітазон (50,0 мг/кг) (n=11)	-	-	1	3	4	1	2	-	-	-	$P_7-P_2 = 0,007$ $P_7-P_4 = 0,014;$

П р и м і т к а. Показник “Р” наведений тільки для статистично підтвердженої достовірності відмінностей між відповідними групами.

В групах із окремим застосуванням пітолізанту та піоглітазону достовірні відмінності порівняно до контролю реєструвались на рівні ($P < 0,01$). Причому окреме застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг супроводжувалось уникненням на 5 подразнень одного щура із 8 (12,5 %), а при введенні піоглітазону – у 2 із 10 (20,0 %) (табл. 4.4). За умови сумісного застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону дозою 50,0 мг/кг уникнення на 5-6 подразнень спостерігались у 25,0 % щурів (2 із 8), що також було менше від

контролю ($P < 0,01$). На тлі сумісного введення пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону дозою 50,0 мг/кг уникнення на 5-6 подразнень реєструвались у 63,6 % щурів (7 із 11), що біло достовірно менше порівняно з щурами із кіндлінгом за відсутності лікування ($P < 0,01$) (табл. 4.4).

Таким чином, отримані результати свідчать, що виразність протективного ефекту у щурів із кіндлінгом у відношенні до порушень активного уникнення при сумісному застосуванні, перевищує таку після окремого застосування препаратів, що може свідчити щодо синергічного механізму їх дії у відношенні до посилення мнестичних характеристик.

Висновки за розділом 4:

1. Пітолізант (3,0 мг/кг) викликав подовження латентного періоду засинання на 60,2 % ($P < 0,05$), та парадоксального сну на 34,2 % у кіндлінгових щурів ($P < 0,05$), усував кіндлінг-викликане скорочення тривалості парадоксального сну та його фрагментованості.

2. Сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг), та (50,0 мг/кг) відновлювало локомоторну активність щурів, а також загальне число стійок до рівня контролю, збільшувало число зазирань в отвори підлоги в 2,6 рази ($P < 0,05$) порівняно з кіндлінговими щурами, а також усувало кіндлінг-викликані порушення рефлексорних порушень, екзофтальму, підвищення м'язевого тону, відновлювало больову чутливість, скорочувало період депресивного плавання на 26,2 % порівняно з групою кіндлінгових щурів ($P < 0,05$).

3. Застосування пітолізанту дозою 3,0 мг/кг після МЕС викликало зростання числа звукових сигналів, яке викликало уникнення на 73,1 % ($P < 0,05$) і на 49,4 % у кіндлінгових щурів ($P < 0,05$). Індекс дискримінації (ІД) підвищувався відповідно на 35,4 % ($P < 0,05$) та на 32,7 % ($P < 0,05$). На тлі сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг)

уникнення реєструвались у 81,8 % щурів з МЕС у відповідь на 4-8 подразнень ($P<0,01$) та у 63,6 % кіндлінгових щурів у відповідь на 5-6 подразнень ($P<0,01$).

Результати даного розділу опубліковані в наступних роботах:

1. Єгоренко О.С. Коморбідні порушення циклу сну-несну у кіндлінгових щурів за умов застосування антагоніста H3-рецепторів пітолізанта. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2023; 22(3):11-15.
2. Єгоренко О.С., Первак М.П. Вплив пітолізанта та транскраніального подразнення постійним струмом на поведінку щурів з хронічним епілептичним синдромом в тесті «відкрите поле». *Актуальні питання транспортної медицини*. 2024; 3(77): 168-173. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, дизайн та проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).
3. Prybolovets K., Yehorenko O., Poshyvak O., Pinyazhko O., Godlevsky L. H3-histamine blockade strengthened rapamicyn abolishing of seizures and comorbidities in pentylenetetrazol (PTZ)-kindled rats. *Abstracts from the 17th World Congress on Controversies in Neurology, March 23-25, 2023, Dubrovnik, Croatia. "Restorative Neurology and Neuroscience."* 2023; 41(1-2):17. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).
- Yehorenko O.S., Pervak M., Latypov R. A., Prybolovets K., Shcheglov I.A., Godlevsky L.S. Daytime sleep - wakefulness cycle disturbances are effectively reversed with pitolisant in pentylenetetrazol-induced kindling. *Abstracts of World Congress in Neurology (WCN)-2023, 15-19 October, Monreal, Canada, Journal of the Neurological Sciences*. 2023;455:121569. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).
5. Єгоренко О. С., Годлевський Л. С. Цикл сну – несну кіндлінгових щурів за умов застосування модулятора H3 гістамінових рецепторів пітолізанта. в науковій конференції (18-19 травня 2023 *XXII читання В. В.*

Підвисоцького: Бюлетень матеріал року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2023. С.71-73.(Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

6. Єгоренко О.С., Первак М.П., Рябенюк О.Д. Структура постсудомного депресивного синдрому на тлі моделювання хронічного епілептичного синдрому за умов застосування пітолізанту. *Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології Клінічна фармакологія сьогодення: шляхи максимальної допомоги лікарській спеціальності, 9 - 10 листопада 2023 р. Вінниця – Україна.* С.55-57. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

7. Первак М.П., Єгоренко О.С. Порухення циркадіанних ритмів як модель коморбідних проявів при хронічній епілептизації мозку. *Актуальні питання біології та медицини : зб. наук. праць за матеріалами XVIII Всеукраїнської наукової конференції (м. Лубни, 02 червня 2023 р.).* Лубни : Вид-во ДЗ «ЛНУ імені Тараса Шевченка», 2023:160-162. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

8. Pervak M.P., Yehorenko O.S., Godlevsky L.S. Suppression of comorbid disorders in the model of chronic epileptic syndrome by combined use of rapamycin and pitolizant. *XXIII читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (16-17 травня 2024 року).* Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2024:16-17. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

9. . Pervak M.P., Yehorenko O.S., Onuphrienko O.V., Varava S.V., Litvinenko M.V., Godlevsky L.S. Cerebellar transcranial direct current stimulation (tDCS) and pitolizant prevented behavioral and neuroinflammatory disturbances in pentylenetetrazol (PTZ)-kindling. *Acta Neurobiologiae Experemintale.* 25-27 April 2024. 84: I–CLXVIII. https://ane.pl/index.php/ane/issue/view/271/2_

(Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

10. Годлевський Л.С., Єгоренко О.С. Вплив пітолізанту та піоглітазону на поведінку кіндлінгових щурів в міжнападному періоді. *XXIV читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (15-16 травня 2025 року)*. Одеса, 2025. С. 59-61 (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таким чином, отримані результати засвідчили важливу роль гістамінергічної системи мозку, а саме НЗ рецепторів в контролі збудливості мозку у щурів із хронічним епілептичним синдромом на моделі ПТЗ-кіндлінгу. Також модуляція НЗ рецепторів за допомогою антагоніста/інверсного агоніста НЗ рецепторів пітолізанту у щурів із гострими судомами, які викликані як за допомогою максимального електрошоку, так і застосуванням ПТЗ у достатньо великій дозі попереджає виникнення виразних судомних проявів, а також пригнічує спайк-хвильову судомну активність в структурах головного мозку.

Подібна протисудомна ефективність пітолізанту спостерігалась у пацієнтів із скроневою епілепсією, а також у хворих з судомним синдромом Прадер-Віллі резистентними до фармакотерапії, коли пацієнтам в загальному комплексі препаратів застосовували пітолізант [76, 98].

Також протисудомні впливи антагоністів НЗ рецепторів спостерігали на моделях гострих судомних проявів [64, 123, 254]. Пітолізант викликає зниження синхронізованої електричної активності кори головного мозку, знижує збудливість нейронів [115]. Крім того, пітолізант викликає зниження збудливості нейронів субчасткої звивини гіпокампа [229]. Отримані в даному дослідженні результати свідчать щодо доза-залежного пригнічення епілептичної активності у фронтальних відділах кори головного мозку за умови окремого застосування пітолізанту (5,0 та 10,0 мг/кг, в/очер).

На цій моделі визначено потенціювання протисудомного впливу пітолізанту на тлі його комбінованого застосування із агоністом PPAR-γ рецепторів піоглітазоном. Так, в групі із сумісним застосуванням препаратів – пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону дозою 50,0 мг/кг відсутність спайк-хвильової активності на другій годині спостереження спостерігалась у половини експериментальних тварин, що статистично достовірно відрізнялось від груп щурів із окремим застосуванням препаратів ($P < 0,05$). Крім того,

динаміка показника потужності епілептичних вогнищ, викликаних в корі головного мозку застосуванням ПТЗ дозою 50,0 мг/кг також підтвердила синергічний характер протисудомного впливу сумісного застосування пітолізанту (5,0 та 10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг). Так, на тлі сумісного застосування препаратів потужність вогнищ в період першої години спостереження була достовірно меншою у порівнянні з контролем: на 10-й хв з моменту застосування ПТЗ досліджуваний показник був на 65,0 % нижчим, ніж в контролі ($P < 0,05$). В цей період відмінності у порівнянні до груп із застосуванням одного пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) складала 61,4 та 65,7 % ($P < 0,05$) відповідно і достовірність відмінностей зберігалась впродовж двогодинного спостереження. Крім того, визначено зростання виразності протисудомного впливу при застосуванні більш високої дози пітолізанту (10,0 мг/кг) з піоглітазоном (50,0 мг/кг).

Спайкова та спайк-хвильова активність в структурах фронтальних відділів кори головного мозку амплітудою від 1,0 до 2,0 мВ супроводжується міоклонічними судомами м'язів тулуба та кінцівок. Тобто йдеться про модель гострих проявів міоклонічної епілепсії, у відношенні до якої пітолізант та піоглітазон виявляють посилену протисудомну дію за умов формування міоклонічних форм судомних проявів.

Таким чином, дослідження впливу пітолізанту на моделі гострої вогнищевої активності, викликані застосуванням ПТЗ дозою 50,0 мг/кг, в/очер свідчить щодо протисудомної ефективності пітолізанту, а також піоглітазону, так і виникнення розвитку синергічного протисудомного впливу за умови сумісного застосування препаратів.

Зважаючи на синергію препаратів, необхідно зазначити, що агоністи PPAR- γ рецепторів є препаратами, які викликають нейропротекторну, протизапальну, а також протисудомну дію за умов моделювання кіндлінга [113], а також на моделі пілокарпін-літієвої хронічної епілептичної активності [117, 219]. Автори визначають здатність розіглітазону знижувати активність

ендогенної системи прозапальних цитокінів. Також нейропротекторна дія агоністів PPAR- γ рецепторів пов'язана із антиоксидантним, протизапальним впливом [1, 198, 251]. Піоглітазон попереджає виникнення ПТЗ-кіндлінгових судом у мишей [48, 90], щурів [179] з можливістю реалізації протисудомного впливу через mTOR залежний сигнальний шлях [179, 180].

На моделі стрес-індукованого депресивного синдрому застосування розіглітазону викликало зниження нейрональної аутофагії, а також попереджало апоптоз астроцитів, що також є свідченням нейропротекторної дії [262]. Важливо зазначити, що антагоністи НЗ рецепторів також здійснюють протизапальний вплив безпосередньо на мікроглію [135, 209, 225], що може складати функціональну основу синергічного впливу пітолізанту та піоглітазону.

За умов відтворення більш виразних поведінкових проявів судом, зокрема гострих тоніко-клонічних судом, провокованих застосуванням ПТЗ дозою 80,0 мг/кг, в/очер, протисудомна дія пітолізанту була менш виразною і реєструвалась лише у вигляді подовження латентності перших судом на 17,7 % ($P < 0,05$) при застосуванні лише дозою 10,0 мг/кг, в/очер за відсутності впливу на тяжкість судом. Подібний менш виразний вплив реєструвався на тлі застосування піоглітазону (50,0 мг/кг), коли подовження латентності судом складало 12,0 % ($P < 0,05$). Однак, сумісне застосування патолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) попереджало генералізовані судомні напади у половини експериментальних тварин, і достовірно знижувало тяжкість судом у порівнянні як з групою контролю, так і з групою із застосуванням пітолізанту дозою 5,0 мг/кг) ($P < 0,05$), що вказує на формування більш виразного протисудомного впливу порівняно з окремим застосуванням досліджуваних препаратів.

Подібне взаємне посилення спостерігалось у відношенні до латентності генералізованих іктальних потенціалів, викликаних застосуванням ПТЗ дозою 80,0 мг/кг. Так, на тлі введення пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0

мг/кг) досліджуваний показник зростав на 50,0 % ($P<0,05$) порівняно з групою контролю та перевищував аналогічний показник у щурів із застосуванням піоглітазону (50,0 мг/кг) ($P<0,02$). За умови сумісного застосування препаратів не відбувалось змін тривалості іктальних потенціалів, що є свідченням більш значної резистентності гострих генералізованих судом, викликаних ПТЗ дозою 80,0 мг/кг порівняно з впливом на вогнищеву гостру активність, індуковану ПТЗ дозою 50,0 мг/кг.

Окремим завданням було вивчення впливу пітолізанту, а також його сумісного застосування з піоглітазоном на моделі максимальних електрошокових судом (МЕС), які є класичною для тестування протисудомних впливів препаратів [12, 31, 34, 46].

Проведені дослідження засвідчили, що застосування пітолізанту в обох дозах (5,0 та 10,0 мг/кг) викликало скорочення тривалості тонічної екстензії задніх кінцівок (ТЕЗК) – відповідно на 46,1 % ($P<0,05$) та на 63,0 % ($P<0,05$), а на тлі введення піоглітазону подібне зменшення тривалості тонічної екстензії складало 65,2 % ($P<0,05$). На тлі сумісного застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) тривалість ТЕЗК, зменшувалась порівняно з контролем в 5,38 раза ($P<0,05$) і одночасно була меншою у порівнянні з групою щурів із застосуванням пітолізанту дозою 5,0 мг/кг – в 2,9 раза ($P<0,05$) та пітолізанту дозою 10,0 мг/кг – в 2 рази ($P<0,05$), та в 1,87 раза ($P<0,05$) меншою порівняно до щурів із введенням піоглітазону (50,0 мг/кг). Також ТЕЗК попереджались у 7 із 10 щурів.

Сумісне застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало скорочення тривалості тонічної флексії на 35,3 % ($P<0,05$) порівняно з групою контролю, та була достовірно меншою порівняно з окремим застосуванням препаратів ($P<0,05$).

На тлі сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) тривалість клонічних судом скорочувалась на 23,8 % ($P<0,05$) порівняно з групою контролю. Одночасно досліджуваний показник був

меншим порівняно з групою щурів із застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) – на 20,0 % ($P<0,05$) та піоглітазону (50,0 мг/кг) – на 17,1 % ($P<0,05$). Сумісне введення пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) забезпечувало зменшення тривалості клонічних судом на 33,4 % порівняно з групою контролю ($P<0,05$). Досліджуваний показник був меншим порівняно з групою щурів із введенням пітолізанту дозою 10,0 мг/кг на 22,0 %, та порівняно з щурами із застосуванням піоглітазону дозою 50,0 мг/кг на 26,4 % ($P<0,05$).

Застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) скорочувало тривалість постсудомного чесального рефлексу на 46,6 % у порівнянні з групою контролю ($P<0,05$), та на 40,1 % порівняно з групою із застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг). За умови сумісного застосування пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) тривалість досліджуваного показника зменшувалась в 2,27 рази ($P<0,05$) порівняно з групою контролю, та одночасно була на 32,2 % меншою до групи із введенням пітолізанту (10,0 мг/кг) та на 47,7 % меншою порівняно з групою із застосуванням піоглітазону (50,0 мг/кг) ($P<0,05$).

Таким чином, модуляція НЗ рецепторів за допомогою пітолізанту супроводжувалась доза-залежним протисудомним впливом на моделі генералізованої судомної активності, викликаній електрошоковим подразненням. Зважаючи на важливе значення певних структур мозку, а саме ретикулярної частини чорної речовини в патогенезі генералізованих форм епілептичної активності [2, 10, 11, 21, 41, 44], зазначений ефект вказує на причетність гістамінергічних механізмів саме до функціонального стану вказаного відділу середнього мозку. Подібна можливість підтверджується як гетерорецепторами НЗ, які впливають, зокрема на дофамінергічну регуляцію з боку мезенцефалічних структур на структури гіпокампа [262].

Таким чином, досліджувані препарати виявляли протисудомну ефективність на моделі гострих електрошовкових судом, виразність якої

достовірно зростала при сумісному застосуванні препаратів та перевищувала таку з окремим їх застосуванням. Також важливою є залежність виразності протисудомної дії препаратів від тяжкості судомних проявів, які є менш виразними за умов формування гострих генералізованих клоніко-тонічних проявів.

Стосовно механізмів реалізації протисудомних впливів за умов модуляції гістамінергічних механізмів мозку на тлі гострих судом, необхідно зазначити перш за все провідне значення антиоксидантної дії піоглітазону, в той час як пітолізант не здійснює антиоксидантних впливів [98, 102]. Разом з цим, можливим є посилення ефектів пітолізанту на тлі зниження прооксидантних механізмів, а також зниження рівня прозапальних цитокінів [113, 117], викликаних піоглітазоном. Крім того, слід зазначити, що зниження антиоксидантного потенціалу, надмірне генерування вільних радикалів є універсальним механізмом розвитку численних захворювань, зокрема метаболічного синдрому, діабету, а також хронічного епілептогенезу [138, 140]. Корекція подібних порушень, з іншої сторони, також передбачає залучення численних регуляторних механізмів, які можуть бути кореговані як піоглітазоном, так і пітолізантом.

Можливим механізмом є активація ГАМК-ергічного гальмування при блокуванні НЗ рецепторів, яке забезпечує нейропротекторну та протисудомну дію на моделі NMDA викликаних судом [79]. Також важливо зазначити, що механізми, пов'язані із модуляцією реакції активації мікроглії, меншою мірою відносяться до розвитку протисудомних ефектів препаратів на моделях гострих судом, у зв'язку з чим в окремій частині дослідження вивчали вплив препаратів на моделі ПТЗ-викликаного кіндлінга, в патогенезі якого нейрозапалення відіграє провідну роль [234-236].

Курсове застосування пітолізанту та піоглітазону на моделі хронічного епілептичного синдрому засвідчило, що протисудомний ефект сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) визначався

після п'ятого чергового введення епілептогену у вигляді подовження латентності судом на 27,4 % ($P<0,05$). Подібні відмінності між групами зберігалися протягом наступних застосувань ПТЗ і після одинадцятої ін'єкції латентність судом була вищою від контролю на 37,1 % ($P<0,05$) та перевищувала показники в групах з окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) на 28,0 % ($P<0,05$) та на 30,1 % ($P<0,05$) відповідно. Зазначені відмінності між групами зберігались до 21-го введення ПТЗ та на тлі самостійного застосування піоглітазону (50,0 мг/кг), починаючи з 19-го введення епілептогена латентний період судом достовірно зростав на 27,2-29,3 % порівняно з групою контролю ($P<0,05$).

В ранньому періоді кіндлінгу, в період від четвертої до восьмої-дев'ятої ін'єкції ПТЗ протисудомна дія у вигляді зниження тяжкості судом реєструвалась лише в групі щурів, яким застосовували сумісне введення пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) і було відсутнім за умови їх окремого введення. Так, на тлі сумісного застосування пітолізанту та піоглітазону тяжкість судом після 9-го введення ПТЗ зменшувалась на 60,7 % порівняно з групою контролю ($P<0,05$) і була достовірно меншою порівняно з окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) - на 52,4 % та на 56,8 % відповідно ($P<0,05$). Достовірні відмінності між зазначеними групами були в подальшому до кінця спостереження. Важливо зазначити, що самостійне застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону також викликало достовірне зменшення тяжкості судом – відповідно після 11-го та 21-го застосування ПТЗ. Крім того, за умов комбінованого введення препаратів у щурів попереджались генералізовані тоніко-клонічні судомні реакції у порівнянні з групою контролю.

Таким чином, отримані результати засвідчили, що за динамікою показників латентності та тяжкості судомних проявів поєднане введення пітолізанту та піоглітазону викликало більш ранній розвиток протисудомного ефекту порівняно з окремим їх застосування. В той же час, протисудомні

ефекти окремого введення пітолізанту та піоглітазону, які спостерігались на пізніх етапах розвитку ПТЗ-кіндлінга, можуть бути свідченням кумулятивного, синергічного протизапального впливу досліджуваних препаратів.

Завданням окремої частини роботи було вивчення впливу пітолізанту, а також його сумісного застосування з піоглітазоном на прояви судом у щурів з розвиненим кіндлінгом, тобто за умов сформованого генералізованого судомного синдрому на тлі реалізованого запалення мозкової тканини.

За умов окремого застосування препаратів – пітолізанту дозою 10,0 мг/кг, а також піоглітазону (50,0 мг/кг) достовірно скорочувалась тривалість іктальних розрядів в корі головного мозку, що також спостерігалось при комбінованому застосуванні пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг).

На тлі сумісного введення пітолізанту та піоглітазону в дозах 5,0 та 50,0 мг/кг латентний період судом у щурів із розвиненим кіндлінгом перевищував його величину в контролі на 18,3 %, а в дозі пітолізанту 10,0 мг/кг – на 23,9 % ($P < 0,05$). В обох групах досліджуваний показник був більшим порівняно з групою з окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) – відповідно на 10,3 % та на 16,5 % ($P < 0,05$). Тяжкість судом при сумісному застосуванні піоглітазону та пітолізанту в обох досліджуваних дозах була достовірно нижчою порівняно з такою в групі контролю ($P < 0,02$).

Таким чином, за умови розвинених ПТЗ-викликаних кіндлінгових судом ефективним було як окреме застосування пітолізанту (10,0 мг/кг), а також піоглітазону (50,0 мг/кг), так і сумісне застосування препаратів, в той час як на моделі гострих судом, викликаних ПТЗ дозою 80,0 мг/кг, ефективним було лише комбіноване застосування препаратів. Порівняно із курсовим застосуванням препаратів в процесі формування кіндлінгу, вплив як пітолізанту, так і піоглітазону на розвинені кіндлінгові судоми був менш виразним, що може свідчити про важливу патогенетичну роль механізмів нейрозапалення на висоті формування розвинених кіндлінгових судом.

Ангіогенез є важливим компонентом розвитку нейрозапалення та формування хронічного кіндлінгового епілептичного синдрому [179], в той час як гістамін за певних умов набуває ангіогенної активності [72, 211, 218], а також забезпечує посилення проникності ГЕБ [55, 57, 63, 71, 82, 144, 150, 157, 244, 258]. Тому завданням окремої частини досліджень було вивчення ангіогенезу в тканині мозку кіндлінгових щурів за умов застосування пітолізанту, а також сумісного його застосування з піоглітазоном.

Дослідження виразності ангіогенезу у щурів із кіндлінгом засвідчило перевищення щільності мікросудин в корі головного мозку втричі порівняно з показником у групі контролю ($P < 0,05$). У той же час, на тлі застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) подібні відмінності були в 2,2 раза більшими від контролю ($P < 0,05$), причому одночасно досліджуваний показник був на 27,5 % меншим від такого у кіндлінгових щурів ($P < 0,05$). Застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) на тлі піоглітазону (50,0 мг/кг) зменшував відмінності порівняно з групою контролю, хоча показник залишався достовірно вищим на 25,1 % ($P < 0,05$) і одночасно був меншим на 55,2 % порівняно з таким у щурів із розвиненим кіндлінгом ($P < 0,05$) та на 39,5 % меншим порівняно з групою кіндлінгових щурів, яким застосовували пітолізант ($P < 0,05$).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що за умови кіндлінгу у щурів спостерігається посилений ангіогенез в структурах кори головного мозку, що є свідченням активного нейрозапалення, як провідного елемента патогенезу хронічного епілептичного синдрому. На тлі застосування пітолізанту подібні зміни зменшувались за своєю інтенсивністю, в той час як при сумісному застосуванні пітолізанту та піоглітазону виразність протективного ефекту щодо виникнення ангіогенезу значно посилювалась.

Сполуки з високою афінністю до H3 рецепторів виявляють протизапальну активність на моделі ліпополісахарид-індукованого запалення культури клітин BV-2, а також нейропротекторну та знеболювальну активність *in vivo* [212]. В роботі Zhou et al., [264] зазначається, що гістамін та

його центральні рецептори відіграють вирішальну роль у нейрозапаленні, тим самим модулюючи патологію нейродегенеративних захворювань. Подібний механізм може бути реалізований шляхом регуляції взаємодії мікроглії та астроцитів, пригнічення вироблення прозапальних цитокінів [225, 264]. У дослідженні Wang et al., [237] визначено, що інгібування НЗ рецепторів тіоперамідом знижує активність мікроглії та сприяє фенотипічному переходу клітин від прозапального до протизапального стану, і зрештою послаблює нейрозапалення, викликане ліпополісахаридом у мишей.

Загалом отримані результати свідчать щодо важливого значення НЗ-гістамінзалежних патогенетичних механізмів у формуванні хронічної епілептичної активності. Також отримані результати дозволили визначити ефективність пітолізанту-інверсного агоніста НЗ рецепторів щодо контролю епілептиформної активності, модельованої як у вигляді гострих вогнищевих, так і генералізованих судомних проявів. Пітолізант здійснює протисудомний вплив на моделі ПТЗ-індукованого кіндлінгу з більш виразним порівняно з гострими судомами ефектом.

Протисудомний вплив пітолізанту посилюється на тлі застосування піоглітазону, що може свідчити про синергію гістамінергічних та PPAR-γ залежних механізмів мозку в частині контролю судомних проявів. Одним із механізмів здійснення подібних впливів є попередження ангиогенезу, як прояву нейрозапалення при хронічній епілептичній активності. Також важливою в контексті можливого механізму синергії пітолізанту та піоглітазону є здатність антагоніста гістаміну НЗ рецепторів знижувати гіперглікемію, спричинену діабетом, виразність якої порівнюється зі здатністю метформіну – агоніста PPAR-γ рецепторів [49].

Епілепсія є захворюванням, яке супроводжується виникненням коморбідних станів, серед яких чільні місця займають тривожність, когнітивні розлади, а також депресія [3, 6, 8, 11, 13, 15, 16, 18, 20, 21, 23, 30, 41, 43, 47, 151, 161, 265]. Зважаючи на те, що пітолізант використовується з метою

лікування розладів циклу неспання-спання, а саме нарколепсії [129, 228], в дослідженні визначено особливості циркадіанних ритмів у щурів з хронічним епілептичним синдромом на тлі застосування пітолізанту.

Отримані результати засвідчили, що у щурів із розвиненим кіндлінгом спостерігалось зниження тривалості парадоксального сну до 7,1 % від загальної тривалості моніторингу циклу неспання-спання, що було менше від показника в контролі (12,5 %) ($P < 0,05$). Також зростало число циклів парадоксальної фази сну на 39,7 %, яке в контролі дорівнювало $12,33 \pm 3,56$ ($P < 0,05$), скорочувався латентний період парадоксального сну на 24,0 %, який в контролі складав $(50,3 \pm 5,3)$ хв ($P < 0,05$).

Отже, для моделі ПТЗ-індукованого кіндлінгу характерними були ефекти скорочення загальної тривалості парадоксального сну, а також латентного періоду його настання при збільшенні фрагментованості. Скорочення тривалості парадоксального сну за умов кіндлінгу також було встановлено в дослідженнях [39, 166, 200].

Застосування пітолізанту на моделі порушень циклу неспання-спання у ПТЗ-кіндлінгових щурів супроводжувалось ефектом зростання загальної тривалості фази ПС, а також зменшенням числа його фрагментів. Крім того, спостерігалось збільшення латентностей як засинання, так і виникнення парадоксального сну. Подібний характер впливу пітолізанту відповідає захисній адаптивній ролі, яку відіграє парадоксальний сон за умов впливу патогенних чинників, зокрема – за умови епілептизації головного мозку [39, 166, 204].

Слід зазначити, що єдиним джерелом гістамінергічних впливів на структури мозку є туберомамільна зона – гістамінергічні впливи поширюються на кору мозку. Таламус та кора, виходячи із морфологічного розподілу гістамінергічних терміналей, повинні мати дифузний вплив, результатом якого є виникнення пробудження (ароузаль-реакція) [67, 69, 172, 199, 241]. На сьогодні розглядають ключову роль орексину (гіпокртину), в

активації нейронів заднього гіпоталамуса в контексті взаємодії з гістамінергічними нейронами [69, 127].

Зниження активності гістамінергічної системи мозку, навпаки, призводить до домінування стану сну. Число гістамінергічних нейронів збільшується на тлі формування нарколепсії, однак залишається дискусійним питання щодо того, чи виникає за цих умов зростання вмісту гістаміну в тканині мозку [51, 204]. Подібні сумніви пов'язані із тим, що препарати, які збільшують вивільнення гістаміну, є ефективними щодо пригнічення надмірного сну, зокрема у хворих на нарколепсію [51, 199]. Можливим поясненням подібних протиріч є просторовий розподіл гістамінергічних терміналей та недифузний вплив на нейрони структур, відповідальних за механізми сну та неспання, а також просторові особливості здатності пітолізанту зумовлювати інверсні агоністичні впливи на гістамінові рецептори [199].

Проведене дослідження рефлексорних реакцій, стану очних симптомів, больової чутливості щурів з хронічним епілептичним синдромом за умов застосування досліджуваних препаратів дозволяє визначити нейрорегуляторні та опіатергічні компоненти відповідних порушень у міжнападковому періоді [7, 14, 22, 33].

На відміну від контролю у більшості кіндлінгових щурів через 24 год з моменту завершення формування кіндлінгу (21-а ін'єкція коразолу в дозі 35,0 мг/кг, в/очер) при піднятті за хвіст задні кінцівки були у приведеному до тулуба стані (86,7 %) ($P < 0,05$). Крім того, реєструвалось також приведення передніх кінцівок – розташування їх під тулубом у 13,3 % щурів. Також підвищення тону хвоста спостерігалось у 93,3 % у кіндлінгових щурів ($P < 0,001$), здатність утримання пози «місток», утримання на вертикальному стрижні та захоплення передніми лапами предметів реєструвалась відповідно у 12,5 % ($P < 0,001$), 33,3 % ($P < 0,001$) та у 40,0 % щурів ($P < 0,01$). Також прояви екзофтальму, яку демонструвало 40,0 % щурів ($P < 0,01$), спонтанні стрибання

(26,7 %), порушення рогівкового рефлексу та рефлексу прийняття вертикальної пози із положення на спині (13,3 % щурів).

Рефлекторні реакції відведення передніх кінцівок при піднятті за хвіст посилювались на тлі як самостійного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг), так і при комбінуванні пітолізанту (10,0 мг/кг) з піоглітазоном (50,0 мг/кг) – число щурів із зазначеними проявами зростало на 36,0 % та 42,0 % відповідно ($P < 0,05$). Достовірні відмінності числа щурів із екзофтальмом зберігались при окремому застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг, та піоглітазону (50,0 мг/кг), в той час як поєднане застосування препаратів зменшувало число щурів із екзофтальмом до 17,0 % що не відрізнялось від контролю ($P > 0,05$). Також пітолізант дозою 10,0 мг/кг зменшував число щурів з екзофтальмом до 27,3 % ($P > 0,05$).

Одним із найбільш поширених проявів постнападової депресії було підвищення тонуусу м'язів хвоста, яке мало місце у 93,0 % кіндлінгових щурів, та зменшувалось до 50,0 % за умови окремого застосування піоглітазону (50,0 мг/кг), а також його сумісного застосування з пітолізантом дозою 5,0 мг/кг ($P < 0,05$), хоча в обох випадках зберігались достовірні відмінності порівняно з групою контролю ($P < 0,05$). Лише на тлі сумісного введення пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) число щурів з гіпертонусом хвоста знижувалось до 27,0 % ($P < 0,05$), що не відрізнялось від показника в контролі ($P > 0,05$).

Зменшення числа щурів із приведенням задніх кінцівок порівняно з тулубом у кіндлінгових щурів спостерігалось за умови окремого застосування піоглітазону (50,0 мг/кг) до 30,0 % ($P < 0,05$), а також при сумісному застосуванні з піоглітазоном дозами 5,0 та 10,0 мг/кг – відповідно до 16,7 % та 18,2 % ($P < 0,05$). Причому, зазначені показники не відрізнялись від таких у інтактних щурів ($P > 0,05$). Відведення задніх кінцівок при піднятті за хвіст реєструвалось у всіх групах кіндлінгових щурів із застосуванням досліджуваних препаратів, але рівень достовірних відмінностей порівняно з

групою кіндлінгових щурів, які не отримували лікування, реєстрували лише при застосуванні піоглітазону дозою 10,0 мг/кг (36,4 %) ($P < 0,05$), а також при поєднаному застосуванні пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону дозою 50,0 мг/кг (45,5 %) ($P < 0,05$).

Таким чином, за умови формування кіндлінгу спостерігалось достовірне порівняно з групою контролю порушення 7 із 14 показників, які досліджували в якості інформативних щодо рефлексорної активності щурів. На тлі застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг достовірні відмінності зберігались для 6 показників. При введенні дози пітолізанту 10,0 мг/кг, або піоглітазону (50,0 мг/кг) достовірні відмінності реєструвались для 5 із 7 кіндлінг-викликаних порушень. На тлі сумісного застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) порушеними залишалось три показники, а при комбінованому застосуванні пітолізанту дозою 10,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) – лише два показники. Подібний результат засвідчує, що відновлення поведінкових рефлексорних реакцій відбувається за механізмом взаємного посилення впливів пітолізанту та піоглітазону.

Дослідження виразності реакцій щурів на механічне заціплення хвоста засвідчило, що на тлі сформованого хронічного епілептичного синдрому виразність больових реакцій суттєво зменшувалась [10, 11]. На тлі сумісного введення пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) у 20,0 % експериментальних тварин відновлювалась чутливість до больового подразника (3 бали), а виразність больової реакції не мала статистичних відмінностей від контролю ($P > 0,05$). За умови сумісного застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) третина кіндлінгових щурів відповідала максимальною больовою реакцією на больове подразнення і досліджуваний показник був достовірно нижчим порівняно з групою кіндлінгових щурів, а також до групи щурів ($P < 0,02$) із введенням пітолізанту дозою 5,0 мг/кг ($P < 0,02$).

Отримані результати, таким чином, свідчать щодо можливості контролю опіатергічних компонентів, а саме – екзофтальму, високого м'язевого тону та больової чутливості застосуванням пітолізанту. В цьому відношенні важливо зазначити, що застосування пітолізанту супроводжується підвищенням порогу больових відчуттів [145, 148, 173, 212, 255]. Важливим є встановлений факт посилення протибольового впливу на тлі застосування піоглітазону, можливим механізмом якого може бути здатність активації опіоїдних рецепторів викликати дегрануляцію мастоцитів [59, 60].

Дослідження поведінки щурів в тесті відкритого поля визначило зниження загального числа пересічених квадратів на 36,7 % порівняно з групою контролю ($P < 0,05$). Сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг), та (50,0 мг/кг) відновлювало локомоторну активність щурів до рівня контролю ($P > 0,05$), в той час як за умови окремого їх застосування досліджуваний показник залишався нижчим на 26,7 % та на 25,5 % відповідно ($P < 0,05$). Більш виразним чином знижувалась здатність кіндлінгових щурів пересікати внутрішні квадрати (в 2,12 раза), в той час як число пересічених зовнішніх квадратів знижувалось на 34,1 % ($P < 0,05$). Сумісне застосування препаратів більшою мірою відновлювало здатність пересікати зовнішні квадрати, яка залишалась незначно нижчою від контролю – на 4,7 % ($P > 0,05$), в той час як число пересічених внутрішніх квадратів було меншим від контролю ($P < 0,05$).

Загальне число стійок у щурів у кіндлінгових щурів було в 3,33 раза меншим, ніж в контролі ($P < 0,05$) і залишалось достовірно меншим при окремому застосуванні як пітолізанту – на 54,0 % ($P < 0,05$), так і піоглітазону – на 46,0 % ($P < 0,05$). На тлі сумісного застосування препаратів досліджуваний показник був вищим від такого у кіндлінгових щурів на 48,2 % ($P < 0,05$) і не відрізнявся від контролю ($P > 0,05$). Причому, число стійок з опорою, яке у кіндлінгових щурів було меншим від контролю в 3,86 раза ($P < 0,05$) залишалось нижчим за умови окремого застосування пітолізанту та піоглітазону – відповідно у 2,89 та 2,45 раза ($P < 0,05$), в той час як на тлі

сумісного застосування препаратів відмінності склали 58,0 % ($P < 0,05$) та одночасно досліджуваний показник залишався нижчим від контролю ($P < 0,05$).

Число стійок без опори у кіндлінгових щурів було на 52,6 % меншим, ніж в контролі і за умови окремого застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) показник зростав порівняно з групою кіндлінгових щурів вдвічі та в 2,33 раза відповідно ($P < 0,05$). На тлі сумісного застосування препаратів зростання досліджуваного показника складало в 2,89 раза ($P < 0,05$). Таким чином за умов окремого та поєднаного застосування препаратів число стійок без опори не мало відмінностей від контролю ($P > 0,05$).

Порівняння тривалості депресії в плавальному тесті Порсолта засвідчило подовження досліджуваного показника на 35,2 % порівняно з групою контролю ($P < 0,01$). Пітолізант дозою 5,0 мг/кг не викликав антидепресивного впливу, в той час як піоглітазон в дозі 50,0 мг/кг скорочував період депресивного плавання на 19,0 % ($P < 0,05$). Сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало зниження досліджуваного показника – на 26,2 % порівняно з групою кіндлінгових щурів ($P < 0,05$).

Число зазирань в отвори підлоги у кіндлінгових щурів було меншим в 2,33 раза порівняно з контролем ($P < 0,05$). Окреме застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) супроводжувалось зростанням досліджуваного показника порівняно з контролем – в 2,4 та в 2,0 рази відповідно ($P < 0,05$), в той час як сумісне введення препаратів викликало зростання в 2,6 раза ($P < 0,05$) порівняно з кіндлінговими щурами. Число болюсів у кіндлінгових щурів на 42,9 % перевищувало показник в групі контролю ($P < 0,05$). На тлі сумісного застосування препаратів досліджуваний показник зменшувався порівняно з таким у кіндлінгових щурів вдвічі ($P < 0,05$).

Таким чином, отримані результати досліджень поведінки щурів із хронічним епілептичним синдромом в тесті відкритого поля засвідчили наявність тривожності, депресивних локомоторних порушень, а також

зниження дослідницької активності тварин [10, 11]. Виразність подібних порушень усувалась під впливом пітолізанту і посилювалась на тлі сумісного його застосування із піоглітазоном.

Метою окремої частини дослідження було вивчення порушень когнітивних функцій на моделі ПТЗ-індукованого кіндлінгу, який відтворює судомні та поведінкові порушення притаманні хронічній формі епілептичного синдрому.

Дослідження впливу формування кіндлінгу на збереження навички активного уникнення засвідчило, що після трьохтижневого періоду моделювання кіндлінгу у щурів, яким було відтворено навичку активного уникнення число звукових сигналів, на які спостерігались реакції уникнення знижувалось на 57,0 % ($P < 0,05$), в той час як в групі контролю зниження складало 26,7 % ($P < 0,05$). Одночасно зниження числа уникнень у кіндлінгових щурів було меншим, ніж в контролі на 39,32 % ($P < 0,05$), що вказує на згасання відтворюваності навички активного уникнення після трьохтижневої перерви з моменту її формування.

Число звукових сигналів, на які спостерігалась реакція активного уникнення у щурів із МЕС була в 5,7 раза меншим, ніж в контролі ($P < 0,05$). Пітолізант (0,5 мг/кг, в/очер) збільшував досліджуваний показник на 52,2 % ($P < 0,05$), а в дозі 3,0 мг/кг, в/очер – на 73,1 % ($P < 0,05$) порівняно з вихідним рівнем. У щурів із ПТЗ-кіндлінгом досліджуваний показник був меншим порівняно з групою контролю на 59,8 % ($P < 0,05$) і на тлі застосування пітолізанту дозою 3,0 мг/кг число звукових сигналів, на які спостерігались реакції активного уникнення склали $6,92 \pm 0,71$ і на 49,4 % перевищували показник, який реєстрували у щурів із розвиненим ПТЗ-кіндлінгом ($P < 0,05$).

Індекс дискримінації (ІД) щурів з МЕШ був нижчим від контролю на 47,7 % ($P < 0,05$) і складав $(33,21 \pm 3,14)$ УО. ІД на тлі застосування пітолізанту (3,0 мг/кг, в/очер) перевищував показник у щурів із МЕШ на 35,4 % ($P < 0,05$) та був меншим, ніж в контролі на 25,4 % ($P < 0,05$). У щурів із ПТЗ-кіндлінгом

ІД складав $(41,27 \pm 2,93)$ УО і був на 35,0 % меншим, ніж в контролі ($P < 0,05$). На тлі застосування пітолізанту дозою 3,0 мг/кг, в/очер ІД перевищував такий в групі кіндлінгових щурів на 32,7 % ($P < 0,05$) і не відрізнявся від показника в групі контролю ($P > 0,05$).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що розвиток хронічних судом – ПТЗ-індукованого кіндлінгу викликає зниження навички активного уникнення, здатності щурів розпізнавати нові об'єкти в дискримінантному тесті, виразність якого є відносно меншою порівняно з впливом гострих генералізованих судом, викликаних МЕС. Відповідні порушення усуваються при застосуванні піоглітазону.

На тлі сумісного застосування пітолізанту (0,5 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) уникання у відповідь на 3-6 із 10 подразнень спостерігали у 9 із 12 щурів, що перевищувало показник в групі із МЕС ($P < 0,02$). Застосування пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало ефективні уникнення 81,8 % (9 із 11) у відповідь на 4-8 подразнень із 10 ($P < 0,01$).

У щурів, у яких формування навички здійснювали після виникнення розвиненого кіндлінгу, уникнення на 2-4 подразнення із 10 спостерігали у 8 із 9 щурів (88,9 %), в той час як в контролі 8 із 10 (80,0 %) щурів уникали у відповідь на 8-10 подразнень електричним струмом ($P < 0,0001$). За умови сумісного застосування пітолізанту дозою 0,5 мг/кг та піоглітазону дозою 50,0 мг/кг уникнення на 5-6 подразнень спостерігались у 25,0 % щурів (2 із 8), що було менше від контролю ($P < 0,01$). На тлі сумісного введення пітолізанту дозою 5,0 мг/кг та піоглітазону дозою 50,0 мг/кг уникнення на 5-6 подразнень реєструвались у 63,6 % щурів (7 із 11), що перевищувало показник у щурів із кіндлінгом без лікування ($P < 0,01$).

Слід зазначити, що відсутність ефективності окремого застосування препаратів та ефективна корекція порушень активного уникнення при сумісному їх застосуванні свідчить щодо синергічного механізму їх дії у відношенні до відновлення мнестичних характеристик. Отримані результати

також свідчать щодо більшої резистентності до корекції сумісними досліджуваними препаратами порушень навички активного уникнення, яку формували у щурів на тлі розвиненого кіндлінгу порівняно до гострих МЕС-судом.

Таким чином, отримані результати засвідчили, що за умови розвитку як гострих (максимальний електрошок), так і хронічних епілептичних проявів у щурів порушуються когнітивні функції, зокрема механізми пам'яті, а також відтворення відповідної навички активного уникнення. Слід зазначити, що виразність порушень когнітивних функцій за умов моделювання ПТЗ-кіндлінгу є менш виразними у порівнянні з МЕШ, але перевищує відповідні показники у щурів із електростимуляційним амігдалярним кіндлінгом [158].

Гістамін відіграє важливу роль в процесах навчання та пам'яті, через що модулятори рецепторів гістаміну, зокрема антагоніст/інверсний агоніст H3 пітолізант є перспективним терапевтичним засобом для покращення когнітивних порушень [52, 98]. В дослідженні Passani et al., [176] встановлена роль H3 рецепторів гістаміну локалізованих в дорсальному гіпокампі та базолатеральній мигдалині, в консолідації пам'яті. Визначено, що застосування антагоністів/інверсних агоністів H3 рецепторів здатні відновлювати когнітивні функції, викликати анксіолітичну та антидепресивну дію, а також усувати порушення циклу неспання – сну [22, 98].

Останнім часом визначена важлива роль активації H1 та H2 рецепторів, яку опосередковано викликає застосування пітолізанту, у відновленні когнітивних функцій [64, 207]. Пітолізант покращував показники просторової, непросторової пам'яті, а також пам'яті часового порядку в дискримінативному тесті розпізнавання нових об'єктів [61]. У дослідженні Jia et al., [128] встановлено, що блокатор H3 рецепторів тіоперамід усував мнемонічні розлади, які оцінювали за допомогою тестів на соціальну дискримінацію, акустичне викликання страху, водний лабіринт та пасивне уникнення у щурів із сформованим ПТЗ-кіндлінгом.

Механізми коригуючого впливу пітолізанту в порушенні короткочасної пам'яті можуть бути пов'язані із активацією холінергічних терміналей нейронів, на яких пресинаптично розташовані НЗ рецептори [184]. Однак, зважаючи на те, що рецептори НЗ розташовані на сертонінергічних, а також дофамінергічних терміналях, сумарний вплив пітолізанту може бути багатоплановим і стосуватися модуляції регуляторних функцій відповідних нейромедіаторних систем [115]. Так, в корекції коморбідних станів при ПТЗ-індукованому кіндлінгу важливу роль може відігравати активація ГАМК-ергічної регуляції, що спостерігається за умови застосування пітолізанту [115].

Тіоперамід – блокатор НЗ рецепторів попереджав спричинені нейрозапаленням порушення нейрогенезу в гіпокампі та когнітивних функцій [238]. Антагоністи НЗ рецепторів розглядаються в якості препаратів перспективних у відношенні до проявів хвороби Альцгеймера [225]. Слід зазначити, що позитивний вплив гістамінергічної системи на консолідацію пам'яті може бути пов'язаний із відновленням проникності ГЕБ, яка за умов хронічної епілептизації мозку виявляється підвищеною [63].

Таким чином, отримані результати свідчать щодо можливості корекції судомної активності – як гострих, так і хронічних форм, проявів нейрозапалення, а також коморбідних станів – тривожності, депресії, больової чутливості, когнітивних порушень за умов розвитку хронічного епілептичного синдрому застосуванням антагоніста/інверсного агоніста гістамінових НЗ-рецепторів пітолізанту. Ефективність корекції зростає за умови сумісного застосування пітолізанту з піоглітазоном, що є свідченням порушень взаємодії НЗ-гістамін-залежних механізмів та PPAR-γ сигнального регуляторного шляху як патогенетичного механізму виникнення та розвитку хронічного епілептичного синдрому.

ВИСНОВКИ

1. Сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало синергічну протисудомну дію на моделі гострих вогнищ епілептичної активності, викликаних ПТЗ дозою 50,0 мг/кг. На тлі сумісного застосування препаратів потужність вогнищ була достовірно меншою у порівнянні як з контролем ($P < 0,05$), так і з окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) відповідно на 61,4 та 65,7 % ($P < 0,05$).

2. На моделі максимальних електрошочових судом (МЕС) сумісне застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) скорочувало, тривалість тонічної екстензії задніх кінцівок – в 5,38 рази, тривалість клонічних судом зменшувалась на 23,8 % ($P < 0,05$), тривалість періоду чесального рефлексу зменшувалась в 2,27 рази ($P < 0,05$), що було достовірно менше у порівнянні з окремим застосування препаратів ($P < 0,05$).

3. Сумісне застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) викликало подовження латентного періоду гострих судом, індукованих ПТЗ дозою 80,0 мг/кг на 28,2 %, що перевищувало показники в групах із застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) – на 23,0 % та піоглітазону (50,0 мг/кг) – на 19,0 % ($P < 0,05$). Достовірне зниження тяжкості судом спостерігалось лише за умови сумісного застосування пітолізанту (10,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) ($P < 0,05$), а також подовжувалась латентність іктальних потенціалів на 49,7 % ($P < 0,05$).

4. Подовження латентного періоду судом на 27,4 % ($P < 0,05$), яке виникало на тлі сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) визначалось вже після п'ятого введення ПТЗ, а після одинадцятого застосування ПТЗ досліджуваний показник перевищував такі в групах із окремим застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) на 28,0 % ($P < 0,05$) та на 30,1 % ($P < 0,05$). За умов комбінованого введення

препаратів у щурів попереджались генералізовані тоніко-клонічні судомні реакції у порівнянні з групою контролю ($z=3,048$; $P=0,002$).

5. Ангіогенез як прояв запалення тканини головного мозку зазнає позитивну динаміку на тлі виникнення кіндлінгових судом і попереджається застосуванням пітолізанту (5,0 мг/кг) – зменшення щільності мікросудин складало 27,5 % ($P<0,05$) порівняно з групою кіндлінгових щурів. На тлі сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) зменшення досягало 55,2 % ($P<0,05$), а зниження вмісту HIF-1 α в структурах гіпокампа складало 38,6 % порівняно з кіндлінгом ($P<0,05$).

6. Пітолізант (3,0 мг/кг) викликав подовження латентного періоду засинання на 60,2 % ($P<0,05$), та парадоксального сну на 34,2 % у кіндлінгових щурів ($P<0,05$), усував кіндлінг-викликане скорочення тривалості парадоксального сну та його фрагментованості.

7. Сумісне застосування пітолізанту (5,0 мг/кг), та піоглітазону (50,0 мг/кг) відновлювало локомоторну активність щурів, а також загальне число стійок до рівня контролю, збільшувало число зазирань в отвори підлоги в 2,6 рази ($P<0,05$) порівняно з кіндлінговими щурами, а також усувало кіндлінг-викликані порушення рефлексорних порушень, екзофтальму, підвищення м'язевого тону, відновлювало больову чутливість, скорочувало період депресивного плавання на 26,2 % порівняно з групою кіндлінгових щурів ($P<0,05$).

8. Застосування пітолізанту дозою 3,0 мг/кг після МЕС викликало зростання числа звукових сигналів, яке викликало уникнення на 73,1 % ($P<0,05$) і на 49,4 % у кіндлінгових щурів ($P<0,05$). Індекс дискримінації (ІД) підвищувався відповідно на 35,4 % ($P<0,05$) та на 32,7 % ($P<0,05$). На тлі сумісного застосування пітолізанту (5,0 мг/кг) та піоглітазону (50,0 мг/кг) уникнення реєструвались у 81,8 % у відповідь на 4-8 подразнень ($P<0,01$) у

щурів із МЕС та у 63,6 % кіндлінгових щурів у відповідь на 5-6 подразнень ($P < 0,01$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Акімов О.Є., Костенко В.О. Оксидативно-нітрозативний стрес та методи його дослідження: навчально-методичний посібник. Львів: Магнолія; 2021. 152 с.
2. Аль-Надаві Н, Кресюн В.Й. Нейродегенеративні зміни сітківки щурів з хронічною формою епілептичного синдрому за умови застосування ніацин-оксіетилідендифосфонатогерманату (МІГУ-4). Офтальмологічний журнал. 2023;2(511):26-30.
3. Андронати С.А., Яворский А.С., Чепелев В.М. и др. Механизмы действия анксиолитических, противосудорожных и снотворных средств. – К.: Наукова думка, 1988. – 256 с.
4. Буреш Я, Бурешова О, Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа; 1991.- 400 с.
5. Вастьянов РС. Вплив блокаторів кальцієвих каналів на перебіг хронічної судомної активності за умов відтворення епілептичного статусу. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022;3(60):92-101.
6. Вастьянов РС. Німотоп та ріодипін пригнічують судомні реакції за умов кіндлінг-індукованої моделі епілептогенезу. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2023;1-2(71-72):272-278.
7. Вастьянов РС, Стоянов ОМ, О.М. Платонова, П.П. Єрмуракі, І.О. Остапенко, С.В. Татарко, В.О. Бібікова Патогенетичні механізми судомного синдрому за умов кіндлінг-спричиненої моделі епілептогенезу. Світ медицини та біології. 2021. № 1 (75): 181-186.
8. Воронина ТА, Неробкова ЛН, Авакян ГН и соавт. Поиск противэпилептических препаратов на основе представлений о механизмах формирования эпилептической системы. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2013;5(4):29-31.

9. Годлевський Л. Протиепілептична система. Праці Першого конгресу Української протиепілептичної ліги. Одеса, 18-20 вересня 1996. 19с.
10. Годлевский ЛС, Коболев ЕВ, Смирнов ИВ. Стимуляция мозга: механизмы прекращения судорожной активности. Одесса: Нептун Технология; 2006: 183 с.
11. Годлевский ЛС, Коболев ЕВ, Мустяца ВФ, Дроздова ГА. Моделирование и механизмы подавления экспериментального эпилептического синдрома. Одесса: КП ОГТ; 2010.350 с.
12. Головенко МЯ, Громов ЛО. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних протисудомних препаратів: Метод. рекомендації. К.: Авіценна; 2003.26 с.
13. Громов СА. Пароксизмальный мозг: периоды эпилептизации, контроля припадков и компенсации болезненного процесса. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2012;4(1):18–22.
14. Десятский ВВ. Плавательное поведение и агрессивность киндлинговых животных в условиях модуляции продукции оксида азота. Світ біології та медицини. 2011;1:14- 18.
15. Дзяк ЛА., Зенков ЛР, Кириченко АГ. Эпилепсия (руководство для врачей) К. : Книга-плюс; 2001. 168 с.
16. Дубенко АЄ, Смоланка ВІ, Сазонов СО і співав. Психіатричні аспекти епілепсії за даними реєстру епілепсії в Харківській та Закарпатській областях на 2017 рік. Український вісник психоневрології.- 2018. - Т.26, вип.4 (97) .- С.10-15.
17. Залевський СВ, Штриголь СЮ, Штриголь ДВ. Психотропні властивості та гостра токсичність 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрокіназолін-3(2Н)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду – перспективного антиконвульсанта Фармакологія та лікарська токсикологія.2021;15(6):
<https://doi.org/10.33250/15.06.363>

18. Зенков ЛР. Клиническая эпилептология (с элементами нейрофизиологии): Руководство для врачей. М.: ООО «МИА»; 2010. 408 с.
19. Зозуля ЮА, Лапоногов ОА, Сенько ЛН. Роль оксида азота в епілептогенезі. Журн. АМН України. 2007;13(2):201–215.
20. Зозуля ІС, Нечай АФ. Клініко-параклінічні зіставлення у дітей раннього віку з генералізованими епілептичними нападами Укр.неврол. журн. 2011;1: 61–65.
21. Евтушенко С, Омеляненко А. Клиническая ЭЭГ у детей. — Донецк: Донеччина; 2005. 860 с.
22. Єгоренко ОС. Коморбідні порушення циклу сання-несання у кіндлінгових щурів за умов застосування антагоніста Н₃-рецепторів пітолізанті. Клінічна та експериментальна патологія. 2023;22(3): 11-15.
23. Кащенко О.А., Ляшенко С.Л., Стоянов О.М., Шемонаєва К.Ф., Заяць Л.М., Татарко С.В. та інші Вплив вентрального гіпокампу на поведінку щурів протягом інтеріктального періоду пілокарпін-спричиненої хронічної судомної активності. Актуальні питання транспортної медицини.- 2023.-№3(73).- С.192-199.
24. Кащенко ОА, Ляшенко СЛ, Стоянов ОМ, Талалаєв КО, Заяць ЛМ та інші. Вплив фронтального відділу кори великих півкуль на формування несудомних форм поведінки при пілокарпін-індукованому хронічному епілептогенезі. Вісник морської медицини. 2023;2(99):135-145.
25. Копйова Н.В. Нейрофізіологія та когнітивні порушення при епілепсії. Перспективи та інновації науки (Серія “Медицина”). No 8(42) 2024 С. 1085-1095. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34))
26. Клименко Н.А., Татарко С.В., Шевченко А.Н. Обоснование модели хронизирующегося (вторично хронического) воспаления. Експериментальна і клінічна медицина. 2007.-вип.2. С.12-17.
27. Клименко МО. Низькоступеневе дифузне хронічне запалення. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022;3(69):7-19.

28. Кравченко ВІ, Венгренюк АВ, Чернінський АО. Протончутливі іонні канали: роль у високорівневих мозкових функціях. Фізіол. журн. 2023; 69(1):68-76.
29. Ларіонов В.Б., Акішева А.С., Головенко М.Я., Макаренко О.А., Борисюк І.Ю. Простагландіновий і брадикініновий механізми анальгетичної та протизапальної дії пропоксазепаму: дані молекулярного докінгу. Медичната клінічна хімія, 2022.- Т.4,№1.- С.9-19.
30. Литовченко ТА. Некоторые дискуссионные вопросы лечения эпилепсии. Здоров'я України. 2011;1:32–33.
31. Мироненко СІ, Піняжко ОР. Динаміка кіндлінг-провокованих судом у щурів за умов застосування похідних 4-тіазолідинону та діазепаму. Досягнення біології та медицини. 2015;1:63-67.
32. Мироненко СІ. Особливості плавальної поведінки щурів з пентиленететразоловим кіндлінгом за умов застосування похідних 4-тіазолідинону та акситинібу. Досягнення біології та медицини. 2016;1:7-12.
33. Остапенко ІВ. Вплив боінтеліксу на вираженість процесів пам'яті та навчання за умов хронічного епілептичного синдрому. Вісник морської медицини. 2022;2(95):432-441
34. Онуфриенко ОВ, Карасева ТЛ, Шандра АА. Влияние мелатонина и его сочетаний с противосудорожными препаратами на пентилентетразолов-вызванную судорожную активность у мышей. Одеський мед.журнал.2016;№ 3:12-17.
35. Первак МП. Особливості кіндлінгової судомної активності за умов транскраніального подразнення постійним струмом (ТППС) мозочка на тлі застосування кетаміну. Досягнення Біології та Медицини. 2019;(2): 9-14.
36. Погоріла ІВ. Ефекти роздільного та сумісного застосування похідного пептидамідобензофенону та діазепаму на показники рухової активності щурів у тесті відкритого поля. Світ медицини та біології. 2011;1:40-44.

37. Погоріла ІВ. Вплив похідного пептидамідобензофенону та діазепаму на поведінку активного уникнення щурів у післясудомному періоді. Інтегративна антропологія. 2011, 1(17), С. 61-64.
38. Прищепа ОО. Вплив кортикостерону на розвиток довготривалого пентиленететразолового кіндлінга. Вісник Вінницького нац. мед. університету.- 2014.- №2, Т.18.- С. 404-407.
39. Смірнов ІВ. Особливості циклу неспання- сання у щурів на різних стадіях відтворення коразолового кіндлінгу. Одеський медичний журнал.- 2008.- №2.- С. 20- 22.
40. Стрельнікова ЮС. Вплив рекомбінантного антагоніста інтерлейкін-1-рецепторів на кіндлінг-індуковану судомну активність. Інтегративна антропологія. - 2016. - № 1. - С. 65-68.
41. Тодорів ІВ, Пітик МІ. Лімбічна епілепсія – клініка, патогенез, лікування. Івано- Франківськ, Місто НВ.- 2007.- 163 с.
42. Укрінформ - дані ЕСОЗ щодо розповсюдженості епілепсії в Україні [Електронний ресурс]. 2025;25(6). Доступно на:<https://www.ukrinform.ua/rubric-health/3844852-v-ukraini-hvoriut-na-epilepsiu-ponad-169-tisac-ludej-nszu.html>
43. Хобзей НК, Мищенко ТС, Голик ВА, Гондуленко НА. Особенности эпидемиологии инвалидности при заболеваниях нервной системы в Украине. Міжнар. неврол. журн. 2011; 5:15–19.
44. Цимбалюк ВІ, Медведєв В, Сенчик Ю. Се.ге.беллум, або мозочок. Вінниця: Нова Книга, 2013, 272 с.
45. Шандра АА, Годлевский ЛС, Брусенцов АИ. Киндлинг и эпилептическая активность. Одесса: Атсропринт,- 1999.- 270 с.
46. Шандра АА, Копьёва НВ. Патологические механизмы развития спонтанной судорожной активности. Вісник психіатрії та психофармакотерапії. 2008;2(14):7- 17.

47. Шевченко О.М., Сич В.О., Шевченко О.О. Нейтрофільно-лімфоцитарне та лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення в периферичній крові щурів за вторинно хронічного запалення на тлі блокади рецепторів субстанції Р// Актуальні питання транспортної медицини.- 2024.-№1(75).-С.81-86.
48. Abdallah DM. Anticonvulsant potential of the peroxisome proliferator-activated receptor γ agonist pioglitazone in pentylenetetrazole-induced acute seizures and kindling in mice. *Brain Res.* 2010;1351:246-253.
49. Abdulrazzaq YM, Bastaki SMA, Adeghate E. Histamine H3 receptor antagonists – Roles in neurological and endocrine diseases and diabetes mellitus, *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2022;150:112947.
50. Akyuz E, Polat AK, Eroglu E et al. Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: An updated review. *Life Sciences.* 2021; 265:118826.
51. Alachkar A, Azimullah S, Lotfy M et al. Antagonism of histamine H3 receptors alleviates pentylenetetrazole- induced kindling and associated memory deficits by mitigating oxidative stress, central neurotransmitters, and c- Fos protein expression in rats. *Molecules [Internet].* 2020[cited 2023 Oct 23];25:1575.
52. Alhusaini M, Eissa N, Saad AK et al. Revisiting preclinical observations of several histamine H3 receptor antagonists/inverse agonists in cognitive impairment, anxiety, depression and sleep-wakefulness cycle *Front Pharmacol.* 2022;13:861094.
53. Alnuaimi S, Reljic T, Abdulla FS et al. PPAR agonists as add-on treatment with metformin in management of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2024;14(1):8809.
54. Ammon-Treiber S, Grecksch G, Angelidis C et al. Pentylenetetrazol-kindling in mice overexpressing heat shock protein 70. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2007;375(2):115-21.
55. Argaw AT, Zhang Y, Snyder BJ et al. IL-1 β regulates blood-brain barrier permeability via reactivation of the hypoxia-angiogenesis program. *J Immunol.* 2006;177:5574–84.

56. Arrigoni E, Fuller PM. The Role of the Central Histaminergic System in Behavioral State Control. *Curr Top Behav Neurosci*. 2022;59:447–468.
57. Asahi M, Wang X, Mori T et al. Effects of matrix metalloproteinase-9 gene knock-out on the proteolysis of blood-brain barrier and white matter components after cerebral ischemia. *J neuroscience: Off J Soc Neurosci*. 2001;21:7724–32.
58. Blandina P, Munari L, Provensi G, Passani MB. Histamine neurons in the tuberomamillary nucleus: A whole center or distinct subpopulations? *Front Syst Neurosci*. 2012;6:33.
59. Baldo BA, Pham NH. Histamine-releasing and allergenic properties of opioid analgesic drugs: resolving the two. *Anaesth. Intensive Care*. 2012;40(2):216-35.
60. Baldo BA, Pham NH. Opioid toxicity: histamine, hypersensitivity, and MRGPRX2. *Arch Toxicol*. 2023;97(2):359-375.
61. Barbosa FF, Silva RH. Chapter 18 - Immediate-Early Gene Expression in Neural Circuits Related to Object Recognition Memory, in: *Handbook of Behavioral Neuroscience*, Editor(s): Abdel Ennaceur, Maria Angelica de Souza Silva, Elsevier, 2018; 27: 261-271.
62. Baranoglu KY, Dilek M, Kilinc E et al. Capsaicin attenuates excitotoxic-induced neonatal brain injury and brain mast cell-mediated neuroinflammation in newborn rats. *Chem Biol Interact*. 2023;376:110450.
63. Bañuelos-Cabrera I, Guadalupe VDM, Aldana BI et al. Role of Histaminergic System in Blood–Brain Barrier Dysfunction Associated with Neurological Disorders, *Archives of Medical Research*. 2014; 45(8): 677-686.
64. Beheshti S, Wesal MW, Anticonvulsant activity of the histamine H3 receptor inverse agonist pitolisant in an electrical kindling model of epilepsy. *Neuroscience Letters*. 2022;782:136685.
65. Benetti F, Clarice KBS, Weber CS, et al. Histamine reverses a memory deficit induced in rats by early postnatal maternal deprivation, *Neurobiology of Learning and Memory*. 2012;97(1):54-58.

66. Bhowmik M, Khanam R, Vohora D. Histamine H3 receptor antagonists in relation to epilepsy and neurodegeneration: A systemic consideration of recent progress and perspectives. *British Journal of Pharmacology*/ 2012;167:1398–1414.
67. Blik V. Electric stimulation of the tuberomamillary nucleus affects epileptic activity and sleep–wake cycle in a genetic absence epilepsy model, *Epilepsy Research*. 2015;109:119-125.
68. Bozkurt AS. Bibliometric Analysis of the Published Studies on the Kindling Model between 1980 and 2023. *Eur J Ther*. 2023. 10.58600/eurjther.20232902-396.
69. Burgess CR, Histamine and orexin in the control of arousal, locomotion, and motivation. *Journal of Neuroscience*. 201;30(8):2810—2811.
70. Carthy E, Ellender T. Histamine, Neuroinflammation and Neurodevelopment: A Review. *Front. Neurosci*. 2021;15:680214.
71. Chen AQ, Fang Z, Chen XL et al. Microglia-derived TNF- α mediates endothelial necroptosis aggravating blood brain-barrier disruption after ischemic stroke. *Cell Death disease*. 2019;10:487.
72. Chen J, Liu G, Wang X et al. Glioblastoma stem cell-specific histamine secretion drives pro-angiogenic tumor microenvironment remodeling. *Cell Stem Cell*. 2022;29:1531–1546.e7.
73. Chen Z., Brodie M.J., Ding D., Kwan P. Editorial: epidemiology of epilepsy and seizure. *Front Epidemiol*. 2023; 3: 1273163.
74. Chen Y, Nagib MM, Yasmen N et al. Neuroinflammatory mediators in acquired epilepsy: An update. *Inflamm. Res*. 2023;72:683–701.
75. Chung WS, Allen NJ, Eroglu C. Astrocytes Control Synapse Formation, Function, and Elimination. *Cold Spring Harb. Perspect Biol*. 2015;7:a020370.
76. Collart DP, Ryvlin P, Kahane P et al. Exploratory Phase II Trial to Evaluate the Safety and the Antiepileptic Effect of Pitolisant (BF2.649) in Refractory Partial Seizures, Given as Adjunctive Treatment During 3 Months. *Clin Neuropharmacol*. 2016;39(4):188-93.

77. Corda MG, Orlandi M, Lecca D et al. Pentylentetrazol-induced kindling in rats: effect of GABA function inhibitors. *Pharmacol Biochem Behav.* 1991;40:329–333
78. Conti P, Ronconi G, Lauritano D et al. Impact of TNF and IL-33 Cytokines on Mast Cells in Neuroinflammation. *Int J Mol Sci.* 2024;25:3248.
79. Dai H, Fu Q, Shen Y et al. The histamine H3 receptor antagonist clobenpropit enhances GABA release to protect against NMDA-induced excitotoxicity through the cAMP/protein kinase A pathway in cultured cortical neurons, *European Journal of Pharmacology.* 2007;563(1–3):117-123.
80. Davoudi S, Brooks E, Mehmood A. Evolutionary Resilience and Strategies for Climate Adaptation, Planning Practice & Research. 2013;28(3):307-322.
81. del Zoppo GJ. Inflammation and the neurovascular unit in the setting of focal cerebral ischemia. *Neuroscience.* 2009;158:972–82.
82. Deli MA, Dehouck MP, Cecchelli R et al. Histamine induces a selective albumin permeation through the blood-brain barrier in vitro. *Inflammation research: Off J Eur Histamine Res Soc.* 1995; 44(Suppl 1):S56–7.
83. De Luca R, Suvorava T, Yang D et al. Identification of histaminergic neurons through histamine 3 receptor-mediated autoinhibition. *Neuropharmacology.* 2016; 106: 102–115.
84. De Nardo D. Activation of the innate immune receptors: Guardians of the micro galaxy: Activation and functions of the innate immune receptors. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1024:1–35.
85. de Souza AG, Filho AJMC, Oliveira JVS et al. Prevention of pentylentetrazole-induced kindling and behavioral comorbidities in mice by levetiracetam combined with the GLP-1 agonist liraglutide: Involvement of brain antioxidant and BDNF upregulating properties. *Biomed Pharmacother.* 2019;109:429-439.
86. de Toffol B, Trimble M, Hesdorffer DC et al. Pharmacotherapy in patients with epilepsy and psychosis. *Epilepsy Behav.* 2018;88:54-60.

87. Dong H, Zhang W, Zeng X et al. Histamine induces upregulated expression of histamine receptors and increases release of inflammatory mediators from microglia. *Mol neurobiology*. 2014;49:1487–500.
88. Dubenko A, Litovchenko T. Helping patients with epilepsy during a full-scale war 89. in the country: Some aspects of Ukrainian experience. *Seizure*. 2023;110:153-156.
- Ellenbroek BA. Histamine H₃ receptors, the complex interaction with dopamine and its implications for addiction. *Br J Pharmacol*. 2013;170:46–57.
90. El-Megiri N, Mostafa YM, Ahmed A et al. Pioglitazone Ameliorates Hippocampal Neurodegeneration, Disturbances in Glucose Metabolism and AKT/mTOR Signaling Pathways in Pentylenetetrazole-Kindled Mice. *Pharmaceuticals*. 2022;15(9):1113.
91. Erdoğan F, Küçük A, Gölgeli A et al. Assesment of The Effect of Pentylenetetrazole-induced Kindling on Behavior and Emotional Learning in Rats. *Arch Epilepsy*. 2007;13(2):66-72
92. Erkeç EO, Arihan O. Pentylenetetrazole Kindling Epilepsy Model Pentilentetrazol Tutuşma Epilepsi Modeli. *Epilepsi* 2015;21(1):6-12
93. Fellows EJ, Cook L. Conditioned avoidance response in psychotropic drugs. Ed. Gourattini S and Ghetti V. Elsevier, Amsterdam.- 1982, 396 pp.
94. Ferreira R, Santos T, Goncalves J et al. Histamine modulates microglia function. *J neuroinflammation*. 2012;9:90.
95. Fitzpatrick CJ, Morrow JD. Thalamic mast cell activity is associated with signtracking behavior in rats. *Brain behavior immunity*. 2017;65:222–9.
96. Flomin Y, Dubenko A, Dubenko O et al. Neurological Practice in the Time of War: Perspectives and Experiences from Ukraine. *Semin Neurol*. 2024;44(2):225-232.
97. Forsythe P, Bienenstock J. The mast cell-nerve functional unit: a key component of physiologic and pathophysiologic responses. *Chem Immunol Allergy*. 2012;98:196–221.

98. Freitas B, Teodoro TP. Neuropsychiatry of Histaminergic Circuits: Potential Role of Novel H3 Receptor Selective Antagonist/Inverse Agonist Pitolisant in Prader-Willi Syndrome. *Psychopharmacol Bull.* 2024;54(3):103-107.
99. Fujita A, Bonnavion P, Wilson MH et al. Hypothalamic Tuberomammillary Nucleus Neurons: Electrophysiological Diversity and Essential Role in Arousal Stability. *J Neurosci.* 2017;37:9574–9592.
100. Gadani SP, Walsh JT, Smirnov I et al. The glia-derived alarmin IL-33 orchestrates the immune response and promotes recovery following CNS injury. *Neuron.* 2015;85:703–9.
101. Garg D, Charlesworth L, Shukla G. Sleep and temporal lobe epilepsy – associations, mechanisms and treatment implications. *Front Hum Neurosci.* 2023;26(16):849899.
102. Ghamari N, Zarei O, Arias-Montaña JA et al. Histamine H3 receptor antagonist/inverse agonists: Where do they go? *Pharmacology and Therapeutics.* 2019; pp. 69-84.
103. Goda Y. Cadherins communicate structural plasticity of presynaptic and postsynaptic terminals. *Neuron.* 2002;35:1–3.
104. Godlevsky LS, Pinyazhko OR, Poshvyak OB. Cerebellar contribution to absence epilepsy. *bioRxiv.* 2020;11(10):376004.
105. Godlevsky L.S., van Luijelaar G., Shandra AA, Coenen AML. Causes and consequences of pathogenic processes in evolution: implications from experimental epilepsy in animals, *Medical Hypotheses*, Volume 58, Issue 3, 2002, Pages 237-243.
106. Gouveia FV, Germann J, Elias GJB et al. Multi-centre analysis of networks and genes modulated by hypothalamic stimulation in patients with aggressive behaviours. *Elife.* 2023;12:e84566.
107. Grote A, Heiland DH, Taube J et al. Hippocampal innate inflammatory gliosis only in pharmacoresistant temporal lobe epilepsy. *Brain* 2023;146:549–560.

108. Guzzo EFM., de Lima Rosa GAM, Domingues RB et al. Reduction of seizures and inflammatory markers by betamethasone in a kindling seizure model. *Steroids*. 2023;193: 109202.
109. Hagiyaama M, Furuno T, Hosokawa Y et al. Enhanced nerve-mast cell interaction by a neuronal short isoform of cell adhesion molecule-1. *J Immunol*. 2011;186:5983–92.
110. Harcha PA, Vargas A, Yi C et al. Hemichannels are required for amyloid β -peptide-induced degranulation and are activated in brain mast cells of APP^{swe}/PS1dE9 mice. *Journal of Neuroscience*. 2015;35:9526–9538.
111. Hatton GI, Yang QZ. Synaptically released histamine increases dye coupling among vasopressinergic neurons of the supraoptic nucleus: Mediation by H1 receptors and cyclic nucleotides. *J Neurosci*. 1996;16:123–129.
112. Hendriksen E, van Bergeijk D, Oosting RS, Redegeld FA. Mast cells in neuroinflammation and brain disorders. *Neurosci Biobehav Rev*. 2017;79:119–33.
113. Hesam E, Fouladi S, Zeyghami MA et al. Rosiglitazone Prevents the Development of Kindling by Modulating Inflammatory Cytokine Production and Brain Cell Apoptosis in Mice. *J Explor Res Pharmacol*. 2025;10(1):28–37.
114. Hirai T, Okuma C, Harada C et al. Development of amygdaloid kindling in histidine decarboxylase-deficient and histamine H1 receptor-deficient mice. *Epilepsia*. 2004;45:309–313.
115. Hirano K, Morishita Y, Minami M, Nomura H. The impact of pitolisant, an H₃ receptor antagonist/inverse agonist, on perirhinal cortex activity in individual neuron and neuronal population levels. *Sci Rep*. 2022;12(1):7015.
116. Hönack D, Löscher W. Kindling increases the sensitivity of rats to adverse effects of certain antiepileptic drugs. *Epilepsia*. 1995;36(8):763-71.
117. Hong S, Xin Y, HaiQin W et al. The PPAR γ agonist rosiglitazone prevents neuronal loss and attenuates development of spontaneous recurrent seizures through BDNF/TrkB signaling following pilocarpine-induced status epilepticus. *Neurochem Int*. 2013;63(5):405-12.

118. Hong GU, Cho JW, Kim SY et al. . Inflammatory mediators resulting from transglutaminase 2 expressed in mast cells contribute to the development of Parkinson's disease in a mouse model. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2018; 358:10–22.
119. Hough L.B. Histaminergic Cells of the Central Nervous System: Anatomy and Morphology. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW et al., editors. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6th ed. Lippincott-Raven; Philadelphia, PA, USA: 1999.
online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28098/>
120. Hryhorczuk D, Levy BS, Prodanchuk M, Kravchuk O, Bubalo N, Hryhorczuk A, Erickson TB. The environmental health impacts of Russia's war on Ukraine. *J Occup Med Toxicol*. 2024;19(1):1.
121. Hsieh JT, Rathore APS, Soundarajan G, St John AL. Japanese encephalitis virus neuropenetrance is driven by mast cell chymase. *Nat Commun*. 2019;10:706.
122. Hu WW, Chen Z. Role of histamine and its receptors in cerebral ischemia. *ACS Chem Neurosci*. 2012;3:238–47.
123. Hua Y, Song M, Guo Q et al. Antiseizure Properties of Histamine H₃ Receptor Antagonists Belonging 3,4-Dihydroquinolin-2(1*H*)-Ones. *Molecules*. 2023;28(8):3408.
124. Huang X, Lan Z, Hu Z. Role and mechanisms of mast cells in brain disorders. *Front Immunol*. 2024;15:1445867.
125. Iikura M, Suto H, Kajiwarra N et al. IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cells. *Lab investigation; J Tech Methods Pathology*. 2007;87:971–8.126.
126. Jang IS, Rhee JS, Watanabe T et al. Histaminergic modulation of GABAergic transmission in rat ventromedial hypothalamic neurones. *The Journal of Physiology*. 2001; 534: 791–803.

127. Jászberényi M, Thurzó B, Bagosi Z et al. The orexin/hypocretin system, the peptidergic regulator of vigilance, orchestrates adaptation to stress. *Biomedicines*. 2024;12(2):448.
128. Jia F, Kato M, Dai H et al. Effects of histamine H3 antagonists and donepezil on learning and mnemonic deficits induced by pentylentetrazol kindling in weanling mice, *Neuropharmacology*. 2006; 50(4): 404-411.
129. John J, Thannickal TC, McGregor R et al. Greatly increased numbers of histamine cells in human narcolepsy with cataplexy. *Ann Neurol*. 2013;74:786–793.
130. Jones MK, Nair A, Gupta M. Mast cells in neurodegenerative disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2019;13:171.
131. Kajita Y, Mushiake H. Dynamic changes in seizure state and anxiety-like behaviors during pentylentetrazole kindling in rats. *Epilepsy Behav*. 2024;159:110019.
132. Kaminska B, Mota M, Pizzi M. Signal transduction and epigenetic mechanisms in the control of microglia activation during neuroinflammation. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1862:339–351.
133. Kanner AM, Ashman E, Gloss D et al. Practice guideline update summary: Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs II: Treatment-resistant epilepsy: Report of the American Epilepsy Society and the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Epilepsy Curr*. 2018;18(4):269-278.
134. Karve IP, Taylor JM, Crack PJ. The contribution of astrocytes and microglia to traumatic brain injury. *Br J Pharmacol*. 2016;173:692–702.
135. Kempuraj D, Thangavel R, Selvakumar GP et al. Mast cell proteases activate astrocytes and glia-neurons and release interleukin-33 by activating p38 and ERK1/2 MAPKs and NF-kB. *Mol neurobiology*. 2019;56:1681– 93.
136. Kempuraj D, Ahmed ME, Selvakumar GP et al. Mast cell activation, neuroinflammation, and tight junction protein derangement in acute traumatic brain injury. *Mediators inflammation*. 2020;2020:4243953.

137. Klegeris, A. Regulation of neuroimmune processes by damage- and resolution-associated molecular patterns. *Neural Regen Res.* 2021; 16: 423–429.
138. Kostenko V, Akimov O, Gutnik O et al. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. *Heliyon*, 2023; 9(5e5551).
139. Koyuncu ID, Kilinc E, Tore F. Shared fate of meningeal mast cells and sensory neurons in migraine. *Frontiers in Cellular Neuroscience.* 2019;13:136.
140. Kozaeva R, Klymenko MO, Katrushov OV, Kostenko VO. Bioflavonoids as agents for correcting nitro-oxidative stress and salivary gland functions in rats exposed to alcohol during modeled lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response. *Wiad Lek.* 2022;75(3):685-690.
141. Kulka M, Sheen CH, Tancowny BP et al. Neuropeptides activate human mast cell degranulation and chemokine production. *Immunology.* 2008;123:398–410.
142. Kulka M, Fukuishi N, Metcalfe DD. Human mast cells synthesize and release angiogenin, a member of the ribonuclease A (RNase A) superfamily. *J leukocyte Biol.* 2009;86:1217–26.
143. Kuno M. *The Synapse: Function, Plasticity, and Neurotrophism*, online edn. Oxford Academic; Oxford, UK: 1994. Metabotropic receptors mediate slow synaptic responses; pp. 68–82.
144. Labus J, Häckel S, Lucka L, Danker K. Interleukin-1b induces an inflammatory response and the breakdown of the endothelial cell layer in an improved human THBMEC-based in vitro blood-brain barrier model. *J Neurosci Methods.* (2014) 228:35–45.
145. Łażewska D, Kieć-Kononowicz K. Progress in the development of histamine H3 receptor antagonist/inverse agonists: a patent review (2013-2017) *Expert Opin Ther Pat.* 2018;28(3):175-196.
146. Lee TS, Li AY, Rapuano A et al. Gene expression in the epileptic (el) mouse hippocampus. *Neurobiol Dis.* 2020;147:105152.

147. Lenz KM, Pickett LA, Wright CL et al.. Mast cells in the developing brain determine adult sexual behavior. *J neuroscience:Off J Soc Neurosci.*2018;38:8044–59.
148. Li Z, Xiao X, Xue Y et al. Discovery of a novel class of benzoxazole derivatives as histamine H₃ receptor ligands for the treatment of neuropathic pain. *Bioorg Chem.* 2022;127:106039.
149. Lin W, Xu L, Zheng Y et al. Whole-brain mapping of histaminergic projections in mouse brain. *Proc Natl Acad Sci.* 2023;120:e2216231120.
150. Liu X, Su P, Meng S et al. Role of matrix metalloproteinase-2/9 (MMP2/9) in lead-induced changes in an in vitro blood-brain barrier model. *Int J Biol Sci.* 2017;13:1351–60.
151. Long JJ, Ma J, Leung LS. Behavioral depression induced by an amygdala seizure and the opioid fentanyl was mediated through the nucleus accumbens. *Epilepsia.* 2009;50(8):1953-61.
152. Löscher W., Potschka H., Sisodiya S.M., Vezzani A. Drug resistance in epilepsy: clinical impact, potential mechanisms, and new innovative treatment options *Pharmacol Rev.* 2020;72(3):606-638.
153. Löscher W, Stafstrom CE. Epilepsy and its neurobehavioral comorbidities: Insights gained from animal models. *Epilepsia.* 2023;64(1): 54-91.
154. Lundius EG, Sanchez-Alavez M, Ghochani Y et al. Histamine influences body temperature by acting at H1 and H3 receptors on distinct populations of preoptic neurons. *The Journal of Neuroscience.* 2010; 30: 4369–4381.
155. Maurois P, Rocchi S, Pages N et al.. The PPARgamma agonist FMOC-L-leucine protects both mature and immature brain. *Biomed Pharmacother.* 2008;62(4):259-63.
156. Mazarati A. Can we and should we use animal models to study neurobehavioral comorbidities of epilepsy? *Epilepsy Behav.* 2019; 101:106566.

157. McKittrick CM, Lawrence CE, Carswell HV. Mast cells promote blood brain barrier breakdown and neutrophil infiltration in a mouse model of focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metabolism*. 2015;35:638–47.
158. Meeusen HRS, Kalf DWM, Broekaart JP et al. Effective reduction in seizure severity and prevention of a fatty liver by a novel low ratio ketogenic diet composition in the rapid kindling rat model of epileptogenesis *Experimental Neurology*. 2024; 379:114861.
159. Mele T, Juric DM. Identification and pharmacological characterization of the histamine H3 receptor in cultured rat astrocytes. *Eur J Pharmacol*. 2013;720:198–204.
160. Midzyanovskaya IS, Birioukova LM, Storvik M et al. The prefrontal cortex shows widespread decrease in H3 histamine receptor binding densities in rats with genetic generalized epilepsies. *Epilepsy Research*. 2022;182(2022): 106921.
161. Miziak B, Czuczwar SJ, Pluta R. Comorbid epilepsy and depression—pharmacokinetic and pharmacodynamic drug interactions. *Front Pharmacol*. 2022;13:988716.
162. Molina-Hernández A, Díaz NF, Arias-Montaña JA. Histamine in brain development. *J Neurochem*. 2012;122:872–882.
163. Moriwaki C, Chiba S, Wei H et al. Distribution of histaminergic neuronal cluster in the rat and mouse hypothalamus. *J Chem Neuroanat*. 2015;68:1–13.
164. Mortazavi F, Ericson M, Story D et al. Spatial learning deficits and emotional impairments in pentylenetetrazole-kindled rats, *Epilepsy & Behavior*. 2005;7(4):629-638.
165. Mukhtar I. Inflammatory and immune mechanisms underlying epileptogenesis and epilepsy: From pathogenesis to treatment target. *Seizure*. 2020;82:65–79.
166. Myronenko S, Pinyazhko O, Lesyk R. Effects of 4-thiazolidinone derivatives Les-2658 and Les-1205 on sleep – wakefulness cycle in kindled rats. *Eureka: Life Sciences*. 2017;1:51-6.

167. Naganuma F, Yoshikawa T. Organic Cation Transporters in Brain Histamine Clearance: Physiological and Psychiatric Implications. *Handb Exp Pharmacol*. 2021;266:169–185.
168. Nautiyal KM, Dailey CA, Jahn JL et al. Serotonin of mast cell origin contributes to hippocampal function. *The European Journal of Neuroscience*. 2012;36:2347–2359.
169. Nevitt SJ, Sudell M, Weston J et al. Antiepileptic drug monotherapy for epilepsy: a network meta-analysis of individual participant data. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;12(12):CD011412.
170. Nishida N, Huang ZL, Mikuni N et al. Deep brain stimulation of the posterior hypothalamus activates the histaminergic system to exert antiepileptic effect in rat pentylenetetrazol model. *Exp Neurol*. 2007; 205:132–144.
171. Niu J, Verkhratsky A, Butt A, Yi C. Oligodendroglia in Ageing and Age-Dependent Neurodegenerative Diseases. In: Yi, C., Butt, A., Verkhratsky, A., Niu, J. (eds) *Physiology and Pathophysiology of Oligodendroglia. Advances in Neurobiology*. 2025;43. Springer, Cham.
172. Nollet M, Hicks H, McCarthy AP et al. REM sleep's unique associations with corticosterone regulation, apoptotic pathways, and behavior in chronic stress in mice. *Proc Nat Acad Sci*. 2019;116(7):2733-42
173. Obara I, Telezhkin V, Alrashdi I, Chazot PL. Histamine, histamine receptors, and neuropathic pain relief. *Br J Pharmacol*. 2020;177(3):580-599.
174. Ocak U, Ocak PE, Wang A et al. Targeting mast cell as a neuroprotective strategy. *Brain injury*. 2019;33:723–33.
175. Panula P, Chazot PL, Cowart M et al. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCVIII. Histamine receptors. *Pharmacological Reviews*. 2015;67:601–655.
176. Passani MB, Benetti F, Blandina P et al. Histamine regulates memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem*. 2017;145:1-6.

177. Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Academic Press, San Diego. 1998.
178. Pérez-Silanes S, Martisova E, Moreno E et al. Novel Pitolisant-Derived Sulfonyl Compounds for Alzheimer Disease. *Int J Mol Sci.* 2024;25:799.
179. Pervak MP, Bukreeva NI, Kashchenko OA, Ryabenka OD, Godlevsky LS. Peculiarities of brain angiogenesis under pentylenetetrazol-induced kindling and cerebellar transcranial direct stimulation. *Odesa Medical Journal.* 2024;2:19-23.
180. Poshyvak O, Pinyazhko O, Godlevsky L, Pervak M, Yehorenko O et al. Immunohistochemical neuroinflammatory markers in the hippocampus of ptz-kindled rats under conditions of rapamycin and axitinib treatment. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 2023, 1 (44), P. 23–31.
181. Provensi G, Costa A, Passani MB, Chapter 29 - Histaminergic Modulation of Recognition Memory, Editor(s): A Ennaceur, MA de Souza Silva. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, Elsevier, 2018;27:415-445.
182. Puttonen HAJ, Semenova S, Sundvik M, Panula P. Storage of neural histamine and histaminergic neurotransmission is VMAT2 dependent in the zebrafish. *Sci Rep.* 2017;7:3060
183. Qin B, Peng Y, Zhong C et al. Mast cells mediate inflammatory injury and aggravate neurological impairment in experimental subarachnoid hemorrhage through microglial PAR-2 pathway. *Front Cell Neurosci.* 2021;15:710481.
184. Rani B, Silva-Marques B, Leurs R et al. Short- and Long-Term Social Recognition Memory Are Differentially Modulated by Neuronal Histamine. *Biomolecules.* 2021;11(4):555.
185. Ransohoff RM, Schafer D, Vincent A et al. Neuroinflammation: ways in which the immune system affects the brain. *Neurotherapeutics: J Am Soc Exp NeuroTherapeutics.* 2015;12:896–909.
186. Rizzi C, Tiberi A, Giustizieri M et al. NGF steers microglia toward a neuroprotective phenotype. *Glia.* 2018;66:1395–416.

187. Rocha SM, Saraiva T, Cristóvão AC et al. Histamine induces microglia activation and dopaminergic neuronal toxicity via H1 receptor activation. *J neuroinflammation*. 2016;13:137.
188. Rodríguez-Ruiz M, Moreno E, Moreno-Delgado D. et al. Heteroreceptor complexes formed by dopamine D1, histamine H3, and N-methyl-D-aspartate glutamate receptors as targets to prevent neuronal death in Alzheimer's disease. *Molecular Neurobiology*. 2017;54:4537–4550.
189. Rubio C, Gatica F, Portila A et al. Rats in Epilepsy Research: A Bibliometric Analysis of Citations Between 1969 and 2020 on Experimental Models in Epilepsy. *Cureus*. 2023;15(11):e48891.
190. Sadek B, Kuder K, Subramanian D et al. Anticonvulsive effect of nonimidazole histamine H3 receptor antagonists. *Behav Pharmacol*. 2014;25(3):245-52.
191. Sadek B, Saad A, Schwed JS et al. Anticonvulsant effects of isomeric nonimidazole histamine H3 receptor antagonists. *Drug Design, Development and Therapy*. 2016; 10:3633–3651.
192. Salin-Pascual R, Gerashchenko D, Greco M et al. Hypothalamic regulation of sleep. *Neuropsychopharmacol*. 2001;25(Suppl 1):S21–S27
193. Sanz P, Rubio T, Garcia-Gimeno MA. Neuroinflammation and Epilepsy: From Pathophysiology to Therapies Based on Repurposing Drugs. *Int J Mol Sci*. 2024; 25: 4161.
194. Saraiva C, Barata-Antunes S, Santos T et al. Histamine modulates hippocampal inflammation and neurogenesis in adult mice. *Sci Rep*. 2019;9:8384.
195. Sarafanyuk N., Klymenko M. Production of interleukins 1 β , 2, 4, 10 and C-reactive protein in ischemic stroke. *Wiad Lek*. 2022;75(3):598-604
196. Satpati A, Neylan T, Grinberg LT. Histaminergic neurotransmission in aging and Alzheimer's disease: A review of therapeutic opportunities and gaps. *Alzheimers Demnt*. 2023;9:e12379.
197. Savytskyi IV, Frenkel SM, Vastyanov RS, Stoyanov OM, Dobrovolskyi VV, Zayats LM, Vastianov MR. Changed convulsive sensitivity of animals after mild

brain trauma in conditions of generalized seizure activity. *World of Medicine and Biology*. 2023;4 (86): 217-222.

198. Sayan-Ozacmak H, Ozacmak VH, Barut F, Jakubowska-Dogru E. Rosiglitazone treatment reduces hippocampal neuronal damage possibly through alleviating oxidative stress in chronic cerebral hypoperfusion. *Neurochem Int*. 2012;61(3):287-90.

199. Scammell TE, Jackson AC, Franks NP et al. Histamine: Neural circuits and new medications. *Sleep*. 2019;42:zsy183.

200. Schilling M, Wetzel W, Grecksch G, Becker A. Pentylentetrazole kindling affects sleep in rats. *Epilepsia*. 2007;47(12):2075-82.

201. Schlicker E, Kathmann M. Role of the histamine H3 receptor in the central nervous system. *Handb Exp Pharmacol* . 2017;241:277–299.

202. Shan L, Fronczek R, Lammers GJ, Swaab DF. The tuberomamillary nucleus in neuropsychiatric disorders. *Handb Clin Neurol*. 2021;180:389–400.

203. Shimada T, Yamagata K. Pentylentetrazole-Induced Kindling Mouse Model. *J Vis Exp*. 2018;(136):56573.

204. Shouse MN, Scordato JC, Farber PR. Sleep and arousal mechanisms in experimental epilepsy: epileptic components of NREM and antiepileptic components of REM sleep. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2004;10(2):117-21

205. Silver R, Silverman AJ, Vitković L, Lederhendler II. Mast cells in the brain: Evidence and functional significance. *Trends Neurosci*. 1996;19:25–31.

206. Silver R, Curley JP. Mast cells on the mind: new insights and opportunities. *Trends neurosciences*. 2013;36:513–21.

207. Singh T, Mishra A, Goel RK. PTZ kindling model for epileptogenesis, refractory epilepsy, and associated comorbidities: relevance and reliability. *Metab Brain Dis*. 2021;36(7):1573-1590.

208. Skaper SD, Facci L, Kee WJ, Strijbos PJ. Potentiation by histamine of synaptically mediated excitotoxicity in cultured hippocampal neurones: a possible role for mast cells. *J Neurochemistry*. 2001;76:47–55.

209. Skaper SD, Facci L, Zusso M, Giusti P. Neuroinflammation, mast cells, and glia: dangerous liaisons. *Neuroscientist: Rev J Bringing Neurobiology Neurol Psychiatry*. 2017;23:478–98.
210. Song M, Yan R, Zhang Y et al. Design, synthesis, and anticonvulsant effects evaluation of nonimidazole histamine H₃ receptor antagonists/inverse agonists containing triazole moiety. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2020;35(1):1310-1321.
211. Sörbo J, Jakobsson A, Norrby K. Mast-cell histamine is angiogenic through receptors for histamine₁ and histamine₂. *Int J Exp Pathol*. 1994;75:43–50.
212. Stasiak A, Honkisz-Orzechowska E, Gajda Z et al. AR71, Histamine H₃ Receptor Ligand-In Vitro and In Vivo Evaluation (Anti-Inflammatory Activity, Metabolic Stability, Toxicity, and Analgesic Action). *Int J Mol Sci*. 2024;25(15):8035.
213. Steininger TL, Alam MN, Gong H et al. Sleep-waking discharge of neurons in the posterior lateral hypothalamus of the albino rat. *Brain Res* 1999;840:138–147.
214. Stevens DR, Eriksson KS, Brown RE, Haas HL. The mechanism of spontaneous firing in histamine neurons. *Behavioral Brain Research*. 2001; 124:105–112.
215. St John AL, Abraham SN. Innate immunity and its regulation by mast cells. *J Immunol*. 2013;190:4458–63.
216. Strbian D, Kovanen PT, Karjalainen-Lindsberg ML et al. An emerging role of mast cells in cerebral ischemia and hemorrhage. *Ann Med*. 2009;41:438–50.
217. Subbarao BS, Silverman A, Eapen BC. Seizure Medications. [Updated 2023 Jul 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025, Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482269/>
218. Subramanian V, Crabtree B, Acharya KR. Human angiogenin is a neuroprotective factor and amyotrophic lateral sclerosis associated angiogenin variants affect neurite extension/pathfinding and survival of motor neurons. *Hum Mol Genet*. 2008;17:130–49.

219. Sun H, Huang Y, Yu X et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist, rosiglitazone, suppresses CD40 expression and attenuates inflammatory responses after lithium pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Int J Dev Neurosci.* 2008;26(5):505-15.
220. Szewczyk G, Pyzlak M, Klimkiewicz J et al. Mast cells and histamine: Do they influence placental vascular network and development in preeclampsia? *Mediat Inflamm.* 2012;2012:307189.
221. Szukiewicz D. Histaminergic System Activity in the Central Nervous System: The Role in Neurodevelopmental and Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci.* 2024;12;25(18):9859.
222. Tchougounova E, Lundequist A, Fajardo I et al. A key role for mast cell chymase in the activation of pro-matrix metalloprotease-9 and pro-matrix metalloprotease-2. *J Biol Chem.* 2005;280:9291–6.
223. Theoharides TC, Alysandratos KD, Angelidou A et al. Mast cells and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2012;1822, 21–33.
224. Tachibana M, Wada K, Katayama K et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma suppresses mast cell maturation involved in allergic diseases. *Allergy.* 2008;63(9):1136-47.
225. Thomas SD, Abdalla S, Eissa N et al. Targeting Microglia in Neuroinflammation: H3 Receptor Antagonists as a Novel Therapeutic Approach for Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Autism Spectrum Disorder. *Pharmaceuticals.* 2024; 17(7):831.
226. Traina G. Mast cells in the brain - Old cells, new target. *J Integr Neurosci.* 2017;16:S69–s83.
227. Trias E, Ibarburu S, Barreto-Núñez R et al. Evidence for mast cells contributing to neuromuscular pathology in an inherited model of ALS. *JCI Insight.* 2017;2:e95934.
228. Valko PO, Gavrilov YV, Yamamoto M et al. Increase of histaminergic tuberomammillary neurons in narcolepsy. *Ann Neurol.* 2013;74:794–804.

229. Varaschin RK, Rosenberg MJ, Hamilton DA, Savage DD. Differential effects of the histamine H3 receptor agonist methimepip on dentate granule cell excitability, paired-pulse plasticity and long-term potentiation in prenatal alcohol-exposed rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*. 2014;38:1902–1911.
230. Varaschin RK, Osterstock G, Ducrot C et al. Histamine H3 Receptors Decrease Dopamine Release in the Ventral Striatum by Reducing the Activity of Striatal Cholinergic Interneurons. *Neuroscience*. 2018;376:188–203.
231. Vastyanov RS, Stoyanov OM, Platonova OM et al. Pathogenic mechanisms of convulsive depressive syndrome in conditions of kindling model of epileptogenesis. *World of Medicine and Biology*. 2021; 1(75):181-186.
232. Vastyanov RS, Stoyanov OM, Babienko VV et al. Plasma rich platelets anti-inflammatory effect in conditions of carrageenan-induced paw edema in rats. *World of Medicine and Biology*. 2024;4(90):170-175.
233. Verkhratsky A., Butt A.M. *Neuroglia: Function and Pathology*. Academic Press (an imprint of Elsevier), Nikki P. Levy Publ., 2023; 347-398.
234. Vezzani A, Di Sapia R, Kebede V et al. Neuroimmunology of status epilepticus. *Epilepsy Behav*. 2023;140:109095.
235. Vezzani A, Balosso S, Ravizza T. Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarkers in epilepsy. *Nat Rev Neurol*. 2019;15:459–472.
236. Villasana-Salazar B, Vezzani A. Neuroinflammation microenvironment sharpens seizure circuit. *Neurobiol. Dis*. 2023; 178: 106027.
237. Wang J, Liu B, Sun F et al. Histamine H3R antagonist counteracts the impaired hippocampal neurogenesis in Lipopolysaccharide-induced neuroinflammation. *Int Immunopharmacol*. 2022;110:109045
238. Wang N, Ma J, Liu J et al. Histamine H3 Receptor Antagonist Enhances Neurogenesis and Improves Chronic Cerebral Hypoperfusion-Induced Cognitive Impairments. *Front Pharmacol*. 2020;10:1583.
239. Wernersson S, Pejler G. Mast cell secretory granules: armed for battle. *Nat Rev Immunol*. 2014;14:478–94.

240. Wilhelm M, Silver R, Silverman AJ. Central nervous system neurons acquire mast cell products via transgranulation. *Eur J Neurosci.* 2005;22:2238–48.
241. Wu DC, Zhu-Ge ZB, Yu CY et al. Low-frequency stimulation of the tuberomammillary nucleus facilitates electrical amygdaloid-kindling acquisition in Sprague-Dawley rats. *Neurobiol Dis.* 2008;32(1):151-6
242. Xanthos DN, Sandkuhler J. Neurogenic neuroinflammation: Inflammatory CNS reactions in response to neuronal activity. *Nat Rev Neurosci.* 2014;15:43–53.
243. Yanai K, Tashiro M. The physiological and pathophysiological roles of neuronal histamine: An insight from human positron emission tomography studies. *Pharmacol Ther.* 2007;113:1–15.
244. Yang J, Ran M, Li H et al. New insight into neurological degeneration: Inflammatory cytokines and blood-brain barrier. *Front Mol Neurosci.* 2022;15:1013933.
245. Yang L, Wang Y, Chen Z. Central histaminergic signalling, neural excitability and epilepsy. *Br J Pharmacol.* 2022 ;179(1):3-22.
246. Yang Y, Chen L, Zhang N et al. DHA and EPA Alleviate Epileptic Depression in PTZ-Treated Young Mice Model by Inhibiting Neuroinflammation through Regulating Microglial M2 Polarization and Improving Mitochondrial Metabolism. *Antioxidants (Basel).* 2023;12(12):2079.
247. Yang Y, Shangguan Y, Wang X et al. The efficacy and safety of third-generation antiseizure medications and non-invasive brain stimulation to treat refractory epilepsy: a systematic review and network meta-analysis study. *Front Neurol.* 2024;14:1307296.
248. Yao L, Gu Y, Jiang T, Che H. Inhibition effect of PPAR- γ signaling on mast cell-mediated allergic inflammation through down-regulation of PAK1/ NF- κ B activation. *Int. Immunopharmacol.* 2022;108,108692.
249. Yoshikawa T, Naganuma F, Iida T et al. Molecular mechanism of histamine clearance by primary human astrocytes. *Glia.* 2013;61:905–916.

250. Yoshikawa T, Nakamura T, Yanai K. Histaminergic neurons in the tuberomammillary nucleus as a control centre for wakefulness. *British J Pharm.* 2021;178(4):750-769.
251. Yi JH, Park SW, Brooks N et al. PPARgamma agonist rosiglitazone is neuroprotective after traumatic brain injury via anti-inflammatory and anti-oxidative mechanisms. *Brain Res.* 2008;1244:164-72.
252. Yu X, Shao XG, Sun H et al. Activation of cerebral peroxisome proliferator-activated receptors gamma exerts neuroprotection by inhibiting oxidative stress following pilocarpine-induced status epilepticus. *Brain Res.* 2008;1200:146-58.
253. Yu X, Ye Z, Houston CM et al. Wakefulness is governed by GABA and histamine cotransmission. *Neuron.* 2015;87(1):164–178.
254. Zhang LS, Chen Z, Huang YW et al. Effects of endogenous histamine on seizure development of pentylenetetrazole-induced kindling in rats. *Pharmacology.* 2003;69:27–32.
255. Zhang DD, Sisignano M, Schuh CD et al. Overdose of the histamine H₃ inverse agonist pitolisant increases thermal pain thresholds. *Inflamm Res.* 2012;61(11):1283-91.
256. Zhang H, Yang H, He S. TNF increases expression of IL-4 and PARs in mast cells. *Cell Physiol biochemistry: Int J Exp Cell physiology biochemistry Pharmacol.* 2010;26:327–36.
257. Zhang S, Zeng X, Yang H et al. Mast cell tryptase induces microglia activation via protease-activated receptor 2 signaling. *Cell Physiol biochemistry: Int J Exp Cell Physiology Biochemistry Pharmacol.* 2012;29:931–40.
258. Zhang S, Dong H, Zhang X et al. Cerebral mast cells contribute to postoperative cognitive dysfunction by promoting blood brain barrier disruption. *Behav Brain Res.* 2016;298:158–166.
259. Zhang W, Zhang X, Zhang Y et al. Histamine Induces Microglia Activation and the Release of Proinflammatory Mediators in Rat Brain Via H1R or H4R. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2020;15:280–291.

260. Zhang BB, Ling XY, Shen QY et al. Suppression of excitatory synaptic transmission in the centrolateral amygdala via presynaptic histamine H3 heteroreceptors. *J Physiol*. 2024; 10.1113/JP286392
261. Zhao BQ, Tejima E, Lo EH. Neurovascular proteases in brain injury, hemorrhage and remodeling after stroke. *Stroke*. 2007;38:748–52.
262. Zhao Z, Zhang L, Guo X-D et al. Rosiglitazone Exerts an Anti-depressive Effect in Unpredictable Chronic Mild-Stress-Induced Depressive Mice by Maintaining Essential Neuron Autophagy and Inhibiting Excessive Astrocytic Apoptosis. *Front Mol Neurosci*. 2017; 10:293.
263. Zhou Q, Wang YW, Ni PF et al. Effect of tryptase on mouse brain microvascular endothelial cells via protease-activated receptor 2. *J neuroinflammation*. 2018;15:248.
264. Zhou Z, An Q, Zhang W et al. Histamine and receptors in neuroinflammation: Their roles on neurodegenerative diseases. *Behav Brain Res*. 2024;8(465):114964.
265. Zhu X, Dong J, Han B et al. Neuronal Nitric Oxide Synthase Contributes to PTZ Kindling-Induced Cognitive Impairment and Depressive-Like Behavior. *Front Behav Neurosci*. 2017;11:203.

ДОДАТОК А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Godlevsky L.S., Poshyvak O.B., Pervak M.P., Prybolovets K.O., Yehorenko O.S. Effects of a combination of transcranial DC cerebellar stimulation and pioglitazone administration on pentylenetetrazole-induced seizures in kindled rats. *Neurophysiology*. 2022;53:88–92. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, дизайн та проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).
2. Єгоренко О.С. Коморбідні порушення циклу сну-не сну у кіндлінгових щурів за умов застосування антагоніста Н3-рецепторів пітолізанта. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2023; 22(3):11-15.
3. Poshyvak O, Pinyazhko O, Godlevsky L, Pervak M, Yehorenko O et al. Immunohistochemical neuroinflammatory markers in the hippocampus of ptz-kindled rats under conditions of rapamycin and axitinib treatment. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2023; 1 (44): 23-31. (Особистий внесок здобувача - аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).
4. Єгоренко О.С., Первак М.П. Вплив пітолізанта та транскраніального подразнення постійним струмом на поведінку щурів з хронічним епілептичним синдромом в тесті «відкрите поле». *Актуальні питання транспортної медицини*. 2024; 3(77): 168-173. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, дизайн та проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).
5. Pervak M., Yehorenko O., Poshyvak O., Liashenko S., Onuphrienko O., Denysenko O., Smirnov I., Rozhko P., Tselukh V., Prybolovets K. In: Advances in Health and Diseases. (Editor Dunkan L.T.) Chapter 4. In: *Combined neuro-vascular modulators in the control of epileptic activity*. Nova Science Publishers, Inc., New York, 2024;79:133-162. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел

літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

6. Єгоренко О.С., Первак М.П. Особливості навчання у щурів із гострим та хронічним епілептичним синдромом за умов застосування пітолізанту. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2025; Т.24, №1 (91): 67-74. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

7. Yehorenko O., Pervak M. Pentylenetetrazol-induced seizures and brain neuroinflammation markers under conditions of pitolisant and pioglitazone use. *Journal of Education, Health and Sport*. Online. 29 April 2025. Vol. 80, P. 64021. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

8. Poshyvak O.B., Pinyazhko O.R., Abumutair Sh.N., Pervak M.P., Yehorenko O.S., Godlevsky L.S. The synergy of antiepileptic action of combined usage of neurovascular modulators with a wide spectrum of effects upon neuronal tissue. *IV науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», 19 травня 2022. Харків, Україна*. С. 60-63. (Особистий внесок здобувача – аналіз джерел літератури, проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

9. Prybolovets K.O., Poshyvak O.B., Pervak M.P., Yehorenko O.S., Godlevsky L.S. Blockade of H₃ histamine receptors facilitates antiseizure action of pentoxiphilline. *Acta Neurobiol. Exp.* 2022. 82: I-CIV, LI. *Abstracts of the 12th "Neuronus-22" Forum, 15-17 October, Krakow, Poland*. Available at: <https://ane.pl/index.php/ane/article/view/2361/2353> (Особистий внесок здобувача - проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

10. Єгоренко О. С., Первак М. П., Годлевський Л. С. До ролі гістамінергічних механізмів мозку у розвитку гострих пентиленететразол-індукованих судом.

Українські Медичні Вісті. 2022. Т. 14. № 3–4. С.92–93. *Матеріали XIX Конгреса Світової Федерації Українських Лікарських Товариств (СФУЛТ), 27–29 жовтня 2022 р., м. Ужгород, Україна.* (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

11. Prybolovets K., Yehorenko O., Poshyvak O., Pinyazhko O., Godlevsky L. H₃-histamine blockade strengthened rapamicyn abolishing of seizures and comorbidities in pentylenetetrazol (PTZ)-kindled rats. *Abstracts from the 17th World Congress on Controversies in Neurology, March 23-25, 2023, Dubrovnik, Croatia. "Restorative Neurology and Neuroscience."* 2023; 41(1-2):17. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

12. Yehorenko O.S., Pervak M., Latypov R. A., Prybolovets K., Shcheglov I.A., Godlevsky L.S. Daytime sleep - wakefulness cycle disturbances are effectively reversed with pitolisant in pentylenetetrazol-induced kindling. *Abstracts of World Congress in Neurology (WCN)-2023, 15-19 October, Monreal, Canada, Journal of the Neurological Sciences.* 2023;455:121569. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

13. Єгоренко О. С., Годлевський Л. С. Цикл сну – неспання кіндлінгових щурів за умов застосування модулятора H₃ гістамінових рецепторів пітолізанта. *ів наукової конференції (18-19 травня 2023 XXII читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріал року).* – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2023. С.71-73.(Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

14. Єгоренко О.С., Первак М.П., Рябенка О.Д. Структура постсудомного депресивного синдрому на тлі моделювання хронічного епілептичного синдрому за умов застосування пітолізанта. *Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології Клінічна фармакологія сьогодення: шляхи максимальної допомоги лікарській спеціальності, 9 - 10 листопада 2023 р. Вінниця – Україна.*

С.55-57. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

15. Первак М.П., Єгоренко О.С. Порухення циркадіанних ритмів як модель коморбідних проявів при хронічній епілептизації мозку. *Актуальні питання біології та медицини* : зб. наук. праць за матеріалами XVIII Всеукраїнської наукової конференції (м. Лубни, 02 червня 2023 р.). Лубни : Вид-во ДЗ «ЛНУ імені Тараса Шевченка», 2023:160-162. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

16. Щеглов І. А., Аполлонов Д. Р., Варава С. В., Арабаджі Д. Р., Приболовець Т. В., Єгоренко О. С., Первак М. П. Нейродегенеративні та мікросудинні порушення в тканині мозку за умов формування хронічного епілептичного синдрому. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини для здобувачів освіти другого (магістерського) рівня* : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 95-річчю з дня народження Л. В. Прокопової. Одеса, 27–28 квітня 2023 року : тези доп. Електронне видання. Одеса : ОНМедУ, 2023. С. 31-32. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

17. Pervak M.P., Yehorenko O.S., Godlevsky L.S. Suppression of comorbid disorders in the model of chronic epileptic syndrome by combined use of rapamycin and pitolizant. *XXIII читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (16-17 травня 2024 року)*. Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2024:16-17. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

18. Pervak M.P., Yehorenko O.S., Onuphrienko O.V., Varava S.V., Litvinenko M.V., Godlevsky L.S. Cerebellar transcranial direct current stimulation (tDCS) and pitolizant prevented behavioral and neuroinflammatory disturbances in pentylenetetrazol (PTZ)-kindling. *Acta Neurobiologiae Experemintale*. 25-27 April 2024. 84: I–CLXVIII. https://ane.pl/index.php/ane/issue/view/271/2_

(Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

19. Yehorenko O., Pervak M., Godlevsky L., Prybolovets K., Bidnyuk V., Ryabenka O. On the role of histaminergic and PPAR mechanisms of the brain in the development of chronic pentylenetetrazol-induced seizures. *Abstracts of 16th World Congress of the International Neuromodulation Society 11 May 2024 - 16 May Vancouver, Canada, 2024. Neuromodulation*. 2025;28(1): S185.(Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

20. Єгоренко О.С., Первак М.П. Патогенетичне обґрунтування контролю судомного синдрому застосуванням пітолізанту та піоглітазону. *Науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», 15 травня, 2025 р. м. Харків – Україна, 2025. С. 140-142.* (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

21. Годлевський Л.С., Єгоренко О.С. Вплив пітолізанту та піоглітазону на поведінку кіндлінгових щурів в міжнападному періоді. *XXIV читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (15-16 травня 2025 року)*. Одеса, 2025. С. 59-61 (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).

ДОДАТОК Б

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях та конгресах різного рівня:

1. IV науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 19 травня 2022 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).
2. Міжнародний форум з нейронаук за підтримки IBRO «Neuronus-22» (Краків, Польща, 15-17 жовтня, 2022 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).
3. XIX Конгрес Світової Федерації Українських Лікарських Товариств (СФУЛТ), (Ужгород, 27–29 жовтня 2022 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).
4. 17-й Всесвітній Конгрес із Суперечностей в Неврології, (Дубровнік, Хорватія, 23-25 березня, 2023 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).
5. Всесвітній Конгрес з Неврології (WCN 2023) (Монреаль, Канада, 5-19 жовтня 2023 р.; форма участі - публікація тез, стендова доповідь).
6. V науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 18 травня 2023 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).
7. Наукова конференція з міжнародною участю «XXII читання В.В. Підвисоцького» (Одеса, 18-19 травня 2023 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).
8. XII Всеукраїнська науково-практична конференції з міжнародною участю «Клінічна фармакологія сьогодення: шляхи максимальної допомоги лікарській спеціальності», (Вінниця, 9-10 листопада 2023 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).

9. XVIII Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні питання біології та медицини», (Лубни, 02 червня 2023 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).
10. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 95-річчю з дня народження Л.В. Прокопової «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини для здобувачів освіти другого (магістерського) рівня» (Одеса, 27–28 квітня 2023 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).
11. Міжнародний форум із нейронаук за підтримки IBRO «Neuronus-24», (Краків, Польща, 25-27 квітня, 2024 р.; форма участі - публікація тез, стендова доповідь).
12. Наукова конференція з міжнародною участю «XXIII читання В.В. Підвисоцького» (Одеса, 16-17 травня 2024 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).
13. 16-й Всесвітній Конгрес з Нейромодуляції, (Ванкувер, Канада, 11-16 квітня, 2024 р.; форма участі - публікація тез, стендова доповідь).
14. IV науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 15 травня 2025 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).
15. Наукова конференція з міжнародною участю «XXIV читання В.В. Підвисоцького» (Одеса, 15 - 16 травня 2025 р.; форма участі - публікація тез, усна доповідь).

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного медико-фармацевтичного
Університету МОЗ України
д.мед.н., професор Вадим ВІЗІР

«__» _____ 2024р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості патогенезу хронічного епілептичного синдрому з урахуванням циклу неспання-спання та за умов корекції стану гістамінергічної системи мозку.

2. **Установа-розробник:** Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології та біофізики, м.Одеса, Валіховський пров., 2, 65082, Україна.

Розроблювачі: Єгоренко Ольга Сергіївна

Джерела інформації:

- Єгоренко О.С. Коморбідні порушення циклу сну-не сну у кіндлінгових щурів за умов застосування антагоніста Н₂-рецепторів пітолізанта. Клінічна та експериментальна патологія. 2023; 22(3): 11-15. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XXII.3.85.2023.02>
- Yehorenko O.S., Pervak M., Latypov R.A., Prybolovets K., Shcheglov I.A., Godlevsky L.S. Daytime sleep-wakefulness cycle disturbances are effectively reversed with pitolisant in pentylenetetrazol-induced kindling. Journal of the Neurological Sciences 2023 Vol.455: 121459 <https://doi.org/10.1016/j.jns.2023.121569>

Базова установа, яка проводить впровадження: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології.

3. **Матеріали** використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології на практичних заняттях.

4. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо особливостей патогенезу хронічного епілептичного синдрому і патогенетичного обґрунтування методів лікування.

5. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

6. Затверджено на засіданні кафедри «05_»_03_ 2024 р.(Протокол №_11_).

Завідувач кафедри патологічної фізіології

З курсу нормальної фізіології

д.мед.н., професор

Ольга ГАНЧЕВА

Відповідальний за впровадження

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В. о. першого проректора
Івано-Франківського національного
медичного університету
доктор філософських наук,
професор Микола МОЙСІЄНКО
2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості патогенезу хронічного епілептичного синдрому з урахуванням циклу неспання-спанню та за умов корекції стану гістамінергічної системи мозку.
 2. **Установа-розробник:** Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології та біофізики, м. Одеса, Валіховський пров., 2, 65082, Україна.
Розроблювач: Єгоренко Ольга Сергіївна
 3. **Джерела інформації:**
 - Єгоренко О.С. Коморбідні порушення циклу сну-не сну у кіндлінгових щурів за умов застосування антагоніста Н₃-рецепторів пітолізанта. Клінічна та експериментальна патологія. 2023; 22(3): 11-15. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XXII.3.85.2023.02>
 - Yehorenko O.S., Pervak M., Latypov R.A., Prybolovets K., Shcheglov I.A., Godlevsky L.S. Daytime sleep-wakefulness cycle disturbances are effectively reversed with pitolisant in pentylenetetrazol-induced kindling. Journal of the Neurological Sciences 2023 Vol.455: 121459 <https://doi.org/10.1016/j.jns.2023.121569>
 4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра патофізіології.
 5. **Термін впровадження:** 2024 р.
 6. **Результати застосування.** Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри патофізіології на лекціях і практичних заняттях за темою «Патофізіологія ЦНС».
 7. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо особливостей патогенезу хронічного епілептичного синдрому і патогенетичного обґрунтування методів лікування.
 8. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.
- Затверджено на засіданні кафедри патофізіології Івано-Франківського національного медичного університету, протокол №10/1 від 12 квітня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології
Івано-Франківського
національного медичного університету
заслужений діяч науки і техніки України,
д.мед.н., професор



Любомир ЗАЯЦЬ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
к.біол.н., доцент Ірина СОЛОНИНКО



2024р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості патогенезу хронічного епілептичного синдрому з урахуванням імуногістохімічних змін маркерів нейроімунного запалення в структурах головного мозку.

2. **Установа-розробник:** Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології та біофізики, м.Одеса, Валіховський пров., 2, 65082, Україна.

Розроблювачі: Первак Михайло Павлович, Єгоренко Ольга Сергіївна
Джерела інформації:

- Poshyvak, O., Pinyazhko, O., Godlevsky, L., Pervak, M., Yehorenko, O., Doganyigit, Z., Okan, A., Akyuz, E., Nathal, S.N.A., Liashenko, A. Immunohistochemical neuroinflammatory markers in the hippocampus of ptz-kindled rats under conditions of rapamycin and axitinib treatment. ScienceRise: Pharmaceutical Science, 2023, 1 (44), P. 23–31. doi: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2023.274703>.
- Pervak M, Yehorenko O, Poshyvak O, Liashenko S, Onuphrienko O, Denysenko O, Smirnov I, Rozhko P, Tselukh V, Prybolovets K. Chapter 4. Combined Neuro-Vascular Modulators in the Control of Epileptic Activity. In: Advances in Health and Diseases. Editor: Lowell T. Duncan, Nova Science Publishers Inc., N.Y., 2024, Vol.79. P.133-163.

Базова установа, яка проводить впровадження: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра патологічної фізіології.

3. **Матеріали** використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології на практичних заняттях за темою: "Запалення", "Патофізіологія нервової системи".

4. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо особливостей патогенезу хронічного епілептичного синдрому і патогенетичного обґрунтування методів лікування.

5. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Завідувач кафедри,
д.мед.н., професор

Михайло РЕГЕДА

Відповідальний
за впровадження, доцент

Наталія СЕМЕНЦІВ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної та навчальної
роботи закладу вищої освіти
Національний медичний університет імені
О.О. Богомольця МОЗ України

Д. мед. н., професор

Олег ВЛАСЕНКО

2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: Особливості патогенезу хронічного епілептичного синдрому з урахуванням циклу неспання-спання та за умов корекції стану гістамінергічної системи мозку.

2. Установа-розробник: Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології та біофізики, м. Одеса, Валіховський пров., 2, 65082, Україна.

Розроблювач: Єгоренко Ольга Сергіївна

3. Джерела інформації:

- Єгоренко О.С. Коморбідні порушення циклу сну-не сну у кінділінгових щурів за умов застосування антагоніста Н₃-рецепторів пітолізанта. Клінічна та експериментальна патологія. 2023; 22(3): 11-15. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XXII.3.85.2023.02>
- Yehorenko O.S., Pervak M., Latypov R.A., Prybolovets K., Shcheglov I.A., Godlevsky L.S. Daytime sleep-wakefulness cycle disturbances are effectively reversed with pitolisant in pentylentetrazol-induced kindling. Journal of the Neurological Sciences 2023 Vol.455: 121459 <https://doi.org/10.1016/j.jns.2023.121569>

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патофізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця

5. Результати застосування. Матеріали використовуються в навчальному процесі на лекціях і практичних заняттях за темою «Патофізіологія ЦНС».

6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3): Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо особливостей патогенезу хронічного епілептичного синдрому і патогенетичного обґрунтування методів лікування.

7. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Затверджено на засіданні кафедри патофізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, протокол № 23 від 28.03.2024 р.

Відповідальний за впровадження:

В.о. завідувача кафедри патофізіології
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця, д.мед.н., професор



Сергій ЗЯБЛИЦЕВ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи Одеського національного медичного університету МОЗ України
к. мед. н., доцент

Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ

2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості патогенезу хронічного епілептичного синдрому з урахуванням циклу неспання-спання та за умов корекції стану гістамінергічної системи мозку.
 2. **Установа-розробник:** Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології та біофізики, м. Одеса, Валіховський пров., 2, 65082, Україна. Розроблювач: Єгоренко Ольга Сергіївна
 3. **Джерела інформації:**
 - Єгоренко О.С. Коморбідні порушення циклу сну-не сну у кіндлінгових щурів за умов застосування антагоніста Н₃-рецепторів пітолізанта. Клінічна та експериментальна патологія. 2023; 22(3): 11-15. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XXII.3.85.2023.02>
 - Yehorenko O.S., Pervak M., Latypov R.A., Prybolovets K., Shcheglov I.A., Godlevsky L.S. Daytime sleep-wakefulness cycle disturbances are effectively reversed with pitolisant in pentylenetetrazol-induced kindling. Journal of the Neurological Sciences 2023 Vol.455: 121459 <https://doi.org/10.1016/j.jns.2023.121569>
 4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Одеський національний медичний університет, кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького
 5. **Результати застосування.** Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького на лекціях і практичних заняттях за темою «Патофізіологія ЦНС».
 6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо особливостей патогенезу хронічного епілептичного синдрому і патогенетичного обґрунтування методів лікування.
 7. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.
- Затверджено** на засіданні кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, протокол №7 від 02.02.2024 р.
- Відповідальний за впровадження:**
Завідувач кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України, Заслужений діяч науки і техніки України, д. мед. н., професор

Руслан ВАСТЯНОВ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший поректор з науково-педагогічної роботи
Полтавського державного медичного університету,
д.мед.н., професор

Валентин ДВОРНИК



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: Особливості патогенезу хронічного епілептичного синдрому з урахуванням циклу неспання-спання та за умов корекції стану гістамінергічної системи мозку.

2. Установа-розробник: Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології та біофізики, м.Одеса, Валіховський пров., 2, 65082, Україна. Розроблювач: Єгоренко Ольга Сергіївна

3. Джерела інформації:

- Єгоренко О.С. Коморбідні порушення циклу сну-не сну у кіндлінгових щурів за умов застосування антагоніста H_3 -рецепторів пітолізанта. Клінічна та експериментальна патологія. 2023; 22(3): 11-15. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XXII.3.85.2023.02>
- Yehorenko O.S., Pervak M., Latypov R.A., Prybolovets K., Shcheglov I.A., Godlevsky L.S. Daytime sleep-wakefulness cycle disturbances are effectively reversed with pitolisant in pentylenetetrazol-induced kindling. Journal of the Neurological Sciences 2023 Vol.455: 121459 <https://doi.org/10.1016/j.jns.2023.121569>

4. Базова установа, яка проводить впровадження: Полтавський державний медичний університет, кафедра патофізіології

5. Результати застосування. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри патофізіології на лекціях і практичних заняттях за темою «Патофізіологія нервової системи».

6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3): Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо особливостей патогенезу хронічного епілептичного синдрому і патогенетичного обґрунтування методів лікування.

7. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Затверджено на засіданні кафедри патофізіології Полтавського державного медичного університету, протокол № 14 від 5.03.2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології
Полтавського державного медичного
університету МОЗ України,
д.мед.н., професор

Віталій КОСТЕНКО

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти з наукової роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
д.б.н., професор



Іван КЛІЩ

« _____ »

2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості патогенезу хронічного епілептичного синдрому з урахуванням циклу неспання-спання та за умов корекції стану гістамінергічної системи мозку.

2. **Установа-розробник:** Одеський національний медичний університет, кафедра фізіології та біофізики, м.Одеса, Валіховський пров., 2, 65082, Україна.
Розроблювач: Єгоренко Ольга Сергіївна

3. **Джерела інформації:**

- Єгоренко О.С. Коморбідні порушення циклу сну-не сну у кіндлінгових щурів за умов застосування антагоніста Н₁-рецепторів пітолізанта. Клінічна та експериментальна патологія. 2023; 22(3): 11-15. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XXII.3.85.2023.02>
- Yehorenko O.S., Pervak M., Latypov R.A., Prybolovets K., Shcheglov I.A., Godlevsky L.S. Daytime sleep-wakefulness cycle disturbances are effectively reversed with pitolisant in pentylenetetrazol-induced kindling. Journal of the Neurological Sciences 2023 Vol.455: 121459 <https://doi.org/10.1016/j.jns.2023.121569>

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського, кафедра патологічної фізіології.

5. **Результати застосування.** Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України на лекціях та практичних заняттях за темою «Патофізіологія нервової системи».

6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо особливостей патогенезу хронічного епілептичного синдрому і патогенетичного обґрунтування методів лікування.

7. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

Затверджено на засіданні кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, протокол № 3 від 27.03.2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології
Тернопільського національного медичного
університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ
України, д.мед.н., професор

Ольга ДЕНЕФІЛЬ