

НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПАЛЬМИТОИЛЭТАНОЛАМИДА В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

© 2022 г. Т. Б. Мелик-Касумов^{1, *}, М. А. Корнеева¹, А. В. Чуприна¹,
А. А. Жабинская¹, А. А. Рожко¹

¹Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

*E-mail: tigranbmk@gmail.com

Поступила в редакцию 15.12.2021 г.

После доработки 26.01.2022 г.

Принята к публикации 27.01.2022 г.

Эпилепсия — одно из самых распространенных хронических неврологических заболеваний, при этом около 30% случаев эпилепсии являются фармакорезистентными. В связи с этим остается актуальным более глубокое изучение патогенетических механизмов эпилепсии, а также поиск новых соединений, обладающих противосудорожной или нейропротекторной активностью. Оценка эффектов эндогенных соединений в экспериментальных моделях эпилепсии может быть полезна для решения обеих этих задач. Целью данной работы являлось изучение нейропротекторного действия пальмитоилэтаноламида (PEA) в литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии у крыс Вистар в возрасте 10–11 нед. PEA применяли подкожно в дозе 10 мг/кг через час после купирования эпилептического статуса и далее ежедневно в течение 7 дней. Нейропротекторные свойства PEA оценивали по изменению поведения в открытом поле через 20 дней после эпистатуса, а также по изменению плотности нейронов в области СА1 и хилуса дорсального и вентрального гиппокампа и степени обратного прорастания мшистых волокон в молекулярный слой зубчатой извилины через 21 день после эпилептического статуса. Установлено, что применение PEA в течение первой недели после эпистатуса приводит к сохранению некоторых особенностей поведения, характерных для здоровых животных, сохранению плотности нейронов в области СА1 дорсального гиппокампа, а также уменьшает степень обратного прорастания мшистых волокон как в дорсальном, так и в вентральном гиппокампе. Таким образом, результаты исследования указывают на умеренное нейропротекторное действие PEA в модели височной эпилепсии.

Ключевые слова: пальмитоилэтаноламид, эндоканнабиноиды, литий-пилокарпиновая модель, височная эпилепсия, гиппокамп, нейрональная плотность, прорастание мшистых волокон

DOI: 10.31857/S0869813922030050

Эпилепсия — одно из самых распространенных хронических неврологических заболеваний, проявляющееся в периодической пароксизмальной электрической активности головного мозга. Около 30% пациентов сталкиваются с фармакорезистентными формами эпилепсии [1]. В таких случаях купировать эпилептические приступы не удастся при использовании двух и более противосудорожных препаратов различных классов и(или) поколений [2]. При отсутствии возможности хирургического лечения фармакорезистентной эпилепсии активно применяются нефармакологические методы — кетогенная диета, стимуляция блуждающего нерва [3].

Однако и эти методы достаточно часто не позволяют уменьшить частоту приступов до приемлемого уровня, ввиду чего некоторые авторы относят их к паллиативным [4, 5]. Сохранение высокой частоты эпилептических приступов ожидаемо приводит к усилению оксидативного стресса и нейровоспаления и, как следствие, к дальнейшему повреждению и гибели нейронов с нарушением когнитивных функций и развитием коморбидных психических расстройств [6, 7].

Вышесказанное указывает на актуальность более глубокого исследования патогенетических механизмов эпилепсии, равно как и на необходимость дальнейшего поиска соединений, обладающих противосудорожной или нейропротекторной активностью. Два этих направления могут объединяться в исследованиях противосудорожного действия эндогенных соединений, в частности, амидов жирных кислот. Пальмитоилэтаноламид (PEA) является одним из представителей класса эндогенных N-этаноламидов. Применение его в экспериментальных моделях эпилепсии показало умеренное противосудорожное действие [8–10]. Среди механизмов противосудорожного действия PEA выделяют активацию каннабиноидных рецепторов CB1 и CB2 [8, 11], а также ванилоидных рецепторов первого типа TRPV1 [12] преимущественно за счет “эффекта окружения”, который заключается в конкурентном уменьшении деградации эндогенных каннабиноидов гидролазой амидов жирных кислот [13]. Замедление деградации эндогенных каннабиноидов в свою очередь может оказывать непосредственный противосудорожный эффект [14, 15]. Тем не менее существенность вклада “эффекта окружения” в реализацию эффектов каннабимиметиков в последнее время подвергается сомнению [16]. Вместе с тем известно, что наряду с классическими эндоканнабиноидами PEA является лигандом рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом α (PPAR α) [10, 12, 17]. По-видимому, за счет активации PPAR α реализуются такие эффекты эндогенных N-этаноламидов, как усиление чувства насыщения, контроль массы тела, стимуляция липолиза [18]. Противосудорожное действие PEA, вероятно, также объясняется активацией PPAR α , так как показано, что другие агонисты этих рецепторов проявляют противосудорожные свойства в пентилентеразоловой и литий-пилокарпиновой моделях эпилепсии [19, 20].

Учитывая то, что PPAR α является фактором транскрипции, активация которого приводит к увеличению экспрессии генов, регулирующих интенсивность воспалительных процессов, представляется актуальным исследование нейропротекторного действия PEA в модели височной эпилепсии, так как по современным представлениям нейровоспаление играет существенную роль в прогрессировании нейрональной гибели в ходе эпилептогенеза [7, 21]. Характерное для медиальной височной эпилепсии обратное прорастание мшистых волокон, приводящее к формированию патологически возбудимых нейронных сетей, по некоторым представлениям может быть также связано со степенью нейровоспаления и снижения плотности нейронов [22]. В связи с этим в настоящей работе нейропротекторные свойства PEA в модели височной эпилепсии у крыс оценивали по изменению свободного поведения, плотности нейронов в областях гиппокампа, а также степени обратного прорастания мшистых волокон в молекулярный слой зубчатой извилины гиппокампа.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Литий-пилокарпиновая модель височной эпилепсии

Исследование выполнено в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями комиссии по биоэтике Института физиологии НАН Беларуси. Эпилептический статус (SE) индуцировали у самцов крыс линии Вистар в возрасте 10–11 нед. За сутки до эпистатуса животным внутривенно вводили хлорид ли-

тия (Sigma-Aldrich, 127 мг/кг). На следующий день проводили подкожную инъекцию метскополамина бромида (Sigma-Aldrich, 1 мг/кг) для блокирования нежелательных периферических холинергических эффектов пилокарпина и через 30 мин – внутрибрюшинную инъекцию пилокарпина (Sigma-Aldrich, 25 мг/кг). Крыс помещали в индивидуальные клетки и проводили видеорегистрацию судорог. Тяжесть судорог оценивали на основании модифицированной шкалы Расина [23]: 0 – отсутствие судорог, 1 – лицевые клонусы, 2 – клонические судороги шеи и миоклонические вздрагивания, 3 – клонические судороги передних конечностей без подъема на задние лапы, 4 – клонические судороги передних конечностей с подъемом на задние лапы, 5 – генерализованные клонические судороги с падением на бок, 6 – последующие тонические судороги передних и/или задних конечностей. Развитие эпилептического статуса считали состоявшимся, если у животного после первоначального приступа не ниже 4 баллов по шкале Расина судорожная активность сохранялась далее на уровне не ниже 3 баллов. Через 90 мин после манифестации эпистатуса для его купирования животным внутрибрюшинно проводили инъекцию диазепама (Белмедпрепараты, 20 мг/кг). Через час после этого подкожно вводили ПЕА (Sigma-Aldrich, SE + ПЕА, 10 мг/кг, $n = 12$), растворенный в чистом диметилсульфоксиде (Sigma-Aldrich, 2 мл/кг). Группе отрицательного контроля вводили чистый диметилсульфоксид в дозе 2 мл/кг (SE + Vehicle, $n = 12$). Далее животным ежедневно в течение 7 суток повторяли подкожные инъекции ПЕА или чистого диметилсульфоксида. Группа интактного контроля (Control, $n = 12$) не получала никаких экспериментальных воздействий.

Тест “Открытое поле”

Первый тест проводили за сутки до развития эпилептического статуса непосредственно перед введением хлорида лития. Открытое поле представляло собой арену 1.2 м в диаметре с высотой стенок 0.5 м. Поле было расчерчено на 16 секторов вдоль стенок, 8 секторов в центре и один центральный круг. Все процедуры, связанные с тестированием, проводились с 9.00 до 12.00. Крыс помещали в центр поля и засекали время выхода из центрального круга (замирание), подсчитывали число пересеченных периферических и центральных секторов, число стоек на задних лапах, актов груминга, суммарное число актов урикации и дефекации. Наблюдение продолжали в течение 3 мин. Повторный тест проводили на 20-е сутки после эпилептического статуса.

Морфологические исследования

Морфологические исследования включали в себя оценку плотности нейронов в областях СА1 и хилуса дорсального и вентрального гиппокампа (окрашивание по Нисслю), а также оценку распространения мшистых волокон и степени их прорастания в молекулярный слой зубчатой извилины (окрашивание по Тимму). На 21-е сутки после эпилептического статуса животных внутрибрюшинно наркотизировали тиопенталом натрия (Синтез, 100 мг/кг), вскрывали грудную и брюшную полости и проводили трансортальную перфузию. Для этого делали надрез на верхушке сердца, через левый желудочек в аорту вводили металлический катетер, который фиксировали зажимом. Для оттока крови и перфузионных растворов делали надрез на правом предсердии. Далее животное перфузировали физиологическим раствором с фосфатным буфером (рН 7.4) в течение 10 мин при поддержании давления на уровне 80 мм рт. ст. Критерием удовлетворительной перфузии считали побледнение кожных покровов и печени. После этого перфузионную систему переключали на раствор сульфида натрия (Sigma-Aldrich, 150 мМ) с фосфатным буфером (рН 7.4) и продолжали перфузию еще 5 мин. Критерием удовлетворитель-

ной перфузии считали почернение печени и подергивание конечностей. По завершении перфузии животных декапитировали, мозг доставали из черепной коробки, разделяли на полушария и помещали в раствор сульфида натрия еще на 45–60 мин. Затем полушария фиксировали в 10%-ном формалине в течение суток. Далее на 1.5 ч перекладывали в 2.5%-ный глутаровый альдегид и снова фиксировали в формалине 24 ч. Далее готовили парафиновые блоки, после чего из них изготавливали серийные фронтальные (правое полушарие, дорсальный гиппокамп) и поперечные (левое полушарие, вентральный гиппокамп, в промежутке –2.5... –4.5 мм от брегмы) срезы толщиной 8 мкм, которые окрашивали раствором по Тимму. Для этого готовили 200 мл раствора состава: 5.1 г лимонной кислоты, 4.7 г цитрата натрия, 3.4 гидрохинона, 170 мг нитрата серебра, 40 г гуммиарабика. Срезы содержали в растворе в темноте при температуре 26°C в течение 45 мин, далее при 60°C еще 20 мин. После промывки срезов применяли контрокрашивание тионином по Нислю. В гиппокампе с использованием программы ImageJ определяли плотность нейронов в области CA1 и хилуса, а также степень прорастания мшистых волокон в молекулярный слой зубчатой извилины. Последний показатель оценивали по величине относительной оптической плотности (*OD*) по формуле:

$$OD = \frac{OD_o - OD_i}{OD_o + OD_i/2},$$

где *OD_o* – оптическая плотность внешнего молекулярного слоя (фон), *OD_i* – оптическая плотность внутреннего молекулярного слоя (место прорастания мшистых волокон) [24]. Для морфометрического анализа во всех случаях использовали не менее трех препаратов, полученных из различных частей гиппокампа (в промежутке –2.5... –4.5 мм от брегмы для дорсального гиппокампа и в промежутке –2.5... –4.5 мм от брегмы для вентрального гиппокампа). Плотность нейронов (количество нейронов на миллиметр) подсчитывали на протяжении всей области CA1 в трех неперекрывающихся областях: от CA2 (характерное утолщение Аммонова рога) до подножия гиппокампа (характерное “рассеивание” Аммонова рога). В хилусе подсчитывали плотность нейронов (количество нейронов на квадратный миллиметр) между субгранулярным слоем зубчатой извилины и началом CA3 области в двух неперекрывающихся областях. Для анализа использовали усредненные значения плотности для каждого животного.

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку производили в программе Statistica 10. Проверку нормальности распределения проводили с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для межгруппового сравнения применяли однофакторный дисперсионный анализ, для анализа изменений при повторном проведении теста в группе – однофакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями. Для апостериорного попарного сравнения использовали критерий Тьюки. Различия считали достоверными при $p < 0.05$. Данные на графиках представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ результатов тестов в открытом поле показал, что большинство показателей, а именно длительность периода замирания, количество актов груминга, количество пройденных секторов в центре поля и количество актов уринации/дефекации ни в одной из экспериментальных групп не претерпело существенных изменений после 20 дней эксперимента. Среди проанализированных данных наиболее

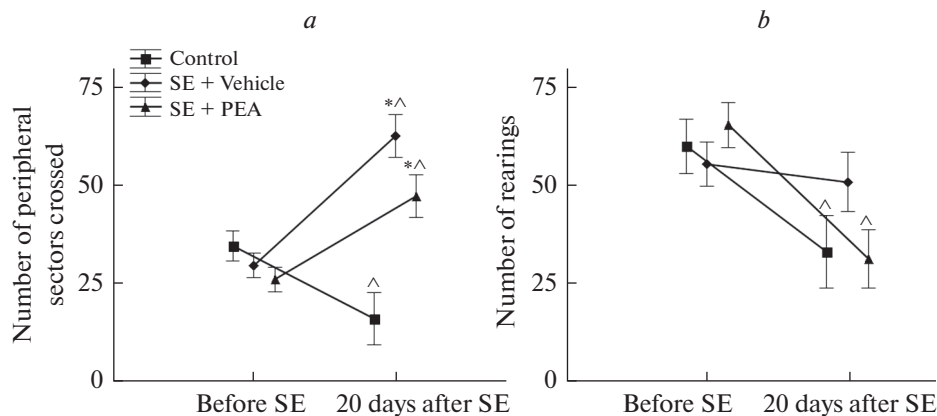


Рис. 1. Изменение количества пройденных периферических секторов (*a*) и количества стоек на задних лапах (*b*) в открытом поле на начальном этапе (Before SE) и через 20 дней (20 days after SE) в группе здоровых крыс (Control), в группе отрицательного контроля (SE + Vehicle) и в группе крыс, получавших PEA (SE + PEA); * – достоверные отличия от соответствующего значения контроля, ^ – достоверные изменения по сравнению с первоначальными данными в группе.

информативными оказались показатели количества пройденных секторов по краю поля и количество стоек на задних лапах (рис. 1).

Установлено, что у контрольных животных при повторном помещении в открытое поле через 20 суток происходит уменьшение пройденной дистанции по краю поля в среднем в 2.2 раза ($p = 0.04$). У здоровых животных уменьшается также и количество стоек на задних лапах – в среднем в 1.8 раза ($p = 0.028$). Вместе с тем, у животных в группе SE + Vehicle напротив, наблюдалось увеличение двигательной активности: количество пройденных периферических секторов возросло в 2.1 раза ($p < 0.001$). При этом двигательная активность этих животных после повторного предъявления теста была в 3.9 раза больше аналогичных значений контрольной группы ($p < 0.001$). Кроме того, для группы отрицательного контроля не обнаружено характерное для здоровых животных уменьшение количества стоек. Применение PEA в аналогичных условиях также приводило к увеличению количества пройденных секторов по краю поля. В данном случае показатель увеличился в среднем в 1.8 раза ($p < 0.001$), достоверно отличался от аналогичных значений контроля в 3 раза ($p < 0.001$) и не отличался от значений группы SE + Vehicle ($p = 0.15$). Кроме того, у крыс, получавших после эпистатуса PEA, так же как и у здоровых животных, отмечалось уменьшение в 2.1 раза количества стоек на задних лапах ($p < 0.01$).

Морфология дорсальной и вентральной части гиппокампа крыс в группе SE + Vehicle имела ряд особенностей, характерных для литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии [25]. Как в дорсальном (рис. 2), так и в вентральном (рис. 3) гиппокампе в области Аммонова рога (в большей степени в CA1) и хилуса гиппокампа на фоне глиоза часто встречались нейроны с признаками некробиоза (перичеселлюлярный отек, гиперхромные клетки). Сходная картина отмечалась в случае группы SE + PEA.

Морфометрический анализ показал, что в группе SE + Vehicle во всех исследованных областях плотность нейронов ожидаемо была значительно меньше показателей контрольной группы (рис. 2*c–d* и 3*c–d*) – в среднем в 2.5–6.9 раз (для всех зон $p < 0.001$). Аналогичные изменения были обнаружены практически во всех зонах у крыс, получавших PEA после развития эпилептического статуса. Вместе с тем, в

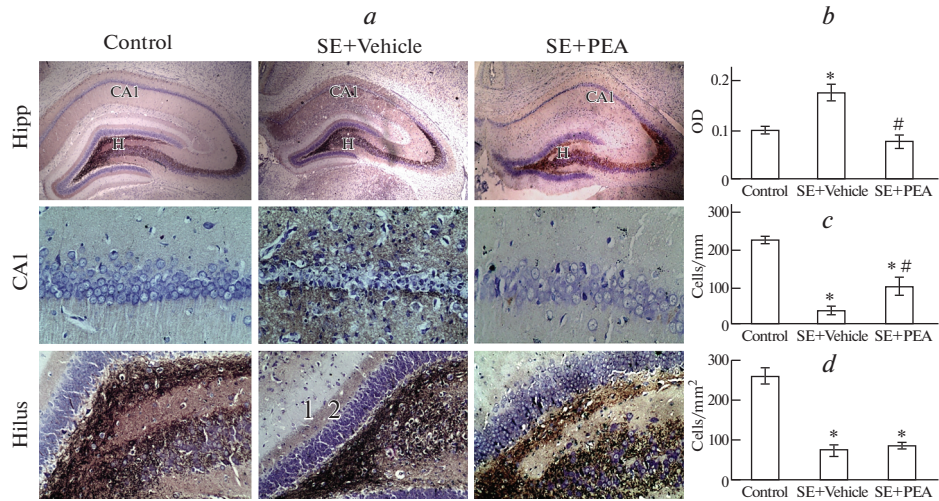


Рис. 2. Результаты исследования морфологии дорсального гиппокампа. (а) –репрезентативные микрофотографии дорсального гиппокампа (Hipp, увеличение ×40), CA1 области (CA1, увеличение ×400) и хилуса (Hilus (H), увеличение ×200); 1 – внешний молекулярный слой, 2 – внутренний молекулярный слой; (b) – показатель относительной оптической плотности (OD) в молекулярном слое зубчатой извилины; (c) – плотность нейронов в области CA1; (d) – плотность нейронов в хилусе. * – достоверно отличается от значений группы контроля; # – достоверно отличается от значений группы SE + Vehicle.

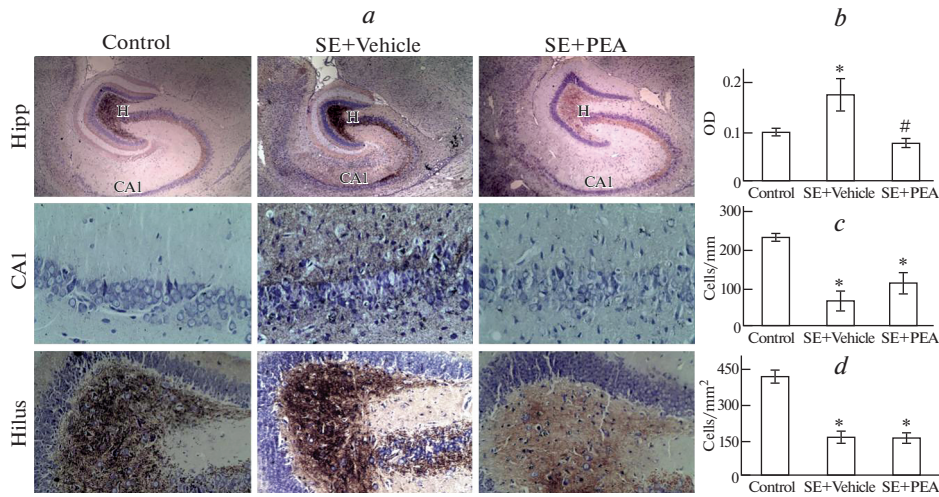


Рис. 3. Результаты исследования морфологии вентрального гиппокампа. (а) –репрезентативные микрофотографии дорсального гиппокампа (Hipp, увеличение ×40), CA1 области (CA1, увеличение ×400) и хилуса (Hilus (H), увеличение ×200); (b) – показатель относительной оптической плотности (OD) в молекулярном слое зубчатой извилины; (c) – плотность нейронов в области CA1; (d) – плотность нейронов в хилусе. * – достоверно отличается от значений группы контроля; # – достоверно отличается от значений группы SE + Vehicle.

группе SE + PEA отмечено некоторое сохранение плотности нейронов в дорсальной области CA1 (рис. 2c). Здесь плотность нейронов была в 2.3 раза меньше контрольных значений ($p < 0.001$), однако в 3.1 раза больше значений группы SE + Vehicle ($p = 0.036$).

Анализ относительной оптической плотности в молекулярном слое зубчатой извилины показал, что у животных в группе SE + Vehicle через 21 сутки после развития эпилепсии степень обратного прорастания мшистых волокон была значительно выше, чем в контроле (рис. 2b и 3b). Так, в дорсальном гиппокампе OD для группы SE + Vehicle был в среднем в 1.7 раза выше (рис. 2b, $p < 0.01$), чем у контрольных животных, в вентральном – в 1.9 раза (рис. 3b, $p = 0.016$). В аналогичных условиях у крыс, получавших PEA, не было обнаружено достоверных отличий от контрольных показателей, тогда как отличия от группы SE + Vehicle обнаружены как в дорсальном (рис. 2b, $p < 0.001$), так и в вентральном (рис. 3b, $p < 0.01$) гиппокампе.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследования указывают на умеренно выраженный нейропротекторный эффект PEA в модели височной эпилепсии с учетом выбранного дизайна. В условиях свободного поведения в открытом поле у здоровых животных отмечалось уменьшение двигательной активности и количества стоек. Угасание обиходных показателей при повторном тесте может говорить о снижении у здоровых животных интереса к открытому полю как к знакомому пространству. У крыс в группе отрицательного контроля, напротив, количество стоек не изменялось, что говорит о сохранении интереса к полю как к новому пространству. Применение PEA нивелирует этот эффект модели, сохраняя когнитивные функции животных. Развитие модели приводит также к тому, что двигательная активность животных в открытом поле растет. Такой эффект отмечен ранее также при однократном использовании теста [26]. В данном случае PEA не оказывает существенного влияния на показатель. Важно отметить, что увеличение двигательной активности выше первоначальной указывает в большей степени на развитие характерной для модели гиперреактивности и тревожности [27], нежели на повышенный интерес к открытому полю.

Результаты гистологических исследований показывают, что наиболее существенно применение PEA влияет на плотность нейронов в дорсальной области CA1, а также на степень прорастания мшистых волокон в молекулярный слой зубчатой извилины, причем как в дорсальном, так и в вентральном гиппокампе. Согласно современным представлениям о механизмах развития пилокарпиновой модели височной эпилепсии пилокарпин после достижения индивидуальной пороговой дозы активирует глутаматергические нейронные сети, вызывая развитие эпилептического статуса. При этом гибель нейронов, отмечаемая впоследствии, определяется эксайтотоксическим действием глутамата [26]. Обратное прорастание мшистых волокон – характерный патоморфологический признак височной эпилепсии. Предполагается, что при этом происходит формирование нейронных сетей, которые компенсируют функции утраченных нейронов других областей гиппокампа и вместе с тем обладают патологической сверхвозбудимостью [28, 29]. При этом ключевым периодом являются первые дни после начала эпилептогенеза.

Нейропротекторное действие эндогенных амидов пальмитиновой кислоты было показано ранее в моделях других патологий. В частности, показан антиневропатический эффект PEA при нейротоксическом действии оксалиплатина в эксперименте [30]. В другом исследовании доказано, что наряду с противовоспалительным действием препарат на основе PEA оказывал выраженный нейропротекторный эф-

фект в мышинной модели сосудистой деменции [31]. В настоящем исследовании был использован дизайн, позволяющий в некоторой степени разграничить противосудорожное и предполагаемое нейропротекторное действие РЕА в условиях эпилептогенеза. Так, РЕА вводился через час после купирования эпилептического статуса диазепамом, после чего инъекции повторялись ежедневно еще в течение 7 дней, то есть в период наиболее существенных изменений в медиальной височной доле. В этот период отмечается формирование так называемого “гиппокампального склероза” – гибель нейронов преимущественно в области Аммонова рога с одновременным развитием астро- и микроглиоза, в особенности в хилусе и секторе Соммера – области перехода СА1 в подножие гиппокампа [32]. Вместе с тем, в латентный период по определению не отмечаются спонтанные судороги, в частности, у крыс Вистар они обычно не отмечаются ранее 11 суток после эпилептического статуса [33]. Таким образом, представляется маловероятным, что обнаруженный нейропротекторный эффект РЕА определяется его противосудорожным действием, описанным ранее. Вероятно, сохранение плотности нейронов в дорсальной области СА1 определяется непосредственным влиянием РЕА на процессы нейровоспаления и обмена веществ через активацию PPAR α . В этой связи представляется интересным то, что в вентральной области СА1, несмотря на общую тенденцию, достоверного эффекта РЕА не произвел. Последние исследования показывают, что септо-темпоральная гетерогенность гиппокампа, в том числе различная степень подверженности эпилептогенезу, может определяться отличиями в особенностях метаболизма в дорсальном и вентральном гиппокампе. Так, установлено, что в дорсальном гиппокампе катаболические процессы в системе “гликолиз–окислительное фосфорилирование” несколько больше смещены к последнему, чем в вентральном гиппокампе [34]. Эта особенность может играть существенную роль в большей подверженности дорсального гиппокампа эпилептогенезу [35, 36], так как гликолиз может иметь некоторое преимущество при повышенном энергопотреблении в условиях активного нейровоспаления. В том числе поэтому активация PPAR α как основной механизм описанного нейропротекторного действия РЕА представляется наиболее вероятной. PPAR α является транскрипционным фактором и одним из главных регуляторов липидного обмена, его активация приводит к ускорению β -окисления жирных кислот в митохондриях и к кетогенезу, увеличивая таким образом долю окислительного фосфорилирования в общем катаболизме [37]. Поэтому активация его рецепторов в дорсальном гиппокампе может иметь больший эффект, чем в вентральном. Не стоит также забывать и об упомянутом ранее непосредственном противовоспалительном действии агонистов PPAR α . Агонисты других рецепторов PPAR также в эксперименте показали противосудорожный и нейропротекторный эффекты. В частности, агонист PPAR γ росиглитазон предотвращает чрезмерную автофагию в височной доле в течение 24 ч после эпистатуса [38]. При этом сохранение нейронов происходит на фоне повышения активности антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы. По-видимому, ключевую роль в таком нейропротекторном эффекте росиглитазона играет снижение реактивности микроглии в ответ на повреждающее действие длительных судорог [39]. Среди других агонистов PPAR α рецепторов свою эффективность в пентилентетразоловой и литий-пилокарпиновой модели показал фенофибрат [20]. Вместе с тем, эффекты РЕА представляют особый интерес, так как это соединение вырабатывается в организме человека и животных, и может играть существенную роль в естественных процессах предотвращения нейродеструкции.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом БРФФИ № М19-107.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы, дизайн эксперимента, написание и редактирование манускрипта (Т.Б.М.-К.), моделирование височной эпилепсии (А.А.Ж., А.А.Р., А.В.Ч.), приготовление и анализ микропрепаратов (М.А.К., А.А.Ж.), сбор и анализ данных (поведенческие эксперименты – А.А.Р., А.В.Ч.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Santana-Gomez CE, Engel J Jr, Staba R* (2021) Drug Resistant Epilepsy and the hypothesis of intrinsic severity: What about the High-Frequency Oscillations? *Epilepsia Open*. <https://doi.org/10.1002/epi4.12565>
2. *Hakami T* (2021) Efficacy and tolerability of antiseizure drugs. *Ther Adv Neurol Disord* 14:17562864211037430. <https://doi.org/10.1177/17562864211037430>
3. *Guery D, Rheims S* (2021) Clinical Management of Drug Resistant Epilepsy: A Review on Current Strategies. *Neuropsychiatr Dis Treat* 17: 2229–2242. <https://doi.org/10.2147/NDT.S256699>
4. *Gough SM, Casella A, Ortega KJ, Hackam AS* (2021) Neuroprotection by the Ketogenic Diet: Evidence and Controversies. *Front Nutr* 8: 782657. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.782657>
5. *Marras CE, Colicchio G, De Palma L, De Benedictis A, Di Gennaro G, Cavaliere M, Cesaroni E, Consales A, Asioli S, Caulo M, Villani F, Zamponi N* (2020) Health Technology Assessment Report on Vagus Nerve Stimulation in Drug-Resistant Epilepsy. *Int J Environ Res Public Health* 17(17): 6150. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176150>
6. *Novais F, Loureiro S, Andrea M, Figueira ML, Pimentel J, Pestana LC* (2020) May the right-side epileptogenic zone be a predictor of psychiatric comorbidity in people with refractory epilepsy? *Laterality* 25(3): 275–284. <https://doi.org/10.1080/1357650X.2019.1662431>
7. *Bazhanova ED, Kozlov AA, Litovchenko AV* (2021) Mechanisms of Drug Resistance in the Pathogenesis of Epilepsy: Role of Neuroinflammation. *A Literature Review. Brain Sci* 11(5): 663. <https://doi.org/10.3390/brainsci11050663>
8. *Sheerin AH, Zhang X, Saucier DM, Corcoran ME* (2004) Selective Antiepileptic Effects of N-Palmitoylethanolamide, a Putative Endocannabinoid. *Epilepsia* 45(10): 1184–1188. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.16604.x>
9. *Lambert DM, Vandevoorde S, Diependaele G, Govaerts SJ, Robert AR* (2001) Anticonvulsant Activity of N-Palmitoylethanolamide, a Putative Endocannabinoid, in Mice. *Epilepsia* 42(3): 321–327. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2001.41499.x>
10. *Citraro R, Russo E, Scicchitano F, van Rijn CM, Cosco D, Avagliano C, Russo R, D'Agostino G, Petrosino S, Guida F, Gatta L, van Luijtelaar G, Maione S, Di Marzo V, Calignano A, De Sarro G* (2013) Antiepileptic action of N-palmitoylethanolamine through CB1 and PPAR- α receptor activation in a genetic model of absence epilepsy. *Neuropharmacology* 69: 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.11.017>
11. *Aghaei I, Rostampour M, Shabani M, Naderi N, Motamedi F, Babaei P, Khakpour-Taleghani B* (2015) Palmitoylethanolamide attenuates PTZ-induced seizures through CB1 and CB2 receptors. *Epilepsy Res* 117: 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2015.08.010>
12. *Ambrosino P, Soldovieri MV, Russo C, Tagliatalata M* (2013) Activation and desensitization of TRPV1 channels in sensory neurons by the PPAR α agonist palmitoylethanolamide. *Br J Pharmacol* 168(6): 1430–1444. <https://doi.org/10.1111/bph.12029>
13. *Okine BN, Madasu MK, McGowan F, Prendergast C, Gaspar JC, Harhen B, Roche M, Finn DP* (2016) N-palmitoylethanolamide in the anterior cingulate cortex attenuates inflammatory pain behaviour indirectly via a CB1 receptor-mediated mechanism. *Pain* 157(12): 2687–2696. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000687>
14. *de Castro Medeiros D, Cota VR, Oliveira ACP, Moreira FA, Moraes MFD* (2020) The Endocannabinoid System Activation as a Neural Network Desynchronizing Mediator for Seizure Sup-

- pression. *Front Behav Neurosci* 14: 603245.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.603245>
15. *Shubina L, Aliev R, Kitchigina V* (2015) Attenuation of kainic acid-induced status epilepticus by inhibition of endocannabinoid transport and degradation in guinea pigs. *Epilepsy Res* 111: 33–44.
<https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2015.01.003>
 16. *Cogan PS* (2020) The 'entourage effect' or 'hodge-podge hashish': the questionable rebranding, marketing, and expectations of cannabis polypharmacy. *Expert Rev Clin Pharmacol* 13(8): 835–845.
<https://doi.org/10.1080/17512433.2020.1721281>
 17. *Melis M, Pillolla G, Luchicchi A, Muntoni AL, Yasar S, Goldberg SR, Pistis M* (2008) Endogenous fatty acid ethanolamides suppress nicotine-induced activation of mesolimbic dopamine neurons through nuclear receptors. *J Neurosci* 28(51): 13985–13994.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3221-08.2008>
 18. *O'Sullivan SE, Kendall DA* (2010) Cannabinoid activation of peroxisome proliferator-activated receptors: potential for modulation of inflammatory disease. *Immunobiology* 215(8): 611–616.
<https://doi.org/10.1016/j.imbio.2009.09.007>
 19. *Saha L, Bhandari S, Bhatia A, Banerjee D, Chakrabarti A* (2014) Anti-kindling Effect of Bezafibrate, a Peroxisome Proliferator-activated Receptors Alpha Agonist, in Pentylenetetrazole Induced Kindling Seizure Model. *J Epilepsy Res* 4(2).
<https://doi.org/10.14581/jer.14011>
 20. *Porta N, Vallée L, Lecoite C, Bouchaert E, Staels B, Bordet R, Auvin S* (2009) Fenofibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor- α agonist, exerts anticonvulsive properties. *Epilepsia* 50(4): 943–948.
<https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01901.x>
 21. *Sun L, Shan W, Yang H, Liu R, Wu J, Wang Q* (2021) The Role of Neuroinflammation in Post-traumatic Epilepsy. *Front Neurol* 12: 646152.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2021.646152>
 22. *Twible C, Abdo R, Zhang Q* (2021) Astrocyte Role in Temporal Lobe Epilepsy and Development of Mossy Fiber Sprouting. *Front Cell Neurosci* 15: 725693.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2021.725693>
 23. *Racine RJ* (1972) Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 323: 281–294.
[https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0)
 24. *Liu C, Lin Y, Tang N, Liu H, Hsieh C* (2012) Neuroprotective Effect of Uncaria rhynchophylla in Kainic Acid-Induced Epileptic Seizures by Modulating Hippocampal Mossy Fiber Sprouting, Neuron Survival, Astrocyte Proliferation, and S100B Expression. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012: 194790.
<https://doi.org/10.1155/2012/194790>
 25. *Linard B, Ferrandon A, Koning E, Nehlig A, Raffo E* (2010) Ketogenic diet exhibits neuroprotective effects in hippocampus but fails to prevent epileptogenesis in the lithium-pilocarpine model of mesial temporal lobe epilepsy in adult rats. *Epilepsia* 51(9): 1829–1836.
<https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02667.x>
 26. *Smolensky IV, Zubareva OE, Kalemenev SV, Lavrentyeva VV, Dyomina AV, Karepanov AA, Zaitsev AV* (2019) Impairments in cognitive functions and emotional and social behaviors in a rat lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Behav Brain Res* 372: 112044.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112044>
 27. *Minjarez B, Camarenab HO, Haramatia J, Rodríguez-Yañez Y, Mena-Munguía S, Buriticáb J, García-Leal O* (2017) Behavioral changes in models of chemoconvulsant-induced epilepsy: A review. *Neurosci Biobehav Rev* 83: 373–380.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.10.016>
 28. *Kulikov AA, Naumova AA, Aleksandrova EP, Glazova MV, Chernigovskaya EV* (2021) Audiogenic kindling stimulates aberrant neurogenesis, synaptopodin expression, and mossy fiber sprouting in the hippocampus of rats genetically prone to audiogenic seizures. *Epilepsy Behav* 125: 108445.
<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.108445>
 29. *Buckmaster PS* (2014) Does mossy fiber sprouting give rise to the epileptic state? *Adv Exp Med Biol* 813: 161–168.
https://doi.org/10.1007/978-94-017-8914-1_13
 30. *Di Cesare Mannelli L, Pacini A, Corti F, Boccella S, Luongo L, Esposito E, Cuzzocrea S, Maione S, Calignano A, Ghelardini C* (2015) Antineuropathic Profile of N-Palmitoylethanolamine in a Rat Model of Oxaliplatin-Induced Neurotoxicity. *PLoS One* 10(6): e0128080.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128080>
 31. *Siracusa R, Impellizzeri D, Cordaro M, Crupi R, Esposito E, Petrosino S, Cuzzocrea S* (2017) Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects of Co-UltraPEALut in a Mouse Model of Vascular Dementia. *Front Neurol* 8: 233.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00233>

32. Walker MC (2015) Hippocampal Sclerosis: Causes and Prevention. *Semin Neurol* 35(3): 193–200. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1552618>
33. Chauvière L, Doublet T, Ghestem A, Siyoucef SS, Wendling F, Huys R, Jirsa V, Bartolomei F, Bernard C (2012) Changes in interictal spike features precede the onset of temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 71(6): 805–814. <https://doi.org/10.1002/ana.23549>
34. Brancati GE, Rawas C, Ghestem A, Bernard C, Ivanova AI (2021) Spatio-temporal heterogeneity in hippocampal metabolism in control and epilepsy conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118(11): e2013972118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2013972118>
35. Häussler U, Bielefeld L, Froriep UP, Wolfart J, Haas CA (2012) Septotemporal position in the hippocampal formation determines epileptic and neurogenic activity in temporal lobe epilepsy. *Cereb Cortex* 22(1): 26–36. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhr054>
36. Lévesque M, Biagini G, de Curtis M, Gnatkovsky V, Pitsch J, Wang S, Avoli M (2021) The pilocarpine model of mesial temporal lobe epilepsy: Over one decade later, with more rodent species and new investigative approaches. *Neurosci Biobehav Rev* 130: 274–291. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.08.020>
37. Grabacka M, Pierzchalska M, Dean M, Reiss K (2016) Regulation of Ketone Body Metabolism and the Role of PPAR α . *Int J Mol Sci* 17(12): 2093. <https://doi.org/10.3390/ijms17122093>
38. Peng Y, Chen L, Qu Y, Wang D, Zhu Y, Zhu Y (2021) Rosiglitazone Prevents Autophagy by Regulating Nrf2-Antioxidant Response Element in a Rat Model of Lithium-pilocarpine-induced Status Epilepticus. *Neuroscience* 455: 212–222. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.10.026>
39. Peng J, Wang K, Xiang W, Li Y, Hao Y, Guan Y (2019) Rosiglitazone polarizes microglia and protects against pilocarpine-induced status epilepticus. *CNS Neurosci Ther* 25(12): 1363–1372. <https://doi.org/10.1111/cns.13265>

Neuroprotective Effect of Palmitoylethanolamide in the Lithium-Pilocarpine Model of Temporal Lobe Epilepsy

T. B. Melik-Kasumov^a, *, M. A. Korneyeva^a, A. V. Chuprina^a,
A. A. Zhabinskaya^a, and A. A. Rozhko^a

^a*Institute of Physiology of the National academy of sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

*e-mail: tigranbmk@gmail.com

Epilepsy is one of the most common chronic neurological diseases. About 30% of patients with epilepsy suffer from drug resistant forms of the disease. In this regard, a thorough study of the pathogenetic mechanisms of epilepsy, as well as the search for new anticonvulsant or neuroprotective compounds, are still relevant. Evaluation of the effects of endogenous compounds in experimental models of epilepsy can be useful for solving both of these problems. The aim of this study was to assess the neuroprotective effect of palmitoylethanolamide (PEA) in a lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in Wistar rats at the age of 10–11 weeks. PEA was applied subcutaneously at a dose of 10 mg/kg one hour after the relief of status epilepticus (SE) and then every day for 7 days. The neuroprotective properties of PEA were assessed by changes in behavior in the open field test before SE and 20 days after it, as well as by changes in the density of neurons in the CA1 and hilus of the dorsal and ventral hippocampus, and the degree of mossy fiber sprouting into the molecular layer of the dentate gyrus 21 days after SE. It was found that PEA administration during the first week after post-SE leads to the preservation of some behavioral features of healthy animals, reduces the degree of neurodestruction in the CA1 region of the dorsal hippocampus, and also reduces the degree of mossy fiber sprouting in both the dorsal and ventral hippocampus. Thus, the results of the study indicate a moderate neuroprotective effect of palmitoylethanolamide in the model of temporal lobe epilepsy.

Keywords: palmitoylethanolamide, endocannabinoids, lithium-pilocarpine model, temporal lobe epilepsy, hippocampus, neurodestruction, mossy fiber sprouting