



САВОТЧЕНКО

Аліна Володимирівна — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу фізико-хімічної біології клітинних мембран Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

ДИСФУНКЦІЯ ГЕМАТОЕНЦЕФАЛІЧНОГО БАР'ЄРУ ТА РОЗВИТОК ЕПІЛЕПТИЧНИХ НАПАДІВ

За матеріалами наукового повідомлення
на засіданні Президії НАН України
23 грудня 2020 року

Дисфункція гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) є важливим фактором виникнення епілепсії та супутніх психоневрологічних розладів. Пошкодження ГЕБ супроводжується потраплянням компонентів крові, в тому числі тромбіну, до спинномозкової рідини. Вплив тромбіну опосередковується передусім через специфічні протеазаактивовані рецептори (ПАР1). З використанням літій-пілокарпінової моделі нападів показано, що блокування активності ПАР1 приводить до зменшення проявів тривожної та агресивної форм поведінки у тварин з епілепсією, а також відновлює чіткі форми синаптичної пластичності гіпокампа. Загалом отримані дані свідчать про те, що ПАР1-залежна сигналізація сприяє розвитку набутої епілепсії. ПАР1 може бути новою потенційною мішенню для лікування цього розладу та супутніх патологій поведінки.

Ключові слова: гематоенцефалічний бар'єр, скронева епілепсія, гіпокамп, тромбін, синаптична пластичність.

Гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) є найважливішим судинним бар'єром у центральній нервовій системі. Він захищає мозок від шкідливих речовин, які циркулюють у кровоносному руслі, і водночас забезпечує його необхідними компонентами для функціонування мозкових структур. У сучасній нейрофізіології ГЕБ розглядається переважно не як анатомічна структура, а як функційне поняття, що характеризує певний фізіологічний механізм, який перебуває під регулюючим впливом нервової та гуморальної систем. ГЕБ є саморегульованою структурою, функціонування якої залежить головним чином від потреб нервових клітин і рівня метаболічних процесів не тільки в самому мозку, а й в інших органах і тканинах організму. Дослідження останніх років вказують на те, що дисфункція ГЕБ є невід'ємною ознакою багатьох неврологічних захворювань,

зокрема епілепсії. Порушення цілісності ГЕБ саме по собі може сприяти розвитку епілептичних нападів. Водночас клінічні дослідження пацієнтів демонструють судинні пошкодження, особливо відкриття ГЕБ в епілептогенних ділянках мозку. Зв'язок між ураженням ГЕБ та виникненням судом сьогодні вважається «дилемою курки і яйця» [1–5].

Епілепсія — це одне з найпоширеніших хронічних неврологічних захворювань, яке проявляється у схильності організму до раптового виникнення судомних нападів. Епілепсія може розвинути в будь-якої людини в будь-якому віці. Понад 1% населення планети, тобто 60 млн людей, страждають на епілепсію протягом життя.

Однією з найчастіших причин, що викликають епілепсію, є черепно-мозкова травма. Як правило, внаслідок травми відбувається порушення цілісності ГЕБ, яке супроводжується внутрішньомозковим крововиливом — відбувається потрапляння компонентів крові до спинномозкової рідини. Однак механізм, що пов'язує дисфункцію ГЕБ та розвиток хронічної епілепсії, залишається нез'ясованим. Було показано, що серед різних компонентів крові, які могли б впливати на збудливість нейронів, тромбін викликає судоми одразу після потрапляння до тканин мозку. Тромбін є ключовим «гравцем» каскаду зсідання крові. Однак тромбін також є важливим фактором запальних, обмінних та інших біологічних процесів. Тромбін має специфічні протеазаактивовані рецептори першого типу (ПАР1), які широко експресуються в нейронах та гліальних клітинах мозку. Наразі є переконливі докази того, що тромбінозалежна сигналізація бере участь у багатьох механізмах, важливих для нормальної роботи мозку, таких як проліферація та міграція глії, синаптична пластичність, метаболічні реакції та зміни експресії генів [6, 7].

Відомо, що епілепсія супроводжується супутніми психоневрологічними розладами поведінки та когнітивних функцій внаслідок нападів та застосування протиепілептичної терапії. Більшість пацієнтів з хронічною епілепсією мають різні поведінкові розлади, зокрема

біполярний розлад, депресію, тривожність. Близько 25% дітей з діагнозом «епілепсія» мають порушення інтелектуальної функції, які характеризують як «розумову відсталість». У людей, хворих на епілепсію, в 5 разів збільшується ризик суїциду. Дефіцит уваги та гіперактивність спостерігаються у 4 з 10 дітей та в 1 з 5 дорослих, які страждають на епілепсію. Такі тяжкі супутні захворювання можуть впливати на якість життя пацієнтів та їхніх сімей навіть більше, ніж власне напади. З огляду на це вивчення патофізіологічних механізмів, що лежать в основі поведінкових та когнітивних порушень при епілепсії, є дуже важливим для розроблення відповідної терапії [1].

У наших дослідженнях ми використовували літій-пілокарпінову модель нападів, що найбільш чітко відображує порушення гематоенцефалічного бар'єру.

Усі експериментальні процедури було проведено згідно з Європейською конвенцією щодо захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, та статтею 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006).

Для моделювання епілептичного статусу (ЕС) використовували літій-пілокарпінову модель скроневої епілепсії. Досліди проводили на щурах лінії Вістар віком 27 дб. За 20–22 год до ін'єкцій пілокарпіну внутрішньочеревно вводили хлорид літію (127 мг/кг), розведений у 0,9% розчині хлориду натрію з розрахунку 1 мл на 1 кг маси. Ін'єкції пілокарпіну здійснювали з інтервалом 30 хв з початковою дозою 40 мг/кг та наступними дозами 10 мг/кг. Введення пілокарпіну експериментальним тваринам припиняли після розвитку епілептичних нападів 4–5 стадії (ЕС) за шкалою Расіна [8]. Якщо ЕС не спостерігався після введення 60 мг/кг пілокарпіну, тварину вилучали з експерименту. Епілептичні напади зупиняли через 60 хв після початку ЕС двома ін'єкціями діазепаму (20 мг/кг кожна). Через 15 хв після припинення ЕС щурам вводили селективний антагоніст ПАР1 (SCH79797, 25 мкг/кг, внутрішньочеревно) або відповідний об'єм 0,9%

розчину NaCl. Протягом наступних 10 днів ін'єкції антагоніста ПАР1 здійснювали один раз на день. Контрольним тваринам замість пілокарпіну вводили 0,9% розчин хлориду натрію в еквівалентному об'ємі.

Поведінкові тести проводили через 2–3 тижні після індукції ЕС. У наших дослідженнях було використано різні поведінкові тести для оцінки впливу блокування ПАР1 на агресивну та тривожну поведінку.

Для щурів з епілепсією характерним є прояв агресивної поведінки. Для визначення впливу блокування ПАР1 на таку форму поведінки тварин після ЕС ми використовували тести на наближення, на доторк та на піднімання. Усіх тварин тестували у власних клітках, щоб уникнути реакції на незнайоме середовище. Між експериментальними процедурами тварини відпочивали щонайменше 5 хв. Тести проводили в порядку підвищення інтенсивності ймовірної емоційної реакції, щоб уникнути впливу на результати менш чутливих тестів. Шкала тестів охоплювала реакції від нейтральних до тривожних та агресивних [9].

Тест на наближення визначав характер реакції тварини на неживий предмет, що наближувався у полі її зору. Результати тесту оцінювали за балами: тварина не реагує на предмет (нейтральна реакція, 1 бал); тварина повертається у напрямку до предмета і обнюхує його (дослідницька реакція, 2 бали); тварина відходить від предмета (реакція уникання, 3 бали); тварина завмирає (реакція страху, 4 бали); тварина стрибає геть від предмета (5 балів); тварина стрибає у напрямку до предмета чи нападає на нього (агресивна реакція, 6 балів).

Тест на доторк визначав реакцію тварини на неочікуваний доторк ззаду. Результати тесту оцінювали балами: тварина не реагує на доторк (нейтральна реакція, 1 бал); тварина обертається до предмета (дослідницька реакція, 2 бали); тварина відходить від предмета (3 бали); при доторканні тварина завмирає (реакція страху, 4 бали); тварина здригається від торкання і розвертається у напрямку до предмета (5 балів); тварина розвертається і відплигує геть від предмета (реакція уникан-

ня, 6 балів); тварина відплигує від предмета з вокалізацією (7 балів).

Тест на піднімання визначав характер реакції на підняття тварини експериментатором. Результати тесту оцінювали балами: тварина не реагує, піднімається дуже легко (нейтральна реакція, 1 бал); тварина дає себе підняти легко, але з вокалізацією (2 бали); виникають складнощі, тварина розвертається у напрямку до руки (3 бали); при підніманні тварина завмирає з або без вокалізації (реакція страху, 4 бали); тварину підняти важко, вона втікає від руки (реакція уникання, 5 балів); тварина займає оборонну позицію, може атакувати руку (агресивна реакція, 6 балів).

Отримані результати (рис. 1) демонструють позитивний ефект блокування ПАР1 на емоційний стан щурів через 14 днів після ЕС, але водночас попередні дані свідчать, що для хронічного стану (8 тижнів після ЕС) такий ефект не зберігається [10]. Тобто блокування ПАР1 істотно поліпшує стан тварин на початкових етапах розвитку хвороби. Для травматичної епілепсії висувуються ідеї щодо терапевтичного втручання в першу годину після травми [11], а результати щодо блокування ПАР1 гіпотетично можуть бути використані для посттравматичної терапії пацієнтів.

Зміна рівня тривожності є однією з перших ознак зміни поведінки внаслідок прогресування епілепсії, хоча рівень порушення цієї поведінкової характеристики може значно різнитися залежно від умов експерименту. Для дослідження впливу антагоністів ПАР1 на тривожну поведінку дослідних щурів ми застосовували тести «відкрите поле» та «припіднятий хрестоподібний лабіринт» [12].

«Відкрите поле» являє собою камеру розміром 100×100 см, розкреслену на 25 квадратів (5×5). Квадрати поділяються на дві групи: зовнішні (16 шт. на периферії) та внутрішні (9 шт.) у центрі. На початку тесту щура поміщають у центр камери. За природною схильністю здорова тварина прагне, по-перше, триматися поблизу стінок камери та уникати відкритого простору, а по-друге, все ж таки дослідити нову територію. Отже, здорова тварина проводить

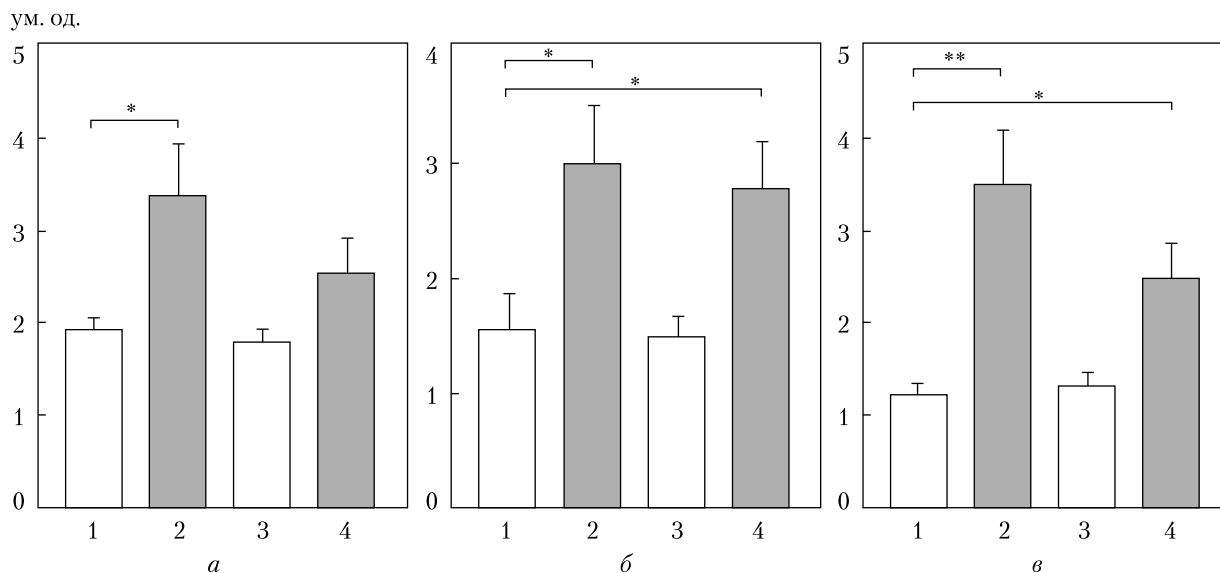


Рис. 1. Вплив блокування протеазаактивованого рецептора першого типу (ПАР1) на емоційну збудливість дослідних тварин: *a* – тест на наближення; *б* – тест на доторк; *в* – тест на піднімання; * $P < 0,05$, ** $P < 0,005$

більше часу у зовнішній частині камери, зрідка виходячи у внутрішню частину [13].

«Припіднятий хрестоподібний лабіринт» являє собою два перехрещені рукави, причому один з них закритий стінками. Закритий рукав дає можливість щуру уникати яскравого світла і відкритого простору, тобто проявляти захисну поведінку. Вихід до відкритого рукава є проявом дослідницької поведінки.

Тривалість перебування щурів у різних ділянках лабіринту під час проведення тестів «відкрите поле» і «припіднятий хрестоподібний лабіринт» ми виражали у відсотках, як співвідношення часу, проведеного твариною в конкретній ділянці лабіринту, до загальної тривалості експерименту (рис. 2).

«Відкрите поле» – класичний тест на визначення рівня тривожності, дослідницької поведінки та локомоторної активності щурів. Відносний час перебування щурів з епілепсією у внутрішніх квадратах лабіринту був тривалішим, ніж в інших групах, і, хоча статистичний аналіз не показав значущої відмінності за цим показником між експериментальними групами, ми спостерігали тенденцію до збільшення часу, проведеного в центральній частині тесту,

в групи ЕС. Відмінностей між експериментальними групами в загальній відстані пройденого шляху порівняно з контрольною групою не було. Отже, отримані результати свідчать про зменшення рівня тривожності в епілептичних щурів, яким не вводили блокатор ПАР1. Показники загальної відстані пройденого шляху тварин залишалися незмінними, що може свідчити про збереження загальної рухової активності, яка є проявом дослідницької поведінки, під час латентної стадії формування епілепсії. Одержані нами дані узгоджуються з низкою досліджень, у яких використовували пілокарпінову і каїнатну моделі нападів. Як показали експерименти, епілептичний статус у щурів викликає зниження рівня тривожності [14]. Подібна анксиолітична поведінка також спостерігалася у щурів з вентральним ураженням гіпокампа. Ця зона більш вразлива під час скроневої епілепсії, ніж інші відділи лімбічної системи.

У тесті «припіднятий хрестоподібний лабіринт» група щурів з ЕС без блокатора ПАР1 продемонструвала значне збільшення часу, проведеного у відкритих рукавах лабіринту, порівняно з контрольною групою тварин

(рис. 2б). В експерименті не було виявлено значущої зміни часу, проведеного у відкритих руках, у дослідній групі з блокатором PAR1 порівняно з контрольною групою, що свідчить про нормалізацію тривожної поведінки. Цікаво, що в нашому попередньому дослідженні, проведеному на хронічній стадії епілептогенезу, інгібування PAR1 відновило рівень тривожної поведінки в епілептичних щурів, що дає змогу припустити постійний характер змін поведінки, пов'язаних зі зниженням регуляції PAR1-сигналізації [15]. Наші результати узгоджуються з попередніми даними на моделях церебральної ішемії та моделі травматичного ураження мозку і дозволяють запропонувати PAR1 як мішень при лікуванні поведінкових та когнітивних порушень унаслідок травми мозку різного характеру [16, 17].

Залучення певних ділянок мозку тварин під час проходження тестів у «відкритому полі» та «припіднятому хрестоподібному лабіринті» не повністю зрозуміле. Показано, що такі структури лімбічної системи, як мигдалеподібний комплекс, гіпокамп та енторинальна кора, пов'язані між собою та з вищими неокортикальними ділянками, відіграють важливу роль у тривожній, неприязній та дослідницькій діяльності як певних проявах поведінки тварин під час таких випробувань. Лімбічна система важлива в патофізіології скроневої епілепсії зі змінами, які відбуваються в структурах, що складають цю ділянку мозку на молекулярному, клітинному та мережевому рівнях [18]. Порушення внутрішньомозкового мікросередовища, ураження нейронів та запальні процеси у скроневих ділянках через первинну мозкову травму призводять до нейропластичних змін, які лежать в основі епілептогенезу. Ми дослідили вплив інгібування PAR1 на процеси синаптичної пластичності. Пластичність нейронних зв'язків є невід'ємною ознакою нервової системи. Завдяки пластичності може змінюватися структура та активність нейронних мереж у відповідь на дію численних факторів зовнішнього та внутрішнього середовища. Механізми синаптичної пластичності, тобто здатність нейронів до змінення функції

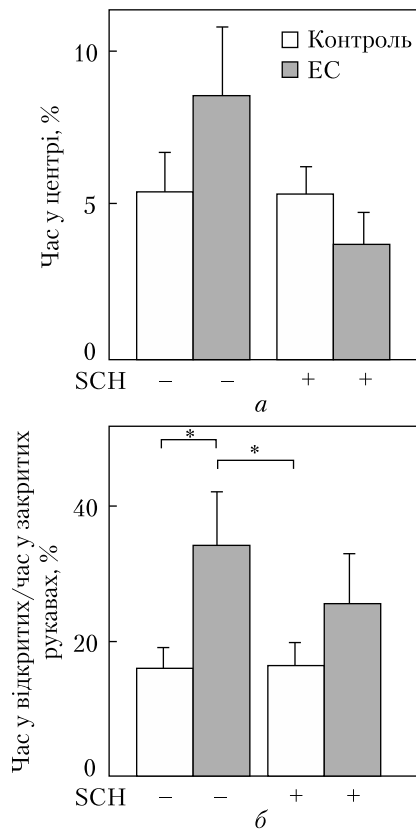


Рис. 2. Вплив індукції ЕС та блокування PAR1 на тривожну поведінку дослідних щурів: *a* – час, проведений щурами у центральній частині установки тесту «відкрите поле»; *б* – час, проведений у закритих руках тесту «припіднятий хрестоподібний лабіринт»

внаслідок адаптації, є одним з актуальних питань сучасної нейрофізіології. В основі явища пластичності нервової системи лежать процеси модуляції передачі сигналів через синапси. Синаптична пластичність модифікує зв'язок між конкретними нейронами, активність локальних нейронних мереж та взаємозв'язки між окремими системами мозку [19].

З використанням електрофізіологічних методів відведення польових позаклітинних потенціалів ми досліджували вплив пригнічення активності PAR1 на викликані постсинаптичні потенціали (ВПСП) у радіальному шарі ділянки CA1 гіпокампа [12].

Ми вивчали зміни довготривалої потенціалізації у контрольних та епілептичних тварин у

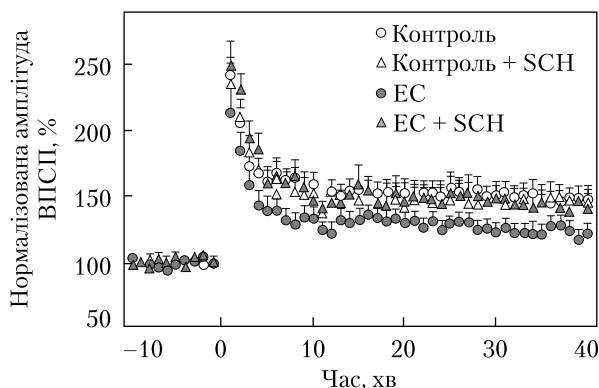


Рис. 3. Зміни у процесах довготривалої пластичності у радіальному шарі СА1-ділянки гіпокампа контрольних та епілептичних щурів унаслідок блокування ПАР1

відповідь на блокування ПАР1. Довготривала потенціація — це довгострокове підвищення ефективності синаптичної передачі нейронів, що є результатом їх синхронної стимуляції. Припускається, що підвищення ефективності зв'язку здійснюється за рахунок зростання чутливості постсинаптичної клітини до сигналів, отриманих від пресинаптичної (рис. 3).

Довготривала потенціація у відповідь на високочастотне стимулювання колатералей Шаффера була значно знижена в групі щурів з ЕС. Тимчасові та постійні зміни в довгостроковій синаптичній пластичності в лімбічній системі було показано за допомогою різних моделей нападів [20–22]. Повторні електроконвульсивні судоми знижують здатність індукувати N-метил-D-аспартат-рецептор (NMDA)-залежної довготривалої потенціації і погіршують просторове навчання [23]. Судоми, викликані на початку розвитку, призводять до хронічного дефіциту здатності до просторового навчання та модуляції експресії NMDA-рецепторів у мозку щурів [24]. Зниження рівня довготривалої потенціації було також продемонстровано за допомогою кіндлінгової моделі нападів у щурів [25]. Ці дані відповідають дослідженням на зразках пацієнтів, що показують зниження NMDA-залежної довготривалої потенціації у пацієнтів з епілепсією, фокус якої розташований у гіпокампі [26]. Результати свідчать, що

підвищення збудливості нейронної мережі в епілептичному мозку приводить до зміни синаптичної ефективності та зниження здатності до пластичності, зокрема довготривалої потенціації, що може відігравати помітну роль у патофізіології епілепсії та поведінкових і психічних супутніх захворювань.

У нашому дослідженні інгібування ПАР1 істотно впливало на синаптичну пластичність у групі щурів з ЕС. Ці дані свідчать про те, що ПАР1-залежна сигналізація може відігравати допоміжну, але не обов'язкову роль у регуляції синаптичної пластичності за нормальних умов і набуває вирішального значення після ЕС. Роль тромбіну та його рецепторів у ЦНС стає все більш очевидною. Було показано, що тромбін, його попередник протромбін та його рецептори експресуються нейронами та гліальними клітинами в різних ділянках мозку і регулюють численні функції в ЦНС [27–29]. У малих концентраціях тромбін може впливати на мітоз гліальних клітин, зростання кількості мотонейронів, підсилювати ріст і розгалуження нейритів, життєздатність нейронів кори і захищати від ексайтотоксичного ураження [30–32]. Порушення цілісності ГЕБ, яке виникає невдовзі після індукованого пілокарпіном ЕС, приводить до значного підвищення рівня тромбіну в СА1-ділянці гіпокампа, яку пропонується вважати джерелом виникнення епілептогенної нейронної мережі.

Показано, що навіть невелике підвищення концентрації тромбіну може бути достатнім для значної потенціації NMDA-рецепторів [33]. Більше того, застосування тромбіну несуттєво збільшувало реакції NMDA-рецепторів у нейронах мишей лінії C57Bl/6, у яких рецептор ПАР1 був генетично видалений, що вказує на участь ПАР1 в індукованій тромбіном потенціації функції NMDA-рецепторів [34]. Запропоновано різні механізми впливу ПАР1-залежної сигналізації на NMDA-рецептори. Було показано, що астроцитарне ПАР1-опосередковане вивільнення глутамату активує NMDA-рецептори на сусідніх нейронах у культурі та індукує APV-чутливий внутрішній струм у нейронах СА1 у зрізах гіпокампа [35]. ПАР1 також може

безпосередньо активувати NMDA-рецептори посиленням Src-опосередкованого фосфорилування тирозину [36]. Потенціювання NMDA-рецепторів може своєю чергою посилювати опосередковану глутаматом ексайтотоксичність та нейродегенерацію. Оскільки довготривала потенціація синаптичного шляху колатералей Шаффера до CA1-ділянки гіпокампа залежить від NMDA [37], ми припускаємо, що вплив інгібування PAR1 на синаптичну пластичність гіпокампа можна принаймні частково пояснити ослабленням впливу ЕС-індукованого збільшення рівня тромбіну на функціонування NMDA-рецепторів, що тим самим зменшує їх ексайтотоксичну дію. Це припущення підкріплюється нашим попереднім дослідженням про нейропротекторний ефект пригнічення PAR1 після ЕС [5]. Визначення впливу епілептогенезу на показники довготривалої синаптичної потенціації та впливу фармакологічної блокади PAR1 на цей процес свідчить про зниження рівня довготривалої потенціації у щурів з епілептичним статусом, що узгоджується з даними досліджень, проведених на дорослих тваринах та у випадку хронічної епілепсії в постстатусних моделях цього захворювання. Водночас фармакологічна блокада PAR1 не впливала на контрольних тварин, але статистично достовірно відновлювала рівень довготривалої потенціації у щурів

з епілептичним статусом. Інгібування PAR1 відновлює чіткі форми синаптичної пластичності гіпокампа в експериментальній моделі генералізованих судом.

Загалом наші дані свідчать про важливу роль PAR1 у синаптичних та поведінкових змінах, спричинених епілептогенезом, і дають нове розуміння клітинних механізмів, що лежать в основі пов'язаних з епілепсією порушень поведінки. Також ми провели експериментальне дослідження впливу селективного антагоніста PAR1 на збудливу поведінку щурів з ЕС. Показано, що інгібування PAR1 виявляє нейропротекторні властивості в ділянці CA1 гіпокампа, зменшує кількість та тривалість рекурентних неспровокованих нападів, знижує смертність щурів. Отримані експериментальні дані дозволяють розглядати PAR1 як нову потенційну мішень у терапії епілепсії та супутніх психоневрологічних розладів.

Автор висловлює щире подяку за підтримку і допомогу в роботі науковому керівнику, провідному науковому співробітнику Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця О.В. Ісаєвій, керівнику відділу фізіології нейронних мереж академіку М.С. Веселовському, директору Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця академіку О.О. Кришталю, молодшому науковому співробітнику відділу фізико-хімічної біології клітинних мембран М.О. Семеніхіній.

REFERENCES

[СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ]

1. Semenikhina M., Bogovyk R., Fedoriuk M., Stasyshyn O., Savotchenko A., Isaeva E. Protease-activated receptor 1 inhibition does not affect the social behavior after status epilepticus in rat. *Fiziol Zh.* 2018. **64**(6): 17–22. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz64.06.017>
2. Fabene P.F., Navarro Mora G., Martinello M., Rossi B., Merigo F., Ottoboni L., Bach S., Angiari S., Benati D., Chakir A., Zanetti L., Schio F., Osculati A., Marzola P., Nicolato E., Homeister J.W., Xia L., Lowe J.B., McEver R.P., Osculati F., Sbarbati A., Butcher E.C., Constantin G. A role for leukocyte-endothelial adhesion mechanisms in epilepsy. *Nat. Med.* 2008. **14**(11): 1377–1383. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm.1878>
3. Marchi N., Granata T., Freri E., Ciusani E., Ragona F., Puvenna V., Teng Q., Alexopolous A., Janigro D. Efficacy of anti-inflammatory therapy in a model of acute seizures and in a population of pediatric drug resistant epileptics. *PLoS One.* 2011. **6**: e18200. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018200>
4. Van Vliet E.A., Otte W.M., Wadman W.J., Aronica E., Kooij G., De Vries H.E., Dijkhuizen R.M., Gorter J.A. Blood-brain barrier leakage after status epilepticus in rapamycin-treated rats II: Potential mechanisms. *Epilepsia.* 2016. **57**(1): 70–78. DOI: <https://doi.org/10.1111/epi.13245>

5. Isaev D., Lushnikova I., Lunko O., Zapukhliak O., Maximyuk O., Romanov A., Skibo G.G., Tian C., Holmes G.L., Isaeva E. Contribution of protease-activated receptor 1 in status epilepticus-induced epileptogenesis. *Neurobiol. Dis.* 2015. **78**: 68–76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.03.026>
6. Macfarlane S.R., Seatter M.J., Kanke T., Hunter G.D., Plevin R. Proteinase-activated receptors. *Pharmacol. Rev.* 2001. **53**(2): 245–282.
7. Isaeva E., Hernan A., Isaev D., Holmes G.L. Thrombin facilitates seizures through activation of persistent sodium current. *Ann. Neurol.* 2012. **72**: 192–198. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.23587>
8. Racine R.J. Modification of seizure activity by electrical modification of after-discharge. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1972. **32**(3): 281–294. DOI: [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90176-9](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90176-9)
9. Semenikhina M., Bogovik R., Fedoryuk M., Lunko O., Savotchenko A., Isaeva E. Pharmacological blockade of protease-activated receptors 1 normalizes emotional excitability of rats in the latent stage of the formation of temporal lobe epilepsy. *Fiziol. Zh.* 2019. **65**(3): 7–11. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz65.03.007>
10. Lunko O.O., Bogovyk R.I., Fedoriuk M.P., Semenets G.S., Isaeva E.V. The protease-activated receptor 1 inhibition during epileptogenesis does not alter behavioral excitability in rats. *Fiziol. Zh.* 2018. **64**(2): 12–18. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz64.02.012>
11. Temkin N.R., Dikmen S.S., Anderson G.D., Wilensky A.J., Holmes M.D., Cohen W., Newell D.W., Nelson P., Awan A. Valproate therapy for prevention of posttraumatic seizures: a randomized trial. *J. Neurosurg.* 1999. **91**(4): 593–600. DOI: <https://doi.org/10.3171/jns.1999.91.4.0593>
12. Semenikhina M., Bogovyk R., Fedoriuk M., Nikolaienko O., Alkury L.T., Savotchenko A., Krishtal O., Isaeva E. Inhibition of protease-activated receptor 1 ameliorates behavioral deficits and restores hippocampal synaptic plasticity in a rat model of status epilepticus. *Neurosci. Lett.* 2019. **692**: 64–68. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.10.058>
13. Savotchenko A., Semenikhina M., Krasnianchuk I., Bogovyk R., Honcharova A., Isaeva E. Behavioral consequences of enterobiasis in rats. *Fiziol. Zh.* 2019. **65**(1): 20–25. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz65.01.020>
14. Inostroza M., Cid E., Menendez de la Prida L., Sandi C. Different emotional disturbances in two experimental models of temporal Lobe Epilepsy in rats. *PLoS One.* 2012. **7**. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038959>
15. Bogovyk R., Lunko O., Fedoriuk M., Isaev D., Krishtal O., Holmes G.L., Isaeva E. Effects of protease-activated receptor 1 inhibition on anxiety and fear following status epilepticus. *Epilepsy Behav.* 2017. **67**(2): 66–69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.11.003>
16. Wang J., Jin H., Hua Y., Keep R.F., Xi G. Role of protease-activated receptor-1 in brain injury after experimental global cerebral ischemia. *Stroke.* 2012. **43**(9): 2476–2482. DOI: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.112.661819>
17. Itzekson Z., Maggio N., Milman A., Shavit E., Pick C.G., Chapman J. Reversal of trauma-induced amnesia in mice by a thrombin receptor antagonist. *J. Mol. Neurosci.* 2014. **53**: 87–95. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12031-013-0200-8>
18. Curia G., Lucchi C., Vinet J., Gualtieri F., Marinelli C., Torsello A., Costantino L., Biagini G. Pathophysiogenesis of mesial temporal lobe epilepsy: is prevention of damage antiepileptogenic. *Curr. Med. Chem.* 2014. **21**(6): 663–688. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867320666131119152201>
19. Savotchenko A., Romanov A., Isaev D., Maximyuk O., Holmes G., Isaeva E. Neuraminidase inhibition primes short-term depression and suppresses long-term potentiation of synaptic transmission in the rat hippocampus. *Neural Plast.* 2015. Article ID 908190. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/908190>
20. Pena F., Bargas J., Tapia R. Paired pulse facilitation is turned into paired pulse depression in hippocampal slices after epilepsy induced by 4-aminopyridine in vivo. *Neuropharmacology.* 2002. **42**(6): 807–812. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(02\)00024-2](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(02)00024-2)
21. El-Hassar L., Esclapez M., Bernard C. Hyperexcitability of the CA1 hippocampal region during epileptogenesis. *Epilepsia.* 2007. **48**(5): 131–139. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01301.x>
22. Schubert M., Siegmund H., Pape H.-C., Albrecht D. Kindling-induced changes in plasticity of the rat amygdala and hippocampus. *Learn. Mem.* 2005. **12**(5): 520–526. DOI: <https://doi.org/10.1101/lm.4205>
23. Reid I.C., Stewart C.A. Seizures, memory and synaptic plasticity. *Seizure.* 1997. **6**(5): 351–359. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1059-1311\(97\)80034-9](https://doi.org/10.1016/S1059-1311(97)80034-9)
24. Bo T., Jiang Y., Cao H., Wang J., Wu X. Long-term effects of seizures in neonatal rats on spatial learning ability and N-methyl-D-aspartate receptor expression in the brain. *Brain Res. Dev.* 2004. **152**(2): 137–142. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.devbrainres.2004.06.011>
25. Leung L.S., Wu C.P. Kindling suppresses primed-burst-induced long-term potentiation in hippocampal CA1. *Neuroreport.* 2003. **14**(2): 211–214. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.wnr.0000054957.21656.44>
26. Beck H., Goussakov I.V., Lie A., Helmstaedter C., Elger C.E. Synaptic plasticity in the human dentate gyrus. *J. Neurosci.* 2000. **20**(18): 7080–7086. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-18-07080.2000>

27. Arai T., Miklossy J., Klegeris A., Quo J.P., McGeer P.L. Thrombin and prothrombin are expressed by neurons and glial cells and accumulate in neurofibrillary tangles in Alzheimer disease brain. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2006. **65**(1): 19–25. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000196133.74087.cb>
28. Striggow F., Riek-Burchardt M., Kiesel A., Schmidt W., Henrich-Noack P., Breder J., Krug M., Reymann K.G., Reiser G. Four different types of protease-activated receptors are widely expressed in the brain and are up-regulated in hippocampus by severe ischemia. *Eur. J. Neurosci.* 2001. **14**(4): 595–608. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.0953-816x.2001.01676.x>
29. Wang H., Ubl J.J., Reiser G. Four subtypes of protease-activated receptors, co-expressed in rat astrocytes, evoke different physiological signaling. *Glia.* 2002. **37**(1): 53–63. DOI: <https://doi.org/10.1002/glia.10012>
30. Garcia P.S., Ciavatta V.T., Fidler J.A., Woodbury A., Levy J.H., Tyor W.R. Concentration-Dependent Dual Role of Thrombin in Protection of Cultured Rat Cortical Neurons. *Neurochem. Res.* 2015. **40**(9): 2220–2229. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1711-1>
31. Turgeon V.L., Milligan C.E., Houenou L.J. Activation of the protease-activated thrombin receptor (PAR)-1 induces motoneuron degeneration in the developing avian embryo. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1999. **58**(5): 499–504. DOI: <https://doi.org/10.1097/00005072-199905000-00009>
32. Wang H., Ubl J.J., Stricker R., Reiser G. Thrombin (PAR-1)-induced proliferation in astrocytes via MAPK involves multiple signaling pathways. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2002. **283**(11): 1351–1364. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00001.2002>
33. Gingrich M.B., Junge C.E., Lyuboslavsky P., Traynelis S.F. Potentiation of NMDA receptor function by the serine protease thrombin. *J. Neurosci.* 2000. **20**(12): 4582–4595. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-12-04582.2000>
34. Almonte A.G., Qadri L.H., Sultan F.A., Watson J.A., Mount D.J., Rumbaugh G., Sweatt J.D. Protease-activated receptor-1 modulates hippocampal memory formation and synaptic plasticity. *J. Neurochem.* 2013. **124**(1): 109–122. DOI: <https://doi.org/10.1111/jnc.12075>
35. Lee C.J., Mannaioni G., Yuan H., Woo D.H., Gingrich M.B., Traynelis S.F. Astrocytic control of synaptic NMDA receptors. *J. Physiol.* 2007. **581**(3): 1057–1081. DOI: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.130377>
36. Duan Z.-Z., Zhang F., Li F.-Y., Luan Y.-F., Guo P., Li Y.-H., Liu Y., Qi S.-H. Protease activated receptor 1 (PAR1) enhances Src-mediated tyrosine phosphorylation of NMDA receptor in intracerebral hemorrhage (ICH). *Sci. Rep.* 2016. **6**: 29246. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep29246>
37. Nicoll R.A., Malenka R.C. Expression mechanisms underlying NMDA receptor-dependent long-term potentiation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1999. **868**(1): 515–525. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb11320.x>

Alina V. Savotchenko

Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5276-430X>

BLOOD-BRAIN BARRIER DISFUNCTION AND DEVELOPMENT OF EPILEPTIC SEIZURES

According to the scientific report at the meeting of the Presidium of the NAS of Ukraine, December 23, 2020

Blood-brain barrier dysfunction (BBB) is an important factor to the development of epilepsy and its behavioral comorbidities. Disruption of its integrity is accompanied by the ingress of blood components, including thrombin, into the cerebrospinal fluid. The effect of thrombin is mediated mainly through its major receptor, protease-activated receptors 1 (PAR1). Using lithium-pilocarpine model of seizures, we show that downregulation of PAR1 activity reduces anxiety and aggressive behavior in epileptic rats and restores distinct forms of hippocampal synaptic plasticity in experimental model of temporal-lobe epilepsy. Taken together, our data suggest that PAR1-signaling promotes the development of acquired epilepsy. PAR1 may be a new potential target for the treatment of this disorder and associated behavioral pathologies.

Keywords: blood-brain barrier, temporal-lobe epilepsy, hippocampus, thrombin, synaptic plasticity.