

ТВАРИННІ МОДЕЛІ ЕПІЛЕПСІЇ

Ю.Бойко
Одеський державний аграрний університет

Епілепсії охоплюють широкий спектр клінічних, поведінкових і електрофізіологічних проявів та відноситься до числа найбільш динамічних захворювань в неврології. Класичний підхід стверджує, що раптові судоми є характерною ознакою епілепсії, але сучасне технологічне обладнання дозволило встановити циклічні ознаки при безпосередньому запису електричної діяльності головного мозку. Вкрай широке розповсюдження та великі економічні збитки, що наносить епілепсія, а також втрата працездатності та інвалідизація пацієнтів викликали потребу у ретельному дослідженні цієї патології. Відповідно, для вивчення цього захворювання на тваринах був запропонований широкий спектр тваринних моделей, тобто гострих і хронічних протоколи індукції судом. Дослідження епілепсії мають довгу історію порівняльних досліджень анатомічних структур та фізіологічних показників у різних видів ссавців. Однак, лише порівняно обмежена кількість моделей епілепсії, переважно з застосуванням гризунів, отримала розповсюдження у більшості експериментальних досліджень. У багатьох випадках вказані тваринні моделі були обрані або за зручність, або завдяки звичності, але у кожному окремому випадку саме дослідник повинен обирати кінцевий варіант моделі епілепсії керуючись технічним чи експериментальним обґрунтуванням. Наразі у якості експериментальних тварин почали використовувати *Danio rerio* (Даніо-реріо), рибу родини *Cyprinidae* (карпових), її значно простіший за своєю будовою та фізіологією мозок, у порівнянні з ссавцями, дозволяє отримати значні переваги при експериментальних дослідженнях. У роботі наданий аналіз сучасного стану методології дослідження епілептичних станів на різних тваринних моделях. Розглянуті недоліки та переваги окремих найбільш поширених моделей, проведено порівняння моделей між собою.

Ключові слова: епілепсія, судоми, моделі, гризуни, собаки, імунний статус.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ, АНАЛІЗ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ПУБЛІКАЦІЙ

Слід зазначити, що зараз не існує єдиної тваринної моделі епілепсії, яка б повністю відповідала цієї патології у людини. Це не є дивно, враховуючи низку властивостей, які необхідно включити в визначення терміну «епілепсія», кожна з них має чітке набуте або генетичне походження та різноманітні поведінкові прояви, електрографічні сигнатури, фармакологічні профілі та гістопатологію. Зазвичай тваринні моделі епілепсії відносять до одного з двох типів – це індукована або успадкована схильність до розвитку судом. Як і всі інші моделі хвороб, тваринні моделі епілепсії повинні повторювати причинний(і) механізм(и), що лежить в основі захворювання у людини (конструктивна валідність), фенотипові особливості стану людини (особиста валідність) і клінічні відповіді на лікування (прогностична валідність). У гіпотетичному сенсі ідеальна модель задовольнятиме всім трьома критеріям, тобто матиме схожу етіологію з аналогічними формами у людини, демонструвати однакові фізіологічні, поведінкові або генетичні фенотипи та реагувати на однакові методи лікування [1]. У практичному сенсі ця мета залишалася недосяжною з моменту, коли вперше у лабораторії були продемонстровані судоми спричинені електрошоком. Комплексний огляд тваринних моделей епілепсії був висвітлений у багатьох працях, які описують і характеризують різні стандартні моделі [2-12]. У подальшому будуть проаналізовані проблеми пов'язані з тією чи іншою тваринною моделлю, а також описані деякі нові підходи, які дозволяють моделювати епілепсію у багатьох видів.

Людські епілепсії найчастіше визначаються як рецидивуючі самостійні процеси та супроводжується пароксизмальними розладами мозкової діяльності з надмірним розрядженням нейронів головного мозку [10]. Моделі епілепсії на тваринах повинні повторювати та прояснювати аномальні електрографічні феномени нервових клітин, а також багато нейроанатомічних, біохімічних [13-15] та генетичні [16-20] особливостей, що виникають при епілепсії. На багатьох моделях тварин, електрографічні судоми, підтверджені за допомогою електроенцефалограми (ЕЕГ), також точно пов'язані із спостережуваною та кількісно визначеною судомною поведінкою. Судоми можуть спостерігатися після гострих інсультів або генетичних маніпуляцій майже у кожного виду тварин з

нервовою системою, тому потенційний діапазон моделей величезний. Схильність тварин до розвитку судом була оцінена ще в 1869 році Джоном Джексоном, який закликав приділяти більше уваги порівняльній фізіології та вивчення спонтанно виникаючих судом у собак [21]. Піонерські дослідження його колеги Девіда Фер'є на кроликах, морських свинках, котках і собаках незабаром продемонстрували, що пряма електрична стимуляція кори великих півкуль у цих ссавців викликає клонічні напади, які нагадують людську епілепсію [22]. Важливо пояснити, що епілептичні напади викликані електричним струмом є гострим станом, а не хронічною моделлю спонтанних повторних епілептичних нападів.

Електрично індуковані напади використовувалися на котках для тестування протисудомних препаратів починаючи з 1930-х років [23]. Внутрішньоклітинні і позаклітинні методики запису стали поширеними в кінці 1970-х років, на гострих моделях вони виявилися корисними для з'ясування електричних компонент, що лежать в основі нападів, зокрема, пароксизмальний зсув деполяризації [10]. Як правило, моделі гострих судом є найкращими, коли використовуються для моделювання конкретних видів людської епілепсії, класифікованих як набуті. Моделі гострих судом доповнюють протоколи індукованого розпалювання, такі як максимальний електрошок, що моделює генералізовані тоніко-клонічні судоми, атакою введення пентилентетразолу, що моделює клонічні судоми. Ці моделі були використані, як базові для подальшої розробки багатьох інших сучасних моделей епілепсії.

Історія дослідження епілепсії показує, що іноді теоретична досконалість моделі йде всупереч експериментальній придатності, це накладає певні обмеження та вимагає обережності при остаточному виборі моделі для застосування. Хоча дослідники епілепсії широко використовували собак, нелюдських приматів і особливо котів [24, 25] до 1980-х років, щури та миші з набутими формами епілепсії стали, безумовно, найпоширенішими представниками лабораторних тварин для тваринних моделей. Широке та історичне використання гризунів часто робить їх типовими тваринами для епілептичних експериментів. Зараз є багато суттєвих переваг епілептичних моделей на гризунах, що доводиться вищезгаданими літературними даними, але у будь-якому виборі експериментальної моделі доцільно співвідносити переваги конкретної моделі із поставленою дослідницькою метою.

НАЙБІЛЬШ ПОШИРЕНІ ТВАРИННІ МОДЕЛІ ЕПІЛЕПСІЇ

Пентилентетразолова модель епілепсії

При скринінгу антиконвульсантів автори [26, 27] повідомили про зосередження їх досліджень на розумінні та запобіганні епілептогенезу після інсульту головного мозку, черепно-мозкових травм та інсультів пов'язаних з черепно-мозковими травмами, а також затяжними гострими симптоматичними судомами, такі як епілептичний статус або комплексні фебрильні судоми. Феномен, при якому раніше нормальний мозок патологічно змінюється та схильний до генерування аномальної електричної активності, яка сприяє повторюванню неспровокованим судомам називають епілептогенезом. Патологічні процеси при епілептогенних подіях підпорядковуються множинним молекулярним, анатомічним або ланцюговим змінам, а саме дисрегуляцією роботи іонних каналів, зміненою пластичністю рецепторів і поширеною нейродегенерацією, що призводить до розвитку судом. Молекули, які редукують прогресування кіндлінгу, можуть стати «антиепілептогенними» або «модифікуючими» препаратами [28]. Модель розпалювання пентилентетразолом надає значний внесок у розуміння наслідків повторних нападів при епілептогенезі. Протиепілептогенний ефект будь-якої фармакотерапії оцінюють шляхом визначення затримки до міоклонічного посмикування, кількості міоклонічних посмикувань, латентністю до розвитку генералізованих тоніко-клонічних нападів, кількості генералізованих тоніко-клонічних нападів і тяжкості генералізованих тоніко-клонічний нападів, що спостерігається після кожного ін'єкування пентилентетразолу під час розпалювання [29]. Нейрохімічні молекулярні зміни, спричинені ремодельованням нейронних ланцюгів, що виникають в результаті повторних нападів, є потенційними терапевтичними цілями для запобігання або уповільнення епілептогенезу. Kaur et al. оцінили антиепілептогенний ефект неролідолу, фітокомпоненту, що доступний як основний компонент ефірної олії, а також вальпроєвої кислоти (300 мг/кг), які вводили за 30 хв до кожної ін'єкції PTZ (35 мг/кг) під час розпалювання [30]. Модель епілептичного статусу після введення пілокарпіну також показала антиепілептогенну дію вальпроєвої кислоти, таким чином демонструючи свою добру прогностичну якість та доводячи валідність цієї моделі для скринінгу протиепілептогенної терапії [28]. Протиепілептичні засоби, такі як етосуксимід, вальпроат, фенобарбітал, вігабатрин і ретигабін, введені за 30-60 хвилин до введення

пентилентетразолу, також пом'якшують гостроту нападу та тяжкість стану тварини під час розпалювання [8]. Некомбінантні тварини, у яких відсутні такі гени, як гени матричної металопротеїназа-9, FGF-22, і нейритину, мають знижену інтенсивність судомних нападів та більш легко переносять розпалювання пентилентетразолом [30]. Таким чином, модель має широке застосування у дослідженнях судомних та епілептичних станів.

Пілокарпінова модель епілепсії

Пілокарпінова модель була вперше описана на початку 1980-х років та характеризується однократним введенням великої дози пілокарпіну, яка лежить в діапазоні 300–400 мг/кг для щурів [32]. Кращий спосіб введення препарату – внутрішньоочеревинні або інтрагіпокампальні ін'єкції; обидва методи виявляють ідентичні електрографічні та поведінкові ефекти, а також аналогічні гістопатологічні зміни [33]. Однак інтрагіпокампальні ін'єкції мають а вищий рівень виживання (71%), ніж внутрішньоочеревинні ін'єкції [33]. Після введення пілокарпіну тварини зазвичай залишаються нерухомими 10 хвилин, після чого спостерігається посмикування м'язів (I стадія); хитання головою (II стадія); клонус передніх кінцівок (III стадія); двосторонній клонус передніх і задніх кінцівок (IV стадія); двосторонній клонус кінцівок із підняттям на задні кінцівки і наступним падінням (V стадія) [34]. Шкала Расіна часто використовується для оцінки тяжкості нападу; V стадія і вище вказують на важке ураження головного мозку та розвиток епілептичного статусу [34]. Через 30 хвилин судоми стають самоповторювальними і відбуваються з 15-хвилинними інтервалами та тривають годинами, доки не буде використаний відповідний протисудомний засіб. Пілокарпін є агоністом до мускаринових ацетилхолінових M1-рецепторів, що сприяє безперервній збуджуючій активності, яка є наслідком пошкодження тканин мозку [35].

Нейрозапальні моделі епілепсії

Нагальна потреба в розробці нових ліків для пацієнтів із стійкою до ліків формами епілепсії потребують принципово нових підходів щодо модельних досліджень. Наразі, все ще відсутні антиепілептогенезні стратегії та ефективна фармакотерапія для лікування фармакорезистентних форм епілепсії, так само не розроблена профілактика або відстрочення початку хвороби. В останнє десятиліття все більше клінічних і експериментальних доказів підтверджують роль запалення в патофізіології епілепсії [36]. Було показано, що різні запальні шляхи та медіатори надають суттєвого внеску у механізми виникнення та прогресування судом ни різних експериментальних моделях [37-39]. Підсумовуючи результати наукових публікацій щодо цілей і методів лікування, перевірених на експериментальних моделях, було показано, що каскад запальних реакцій до яких включені нейрони, астроцити, мікроглія та ендотеліальні клітини приймають пряму участь у розвитку фармакорезистентних епілепсій. Також на запальних моделях епілепсії було доведено центральну роль ряду інфламаторних медіаторів: циклооксигеназа-2, рецептор простагландину EP2, моноацилгліцеролліпаза, інтерлейкін-1b, HMGB1, Toll-подібні рецептори, рецептор P2X7, імунопротеасома, mTOR, TGF-b, металопротеїнази та хемокіни.

ВИСНОВКИ

Дослідження механізмів епілептогенезу не можливо без застосування адекватних, валідних експериментальних моделей, серед яких найбільшим потенціалом володіють тваринні моделі. Найбільше розповсюдження отримали моделі епілепсії індуковані хімічними агентами (конвульсантами), основна маса тваринних моделей епілепсії використовують гризунів (щурів та мишей, у тому числі генетично модифікованих), на другому місці по частоті використання знаходяться собаки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Willner P. Animal models as simulations of depression. Trends Pharmacol Sci. 1991; 12(4):131-6. doi: 10.1016/0165-6147(91)90529-2. PMID: 2063478.
2. Avanzini G. Animal models relevant to human epilepsies. Ital J Neurol Sci. 1995; 16(1-2):5-8. doi: 10.1007/BF02229068. PMID: 7642352.
3. Grone, B. P., & Varaban, S. C. (). Animal models in epilepsy research: legacies and new directions. Nature neuroscience. 2015; 18(3):339-343 doi: 10.1038/nn.3934
4. Buckmaster PS. Laboratory animal models of temporal lobe epilepsy. Comp Med. 2004; 54(5):473-85. PMID: 15575361

5. Calcagnotto, M.E. & Baraban, S.C. Animal models of epilepsy. in Youmans Textbook of Neurological Surgery (ed. W. HR) 659-655 (Elsevier, 2011)
6. Harward SC, McNamara JO. Aligning animal models with clinical epilepsy: where to begin? *Adv Exp Med Biol.* 2014;813:243-51. doi: 10.1007/978-94-017-8914-1_19. PMID: 25012381
7. Kandratavicius L, Balista PA, Lopes-Aguiar C, Ruggiero RN, Umeoka EH, Garcia-Cairasco N, Bueno-Junior LS, Leite JP. Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2014;10:1693-705. doi: 10.2147/NDT.S50371. PMID: 25228809; PMCID: PMC4164293
8. Löscher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure.* 2011;20(5):359-68. doi: 10.1016/j.seizure.2011.01.003. Epub 2011 Feb 2. PMID: 21292505
9. Pitkänen, A., Galanopoulou, A. S., & Moshé, S. L. (Eds.). *Models of seizures and epilepsy.* Academic Press, 2017
10. Purpura, D.P., Penry, J.K., Tower, D., Woodbury, D.M. & Walter, R. *Experimental Models of Epilepsy – A Manual for the Laboratory Worker.* Raven Press, New York City, 1972
11. Raol YH, Brooks-Kayal AR. Experimental models of seizures and epilepsies. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2012;105:57-82. doi: 10.1016/B978-0-12-394596-9.00003-2. PMID: 22137429
12. Schwartzkroin, P.A. ed. *Epilepsy: models, mechanisms, and concepts.* Cambridge University Press., Cambridge, 1993
13. Bradford HF. Glutamate, GABA and epilepsy. *Prog Neurobiol.* 1995;47(6):477-511. doi: 10.1016/0301-0082(95)00030-5. PMID: 8787032.
14. Pun RY, Rolle IJ, Lasarge CL, Hosford BE, Rosen JM, Uhl JD, Schmeltzer SN, Faulkner C, Bronson SL, Murphy BL, Richards DA, Holland KD, Danzer SC. Excessive activation of mTOR in postnatally generated granule cells is sufficient to cause epilepsy. *Neuron.* 2012;75(6):1022-34. doi: 10.1016/j.neuron.2012.08.002. PMID: 22998871; PMCID: PMC3474536.
15. Ryan K, Backos DS, Reigan P, Patel M. Post-translational oxidative modification and inactivation of mitochondrial complex I in epileptogenesis. *J Neurosci.* 2012;32(33):11250-8. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0907-12.2012. PMID: 22895709; PMCID: PMC3518304.
16. Jobe PC, Mishra PK, Ludvig N, Dailey JW. Scope and contribution of genetic models to an understanding of the epilepsies. *Crit Rev Neurobiol.* 1991;6(3):183-220. PMID: 1773452.
17. Löscher W. Genetic animal models of epilepsy as a unique resource for the evaluation of anticonvulsant drugs. A review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1984;6(9):531-47. PMID: 6439966.
18. Noebels JL. Single-gene models of epilepsy. *Adv Neurol.* 1999;79:227-38. PMID: 10514817.
19. Puranam RS, McNamara JO. Seizure disorders in mutant mice: relevance to human epilepsies. *Curr Opin Neurobiol.* 1999;9(3):281-7. doi: 10.1016/s0959-4388(99)80041-5. PMID: 10395577.
20. Schwartzkroin PA, Roper SN, Wenzel HJ. Cortical dysplasia and epilepsy: animal models. *Adv Exp Med Biol.* 2004;548:145-74. doi: 10.1007/978-1-4757-6376-8_12. PMID: 15250593.
21. *Comparative Pathology.* British medical journal 1869;2: 371-372
22. Ferrier, D. *Experimental Researches in Cerebral Physiology and Pathology.* J Anat Physiol. 1873;8:152-155
23. Putnam TJ, Merritt HH. Experimental determination of the anticonvulsant properties of some phenyl derivatives. *Science.* 1937 28;85(2213):525-6. doi: 10.1126/science.85.2213.525. PMID: 17750072.
24. Gutnick MJ, Prince DA. Effects of projected cortical epileptiform discharges on neuronal activities in ventrobasal thalamus of the cat: ictal discharge. *Exp Neurol.* 1975;46(2):418-31. doi: 10.1016/0014-4886(75)90146-6. PMID: 1116510.
25. Dichter M, Spencer WA. Penicillin-induced interictal discharges from the cat hippocampus. I. Characteristics and topographical features. *J Neurophysiol.* 1969;32(5):649-62. doi: 10.1152/jn.1969.32.5.649. PMID: 4309021.
26. Williamson J, Singh T, Kapur J. Neurobiology of organophosphate-induced seizures. *Epilepsy Behav.* 2019;101(Pt B):106426. doi: 10.1016/j.yebeh.2019.07.027. Epub 2019 Aug 6. PMID: 31399343.
27. Singh T, Joshi S, Williamson JM, Kapur J. Neocortical injury-induced status epilepticus. *Epilepsia.* 2020;61(12):2811-2824. doi: 10.1111/epi.16715. Epub 2020 16. PMID: 33063874; PMCID: PMC8764937.
28. Löscher W, Brandt C. Prevention or modification of epileptogenesis after brain insults: experimental approaches and translational research. *Pharmacol Rev.* 2010;62(4):668-700. doi: 10.1124/pr.110.003046. PMID: 21079040; PMCID: PMC3014230.
29. Pitkänen A, Lukasiuk K, Dudek FE, Staley KJ. *Epileptogenesis.* Cold Spring Harb Perspect Med. 2015;5(10):a022822. doi: 10.1101/cshperspect.a022822. PMID: 26385090; PMCID: PMC4588129.

30. Kaur D, Pahwa P, Goel RK. Protective Effect of Nerolidol Against Pentylene-tetrazol-Induced Kindling, Oxidative Stress and Associated Behavioral Comorbidities in Mice. *Neurochem Res.* 2016;41(11):2859-2867. doi: 10.1007/s11064-016-2001-2. Epub 2016 Jul 14. PMID: 27418279.
31. Shimada T, Yoshida T, Yamagata K. Neuritin Mediates Activity-Dependent Axonal Branch Formation in Part via FGF Signaling. *J Neurosci.* 2016 Apr 20;36(16):4534-48. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1715-15.2016. PMID: 27098696; PMCID: PMC6601825.
32. Urski WA, Cavalheiro EA, Schwarz M, Czuczwar SJ, Kleinrok Z, Turski L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behav Brain Res.* 1983;9(3):315-35. doi: 10.1016/0166-4328(83)90136-5. PMID: 6639740
33. Furtado Mde A, Braga GK, Oliveira JA, Del Vecchio F, Garcia-Cairasco N. Behavioral, morphologic, and electroencephalographic evaluation of seizures induced by intrahippocampal microinjection of pilocarpine. *Epilepsia.* 2002;43 Suppl 5:37-9. doi: 10.1046/j.1528-1157.43.s.5.41.x. PMID: 12121293.
34. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1972;32(3):281-94. doi: 10.1016/0013-4694(72)90177-0. PMID: 4110397.
35. Lee M, Choi BY, Suh SW. Unexpected Effects of Acetylcholine Precursors on Pilocarpine Seizure-Induced Neuronal Death. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(1):51-58. doi: 10.2174/1570159X15666170518150053. PMID: 28521701; PMCID: PMC5771384
36. Aronica E, Crino PB. Inflammation in epilepsy: clinical observations. *Epilepsia.* 2011;52 Suppl 3:26-32. doi: 10.1111/j.1528-1167.2011.03033.x. PMID: 21542843.
37. Vezzani A, French J, Bartfai T, Baram TZ. The role of inflammation in epilepsy. *Nat Rev Neurol.* 2011;7(1):31-40. doi: 10.1038/nrneurol.2010.178. Epub 2010 7. PMID: 21135885; PMCID: PMC3378051.
38. Aronica E, Ravizza T, Zurolo E, Vezzani A. Astrocyte immune responses in epilepsy. *Glia.* 2012;60(8):1258-68. doi: 10.1002/glia.22312. Epub 2012 Feb 13. PMID: 22331574.
39. Vezzani A, Lang B, Aronica E. Immunity and Inflammation in Epilepsy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015;6(2):a022699. doi: 10.1101/cshperspect.a022699. PMID: 26684336; PMCID: PMC4743070.

ANIMALS MODELS OF EPILEPSY

Yu. Boiko

Odesa State Agrarian University

Epilepsies cover a wide range of clinical, behavioral and electrophysiological manifestations and are among the most dynamic diseases in neurology. The classical approach claims that sudden seizures are a characteristic feature of epilepsy, but modern technological equipment has made it possible to establish cyclical signs by directly recording the electrical activity of the brain. The extremely widespread and large economic losses caused by epilepsy, as well as the loss of work capacity and disability of patients, have caused the need for a thorough study of this pathology. Accordingly, a wide range of animal models, i.e., acute and chronic seizure induction protocols, were proposed to study this disease in animals. Epilepsy research has a long history of comparative studies of anatomical structures and physiological parameters in different mammalian species. However, only a relatively limited number of epilepsy models, mostly using rodents, have been disseminated in most experimental studies. In many cases, these animal models were chosen either for convenience or familiarity, but in each individual case it is up to the researcher to choose the final version of the epilepsy model based on technical or experimental rationale. Currently, *Danio rerio*, a fish of the *Cyprinidae* family (cyprinids), has been used as an experimental animal. Its brain, which is much simpler in structure and physiology, compared to mammals, allows for significant advantages in experimental research. The work provides an analysis of the current state of the methodology of research of epileptic states on various animal models. Disadvantages and advantages of some of the most common models are considered, and the models are compared.

Key words: *epilepsy, seizures, models, rodents, dogs, immune status.*