

BASIC CHARACTERISTICS OF EEG EPILEPTIFORM DISCHARGES TRIGGERED BY LINDANE IN A MODEL OF EXPERIMENTAL PROSTATITIS

OSNOVNE KARAKTERISTIKE EEG EPILEPTIFORMNIH PRAŽNENJA IZAZVANIH LINDANOM U MODELU EKSPERIMENTALNOG PROSTATITISA

Aleksa Zubelić¹, Jelisaveta Vuletić¹, Milivoje Aščerić¹, Aleksandra Rašić Marković^{1,2}, Olivera Stanojlović^{1,2}
Nikola Šutulović^{1,2}, Dragan Hrnčić^{1,2}

¹ Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija

² Institut za medicinsku fiziologiju "Rihard Burijan", Laboratorija za neurofiziologiju, Beograd, Srbija

Correspondence: drhrncic@yahoo.com

Abstract

Introduction: Chronic prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome (CP/CPPS) is the most commonly diagnosed non-infectious prostatitis in urology. Studies have shown that CP/CPPS can induce neuroinflammation, which may result in CNS hyperexcitability and a tendency to develop epileptic seizures. Spike salvos are ictal EEG graph elements typical for the experimental model of lindane-induced seizures. There are a number of mathematical models for quantitative analysis of EEG, including the Fast Fourier Transform (FFT). It transforms the signal from time into the frequency domain, providing information on Power Spectral Densities (PSD).

Aim: The aim of this study was to investigate the basic characteristics of epileptiform discharges induced by subconvulsive dose of lindane in rats, with experimentally induced CP/CPPS. **Material and methods:** CP/CPPS was induced by intraprostatic injection of 3% λ -carrageenan in male Wistar albino rats. Animals with CP/CPPS were implanted with EEG registration electrodes, and then administered lindane (4 mg/kg, *i.p.*, experimental group, n = 6 per group) or its solvent (DMSO, control group, n = 6 per group). An 8-channel EEG device was used in combination with software developed in the laboratory (NeuroSciLaBG). Ictal EEG epochs were extracted from the original signal and FFT analysis was performed to obtain information taking into account PSD in predefined frequency bands.

Results: There was no ictal activity in the EEG of control animals. In experimental animals, ictal activity occurred and the mean duration of the ictal period was 2.06 s. FFT analysis revealed that the alpha frequency range (7-15 Hz) was markedly dominant during ictal activity.

Conclusion: The results of this study showed the characteristics of epileptiform discharges in animals with experimentally induced CP/CPPS. This study and animal model are suitable for future translational studies of the comorbidities of this syndrome.

Keywords:
prostatitis,
lindane,
rats,
seizures

Sažetak

Uvod: Hronični prostatitis/sindrom hroničnog pelvičnog bola (engl. *Chronic prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome*, CP/CPSP) najčešće je dijagnostikovani neinfektivni prostatitis u urološkoj praksi. Pokazano je da CP/CPSP dovodi do indukcije neuroinflamacije, koja kao posledicu može imati hiperekscitabilnost centralnog nervnog sistema (CNS) i sklonost ka razvoju epileptičkih napada. Salve šiljaka predstavljaju tipične elektroencefalografske (EEG) grafoelemente za eksperimentalni model epilepsije izazvane lindanom. Postoji veći broj matematičkih modela za kvantitativnu analizu EEG signala, među kojima je i Brza Furijeova transformacija (engl. *Fast Fourier Transform*, FFT). Ona transformiše signal iz vremenskog domena u frekventni domen, dajući informacije o gustini spektralne snage (engl. *Power Spectral Densities*, PSD).

Cilj: Cilj ovog rada je ispitivanje osnovnih karakteristika epileptiformnih pražnjenja izazvanih subkonvulzivnom dozom lindana kod pacova sa eksperimentalno izazvanim CP/CPSP.

Materijal i metode: Intraprostatičnom injekcijom 3% λ -karagenina, mužjacima *Wistar* albino pacova indukovan je CP/CPSP. Životinjama sa CP/CPSP implantirane su EEG registrujuće elektrode, a potom je administriran lindan (4 mg/kg, *i.p.*, eksperimentalna grupa, $n = 6$ po grupi) ili njegov rastvarač (DMSO, kontrolna grupa, $n = 6$ po grupi). Korišćen je 8-kanalni EEG aparat u sa pratećim softverom razvijenim u laboratoriji (*NeuroSciLaBG*). Iktalne EEG epohe ekstrahovane su iz originalnog signala i izvršena je FFT analiza podataka, uzimajući u obzir PSD u unapred definisanim frekvencijskim opsezima.

Rezultati: Nije bilo iktalne aktivnosti u EEG-u kontrolnih životinja. Kod eksperimentalnih životinja došlo je do pojave iktalne aktivnosti i srednje trajanje iktalnog perioda bilo je 2,06 s. Analiza Brzom Furijeovom transformacijom otkrila je da je alfa frekvencijski opseg (7-15 Hz) izrazito dominantan tokom iktalne aktivnosti.

Zaključak: Rezultati ovog rada pokazali su karakteristike epileptiformnih pražnjenja kod životinja sa eksperimentalno indukovanim CP/CPSP. Ova studija i animalni model pogodni su za buduća translaciona istraživanja komorbiditeta ovog sindroma.

Ključne reči:

prostatitis,
lindan,
pacovi,
konvulzije

Uvod

Hronični prostatitis/sindrom hroničnog pelvičnog bola (engl. *Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome*, CP/CPSP) je klinički, urološki sindrom čije se patogeneza i terapija i dalje istražuju (1). To je jedno od najčešćih uroloških oboljenja kod muškaraca, sa ukupnom prevalencijom 5-10% (2). Predstavlja približno 90% dijagnostikovanih prostatitisa kod muškaraca mlađih od 50 godina (3). Najčešće se manifestuje simptomima donjeg urinarnog trakta, hroničnim bolom u predelu karlice, rektuma, testisa i abdomena i seksualnom disfunkcijom praćenom čestim psihijatrijskim komorbiditetima (4). Studije su pokazale da CP/CPSP ima značajan negativan uticaj na kvalitet života pacijenata (5). Funkcionalna i histopatološka ispitivanja su pokazala da određeni regioni mozga trpe promene kod obolelih od CP/CPSP (6).

Neuroinflamacija predstavlja celularnu i biohemijsku reakciju u centralnom nervnom sistemu (CNS), praćen povišenom mikroglijalnom aktivnošću i povišenom sekrecijom proinflamatornih citokina (7). Periferni inflamatorni procesi, kao što je CP/CPSP, u CNS-u mogu dovesti do aktivacije mikroglijalnih ćelija i indukcije neuroinflamacije (8). Hipoteza o povezanosti neuroinflamacije i epileptičkih pražnjenja nastala je u kliničkim studijama koje su pokazale povišenu imunološku aktivnost u zoni moždanog tkiva koje odgovaraju epileptičkim fokusima (9). Danas se smatra da neuroinflamacija može biti

nužni uzrok epileptičnih pražnjenja i epilepsije indukcijom hiperekscitabilnosti, usled promene u funkciji neuroina i neurotransmiterskih sistema (10).

Elektroencefalografija (EEG) predstavlja jednostavnu, jeftinu i široko korišćenu metodu u evaluaciji epileptičkih pražnjenja (11). Ona omogućava detekciju prepoznatljivih patoloških obrazaca bioelektrične aktivnosti koji nastaju u mozgu u toku napada (12). Uprkos svojoj popularnosti, EEG ima nekoliko mana: zabeležena električna aktivnost predstavlja zbir ekscitatornih i inhibitornih postsinaptičkih potencijala i ne odražava aktivnost pojedinačnih neurona, dakle, zahteva simultanu aktivnost većih kortikalnih zona da bi se proizveo detektibilni signal (13). Metoda je podložna i nastanku artefakta i bez korelirajućih kliničkih nalaza ima diskutabilnu ulogu u postavljanju dijagnoze i prognoziranju epilepsije kod pacijenata (14).

U cilju kvantitativnog ispitivanja iktalnih EEG fenomena razvijen je veliki broj matematičkih modela, među kojima je i Brza Furijeova transformacija (engl. *Fast Fourier Transformation*, FFT). Ona transformiše signal iz vremenskog domena u frekventni domen, dajući informacije o gustini spektralne snage (engl. *Power Spectral Densities*, PSD) (15). Istovremeno je moguć i prikaz spektralne snage pojedinih EEG talasa (delta, teta, alfa i beta) u njihovim frekvencijskim domenima u odnosu na ukupnu snagu, što pomaže u tumačenju kliničkih fenomena u toku epileptičnih pražnjenja (16). Prednost FFT ogleda

se u tome što patološki EEG obrasci proizvode spektralne obrasce koji se lako mogu prepoznati bez opsežne obuke potrebne za tumačenje rutinskih EEG nalaza, dok istovremeno beleženje dodatnih parametara omogućava naprednije analize (16).

U cilju analize EEG karakteristika epileptičnih napada tokom godina razvijeno je nekoliko eksperimentalnih modela. Epileptični napadi, indukovani lindanom, predstavljaju pogodan eksperimentalni model generalizovane epilepsije, praćene pojavom salvi šiljaka koje čine karakteristične iktalne periode (17).

Uticaj CP/CPPS na nastanak hiperekscitabilnosti CNS-a i podložnost ka razvoju epileptičkih pražnjenja nedovoljno je ispitan na eksperimentalnim modelima. Takođe izostaje opis karakteristika epileptiformnih pražnjenja na eksperimentalnom modelu CP/CPPS.

Cilj ovog rada je bio da se ispita osnovne karakteristike epileptiformnih pražnjenja izazvanih subkonvulzivnom dozom lindana kod pacova sa eksperimentalno izazvanim CP/CPPS.

Materijal i metode

Eksperimentalne životinje

U eksperimentu su korišćeni odrasli mužjaci pacova soja *Wistar* albino (Vivarijum Vojnomedicinske akademije u Beogradu), starosti tri meseca i težine 250-350 g na početku eksperimenta. Uslovi pod kojima su čuvane životinje tokom perioda aklimacije, u trajanju od nedelju dana i tokom eksperimenta bili su konstantni (temperatura 21 ± 2 °C, relativna vlažnost vazduha 50-60% i ciklus svetlost-tama na 12h, sa početkom svetle faze u 8:00h). Hrana i voda bili su dostupni ad libitum. Pacovi su čuvani pojedinačno, u transparentnim kavezima od pleksiglasa i životinje su korišćene samo jednom u eksperimentu.

Pri eksperimentalnom radu u potpunosti je poštovan Etički kodeks naučnoistraživačkog rada Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, kao i standardi biheviornalnih istraživanja na glodarima.

Eksperimentalni dizajn i protokol testiranja

Nakon aklimacije životinja na laboratorijske uslove, a tri dana pre intraprostaticke injekcije, pacovima su ugrađene EEG registrujuće elektrode. Nakon perioda oporavka od dva dana, na osnovu prethodnih eksperimenata (18,19), pacovi su operisani i intraprostaticom injekcijom sterilnog 3% λ -karagenina je indukovano CP/CPPS (grupa CP/CPPS, n = 12). U cilju potvrde i praćenja razvoja CP/CPPS, u preoperativnom i postoperativnom periodu je upotrebom von Frejevog esteziometra (eVF) u regiji kože skrotuma utvrđivan prag bola na mehaničku draž. Sedmog dana nakon intraprostaticke injekcije pacovi su nasumično raspodeljeni u dve kohorte i formirane su sledeće grupe: 1. CP/CPPS + DMSO (rastvarač dimetil-sulfoksid, DMSO, 2 ml/kg, *i.p.*, *Sigma-Aldrich Chemical Co*, SAD, kontrolna grupa, n = 6) i 2. CP/CPPS + L4 (lindan, L, 4mg/kg, *i.p.*, *Sigma-Aldrich Chemical Co*, SAD, eksperimentalna

grupa, n = 6). Nakon administracije lindana ili DMSO, u vremenskom periodu od 30 min, učinjena je akvizicija EEG signala. Nakon toga je *offline* analizom učinjena obrada EEG signala.

Hirurška implantacija elektroda i EEG snimanje

Da bi se ugradile EEG elektrode, pacovi su anestetizirani natrijum tiopentalom, 40 mg/kg, *i.p.*, *Thiopental*[®], *Panpharma*, Francuska). Pacovi su smešteni u stereotaksični ram, a tri pozlaćene elektrode ugrađene su preko frontalne, parijetalne i okcipitalne kore i fiksirane su dentalnim cementom. Period oporavka trajao je 2 dana. Životinje su povezane sa EEG uređajem fleksibilnim kablovima. Izlazni signali direktno su snimani na memoriju računara s pripadajućim softverom (*NeuroSciLaBG*, Beograd, Srbija) i instaliranom čip karticom za EEG monitoring.

Životinje su smeštene u pojedinačne prozirne kaveze od pleksiglasa (55 x 35 x 15 cm), a EEG zapis je beležen u toku 30 minuta nakon aplikacije DMSO ili subkonvulzivne doze lindana rastvorenog u DMSO. Korišćen je 8-kanalni EEG aparat (RIZ, Zagreb, Hrvatska). Signali su digitalizovani pomoću SCB-68 kartice za prikupljanje podataka (*National Instruments Co*, *Austin, TX, SAD*). Učestalost uzorkovanja od 512 Hz/kanal i 16-bitna A/D konverzija korišćena je za EEG signale. Granične frekvencije za EEG zapise postavljene su na 0,3 i 100 Hz za visokopropusne i niskopropusne filtere. Ambijentni šum je uklonjen korišćenjem 50 Hz filtera. Akvizicija podataka i obrada signala izvedeni su pomoću softvera razvijenog u našoj Laboratoriji za neurofiziologiju (*NeuroSciLaBG*).

Registrovani zapisi su pregledani i ekstrahovane su epohe iktalne aktivnosti, pri čemu je EEG iktalni period definisan pomoću sledećih kriterijuma: (1) spontani i generalizovani, ritmički šiljci (2) trajanje > 1 s, (3) amplituda najmanje dvostruko veća od pozadinske bazalne EEG aktivnosti (20).

Svaka ekstrahovana epoha je nakon toga analizirana pomoću FFT da bi se dobili podaci o trajanju, maksimalnoj frekvenciji i ukupnoj spektralnoj snazi EEG iktalnih perioda, kao i o spektralnoj snazi u delta, teta, alfa i beta frekvencijskim domenima u odnosu na ukupnu snagu. Domeni su definisani na sledeći način: delta 0,5-4 Hz; 4-7 Hz teta; 7-15 Hz alfa i 15-30 Hz beta.

Indukcija eksperimentalnog hroničnog prostatitisa/ sindroma hroničnog pelvičnog bola

Hirurška intervencija je urađena u anesteziji (natrijum tiopental, 40 mg/kg, *i.p.*, *Thiopental*[®], *Panpharma*, Francuska), na fiksiranim pacovima na podlozi za zagrevanje, kada je koža donje polovine prednjeg zida abdomena obrijana i dezinfikovana na adekvatan način. U cilju redukcije postoperativnog bola i desenzitizacije regije koja okružuje hiruršku ranu, aplikovan je lokalni anestetik (2% lidokain). U cilju ekspozicije oba ventralna lobusa prostate načinjena je mala incizija (1,5 cm) u središnjoj liniji donjeg dela prednjeg zida abdomena. Upotrebljeni su sterilisani Hamilton špric i jednokratna igla promera 30G. Za indukciju CP/CPPS u oba ventralna lobusa prostate aplikovan je sterilisan rastvor 3% λ -karagenina (50 μ l).

Utvrđivanje skrotalnog praga bola na mehaničku draž

U cilju potvrde i praćenja razvoja CP/CPPS korišćen je elektronski von Frejev esteziometar (eVF) (IITC Life Sciences, CA) sa rigidnim polipropilenskim filamentima, kojim je u regiji kože skrotuma utvrđivan prag bola na mehaničku draž. Prag bola na mehanički stimulus je meren dan pre intraprostatične injekcije, kao i 2, 3. i 7. dana nakon operacije. Pre početka testiranja pacovi su postavljeni u izolovane kutije od pleksiglasa na žičanoj platformi, u cilju adaptacije na uslove merenje, u trajanju od 30 minuta. Merenje praga bola započinje kada se životinja umiri i spusti skrotum na dno platforme. Nakon toga se perpendikularno aplikuje filament eVF na kožu skrotuma, uz gradirani porast snage aplikacije filamenata sve do momenta dok se ne uoči refleksni odgovor u vidu pomeranja životinje iz početne pozicije (refleks uklanjanja). Kao vrednost praga bola uzeta je prosečna vrednost tri uzastopna merenja.

Statistička analiza podataka

Za poređenje značajnosti razlike u pragu bola na mehanički stimulus u različitim vremenskim intervalima korišćen je jednosmerni ANOVA test sa LSD *post hoc* testiranjem.

Trajanje EEG iktalnih perioda, maksimalna frekvencija i PSD dobijeni pomoću FFT analize, s obzirom na raspodelu koja nije normalna, izraženi su kao medijana, 25 - 75. percentil i raspon min - max. Frakcije ukupnih spektralnih gustina snage koje odgovaraju pojedinim frekvencijskim opsezima izražene su u procentualnoj skali kao medijana, 25 - 75. percentil i raspon min - max u intervalu pouzdanosti od 95%. Da bi se utvrdila statistička značajnost razlika, za višestruka poređenja unutar frekventnih opsega izveden je Kruskal-Valisov (*Kruskal-Wallis*) test. Kao kriterijum za statističku značajnost primenjen je nivo značajnosti od $p < 0,001$.

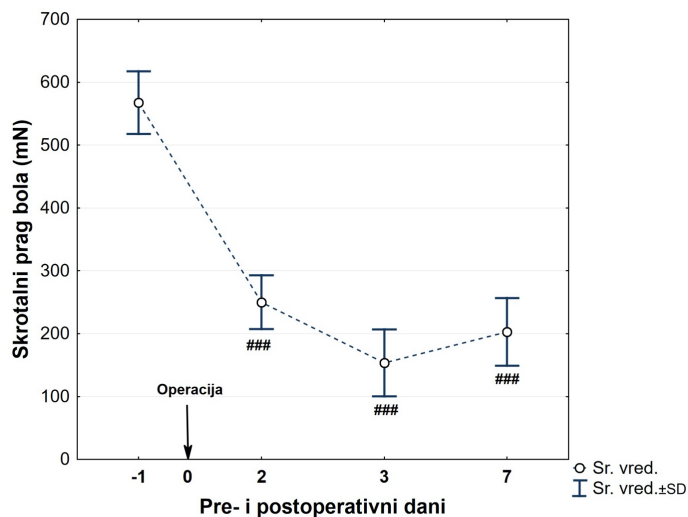
Rezultati

Skrotalni prag bola na mehaničku draž i razvoj CP/CPPS

Kod CP/CPPS životinja je utvrđeno statistički značajno ($p < 0,001$) smanjenje praga bola na mehaničku draž 2, 3. i 7. dana nakon operacije u poređenju sa vrednostima pre intraprostatične injekcije (**Grafikon 1**).

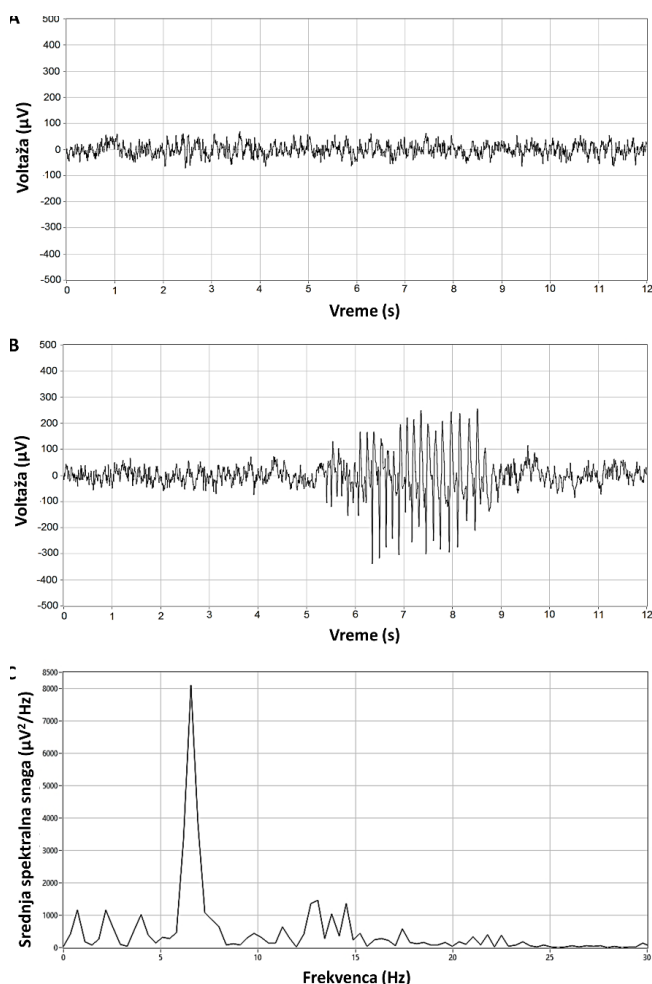
Elektroencefalogram nakon aplikacije subkonvulzivne doze lindana

Na **Grafikonu 2** prikazani su uredna EEG aktivnost bez znakova iktalne aktivnosti kod CP/CPPS + DMSO životinja (A), reprezentativni iktalni period registrovan u EEG zapisu nakon aplikacije subkonvulzivne doze lindana (4 mg/kg, *i.p.*) kod CP/CPPS + L4 životinja (B), kao i korespondentni spektrogram dobijen FFT analizom (C).



Grafikon 1. Vremenski tok skrotalnog praga bola životinja sa indukovanim CP/CPPS.

Životinje su testirane evF esteziometrom dan pre (-1), kao i 2, 3. i 7. dana nakon operacije. Statistička značajnost razlika u pragu bola unutar grupe je procenjena *one-way* ANOVA sa LSD *post hoc* testom ($p < 0,001$, vs. -1).



Grafikon 2. Reprezentativni zapis bazalne EEG aktivnosti kod CP/CPPS + DMSO životinja (A), EEG iktalni period registrovan kod CP/CPPS + L4 životinja (B) i korespondentni spektrogram dobijen FFT analizom (C)

Pacovima je intraperitonealno aplikovan DMSO ili subkonvulzivna doza lindana (4 mg/kg, *i.p.*) sedmog postoperativnog dana i EEG aktivnost je registrovana tokom 30 min. Srednja spektralna snaga dobijena je FFT analizom pomoću *NeuroSciLaBG* programa.

Odvod: desni frontalni - levi parijetalni

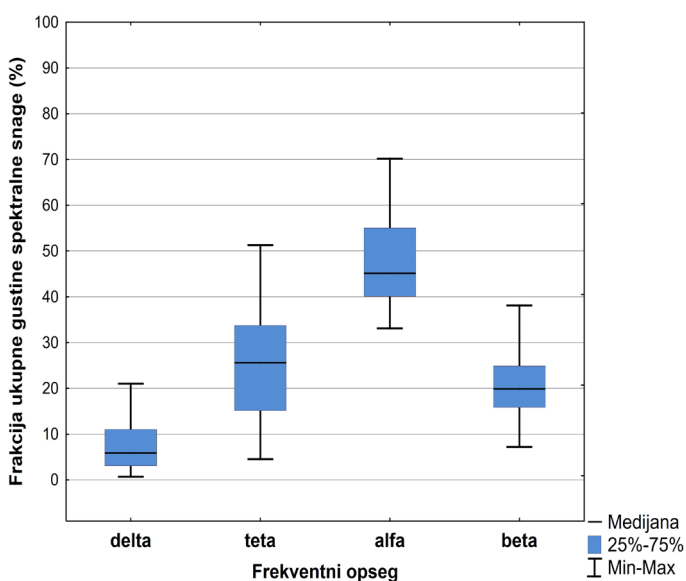
Tabela 1. Karakteristike EEG iktalnih perioda izazvanih subkonvulzivnom dozom lindana kod pacova sa CP/CPPS.

Parametar	Medijana	25 - 75 percentil	Min - Max
Trajanje (s)	2,06	1,68 - 2,75	1,18 - 5,40
Maks. frekvencija (Hz)	6,83	6,45 - 7,22	5,85 - 15,50
Ukupna spektralna gustina snage ($\mu V^2/Hz$)	17 103,61	10 026,38 - 21 996,22	2 893,05 - 32 725,16

Za svaki ekstrahovani EEG iktalni period određeno je trajanje i izvršena je FFT analiza. S obzirom na raspodelu koja nije normalna, vrednosti su prikazane kao medijana sa opsegom 25 - 75. percentil i minimum - maksimum.

Prosečno trajanje EEG iktalnih perioda bilo je 2,06 s, a maksimalna frekvencija 6,83 Hz. Ukupan PSD tih epoha bio je 17103,61 $\mu V^2/Hz$ (Tabela 1).

Rezultati FFT analize pokazali su da je tokom EEG iktalnih perioda dominantna EEG aktivnost bila u rasponu alfa ritma ($p < 0,01$). Međusobnim poređenjem četiri standardna frekventna opsega (delta, teta, alfa, beta), uočena je statistička značajnost između svih mogućih parova, osim između para teta-beta, što odražava značajnu stratifikaciju EEG aktivnosti tokom EEG iktalnih perioda (Grafikon 3).



Statistička matrica postignutih razlika

VS.	Delta	Teta	Alfa	Beta
Delta		$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,01$
Teta	$p < 0,01$		$p < 0,01$	$p > 0,05$
Alfa	$p < 0,01$	$p < 0,01$		$p < 0,01$
Beta	$p < 0,01$	$p > 0,05$	$p < 0,01$	

Grafikon 3. Frakcija ukupne gustine spektralne snage EEG iktalnih perioda izazvanih lindanom relativno je izražena po pojedinačnim frekventnim opsezima.

Statistička značajnost razlika u relativnoj gustini spektralne snage utvrdjena je Kruskal-Valisovim testom, a dobijene značajnosti raportirane su u matriks tabeli u donjem panelu.

Za detalje videti Grafikon 2.

Diskusija

Indukcija CP/CPPS intraprostatičnom injekcijom λ -karagenina predstavlja široko prihvaćen eksperimentalni model ovog sindroma i često je korišćen u ispitivanju etiopatogeneze i pratećih komorbiditeta (18). Statistički značajno sniženje praga bola na mehanički stimulus na koži skrotalne regije kod eksperimentalnih životinja, koje je utvrđeno u našoj studiji, uzima se kao marker uspešnog razvoja CP/CPPS od strane mnogobrojnih istraživača (20).

Lindan (γ -1,2,3,4,5,6-heksaklorocikloheksan) je široko korišćen pesticid u humanoj i veterinarskoj medicini (21). On pokazuje prokonvulzivna svojstva i nakon oralne ili intraperitonealne aplikacije izaziva dozno zavisna epileptička pražnjenja (22). Smatra se da je primaran mehanizam dejstva lindana blokada GABA receptora u mozgu (22). Modeli lindanom indukovanih epileptičkih napada široko se koriste u eksperimentalne svrhe, kao i u razvoju efikasnih antiepileptičkih lekova (8,20).

Epilepsija je česta neurološka bolest koja pogađa približno 1% svetske populacije (23). Iako se ponavljajući konvulzivni napadi smatraju osnovnim znakom epilepsije, konvulzivni napadi takođe mogu biti izazvani nizom poremećaja CNS-a, kao što su: traume, infekcije, tumori itd. (24). Mnogo veći procenat ljudi barem jednom u toku života ima izolovan konvulzivni napad, definisan kao „skup prolaznih simptoma i/ili znakova usled abnormalne i sinhronizovane neuronske aktivnosti u mozgu“ (25). Tokom epileptičnog napada nastaju obrasci bioelektrične aktivnosti koji su značajno različiti od onih u bazalnim fiziološkim uslovima i identifikuju se na EEG zapisu (26).

Prethodne studije epileptičnih pražnjenja uspele su da opišu tri različita obrasca iktalnog EEG-a: 1) oscilacije visokih frekvencija koje su prethodile konvulzijama, 2) talase usporene aktivnosti i 3) desinhronizaciju električne aktivnosti (13). Naša studija takođe pokazuje značajan udeo nižefrekventnih opsega u iktalnim periodima. Utvrđen je, međutim, i visok udeo talasa u frekventnom opsegu alfa ritma (7-15 Hz). Iktalne periode karakteriše preovladavanje alfa i teta talasa. Gustina spektralne snage pojedinih frekvencijskih opsega, izračunata pomoću FFT, pokazuje da je dominantni frekvencijski opseg teta, dok beta ima najmanju snagu. Imajuću u vidu dominantnu ulogu teta talasa u buđenju i formiranju memorije, pretpostavlja

se da je porast snage EEG teta talasa odraz oštećenja svesti i stepena amnezije u toku samog napada (27), što je i čest klinički nalaz u toku napada kod pacijenata koji boluju od epilepsije (25).

Epilepsija je uočena kao čest komorbiditet u različitim hroničnim inflamatornim bolestima (28). Inflamatorni procesi, poput CP/CPPS, dovode do aktivacije imunskog sistema, uz posledičnu povećanu produkciju proinflatornih citokina i reaktanata akutne faze. Opisana su dva puta direktnog prodora proinflatornih medijatora sa periferije u CNS. Prvi uključuje humoralni put posredstvom cirkumventrikularnih organa i druga, tzv. „nervna ruta“, podrazumeva postojanje citokinskih receptora na aferentnim nervnim vlaknima koja zatim prenose signale do mozga (29). Posledična aktivacija mikroglialnih ćelija i povećana sekrecija proinflatornih citokina i hemokina u moždanom tkivu dovodi do nastanka neuroinflamacije (30).

Danas se smatra da je upravo neuroinflamacija važan mehanizam epileptogeneze jer dovodi do hiperekscitabilnosti neurona, koja predstavlja osnovu epileptičkih napada (30). Više kliničkih studija pokazalo je pozitivnu korelaciju između povišenih vrednosti interleukina 6 (*IL-6*) u likvoru i plazmi sa brojem i ozbiljnošću epileptičkih napada (31). Utvrđeno je da *IL-1β* takođe eksprimira prokonvulzivna svojstva. (9) Laboratorijski eksperimenti in vivo i in vitro utvrdili su da *IL-1β* povećava sekreciju ekscitatornih neurotransmitera, negativno modulira GABA receptore i povećava intracelularni tranposrt jona kalcijuma (Ca^{2+}). Sve ove promene povećavaju ekscitabilnost nervnih ćelija i olakšavaju nastanak epileptičnih pražnjenja (32). Eksperimentalne studije su pokazale povišene vrednosti *IL-6* i *IL-1β* u mozgu pacova sa eksperimentalno indukovanim CP/CPPS (19).

Zaključak

Naši rezultati ukazuju da je kod pacova sa eksperimentalno razvijenim CP/CPPS uspešno indukovani epileptični napad subkonvulzivnom dozom lindana sa pojavom iktalnih perioda u EEG, čije karakteristike su definisane ovim radom. Rezultati ovog rada, dobijeni na eksperimentalnom modelu CP/CPPS, pokazuju uticaj perifernog inflamatornog procesa na nastanak hiperekscitabilnosti mozga. Korišćenje FFT u karakterizaciji iktalnih perioda u frekvencijskim domenima otvara vrata naprednim analizama biosignala i usavršavanju softvera za detekciju i predviđanje napada.

Zahvalnost

Rad je nastao u okviru Projekta 200110 koji finansira MPNTR i projekta FA4Lin koji finansiraju MPNTR i TŪBĪTAK.

Literatura

1. Meng LQ, Yang FY, Wang MS, Shi BK, Chen DX, Chen D, et al. Quercetin protects against chronic prostatitis in rat model through NF-κB and MAPK signaling pathways. *Prostate*. 2018; 78(11):790-800.

2. Wang H-J, Tyagi P, Chen Y-M, Chancellor MB, Chuang Y-C. Low energy shock wave therapy inhibits inflammatory molecules and suppresses prostatic pain and hypersensitivity in a capsaicin induced prostatitis model in rats. *Int J Mol Sci*. 2019; 20:4777.
3. Brünahl C, Dybowski C, Albrecht R. Mental disorders in patients with chronic pelvic pain syndrome (CPPS). *J Psychosom Res*. 2017; 98:19-26.
4. Zhang K, Liu Y, Yang W, Wang J, Yang J, Zhang G, et al. Efficacy and Safety of Ningmitai Capsule in Patients With Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome: A Multicenter, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial. *Urology*. 2021; 21:4290-5.
5. McNaughton Collins M, Pontari MA, O'Leary MP. Quality of life is impaired in men with chronic prostatitis: the Chronic Prostatitis Collaborative Research Network. *J Gen Intern Med*. 2001; 16:656-62.
6. Farmer MA, Chanda ML, Parks EL, Baliki MN, Apkarian AV, Schaeffer AJ. Brain functional and anatomical changes in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *J Urol*. 2011; 186(1):117-24.
7. Wang YL, Han QQ, Gong WQ, Pan DH, Wang LZ, Hu W et al. Microglial activation mediates chronic mild stress-induced depressive- and anxiety-like behavior in adult rats. *Neuroinflammation*. 2018; 15(1):21.
8. Hrnčić D, Sutulović N, Grubač Z, Rasić-Marković A, Stanojlović O. The central nervous system is not immunoprivileged: Inflammation and epileptogenesis. *Vojnosanit Pregl*. 2018; 75(8):820-5.
9. De Vries EE, van den Munckhof B, Braun KP, van Royen-Kerkhof A, de Jager W, Jansen FE. Inflammatory mediators in human epilepsy: A systematic review and meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016; 63:177-90.
10. Webster KM, Sun M, Crack P, O'Brien TJ, Shultz SR, Semple BD J. Inflammation in epileptogenesis after traumatic brain injury. *Neuroinflammation*. 2017; 14(1):10.
11. Guerreiro C.A. Epilepsy: Is there hope?. *Indian J Med Res*. 2016; 144(5):657-60.
12. Wang L, Song YL, Sun P, Li ZC, Zhao N. Analysis of EEG abnormalities of cognitive impairment and epileptic seizures in patients with epilepsy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019; 23(24):10964-9.
13. Useinovic N, Vorkapic M, Leković A, Ademović A, Sutulović N, Grubač Ž et al. Basic characteristics of epileptiform discharges triggered by lindane in rats. *Medicinski podmladak*. 2018; 69(3):69-75.
14. Jiang X, Bian GB, Tian Z. Removal of Artifacts from EEG Signals: A Review. *Sensors*. 2019; 19(5):987.
15. Campbell IG. EEG recording and analysis for sleep research. *Curr Protoc Neurosci*. 2009; 10:2.
16. Rampil IJ. Fast Fourier Transformation of EEG Data. *JAMA*. 1984; 251(5):601.
17. Mladenovic D, Hrnčić D, Vucevic D, Radosavljevic T, Loncar-Stevanovic H, Petrovic J et al. Ethanol suppressed seizures in lindane-treated rats. *Electroencephalographic and behavioral studies*. *J Physiol Pharmacol*. 2007; 58(4):641-56.
18. Šutulović N, Grubač Ž, Šuvakov S, Jovanović Đ, Puškaš N, Macut Đ et al. Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome increases susceptibility to seizures in rats and alters brain levels of IL-1β and IL-6. *Epilepsy Res*. 2019;153:19-27.
19. Šutulović N, Grubač Ž, Šuvakov S, Jovanović Đ, Puškaš N, Macut Đ et al. Experimental Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome Increases Anxiety-Like Behavior: The Role of Brain Oxidative Stress, Serum Corticosterone, and Hippocampal Parvalbumin-Positive Interneurons. *Oxid Med Cell Longev*. 2021; 150:19-24
20. Stanojlović O, Rašić-Marković A, Hrnčić D. Two types of seizures in Homocysteine Thiolactone-Treated Adult Rats, Behavioral and Electroencephalographic Study. *Cell Mol Neurobiol*. 2009; 29:329-39.
21. Singal A, Thami GP. Lindane neurotoxicity in childhood. *Am J Ther*. 2006; 13(3):277-80.
22. Costa LG. The neurotoxicity of organochlorine and pyrethroid pesticides. *Handb Clin Neurol*. 2015; 131:135-48.

23. Sander JW. The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol.* 2003; 16(2):165-170.
24. Stephen LJ, Brodie MJ. Epilepsy in elderly people. *Lancet.* 2000; 355(9213):1441-6.
25. Duncan JS, Sander JW, Sisodiya SM, Walker MC. Adult epilepsy. *The Lancet.* 2006; 367(9516):1087-100.
26. Bassett L, Troncy E, Pouliot M, Paquette D, Ascah A, Authier S. Telemetry video-electroencephalography (EEG) in rats, dogs and non-human primates: methods in follow-up safety pharmacology seizure liability assessments. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2014; 70(3):230-40.
27. Greenberg JA, Burke JF, Haque R, Kahana MJ, Zaghoul KA. Decreases in theta and increases in high frequency activity underlie associative memory encoding. *Neuroimage.* 2015; 114:257-63.
28. Téllez Zenteno JF, Matijevic S, Wiebe S. Somatic comorbidity of epilepsy in the general population in Canada. *Epilepsia.* 2005; 46(12):1955-62.
29. Konsman JP, Luheshi GN, Bluthé RM, Dantzer R. The vagus nerve mediates behavioural depression, but not fever, in response to peripheral immune signals; a functional anatomical analysis. *Eur J Neurosci.* 2000; 12(12):4434-46.
30. Sharma R, Leung WL, Zamani A, O'Brien TJ, Casillas Espinosa PM, Semple BD. Neuroinflammation in Post-Traumatic Epilepsy: Pathophysiology and Tractable Therapeutic Targets. *Brain Sci.* 2019; 9(11):318-9.
31. Lehtimäki K.A, Keränen T, Huhtala H, Hurme M, Ollikainen J, Honkaniemi J et al. Regulation of IL-6 system in cerebrospinal fluid and serum compartments by seizures: The effect of seizure type and duration. *J Neuroimmunol.* 2004; 152:121-5.
32. Wang S, Cheng Q, Malik S, Yang J. Interleukin-1beta inhibits gamma-aminobutyric acid type A (GABA(A)) receptor current in cultured hippocampal neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2000; 292:497-50.