

МОДЕЛИ ЭПИЛЕПТИФОРМНОЙ АКТИВНОСТИ IN VIVO

Кашапов Феликс Фаритович

врач

Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова, Уфа

Аннотация. Эпилепсия – неоднородная группа заболеваний, клиника хронических случаев которых характеризуется судорожными повторными приступами, либо эквивалентами судорожных приступов. Несмотря на множество антиэпилептических препаратов, по-прежнему остаётся актуальным создание новых лекарственных средств, так как значительное число случаев заболевания фармакологически резистентны. Испытание новых препаратов, а также изучение патогенеза осуществляется с применением моделирования судорожных состояний на животных. В данном обзоре предпринята попытка осветить некоторые применяемые в настоящее время модели эпилепсии.

Ключевые слова: эпилепсия, моделирование эпилепсии на животных, киндлинг.

MODELS OF EPILEPTIFORM ACTIVITY IN VIVO

Kashapov Felix Faritovich

doctor

G.G. Kuvatov Republican Clinical Hospital, Ufa

Abstract. Epilepsy is a heterogeneous group of diseases, the clinical picture of chronic cases, which is characterized by repeated convulsive seizures, or the equivalents of convulsive seizures. Despite many anti-epileptic drugs, still the development of new drugs, since a significant number of cases of pharmacologically resistant. Testing of new drugs and the study of pathogenesis is carried out using simulation convulsive States in animals. In this review attempted to highlight some of the currently used model of epilepsy.

Keywords: epilepsy, modeling epilepsy in animals kindling.

При исследовании эпилепсии *in vivo* на животных применяются различные методики провокации эпилептогенеза: механические (травматизация спинного и головного мозга, болевое воздействие), физические (звуковые и световые раздражения, гипертермия, воздействие электричеством – модели минимального и максимального электрошока, локальная электростимуляция), химические методы, а также генетические модели (например, крысы линий WAG/Rij и GAERS). Широко распространены киндлинг-модели, в первую очередь модели химические и электрические (Фактор воздействует многократно в подпороговой дозировке, после чего мозг способен генерировать патологическую синхронизацию разрядов без введения агента. Формируется состояние стабильно повышенной судорожной готовности, сохраняющееся длительное время после отмены эпилептогенного стимула). Наиболее широко применяемыми в практике являются техники применения химических агентов, индуцирующих эпилептические пароксизмы, а также исследование генетических моделей различных форм эпилепсии. Сама эпилепсия является клинически и патогенетически неоднородным заболеванием и потому большое количество моделей востребовано и позволяет исследовать различные аспекты этой патологии. Упомянутые киндлинг-модели, наряду с генетическими моделями, позволяют изучать процессы, протекающие при хронической эпилепсии.

Наиболее простой моделью эпилепсии *in vivo* является так называемое электрошоковое воздействие – генерализованная электрическая стимуляция мозга, приводящая к периодическому и синхронному возбуждению нейронов, что в свою очередь проявляется патологической спайк-волновой активностью. Для всех судорог, вызываемых электрическим воздействием, характерна генерализация припадка. Применяются модели минимального и максимального электрошока, порога максимального электрошока (электрический ток низкого напряжения, высокой частоты и небольшой длительности) и так называемый 6 Гц-тест (элек-

трический ток низкой частоты и большой длительности), при котором индуцируются только клонические судороги [24; 19; 18; 20]. В модели максимального электрошока (МЭШ) судорожные пароксизмы провоцируются применением переменного тока высокого напряжения и частоты и небольшой длительности. Припадок клинически проявляется тоническими судорогами (тонусом), выражающимися в ригидной экстензии задних конечностей [24; 13]. В 1937 году Putnam и Merrit описали методику на кошках, при помощи которой, используя электрическое раздражение мозга, были впервые получены экспериментальные судороги; и на этой модели было открыто противосудорожное действие дифенина. Это была первая работа по использованию электрошока для исследования эпилепсии. Эффективность дифенина в клинике эпилепсии, в особенности при «Grand mal», и психомоторных припадках, было показано Merrit, Putnam в 1938 году, то есть уже через год после установления его активности в эксперименте [30]. После проведения этих успешных работ электрошок стал основным тестом для потенциальных противосудорожных препаратов, эффективных в отношении тонико-клонических судорог. Пароксизмы при максимальном электрошоке имеют признаки генерализованных тонико-клонических судорог [24; 26; 19].

Выделяют следующие стадии судорожного припадка, вызванного электрошоковым воздействием (далеко не всегда припадок включает в себя все эти стадии, их порядок может быть различным).

- 1) *Досудорожный ответ*. Животное гиперактивно, бегаёт, проявляет болевую реакцию. Возможны обратные эффекты – оглушение, кататонический ступор.
- 2) *Клонические судороги морды и конечностей*. Быстро развивается клоническая активность мышц морды и конечностей, проявляющаяся пятисекундным периодом клонических спазмов (т.н. минимальный клонический припадок или минимальный электрошок). Предполагают, что животные при минимальных клонических судорогах

находятся без сознания, так как в припадок вовлекается весь передний мозг, что ведет к нарушению сознания.

3) *«Дикий бег»; тоническая флексия.* Т.н. «дикий бег» – это ответ на минимальную активацию ядер ствола мозга, инициирующих клонико-тонические судороги. «Дикий бег», вызываемый электрошоком, соответствует минимальным аудиогенным припадкам (аудиогенные припадки силой в 1 балл) у крыс линий WAG/Rij и GAERS и судорожному ответу на локальную электростимуляцию нижних холмиков среднего мозга. Тоническая флексия – первый этап последовательности флексии-экстензии, характеризующей клонико-тонические судороги. В результате сокращения мышц-сгибателей спина животного выгибается дугой, конечности согнуты в переднем направлении. Данные судороги соответствуют аудиогенному припадку силой 2-3 балла у крыс линий WAG/Rij и GAERS – опистотонусу. Тоническая флексия отражает нарастающую активность ядер ствола мозга по сравнению с минимальным возбуждением, приводящим к «дикому бегу» [24; 19].

4) *Клонико-тонические судороги* – тоническая флексия и тоническая экстензия. У крыс они проявляются коротким периодом тонической флексии (2-3 с), после чего наступает более длительная тоническая экстензия (10-12 с). У мышей продолжительность фаз флексии и экстензии немного меньше.

Тоническая экстензия выражается «волной» мышечного сокращения, проходящей по телу от головы до хвоста (рострокаудальной). Передние конечности разгибаются первыми, и это случается достаточно часто. Тоническая экстензия задних конечностей отражает максимальный судорожный ответ, но встречается реже. Тело остаётся в состоянии ригидной экстензии в течение 10-15 секунд перед расслаблением в обратном направлении (каудоростральном). Клонико-тонические судороги могут включать или не включать терминальную клоническую фазу, кото-

рая встречается нерегулярно и редко используется в анализе припадков [24; 18]. Тоническая экстензия – признак тонических сокращений мускулатуры. Хотя во время тонической экстензии сокращаются и сгибатели, и разгибатели, экстензия преобладает в связи с тем, что выполняющие антигравитационную функцию разгибатели сильнее, чем соответствующие сгибатели. Данную гипотезу подтверждает тот факт, что у свисающих вниз ленивцев в организме которых антигравитационную функцию выполняют мышцы-сгибатели, после электрошока наблюдается тоническая флексия (Esplin, Woodbury, 1961). Тоническая экстензия задних конечностей (ТЭЗК) – наиболее частая конечная точка клонико-тонических судорог и проявляется вытяжением и выпрямлением задних конечностей. ТЭЗК может быть вызвана не только электрическим воздействием, но и высокими дозами химических судорожных препаратов, действующих непосредственно на нейроны ствола мозга, вызывающие клонико-тонические судороги и ТЭЗК [18]. Препараты, угнетающие ТЭЗК у крыс, также эффективны против генерализованных клонико-тонических припадков [13]. Животные, получающие противоэпилептические препараты, при стимуляции демонстрируют тоническую экстензию, но без компонента ТЭЗК. Предполагается, что о действии противосудорожной защиты свидетельствует отсутствие разгибания конечностей более чем на 90 % по отношению к телу [24]. Флексия-экстензия (клонико-тонические судороги) отражает более сильную электрическую активацию ядер ствола мозга, индуцирующей генерализованные клонико-тонические судороги, которые встречаются при индуцировании стадий «дикого бега» и тонической флексии. При токах, слегка превышающих пороговые значения для индукции клонико-тонических судорог, выражена фаза флексии. При нарастании стимулирующего тока судорожный ответ становится более тяжелым, что проявляется уменьшением длительности фазы тонической флексии и увеличением длительности фазы экстензии – низким коэффициентом флексии/экстензии (Ф/Э). Длительность фаз тонической

флексии и тонической экстензии может быть определена разными путями, но обычно под флексией понимают период от электрошоковой стимуляции до полной тонической экстензии, а под экстензией – период от полной тонической экстензии до релаксации в тонической фазе [24]. Клонико-тонические судороги, вызываемые более слабыми токами, менее тяжелы, что обусловлено короткой фазой экстензии (высоким коэффициентом Ф/Э). Противозлептические препараты, ингибирующие клонико-тонические судороги, также облегчают такие припадки, повышая коэффициент Ф/Э по сравнению с контрольной группой животных, не получающих лечение [26; 13]. Судороги, вызванные максимальным электрошоком [прежде всего, генерализованные приступы] в основном генерируются стволом мозга, в меньшей степени кортикальными и субкортикальными регионами [10]. Высокая интенсивность стимуляции через ушные клипсы преимущественно активирует ствол мозга из-за позиции электродов и пути стимулирующего тока. Нижний бугорок четверохолмия является единственной структурой, которая подвергается максимальной активации локального мозгового кровотока в самом начале приступа. Активация данной структуры имеет важное значение не только в МЭШ, но и в аудиогенных судорогах и в пентилентетразол-индуцированных тонических судорогах, но не в ПТЗ-индуцированных клонических судорогах [10]. Таким образом, эта структура, похоже, принадлежит к цепи тонических судорог и возможно дополнительно активируется электрошоком, по-видимому, через прямую стимуляцию через ушные клипсы. Увеличение локального мозгового кровотока во время тонических судорог также распространяется на ретикулярную формацию, мозжечок, черную субстанцию и верхние бугорки после инициации в нижних бугорках [10]. За внешние проявления тонических судорог ответственны структуры ствола мозга, в особенности ретикулярная формация и ядра среднего мозга, включая вестибулярное ядро и перивентрикулярное серое вещество. Клонические же судороги иницируются в

гиппокампе, зубчатой извилине, миндалине, пириформной коре, периренальной коре, энторинальной коре и прилежащем ядре, и затем распространяется по областям неокортекса, хвостатому ядру, таламусу, черной субстанции и верхним бугоркам [10]. Повторяющееся электрошоковое воздействие приводит к увеличению уровня концентрации ГАМК в плазме, ликворе, стриатуме, гипоталамусе, гиппокампе и коре головного мозга как у людей [28; 29], так и у крыс. Однако также показано, что однократное электрошоковое воздействие примерно на 1 час вызывает отчетливое снижение уровня ГАМК в плазме, что может говорить о снижении концентрации этого вещества в мозге и о временном угнетении тормозящих синаптических передач в ЦНС [28]. Изменению подвержены также и возбуждающие медиаторные системы. После электрошока отмечено увеличение мРНК переносчиков глутамата Excitatory amino acid carrier 1 (EAAC1) в гранулярном слое зубчатой извилины и Glutamate transporter 1 (GLT-1) в молекулярном слое гиппокампа [25]. Со стороны холинергической системы у крыс было отмечено уменьшение количества сайтов связывания с ацетилхолином на мускариновых холинергических рецепторах в коре и гиппокампе.

Химические модели довольно популярны, так как позволяют стандартизировать опыты, формализовав силу подачи конвульсанта (как и при применении физической модели), и снижая вариативность форм приступов. Кроме того, они относительно дешевы и менее трудоёмки, чем многие другие методы. Химически индуцированный киндлинг, как правило, проявляется генерализованными судорожными припадками, вплоть до развития эпилептического статуса. Найдено достаточно много веществ – конвульсантов: стихнин, тиосемикарбазид, коразол, бикикуллин, бемеград, пикротоксин, прокаин, кокаин и многие другие препараты с различными механизмами действия. Условно выделяют усиливающие процессы возбуждения, блокирующие тормозные механизмы, нарушающие энергетический метаболизм, тормозящие транспорт ионов. Осно-

ву формирования пароксизмальных состояний при провокации киндлинга определяет физический или химический фактор, дозируемый в режиме подпороговой стимуляции. Длительное предъявление таких стимулов приводит к постепенному возрастанию чувствительности к повреждающим факторам и, соответственно, к понижению порога возникновения судорог. В результате такого воздействия, через определенное время судорожные приступы начинают развиваться сами по себе уже при отсутствии повреждающего фактора, который изначально запустил патологический процесс киндлинга.

Известный модельный хемоконвульсант – вещество коразолового ряда, пентилентетразол (ПТЗ), широко используемый в качестве агента, моделирующего как хроническую эпилепсию методом киндлинга [15], так и острый эпилептический пароксизм. По основному механизму действия – антагонист хлор-ионных каналов ГАМК А-рецепторов, блокирующий активацию ионного тока Cl⁻ – через канальную пору рецептора и таким образом, снижающий ингибирующий эффект ГАМК. ПТЗ – производное тетразола, состоящее из тетразольного и пенпентаметиленового колец. Он быстро проходит сквозь гемато-энцефалический барьер и вызывает судороги у мышей, крыс, кошек и приматов при парентеральном введении. Доза, вызывающая клонические судороги у 97 % подопытных животных для мышей составляет 85 мк/кг, для крыс – 70- мк/кг. В низких подпороговых дозах (10-20 мг/кг) ПТЗ индуцирует абсансо-подобные судороги. В умеренных дозах ПТЗ ведет к развитию клонических судорог, а высокие его дозы индуцируют тонико-клонические судороги, генерализованные судороги (эпистатус) и даже могут вызвать смерть животного. ПТЗ является моделью миоклонической, генерализованной тонико-клонической (первично генерализованной) и абсансной эпилепсии человека, а также моделью резистентных к лекарственной терапии форм эпилепсии [14]. Пентилентетразоловые судороги включают в себя те же стадии, что и судороги вызванные электрошоком, за исключением «ди-

кого бега», который встречается сравнительно редко. Введение ПТЗ внутривенно приводит к развитию приступа, состоящего из 3-х фаз. Сначала появляются вздрагивание тела, характерное искривление хвоста, затем развиваются клонические судороги, за которыми часто следует период оцепенения и тонико-клонические судороги, обычно приводящие к смерти. ЭЭГ в течение приступа характеризуется пачковыми разрядами, состоящими из 3-6 спайков средней амплитуды (50-100 мкВ), которые переходят в периодическую высокоамплитудную спайковую активность. Такая ЭЭГ-активность может быть непрерывной или периодически прерываться межприступной активностью и среднеамплитудными судорожными спайковыми комплексами. Существует теория «осциллятора» или минимального количества нейронов, возбуждающихся эпилептически, что провоцирует припадок. Гипотетический «осциллятор» распространяет эпилептическую активность нейронов в другие части мозга, что и приводит к наблюдаемым судорогам [24; 19; 18]. Абсансоподобные приступы берут начало в неспецифических структурах таламуса и поддерживаются на таламо-кортикальном уровне, практически не распространяясь на другие структуры мозга. При моделировании эпилепсии на животных ПТЗ используется в различных дозах, как низких (субконвульсивных), так и высоких (конвульсивных). Одним из методов оценки эффективности антиэпилептических препаратов является «титрование» ПТЗ, представляющее собой повторные подкожные инъекции эпилептогена в дозировке 10 мг/кг, повторяющиеся каждые 15 минут до развития генерализованного приступа. Проведена серия экспериментов по введению ПТЗ по описанной схеме в течение 6 дней и доказана эффективность данного метода на взрослых крысах при тестировании верапамила, дилтиазема, диазепама, которые существенно увеличили порог появления генерализации. В экспериментах на развивающихся животных было показано, что повторяющиеся инъекции субконвульсивной дозы ПТЗ – 25 мг/кг каждые 15 минут вызывают у крыс клонические

и тонические судороги, причем крысы в возрасте 26 дней показали более высокий порог и задержку развития судорог по сравнению с животными старшего возраста [21]. Применение ПТЗ вызывает атрофию гиппокампа у крыс – наблюдаются селективная гибель нейронов и астроцитов в гиппокампе после введения ПТЗ [9]. Хотя механизм действия ПТЗ не известен в деталях, литературные данные свидетельствуют, что он приводит к изменениям в ГАМК-ергической и глутамат-ергической системах, а также в системе антиоксидантной защиты. Действует ПТЗ через пикротоксиновый сайт ГАМК А рецепторного комплекса, подавляя работу рецепторов и вызывая закрытие каналов для ионов Cl^- , что приводит к снижению гиперполяризации нейронов и повышению их возбудимости. Предположительно пикротоксин и другие схожие с ним лиганды, в том числе и ПТЗ, связываются через канальную пору, образованную вторым трансмембранным доменом рецептора. По механизму действия коразол отличается от пикротоксина и бикикулина, которые также являются антагонистами ГАМК. Коразол способен взаимодействовать с двумя подклассами бензодиазепиновых рецепторов. Высказано предположение, что первый тип бензодиазепиновых рецепторов участвует в противосудорожном и анксиолитическом действии бензодиазепинов, тогда как второй тип рецепторов обеспечивает седативное действие и атаксию. Можно предположить, что судорожное действие коразола связано с его конкурентным взаимодействием с бензодиазепиновыми рецепторами первого типа. Развитие судорожной активности сопровождается повышением внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} . Судорожное действие коразола объясняется его влиянием на двигательные зоны коры головного мозга; помимо клонического, в коразоловых судорогах наблюдается и тетанический компонент, связанный с действием препарата на спинной мозг. При ПТЗ киндлинге происходит уменьшение чувствительности ГАМК А-рецепторов и увеличению содержания самой ГАМК, что приводит к снижению эффективности торможения. ПТЗ вызы-

вадет не только ослабление в ГАМК-ергической системы, но и изменения и в плотности и чувствительности некоторых подтипов глутаматных рецепторов, а также увеличение содержания самого глутамата в гиппокампе [17]. Происходит увеличение плотности метаботропных глутаматных рецепторов и инозитол-3-фосфата. Существуют предположения о вовлеченности NMDA- и AMPA-рецепторов в развитие эпилепсии при ПТЗ киндлинге, поскольку были зафиксированы изменения в их субъединичном составе и связанных с ними областях [16].

Большие дозы (70 мг/кг) ПТЗ вызывают эпилептический статус, после которого обнаружено, что в синапсах пирамидных клеток зоны CA1 индукция долговременной потенциации (ДВП) снижена по сравнению с контролем, тогда как кратковременная фасилитация увеличена [7]. Ослабление ДВП связывают изменениями экспрессии NMDA рецепторов и/или изменениями их субъединичного состава [12]. Как было показано методом ПЦР в реальном времени – через 3 часа после индукции судорог происходит существенное усиление экспрессии генов субъединиц GluN1 и GluN2A, что говорит об увеличении общего числа NMDA рецепторов в гиппокампе. Через 24 часа наблюдали увеличение экспрессии мРНК GluN2B субъединицы, что авторы считают одной из причин уменьшения величины ДВП в синапсах гиппокампа после эпилептического статуса, вызванного ПТЗ [7].

Таким образом, не смотря на то, что механизм действия ПТЗ все еще не до конца ясен, можно заключить, что он основан не только на блокаде и последующем ослаблении чувствительности ГАМКа-рецепторов, но и на целом комплексе изменений в балансе возбуждения и торможения центральной нервной системы. Однако вместе с тем ПТЗ в целом позволяет оценить функциональность ГАМКа-опосредованного торможения в мозге даже при условии отсутствия длительного киндлинга.

Блокатор калиевых каналов 4-аминопиридин (4-АП) хорошо известен как провокатор эпилептиформной активности мозга у взрослых жи-

вотных. Действие блокатора K⁺-каналов 4-АП, приводящее к развитию судорожной активности, показано как на целом мозге, так и на изолированных участках мозга. Чувствительными к 4-АП являются все изоформы α -субъединиц подсемейств быстрых потенциал-зависимых калиевых каналов Kv1-Kv4 [5]. Скорость связывания и кинетика диссоциации K⁺-канала с 4-АП являются довольно медленными (более чем 100 мс). 4-АП связывается с цитоплазматической частью внутреннего устья ионной поры перед воротами или позади них. Если канал находится в активном состоянии, то сайт связывания будет позади активированных ворот, если же канал в состоянии покоя, то сайт связывания в цитоплазматической части перед воротами. Открытие ворот приводит к снижению аффинности и диссоциации 4-АП [23]. Увеличение частоты тестового возбуждения может привести к изменению связи, и к стабильно более низким концентрациям блокатора за счет увеличения числа возможных связывающих участков, что дает увеличение эффективности блокирования. Ускорение временной инактивации под влиянием 4-АП указывает, что место, где блокатор связывается с молекулой канала, соответствует структуре, ответственной за развитие инактивации C-типа. Процесс закрепления 4-АП в канале происходит неконкурентно. Существует два типа 4-АП-чувствительных Kv-каналов, и при миелинизации в процессе раннего постнатального онтогенеза их соотношение меняется. За счет блокады проводимости K⁺-каналов 4-АП может улучшать проводниковую функцию у больных с хроническим повреждением спинного мозга. Исследования на собаках показали, что системное введение 4-АП в дозе 0.5-1 мг/кг восстанавливает проводимость в демиелинизированных волокнах нерва. В течение нескольких часов после внутривенного введения 4-АП наблюдались либо выздоровление пораженной задней конечности, либо увеличение чувствительности к болевым стимулам, либо частичное восстановление рефлекса поверхностной фасции мышцы. Однако увеличение дозы приводило к беспокойству животного, повыше-

нию температуры тела и эпилептическим приступам, устраняемым диазепамом. В то же время системные (внутрибрюшинные) инъекции 4-АП крысам в дозе 5 мг/кг приводили к двигательным тоническим судорожным припадкам, вплоть до эпилептического статуса. 4-АП может вызывать эпилептические приступы у людей и у экспериментальных животных. Он блокирует большинство потенциал-зависимых калиевых каналов, за счет чего увеличивается пресинаптический вход Ca^{2+} , таким образом, повышается эффективность тормозной и возбуждающей синаптической передачи. 4-АП вызывает в нейронах гиппокампа и энторинальной коры крыс длительные эпилептиформные разряды, напоминающие таковые при лимбических эпилептических приступах, а также спонтанную синхронизированную активность во всех слоях неокортекса. При этом в средних и глубоких слоях среза действие 4-АП было подобно таковому на нейроны из верхних слоев, вызывая периодические как короткие, так и длительные разряды. В поверхностных слоях были зарегистрированы различные многофазные спонтанные ритмичные разряды импульсов. На переживающих срезах энторинальной коры и гиппокампа крыс разного возраста (10-13 дней, 2-3 месяца и 24-27 месяцев) исследовали действие 4-АП, используя электрофизиологические методы и оптическую регистрацию активности нейронов (intrinsic optical signals) [31]. В группе крыс в возрасте 10-13 дней после добавления 100 μ M раствора 4-АП в перфузионную жидкость начало приступов отмечалось одновременно в виде нескольких очагов активности во всех областях среза, включая гиппокамп. У взрослых животных зона инициации приступа эпилептиформной активности была ограничена энторинальной корой и областями неокортекса. В срезах мозга старых животных (24-27 месяцев) начало приступа наблюдалось в основном в коре. Показано, что возрастные изменения в нейронной пластичности оказывают влияние на механизмы распространения активности в межцентральных сетях, которые могут способствовать развитию клинически наблюдаемых измене-

ний в симптоматике эпилепсии во время раннего детства, взрослой жизни и старения [31]. В экспериментах на целом животном *in vivo* было показано, что 4-АП, введенный через канюлю в энторинальную кору или гиппокамп крыс посредством микродиализа в концентрации 40 мМ, вызывает судорожную активность на ЭЭГ, начинающуюся в момент введения и длящуюся около часа [22]. Внутригиппокампальное введение 4-АП в концентрации 35 мМ взрослым самцам крыс стимулирует высвобождение глутамата из нервных окончаний, и в результате чего происходит увеличение внеклеточной концентрации глутамата, что приводит к эпилептиформной активности за счет повышенной активации глутаматных рецепторов. Возможно, при использовании более низких концентраций 4-АП, задействован несколько другой механизм развития приступов. Показано, что 4-АП концентрации 10 нМ, введенный непосредственно в энторинальную кору, вызывал интенсивный высокоамплитудный и высокочастотный приступ, распространяющийся в зону СА1 гиппокампа почти мгновенно [22]. Вызванная 4-АП синхронизация разрядов может быть заблокирована антагонистами глутаматных или ГАМКа рецепторов.

Микроинъекция 4-АП в дозе 10-300 мкМ в черную субстанцию, в область гиппокампа, в кору головного мозга и в область латерального желудочка, приводя к высвобождению возбуждающих и тормозных нейромедиаторов, вызывает спайк-волновую активность на ЭЭГ и такие поведенческие паттерны, как моторные альтерации, движение по кругу, приступы лимбического типа и встряхивания типа «wet dog». Позднее было обнаружено, что в целом мозге 4-АП стимулирует высвобождение небольшого количества аминокислот в стриатуме и гиппокампе, таких как глутамат, который обуславливает по крайней мере часть эпилептогенного эффекта за счет увеличения возбуждающей нейротрансмиссии. В литературе есть данные по исследованию действия на кортикальную ткань не только микроинъекций раствора, но и целых кристаллов 4-АП [11]. В экспериментах *in vivo* кристаллы 4-АП (в дозе 0,5 мг/кг) помещали на по-

верхность затылочно-теменной коры крыс, находившихся под анестезией, для моделирования стабильного очага эпилептической активности. После завершения действия анестетика у животных наблюдались вызванные действием 4-АП эпилептические приступы, регистрируемые на ЭЭГ в течение длительного времени, от 0,3 до 6 часов и более. Показаны корреляции между продолжительностью приступа эпилептиформной активности, вызванной внутрибрюшинным введением 4-АП, с экспрессией гена *c-fos* в стриатуме. Известно, что *c-fos* белки являются маркерами нейронной активации. Анестезированные крысы Wistar получили 4-АП внутрибрюшинно в дозировке 7 мг/кг, после чего посредством микродиализа были измерены концентрации нейромедиаторов в стриатуме *in vivo*. Одновременно производилась регистрация электрической активности стриатума и неокортекса. Приступ эпилептической активности в ЭЭГ, вызванный введением 4-АП, сопровождался значительным увеличением концентраций глутамата, аспартата, ГАМК, серотонина, норадреналина, и дофамина во внеклеточных диализатах. В течение эксперимента было показано долговременное увеличение числа *c-fos*-позитивных ядер клеток в стриатуме. Увеличение *c-fos* экспрессии во времени коррелировало с увеличением высвобождения глутамата. Высвобождение ГАМК, достигающее максимума через 60 минут после инъекции 4-АП, совпадало по времени с прекращением приступа на ЭЭГ. Аспартат, норадреналин, серотонин, и дофамин показали не столь выраженное увеличение концентрации. По всей вероятности, глутамат играет существенную роль во внеклеточной передаче сигналов, которая, в конечном счете, приводит к внутриклеточным каскадам и экспрессии гена *c-fos* в стриатуме во время экспериментально вызванной судорожной активности. В другой работе с системным введением 4-АП с помощью иммуногистохимического анализа также было показано распределение и уровень появления активированных нейронов в гиппокампе взрослой крысы линии Wistar после генерализованных приступов, вызванных внутрибрюшинной инъекцией 4-АП

в дозе 5 мг/кг. Через 3 часа после инъекции наблюдалась наиболее высокая тормозная межнейронная активация во всех областях гиппокампа (включая зубчатую фасцию). По-видимому, системное введение 4-АП вызывает лимбические приступы, которые, как предполагают, начинаются в энторинальной коре. В серии экспериментов, проведенных на срезах неокортекса крыс четырех возрастных групп (дни после рождения [P]: P 4-7, P 13-16, P 23-26, P 41-47) были исследованы возрастные изменения в развитии эпилептиформной активности. Показано, что есть характерная зависимость уровня эпилептиформной активности от возраста. Так, введение в перфузионную жидкость 4-АП не приводило к эпилептиформной активности в срезах мозга животных младшего возраста (P 4-7). Судорожные разряды, иктальные события и распространяющаяся депрессия имели максимальный уровень в возрасте P 13-16, который прогрессивно снижался у животных старших возрастных групп. Наряду с другими эпилептогенами, 4-АП вызвал все типы эпилептиформной активности с подобной возрастной динамикой. Таким образом, установлено, что срезам ткани неокортекса свойственны онтогенетические различия в восприимчивости к эпилептогену из-за общих онтогенетических изменений в возбудимости, неспецифично связанных с системами нейромедиаторов, независимо от системных эффектов препаратов. 4-АП полностью инактивируется в течение 1,5-2 часов и диффундирует в коре головного мозга приблизительно на 1 мм радиально от места введения [27], что позволяет создавать локальный очаг эпилептиформной активности и наблюдать распространение СВА за счет нейрональных связей, а не диффузии фармакологического агента.

Изониазидовая модель применяется относительно редко. Изониазид - блокатор ГАМК-аминотрансферазы, используется в дозе 300 мг/кг в/б. Изониазид (гидразид изоникотиновой кислоты – ГИНК) представляет собой средство для лечения активного туберкулеза, а также профилактическое средство при положительных кожных туберкулиновых пробах.

Пероральная передозировка этого вещества приводит к серьезным отравлениям вплоть до летального исхода. Последний бывает результатом непроходящих судорог или чрезмерной седации, часто применяемой для купирования припадков. Клиническая триада передозировки ГИНК включает рецидивирующие припадки, резистентные к обычным противосудорожным агентам, метаболический ацидоз, часто не устранимый бикарбонатом натрия, и кому. Антидотом изониазида является пиридоксин. Опубликована одна статья, описывающая изониазидовую модель. Исследовалась проницаемость ГЭБ для флуоресцентного красителя Evans Blue (EB40 мг/кг в/в) в норме и на фоне судорог, вызванных изониазидом (ИЗН, блокатор ГАМК-аминотрансферазы, 300 мг/кг в/б). В экспериментах использовали крыс Wistar. Тяжесть судорог оценивали по пятибалльной шкале Racine [1].

Лимбический эпилептический статус может быть вызван введение каината как локально (в желудочки мозга, внутривентрикулярно в дозах 0.1-3.0 μg для одного полушария), так и системно (обычно в дозах 15-30 mg/kg). Такой протокол эксперимента часто связан с высоким уровнем летальности и малым числом животных с эпилептическими изменениями на выходе. Hellier с коллегами в 1998 году предложил иную методику: многократное использование малых доз (5 mg/kg, i.p.) каината. Этот протокол отличается относительно меньшей летальностью (15 %), в этом случае практически все крысы (97 %) демонстрируют спонтанные судороги в течение 2 и более месяцев.

Литий-пилокарпиновая модель является наиболее востребованной в настоящее время. Эпилептический статус достигается интраперитонеальным введением высоких доз пилокарпина (более 300 мг/кг). Предварительное введение хлорида лития за 24 часа до пилокарпина в дозе 3 mEq/kg, i.p., потенцирует эпилептогенные свойства пилокарпина и позволяет снизить его дозировку в 10 раз. Острые поведенческие нарушения и повреждения мозга (вызванные судорожной активностью) в пилокарпи-

новой и литий-пилокарпиновой модели весьма схожи; однако имеются данные о различной эффективности противосудорожных препаратов в этих моделях, что свидетельствует о имеющихся различиях в биохимических механизмах реализации этих моделей. Chaudhary с коллегами в 1999 году показали, что введение лития хлорида допустимо в промежутке от 2 до 24 часов до пилокарпина, при этом результаты мало отличаются от введения за 24 часа. Литий-пилокарпиновая модель отличается меньшей летальностью и отсутствием выраженных периферических холиномиметических эффектов пилокарпина. Несколько позже было показано, что предварительное введение лития с последующим введением нескольких низких доз пилокарпина эффективно воспроизводит эпилептический статус и хроническую эпилепсию у крыс со значительно меньшим уровнем летальности, чем при использовании большой дозы пилокарпина. Причины меньшей летальности не ясны, но кажется правдоподобным, что повторное введение низких доз через определенные интервалы отражает некоторое «индивидуальное дозирование» в аспекте внутривидовых различий в чувствительности к пилокарпину, что невозможно при введении одной высокой дозы. Фокальное введение пилокарпина внутрь желудочков мозга, либо непосредственно в гиппокамп использовалось при изучении вызванной судорогами динамики уровня аминокислот. В этих исследованиях не проводилось детального анализа поведенческих электрофизиологических и морфологических изменений, характерных для данной модели. Однако несколько позже, в 2002 году, Furtado показал, что интрагиппокампальное введение пилокарпина (2.4 mg/ μ l; в объеме 1.0 μ l) вызывает эпилептический статус с нулевой летальностью. В данной модели также наблюдалось: спрутинг mossy fiber (метод Timm), спонтанные повторные судороги, параметры которых были сходны с теми, что наблюдались при системном введении пилокарпина. В исследовании Редкозубовой О.М, моделирование эпилептического статуса путём применения ЛПМ производилось на 53 крысах –самцах линии Вистар возраста 12 дней, 77 крысятах линии Вистар

возраста 25 дней и 115 беспородных белых крысах-самцах возраста 3-4 месяца. Крысы содержались в виварии в стандартных условиях. Используемые препараты: Лития хлорид (LiCl, фирмы Acrus) вводили в концентрации 1,5 мМ в объеме 2 мл стерильного физиологического раствора на кг веса за сутки до введения пилокарпина. Пилокарпина гидрохлорид (Pilocarpinum hydrochloride, фирмы Acrus) вводили в дозе 40 мг/сут в объеме 2 мл стерильного физиологического раствора. Взрослых животных оперировали за 7 дней до введения хемоконвульсанта пилокарпина (использовали крыс линии Вистар, n = 9) для регистрации ЭЭГ. Вживляли электроды в лобную кору головного мозга и гиппокамп по общепринятой методике в стандартном стереотаксическом приборе с использованием кетамина (100 мг/кг) с ксилазином (20 мг/кг) или эфира в качестве наркоза. Использовали монополярные электроды из серебряных проволочек с лаковой изоляцией диаметром около 250 мкм и с расстоянием между кончиками 0,5 мм. Их фиксировали к кости черепа цемент-фосфатом «Dyracryl». Через 7 дней после операции у взрослых крыс регистрировали ЭЭГ с помощью многоканальной усилительной системы с компьютерным анализом ЭЭГ и видеомониторингом. Все опыты проводили в одно и то же время суток. Спустя 1 неделю взрослым крысам вводили 2 мл LiCl в дозе 127 мг/кг внутрибрюшинно. Спустя 24 часа после инъекции LiCl крыс присоединяли к переходному устройству, записывали фоновую ЭЭГ в течение 10-15 минут, затем вводили пилокарпин, отмечали время начала эписпатуса. Эписпатус наблюдали в течение 2 часов, после чего купировали судорожную активность. Тяжесть судорог оценивалась по шкале Мариша. Как было указано, в первой части работы исследовали особенности развития эписпатуса у крыс разного возраста: у крысят линии Вистар в возрасте 12 дней (n = 45) (что соответствует младенческому возрасту человека), у 25-дневных крысят, когда созревают почти все медиаторные системы и у крыс в возрасте 90 дней (n = 14) (что соответствует взрослому состоянию). У взрослых крыс через 1-2 мин после введения пилокарпина наблюдалось

сильное слюно- и слезотечение, «жевание», беспокойство: животное бежало по клетке, периодически становилось на задние лапки. Еще через 3-7 минут наблюдался постоянно повторяющийся «рефлекс» расчесывания задними лапками спины, наблюдались усиленные дефекация и уринации. Развитие эпистатуса начинается с мелкой дрожи всего тела, «кивания» головой, что соответствует судорожной активности 2 балла по шкале Мареша. Затем наступает быстрый переход к третьей стадии, которая развивается в судорожную активность, оцениваемую по шкале Мареша в 4 балла. Эта стадия может продолжаться от нескольких секунд до нескольких минут. У 78,3 % животных судороги четвертой стадии могут сменяться более слабыми судорожными пароксизмами третьей стадии. Позднее у крыс могут возобновиться сильные судороги. Такая периодичность судорожной активности может совершаться в виде нескольких циклов. У 24 % животных после четвертой стадии может развиваться пятая которая характеризуется тяжёлыми тонико-клоническими судорогами с потерей позы. Нередко наблюдались случаи так называемого «встряхивания мокрой собаки». У 12-дневных крысят судороги проявлялись главным образом в подергиваниях лицевых мышц, «жевательных» движениях, «кивании» головы, клонических судорогах передних конечностей, плавательных движениях и повышенном тонусе хвостовых мышц. У крысят, по-видимому, в силу незавершенности формирования защитных стволовых тормозных механизмов часто за клонической стадией возникал тонический компонент припадка – выгибание спины. У 25-дневных крысят судороги проявлялись в виде клонических судорог передних конечностей и мышц головы. Конвульсии характеризовались большей интенсивностью, нежели у 12-дневных крысят, наблюдалась 4 стадия. По мере созревания противоэпилептической защиты у крыс линии Вистар, латентный период наступления эпилептического статуса увеличивался, и были получены следующие результаты: у 12-дневных крысят ЛП составил 14.6 ± 6 мин, у 25-дневных – 24.8 ± 12.7 мин, у 90-дневных крыс ($p < 0,05$), а также для групп 12-ти и 90-дневных

крыс ($p < 0,001$). Полученные результаты объясняются повышенной судорожной готовностью мозга вследствие незрелости медиаторных систем в 12-дневном возрасте, а также недостаточной зрелостью противоэпилептических защитных механизмов. Судорожную готовность головного мозга оценивали по количеству крыс с развившимся эпилептическим статусом. Оказалось, что у 12-дневных крысят линии Вистар судорожный порог ниже, чем у 25-дневных и 90-дневных, а у 25-дневных, в свою очередь, – ниже, чем у 90-дневных. В группе 12-дневных 95,4 % крысят оказались восприимчивы к введению литий-пилокарпина, а в группе 225-дневных – 80 %, а в группе 90-дневных 64,3 %. Для первых двух недель развития крысёнка постсинаптическое действие ГАМК на ГАМК А-рецептор проявляется в виде деполяризации, и только спустя две недели деполяризация сменяется гиперполяризацией в большинстве структур мозга, в том числе непосредственно вовлечённых в патогенез судорог – гиппокампе и миндалине. По литературным данным возможным клеточным механизмов гиперполяризации является начало экспрессии мембранного K/Cl ко-транспортёра, обеспечивающего трансмембранный градиент ионов Cl. Способность адаптивных и защитных систем мозга противостоять эпилептическому статусу оценивали по проценту смертности крыс после двухчасового эпистатуса, купированного. У 25-дневных крысят высок процент смертности – 16,3 %. У 12-дневных крысят процент летальных исходов невелик – 2,2 %. Взрослые особи эпистатус переносят более тяжело, чем 12-ти и 25-дневные крысята – 21,4 % случаев с летальным исходом после купирования эпистатуса паральдегидом (0,6 мл/кг 10 % р-ра). Эпилептический статус, перенесённый в раннем возрасте, часто ассоциируется со значительными повреждениями мозга, а также увеличивающимся риском развития эпилепсии и повреждением когнитивных функций. Есть данные, что области таламуса наиболее уязвимы по время эпилептического статуса, вызванного литий-пилокарпином, что показано на 12-дневных крысятах линии Вистар (Kubova, 2001). Однако, остаётся непонятным, почему, вызы-

вая такие разрушения в созревающем мозге, смертность от ЭС остаётся низкой по сравнению со взрослыми животными, поскольку противозепилептическая защита в раннем возрасте также остаётся несовершенной. У крыс линии Вистар в различных возрастных группах (12 дней, $n = 4$, 25 дней, $n = 4$, 90 дней, $n = 4$) исследовали характерные особенности ЭЭГ при развитии эпилептического статуса после введения литий-пилокарпина. У 12-дневных и 25-дневных крысят в период 2 стадии в ЭЭГ происходило увеличение амплитуды разрядов в 2 раза в коре и в 4 раза в гиппокампе. Гиппокампальный статуса мог начаться в левом гиппокампе, или в правом, или в обоих синхронно. В отличие от крысят, у взрослых животных вторая стадия характеризуется незначительным и непостоянным увеличением амплитуды разрядов во всех областях синхронно- и в коре, и в гиппокампе. Третья стадия, характеризующаяся как стабильное самоподдерживающееся судорожное состояние, не переходящее в четвертую стадию, на ЭЭГ отражается как постоянный, непрерывный разряд следующих друг за другом с большой частотой спайков (15-20 имп/с), характеризующихся большой амплитудой (до 550 мкВ). Характерной особенностью разряда является правильный, чёткий, однообразный рисунок совершенно упорядоченных спайков. Однако у взрослых животных со зрелой системой противозепилептической защиты нередко можно было наблюдать подавления электрографических коррелятов судорожных пароксизмов путём замещения высокоамплитудной активности низкоамплитудным ритмом, что наблюдалось в коре и гиппокампе синхронно. Низкоамплитудный ритм мог продолжаться 0,5-1,5 сек с интервалами от 10-14 сек в течение 2 ч записи. Можно проследить динамику судорожных приступов, которые развиваются сначала в гиппокампе, а затем и в коре. У 12-ти дневных крысят первоначально судорожная активность развивается в гиппокампе и только через 10-20 сек она появляется в коре. У 25-дневных крысят эпилептическая активность в коре проявляется позже на 5-6 мин. У грызунов первые 2 недели жизни являются критическим для окончательного созревания многих

нейромедиаторных систем: ГАМК-ергической, АВП-ергической, глутаматергической. Следовательно, в разные сроки после рождения по-разному складываются взаимоотношения между теми медиаторными системами, которые обеспечивают или повышение судорожной активности мозга или, напротив, антиэпилептические защитные механизмы. В связи с разной подготовленностью, зрелостью медиаторных систем у крыс разного возраста, ответные реакции эпилептизированного тем или иным методом мозга могут быть неодинаковыми при применении противоэпилептических средств. Для описания полученных результатов, касающихся эффектов исследуемых препаратов на судорожную активность, важно иметь представление о развитии судорожного припадка. В крестообразном приподнятом лабиринте [КПЛ] за 5 мин тестирования оценивали: 1. Латентный период, 2. Число и продолжительность выходов (всеми четырьмя лапами) на открытые лучи, 3. Число выглядываний (выход двумя лапами), 4. Число выходов на закрытые лучи, 5. Суммарное время пребывания крысы на открытых лучах, 6. Число стоек с опорой на стенки закрытых лучей, 7. Время замираний, 8. Число умываний, 9. Суммарное время умываний, 10. Количество дефекаций.

В методике, примененной С.В. Калемневым, А.В. Зайцевым и соавторами в 2016 году, опыты проводили на полуторамесячных крысах-самцах популяции Wistar в соответствии с Протоколом обращения с лабораторными животными ИЭФБ РАН. Для индукции эпилептического статуса использовали литий-пилокарпиновую модель. За сутки до внутрибрюшинного (в/б) введения агониста мускариновых рецепторов пилокарпина («Sigma-Aldrich», США, 30-40 мг/кг) крысам в/б вводили LiCl («Sigma-Aldrich», 127 мг/кг или 3 ммоль/л), а за один час до введения хлорида лития – в/б в дозе 1 мг/кг антагонист мускариновых рецепторов метилскополамин («Sigma-Aldrich») для предотвращения избыточной активации периферических мускариновых рецепторов. Он отличается от скополамина тем, что не проходит ГЭБ. Контрольным животным в те же

сроки вводили LiCl в стерильном физиологическом растворе. Через 3 ч после введения пилокарпина, в течение которых у всех экспериментальных крыс развивались судороги, продолжающиеся не менее 1-3 часов, части животных (группа леченых) в/б вводили мемантин («Sigma-Aldrich», 10 мг/кг), оставшимся «группа нелеченых» – физиологический раствор. Оценку поведения проводили на 8-15-е сут после введения пилокарпина [в это время уже должны возникать самопроизвольные судороги, в случае эффективного запуска эпилептогенеза]. Ориентировочное исследовательское поведение в новом пространстве исследовали в тесте «Открытое поле» (ОП) в течение 5 мин. Для анализа угашения ориентировочно-исследовательского поведения тестирование повторяли в течение трех дней с интервалом в 24 ч. Все эксперименты регистрировали на видеокамеру и в дальнейшем анализировали этологические показатели (исследовательское поведение, тревожность и двигательная активность) с помощью компьютерных программ Fild-4 и Tracking, разработанных в ФГБНУ ИЭМ. Показатели пространственной памяти исследовали в водном лабиринте Морриса (ВЛМ)/ Первую тренировку проводили через день после ОП и повторяли в течение четырех дней по четыре попытки в день. Об эффективности обучения животных судили по сокращению длины пути, пройденного до нахождения скрытой под водой платформы. Отмечалось, что при более слабых и коротких судорогах (менее 2 часов) в дебюте заболевания развивались и более стертые формы когнитивных и поведенческих нарушений.

Таким образом, наиболее вытребованными в настоящее время модели судорожных пароксизмов являются химические и генетические модели, менее распространены методы электрической провокации эпилептогенеза.

Список использованных источников

1. Зыбина А.М., Куличенкова В.Н. Исследование изониазидовой модели эпилепсии как альтернативы пентилентетразоловой // Материалы международного молодежного научного форума «Ломоносов – 2016». М.: МГУ, 2016.
2. Калемениев С.В., Зубарева О.Е., Сизов В.В., Лаврентьева В.В., Лукомская Н.Я., Ким К.Х., Зайцев А.В., Магазаник Л.Г. Мемантин ослабляет когнитивные нарушения у крыс, обусловленные эпилептическим статусом в условиях литий-пилокарпиновой модели // Доклады Академии наук. 2016.
3. Калинина Д.С. Особенности формирования электрической активности коры мозга в онтогенезе крыс, перенесших пренатальную гипоксию. Дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2017.
4. Карякин В.Б., Васильев Д.С., Журавин И.А., Зайцев А.В., Магазаник Л.Г. Ранние морфофункциональные изменения в ГАМКергической системе гиппокампа крыс при литий-пилокарпиновой модели эпилепсии // Доклады Академии наук. 2017.
5. Кодиров С.А., Журавлев В.Л., Сафонова Т.А., Курилова Л.С., Крутецкая З.И. Суперсемейство потенциал-зависимых K⁺-каналов: структура, функции, патология // Цитология. 2010.
6. Козловский В.Л., Алексеева Н.Ю. Способ моделирования пароксизмального расстройства // Пат. 2434306 Российская Федерация, МПК G 09 B 23 28, заявитель и патентообладатель Государственное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский психоневрологический институт им. В.М. Бехтерева» (НИПИ им. В.М. Бехтерева). № 2009149137/14; заявл. 28.12.09; опубл. 2011.
7. Постникова Т.Ю., Зубарева О.Е., Коваленко А.А., Ким К.Х., Магазаник Л.Г., Зайцев А.В. Эпилептический статус вызывает нарушения синаптической пластичности в гиппокампе крыс, сопровождающиеся изменением уровня экспрессии nmda-рецепторов // Биохимия. 2017.
8. Редкозубова О.М. Особенности развития эпилептического статуса и способов его купирования у крыс разного возраста на литий-пилокарпиновой модели. Дис. ... канд. биол. наук. М., 2007.
9. Akdogan I., Goksin-Yonguc N. Experimental epilepsy models and morphologic alterations of experimental epilepsy models in brain and hippocampus // Underlying Mechanisms of Epilepsy InTech. 2011.
10. André V., Henry D., Nehlig A. Dynamic Variations of Local Cerebral Blood Flow in Maximal Electroshock Seizures in the Rat // Epilepsia. 2002.
11. Baracska P., Szepesi Z., Orbán G. Generalization of seizures parallels the formation of «dark» neurons in the hippocampus and pontine reticular formation after focal-cortical application of 4-aminopyridine (4-AP) in the rat // Brain Res. 2008.

12. Bartlett T.E., Bannister N. J., Collett V.J., Dargan S.L., Massey P.V., Bortolotto Z.A., Fitzjohn S.M., Bashir Z.I., Collingridge G.L., Lodge D. Differential roles of NR2A and NR2B-containing NMDA receptors in LTP and LTD in the CA1 region of two-week old rat hippocampus // *Neuropharmacology*. 2007.
13. Castel-Branco M.M., Alves G.L., Figueiredo I.V., Falcão A.C., Caramona M.M. The maximal electroshock seizure (MES) model in the preclinical assessment of potential new antiepileptic drugs // *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*. 2009.
14. Chaisewikul R., Baillie N., Marson A.G. Calcium antagonists as an add-on therapy for drug-resistant epilepsy // *Cochrane Database Syst Rev*. 2001.
15. Dhir A. Pentylentetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy // *Curr Protoc Neurosci*. 2012.
16. Doi T., Ueda Y., Nagatomo K., Willmore L.J. Role of glutamate and GABA transporters in development of pentylentetrazol-kindling // *Neurochem Res*. 2009.
17. Ergül Erkeç Ö., Arihan O. Pentylentetrazole Kindling Epilepsy Model // *Journal of the Turkish Chapter of ILAE*. 2015.
18. Giardina W.J., Gasior M. Acute Seizure Tests in Epilepsy Research: Electroshock and Chemical-Induced Convulsions in the Mouse // *Current Protocols in Pharmacology*. 2009.
19. Löscher W. *Animal Models of Epilepsy and Epileptic Seizures // Antiepileptic drugs: pharmacology and therapeutics*. Berlin: Springer-Verlag, 1999.
20. Kim J., Gale K., Kondratyev A. Effects of repeated minimal electroshock seizures on NGF, BDNF and FGF-2 protein in the rat brain during post-natal development // *Int. J. Dev. Neurosci*. 2010.
21. Klioueva I.A., van Luijtelaar E.L., Chepurnova N.E., Chepurnov S. A"PTZ-induced seizures in rats: effects of age and strain // *Physiol. Behav*. 2001.
22. Medina-Ceja L., Cordero-Romero A., Morales-Villagrán A. Antiepileptic effect of carbenoxolone on seizures induced by 4-aminopyridine: A study in the rat hippocampus and entorhinal cortex // *Brain Res*. 2008.
23. Pathak M., Kurtz L., Tombola F., Isacoff E. The Cooperative Voltage Sensor Motion that Gates a Potassium Channel // *J. Gen. Physiol*. 2005.
24. Peterson S.L. *Electroshock // Neuropharmacology Methods in Epilepsy Research*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1998.
25. Ploski J.E., Newton S.S., Duman R.S. Electroconvulsive seizure-induced gene expression profile of the hippocampus dentate gyrus granule cell layer // *J. Neurochem*. 2006.
26. Rogawski M.A., Löscher W. The neurobiology of antiepileptic drugs // *Nature Reviews Neuroscience*. 2004.

27. Tsytsarev V., Maslov K.I., Yao J., Parameswar A.R., Demchenko A.V., Wang L.V. In vivo imaging of epileptic activity using 2-NBDG, a fluorescent deoxyglucose analog // J. of Neuroscience Methods. 2012.
28. Sackheim H.A., Devanand D.P., Nobler M.S. Electroconvulsive therapy // Psychopharmacology: the fourth generation of progress / ed. F.E. Bloom, D.J. Kupfer. N.Y.: Raven Press, 1995.
29. Sawayama E. Moderate hyperventilation prolongs electroencephalogram seizure duration of the first electroconvulsive therapy // J. ECT. 2008.
30. Shorvon S., Perucca E., Fish D., Dodson W.E. The Treatment of Epilepsy // Wiley. 2008.
31. Weissinger F., Buchheim K., Siegmund H., Meierkorda H. Seizure spread through the life cycle: Optical imaging in combined brain slices from immature, adult, and senile rats in vitro // Neurobiol. Dis. 2005.