

НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ В ПАТОГЕНЕЗЕ АУДИОГЕННОЙ ЭПИЛЕПСИИ: ИЗМЕНЁННЫЕ УРОВНИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ К НЕЙ КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО–МОЛОДКИНОЙ

© 2023 Н.М. Сурина^{1*}, И.Б. Федотова¹, Г.М. Николаев¹, В.В. Греченко²,
Л.В. Ганковская², А.Д. Огурцова², И.И. Полетаева¹

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет,
119234 Москва, Россия; электронная почта: opera_ghost@inbox.ru, ingapoletaeva@mail.ru

² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова,
117997 Москва, Россия

Поступила в редакцию 17.11.2022

После доработки 07.02.2023

Принята к публикации 08.02.2023

Нейровоспаление играет важную роль в эпилептогенезе, однако большинство исследований этого процесса выполняется на фармакологических моделях эпилепсии, в то время как данные по неинвазивным, в том числе генетическим, моделям практически отсутствуют. У крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ) с высокой генетической предрасположенностью к аудиогенной эпилепсии, АЭ (интенсивный судорожный припадок в ответ на действие звука), и у контрольной линии «0» (не предрасположенной к АЭ) в ткани дорзального стриатума и в стволе мозга определяли уровни ряда провоспалительных цитокинов с помощью мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа (MILLIPLEX map Kit). Фоновые уровни интерлейкинов IL-1 β , IL-6 и фактора некроза опухолей (TNF- α) в дорсальном стриатуме крыс КМ были достоверно ниже, чем у крыс «0» (на 32,31, 27,84 и 38,87%, $p < 0,05$, $0,05$ и $0,01$ соответственно), тогда как в стволе мозга в «фоне» межлинейных различий в уровнях этих метаболитов не выявлено. Через 4 ч после экспозиции животных действию звука уровень TNF- α в дорсальном стриатуме крыс КМ был достоверно (на 38,34%, $p < 0,01$) ниже, чем у крыс «0». У крыс КМ после действия звука и судорожного припадка АЭ уровень IL-1 β и IL-6 в дорсальном стриатуме был достоверно выше по сравнению с «фоном» (на 35,29 и 50,21%, $p < 0,05$ и $0,01$ соответственно). Содержание IL-2 у крыс КМ в «фоне» не определялось, тогда как после аудиогенных судорог его уровень составил 14,01 пг/мл (достоверно выше, $p < 0,01$). В стволе мозга крыс КМ уровни IL-1 β и TNF- α после аудиогенных судорог были достоверно ниже, чем в «фоне» (на 13,23 и 23,44% соответственно, $p < 0,05$). У крыс линии «0» уровни цитокинов в дорсальном стриатуме после действия звука (не вызвавшего судорог АЭ) не отличались от таковых в «фоне», в то время как показатели уровня IL-1 β в стволе мозга у них были ниже, чем в «фоне» (40,28%, $p < 0,01$). Таким образом, различия между фоновыми уровнями цитокинов и таковыми после действия звука были разными у крыс, различавшихся по предрасположенности к АЭ, что позволяет предположить участие цитокинов, в частности, провоспалительных факторов, в патофизиологии эпилепсии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аудиогенная эпилепсия, линия Крушинского–Молодкиной, линия «0», судороги, цитокины, воспаление, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF- α , мультиплексный анализ.

DOI: 10.31857/S0320972523040048, EDN: AKEJVA

ВВЕДЕНИЕ

Эпилепсия является гетерогенным заболеванием, и это определяет актуальность исследования различных судорожных со-

стояний с использованием лабораторных моделей, включая генетические. Исследование таких моделей важно в плане отыскания новых мишеней для противоэпилептической терапии.

Принятые сокращения: АЭ – аудиогенная эпилепсия; КМ – крысы линии Крушинского–Молодкиной; IL – интерлейкин; TNF- α – фактор некроза опухолей.

* Адресат для корреспонденции.

Ещё в 1990–2000-х гг. [1–5] было показано, что у больных эпилепсией, а также в экспериментах с лабораторными моделями обнаруживается много аномалий в функционировании клеток иммунной системы, а также в экспрессии ряда цитокинов. Это означает, что в эпилептогенезе определённую роль играют иммунные процессы и связанные с ними воспалительные реакции [6–8]. Цитокины представляют собой гетерогенную группу полипептидных медиаторов, вырабатываемых клетками иммунной системы, которые контролируют активность иммунной системы и развитие воспалительных реакций, а также обладают «общесистемными» эффектами, в частности, способны влиять на периферическую и центральную нервную системы [3, 9, 10]. Известно, что повышения уровней таких цитокинов, как фактор некроза опухолей (TNF- α), интерлейкин-1 β (IL-1 β) и интерлейкин-6 (IL-6), связанные с экспрессией судорожных состояний, ассоциированы с последующей гибелью клеток мозга [11].

В процессе эпилептогенеза происходит повышение экспрессии провоспалительных и нейротрофических факторов [3, 12]; в частности, был показан противоэпилептический эффект IL-1 β [13]. В эксперименте развитие судорог сопровождается быстрым ростом экспрессии мРНК и белка IL-1 β в новой коре, гипоталамусе и других отделах мозга [14, 15]. На модели эпилепсии с судорогами, вызванными каиновой кислотой, был описан усиливающий судороги эффект IL-1 β [16]. Введение IL-1 β в гиппокамп крыс продлевало судороги с увеличением их интенсивности [17]. Можно также отметить, что уровень «вызывающего сон» цитокина IL-1 α у предрасположенных к АЭ мышей линии Frings (а также у линии DBA) через 6–8 ч после судорог не был изменён в гиппокампе, но был повышен в гипоталамусе, хотя данных по нему в структурах ствола мозга не представлено [18]. Было также обнаружено, что дексаметазон – синтетический глюкокортикоид, обладающий иммуносупрессивным действием – также влияет на развитие судорог (см. Обсуждение результатов).

Исследование нейровоспаления является перспективным направлением в изучении патогенеза эпилепсии, поскольку присутствие клеток врождённого иммунитета в составе микроглии головного мозга [19–21] позволяет предположить, что их активность может напрямую влиять на процесс эпилептогенеза. Данные клетки могут также стать возможной мишенью фармакологического воздействия при лечении эпилепсии. Это означает, что

исследования нейровоспаления с использованием экспериментальных моделей эпилепсии крайне актуальны. Для изучения роли цитокинов в патогенезе эпилепсии, на наш взгляд, следует отдавать предпочтение нефармакологическим моделям на животных, поскольку высокая чувствительность клеток иммунной системы к различным воздействиям может приводить к получению искажённых данных. Данных по уровню цитокинов в структурах головного мозга на нефармакологических моделях эпилепсии не так много. На линии крыс WAR (Wistar audiogenic rat) было показано, что через 4 ч после звуковой стимуляции (вызывающей клонико-тонический судорожный припадок АЭ) уровни IL-1 β , IL-6, TNF- α и мозгового фактора роста (BDNF) в неокортексе были выше, чем в состоянии покоя, т.е. в «фоне». Повышение уровней TNF- α и IL-6 было обнаружено и в стриатуме. Уровень TNF- α после звуковой стимуляции (и судорог АЭ) был также выше, чем в фоне, и в нижнем двухолмии [12]. К сожалению, данные по контрольной (по отношению к WAR) линии крыс Вистар (без АЭ) в работе не представлены.

Рефлекторная АЭ описана у крыс, мышей и хомяков [22]. Первой линией крыс, селектированной на предрасположенность к АЭ, была линия Крушинского–Молодкиной (KM), создание которой было начато в конце 1940-х гг. [22]. Позднее путём селекции на основе аутбредной популяции Спрег–Доули были выведены линии GEPR-3 и GEPR-9 [23–25]. Линия WAR, наиболее интенсивно исследуемая в настоящее время, была селектирована в 1990-х гг. на основе линии Вистар (как и крысы KM) [26–27]. Путём селекции была также создана линия хомяков GASH/Sal (genetic audiogenic seizure hamster from Salamanca) [28]. Известно удивительное сходство судорожного припадка АЭ у линий мышей, крыс и хомяков, выведенных в разных лабораториях в России, США, Бразилии и Испании [29] (подробнее см. Материалы и методы). Для судорог АЭ характерны, в частности, стереотипная смена стадий припадка, изменения уровней мозговых нейротрансмиттеров и особенностей состояния животного после окончания припадка [22, 27, 28]. Судороги АЭ инициируются в структурах ствола мозга (здесь детально не описанных), хотя в настоящее время предполагается и участие в этом процессе дорсального стриатума, поскольку экспозиция действию звука вызывает изменения в биохимических индексах и этой области [22, 30–33].

Аудиогенный судорожный припадок (подробнее см. Материалы и методы) начинается

со стадии «дикого бега» (wild run), в которой может быть одна или две «волны» (разделённые тормозной паузой [22]), после чего следуют фазы клонических и тонических судорог. Как упомянуто выше, данный паттерн сходен у крыс, мышей и хомяков.

Генетическая основа судорог АЭ (у исследованных видов грызунов) была описана у линии КМ [22, 34], GEPR, WAR [35, 36] и GASH/Sal [28]. Молекулярно-генетическое сравнительное исследование животных, предрасположенных и не предрасположенных к АЭ, было проведено только для соответствующих пар генотипов (животные с АЭ и контроль). Единственное сопоставление состояния мозга двух линий, WAR и GEPR (обе с АЭ), было основано на воксельной (voxel-based) морфометрии [37], однако существенной информации при этом получено не было. Не было проведено и сравнительного сопоставления транскриптомов крыс КМ и WAR. Межвидовое сравнение генов, потенциально связанных с АЭ, у WAR и GASH/Sal [38] выявило в обеих моделях повышение иммунореактивности для NPY (нейропептид Y), RGS2 (регулятор G-белкового сигнального пути 2) и TTR (транстиретин), что, возможно, отражает сам факт развития судорог. Генетические и молекулярно-генетические исследования обнаружили участие нескольких генов, возможно, важных для контроля уровня возбудимости мозга (см. работы Damasceno et al., Chuvakova et al. [39, 40]). Следует отметить, что генетические исследования мышей с АЭ включают и селекцию [41], и межлинейные сравнения, а также картирование генов [42]. Сравнительное исследование мышей линий DBA/2 и C57BL/6 также внесло вклад в эти данные. Наиболее интересным является участие гена *Vlgr1* в формировании фенотипа АЭ крыс WAR, поскольку мутация этого гена была описана у мышей с АЭ [43, 44]. Следует отметить, что оценка уровней «вызывающего сон» цитокина IL1- α (определявшихся с 6–8 ч интервалами после судорог) у мышей Frings (и DBA) не выявила изменений в гиппокампе, но показала его повышенный уровень в гипоталамусе (данных по стволу мозга не было представлено) [41].

Ранее была проведена селекция по выведению новой линии крыс с контрастным (по сравнению с КМ) фенотипом, но имеющей частично сходный с КМ генетический фон (линия «0») [45]. Более чем 20 поколений селекции этой линии выявили высокую изменчивость её фенотипа АЭ — крысы с «нулевой» предрасположенностью к АЭ составляют около 25–40% популяции этой линии в каждом

поколении [45]. Отметим, что признаком для отбора (т.е. использования особи в дальнейшей селекции) и проведения экспериментальных исследований было полное отсутствие судорог АЭ в трёх последовательных звуковых экспозициях, отделённых друг от друга временным интервалом в 4–5 дней. Эта не предрасположенная к АЭ линия «0», выведенная на основе гибридов F2 от скрещивания КМ $\times$ Вистар с двумя последовательными обратными скрещиваниями с КМ, более сходна по своему генетическому фону с линией КМ, чем исходная аутбредная линия Вистар конца 1940-х гг., генотип которой к настоящему времени мог значительно измениться [22].

Гипотеза, которая легла в основу настоящего исследования, заключалась в том, что предрасположенные к АЭ животные, как модель судорожных состояний, помогут обнаружить сходство молекулярных и биохимических механизмов АЭ с таковыми при общем эпилептогенезе (легко воспроизводимые генерализованные судороги). Таким образом, для получения последующих экспериментальных данных по использованию данной модели первым этапом анализа роли нейровоспаления в АЭ должна была стать оценка профилей цитокинов в структурах мозга у генетически предрасположенных и не предрасположенных к АЭ линий крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные. Использовались 4-месячные самцы крыс линии КМ ($n = 20$) и линии «0» ($n = 18$). Все крысы линии КМ были однократно протестированы на предрасположенность к АЭ в 3-месячном возрасте, крыс линии «0» в этом же возрасте тестировали троекратно (см. Обсуждение результатов). Интенсивность припадков у крыс линии КМ была максимальной (балл «4» по условной шкале, см. ниже). Начало припадков АЭ (развитие фазы «дикого бега») происходило с латентностью 2–4 с, тоническая стадия припадков (стадия «4») наступала в пределах 10 с интервала после включения звука. У крыс линии «0» судороги в ответ на звук не развивались. Крысы обеих линий были разделены на две группы. Мозг животных первой группы (оценка фонового уровня цитокинов) был получен после эвтаназии (гильотина) без звукового воздействия (которого не было и в пределах 4 недель до опыта), в то время как эвтаназия крыс второй группы была проведена через 4 ч после звуковой экспозиции. Выбранный интервал

времени для эвтаназии после действия звука был достаточным, чтобы экспрессия измеряемых цитокинов достигла стабильного уровня [12]. Лабораторные животные содержались в питомнике Лаборатории физиологии и генетики поведения (кафедра высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова). Крысы содержались в пластиковых клетках (46 × 30 × 16 см) по 6–7 животных в каждой со свободным доступом к корму («Лабораторкорм», Россия) и в воде с естественным режимом освещения.

Все эксперименты проводились в соответствии с биоэтическими требованиями, заключение Комиссии по биоэтике МГУ имени М.В. Ломоносова было зарегистрировано 12.03.2014.

Процедура тестирования АЭ. Тестирование АЭ производили в звукоприглушающей прозрачной пластиковой камере с габаритами 40 × 30 × 50 см, звук громкостью 120 дБ (аудиотонный звонок) подавался с потолка камеры.

Интенсивность аудиогенных судорог оценивали по условной шкале: «0» — отсутствие реакции на звук (за исключением короткой стартл-реакции), «4» — тонические судороги всех мышц туловища, а также передних и задних конечностей, сопровождаемые временной остановкой дыхания. Судорожный припадок АЭ максимальной интенсивности наблюдали у всех крыс линии КМ, использованных в эксперименте, тогда как припадок АЭ у всех крыс линии «0» отсутствовал.

Мультиплексный анализ. Животные были умерщвлены через 4 ч после звуковой стимуляции, причём данный временной интервал был выбран также и с целью сравнения наших результатов с другими аналогичными исследованиями [12, 13].

После извлечения мозга выделяли дорсальный стриатум и ствол. Стриатумы извлекались после отсечения фронтальной коры, затем в области сенсомоторной коры справа и слева делали крестообразный надрез для доступа к стриатуму. После извлечения структуры вентромедиальная часть стриатума (*nucleus accumbens*) отсекалась. Для доступа к стволу сначала отсекали мозжечок. Структуру ствола брали вместе с нижней частью среднего мозга, включающего нижние и верхние двухолмия и верхнюю часть продолговатого мозга. Структуры извлекались на лёд и сразу же замораживались в жидком азоте. Далее образцы помещались на дальнейшее хранение при температуре –80 °С до проведения анализа. Для этого ткани мозга гомогенизировали (с помощью стеклянных гомогенизаторов) в экстрак-

ционном растворе (100 мг ткани на 500 мкл раствора), содержащем: смесь ингибиторов протеазы («Roche Diagnostics GmbH», Германия), растворённых в PBS (0,01 М), содержащем 0,05%-ный Tween 20 (v/v). Гомогенат тканей центрифугировали при 3000 g в течение 10 мин при 4 °С, а супернатанты собирали и хранили при –80 °С. Концентрацию IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-6 и TNF-α определяли с помощью мультиплексной иммунофлуоресцентной панели с магнитными шариками (MILLIPLEX map Kit, «EMD Millipore Corporation», США) в соответствии со стандартным протоколом производителя. Определение результатов анализа проводили с помощью системы Bio-Plex MAGPIX («Bio-Rad», США).

Статистический анализ. Статистический анализ был проведён на основе программного обеспечения Prism 7 («GraphPad Software», США). Проверка полученных данных на нормальность распределения проводилась с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Учитывая, что не все результаты подчинялись нормальному распределению, предпочтение было отдано непараметрическим критериям сравнения исследуемых групп — полученные значения сравнивали с использованием критерия Крускала–Уоллиса (как непараметрического варианта ANOVA) с критерием Данна в качестве *post hoc* критерия. Уровень статистической значимости был установлен при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Различия в концентрации исследуемых цитокинов в мозге были обнаружены как между образцами ткани мозга крыс КМ и «0» в «фоне», без действия звука, так и после звукового воздействия (которое сопровождалось приступами АЭ у крыс КМ, но не вызывало судорог у крыс линии «0»). Эти данные подробно описаны ниже. IL-1α не был обнаружен ни в одном исследованном образце. Данные по уровню IL-2 и IL-6 в ткани ствола мозга не представлены, поскольку не было обнаружено ни межлинейных различий, ни различий между «фоном» и показателями после звуковой экспозиции. Концентрации данных метаболитов были ниже пороговых значений измерения во всех случаях.

Межлинейные различия в уровнях цитокинов в условиях «фона». Уровни IL-1β, IL-6 и TNF-α в дорсальном стриатуме были достоверно ниже у крыс КМ по сравнению с крысами «0» (на 32,31, 27,84 и 38,87% соответственно,

рис. 1, а, рис. 2, б и рис. 3, а), в то время как в стволе мозга достоверных межлинейных различий в этих показателях не обнаружилось (рис. 2). Показатели концентрации IL-2 в стриатуме (рис. 2, а) у крыс «0» обнаружили высокую изменчивость как для состояния в «фоне», так и для ткани мозга, полученной после звуковой экспозиции. Такая вариабельность может быть одной из причин отсутствия достоверных межлинейных различий между показателями в «фоне» и после действия звука (данные по концентрациям IL-2 в стволе мозга не представлены). У крыс «0» по сравнению с крысами КМ обнаружилась более высокая концентрация IL-6 и TNF- α в стриатуме в «фоне» (показатели IL-6 в стволе мозга не представлены). В то же время фоновый уровень TNF- α в стволе мозга КМ vs «0» достоверно не различался (рис. 3, б).

Уровни цитокинов в мозге крыс КМ и «0» после звукового воздействия. В группе крыс КМ после звуковой экспозиции (и судорог) концентрации IL-1 β и IL-6 в дорсальном стриатуме были выше, чем соответствующие показатели в «фоне» (на 35,29 и 50,21% выше для IL-1 β и для IL-6 соответственно, рис. 1, а и рис. 2, б). Различия в показателях крыс КМ («фон»-припадок) в стволе мозга для IL-1 β были обратными по знаку — его уровень после

судорог АЭ был ниже (на 13,23%, $p < 0,05$, рис. 1, б), чем в «фоне». Уровень IL-2 у крыс КМ в «фоне» не детектировался, тогда как после АЭ-судорог IL-2 был обнаружен (уровень составил 14,01 пг/мл, $p < 0,01$). Показатели IL-2 в стриатуме крыс «0» также имели тенденцию к повышению после звукового воздействия по сравнению с «фоном» (рис. 2, а). Единственным достоверным различием между «фоном» и состоянием после действия звука у крыс «0» был более низкий уровень IL-1 β в стволе мозга (на 40,28% ниже, чем в «фоне», рис. 1, б), что совпадало с направлением различий по этому показателю у крыс КМ. Концентрация TNF- α в образцах ствола мозга (но не дорсального стриатума) крыс КМ после судорог АЭ была значительно ниже, чем в «фоне» (на 23,44% ниже, $p < 0,05$, рис. 3, б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В дорсальном стриатуме крыс линии КМ уровень исследуемых цитокинов был ниже, чем у крыс линии «0» (у которых генетический фон частично сходен с таковым линии КМ, но АЭ отсутствует). Можно предположить, что в мозге крыс эти цитокины модулируют проявление судорог, но не связаны с их развитием *per se*.

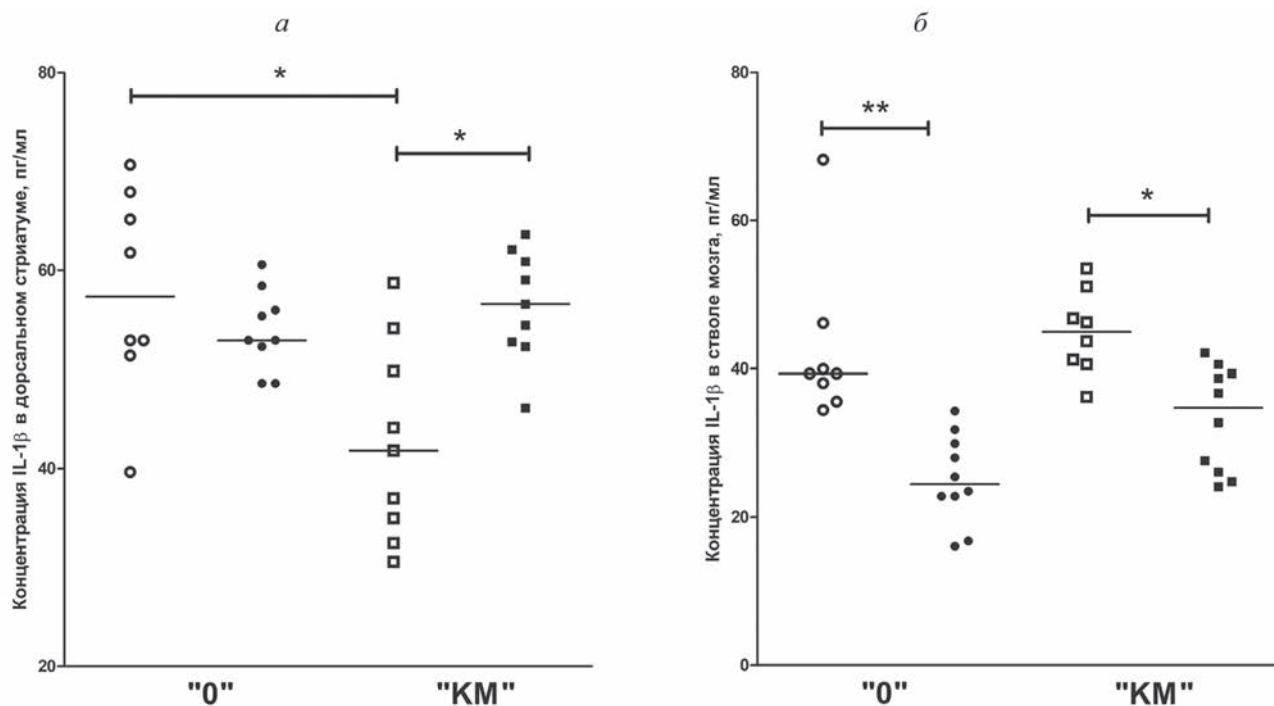


Рис. 1. Концентрации IL-1 β в дорсальном стриатуме (а) и стволе мозга (б) (пг/мл, ордината, медиана $\pm$ межквартильный диапазон) в фоновом состоянии (белые треугольники и квадраты, «0» и «КМ» соответственно) и через 4 ч после звукового воздействия (чёрные треугольники и квадраты, «0» и «КМ» соответственно) у крыс КМ и «0». *, ** — достоверное различие при $p < 0,05$ и $0,01$ (апостериорный критерий Данна)

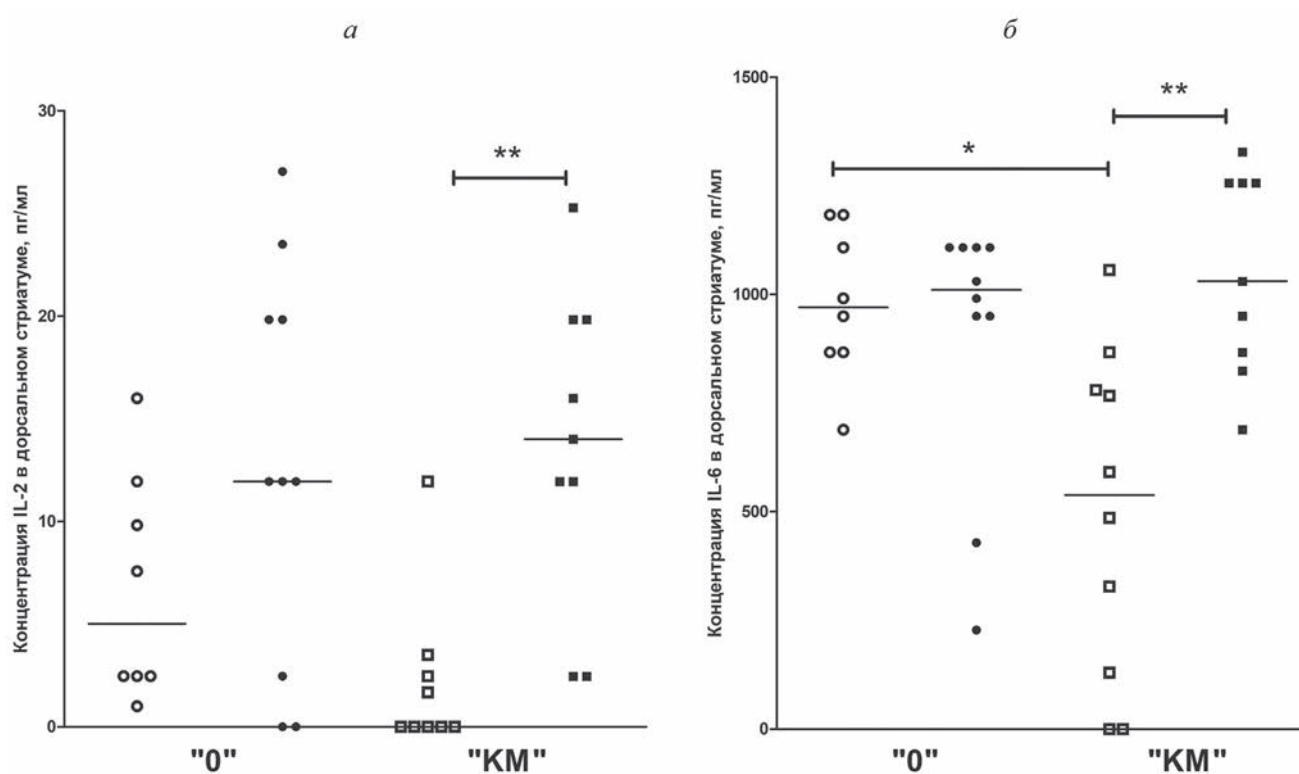


Рис. 2. Концентрации IL-2 (а) и IL-6 (б) в дорсальном стриатуме. Обозначения как на рис. 1

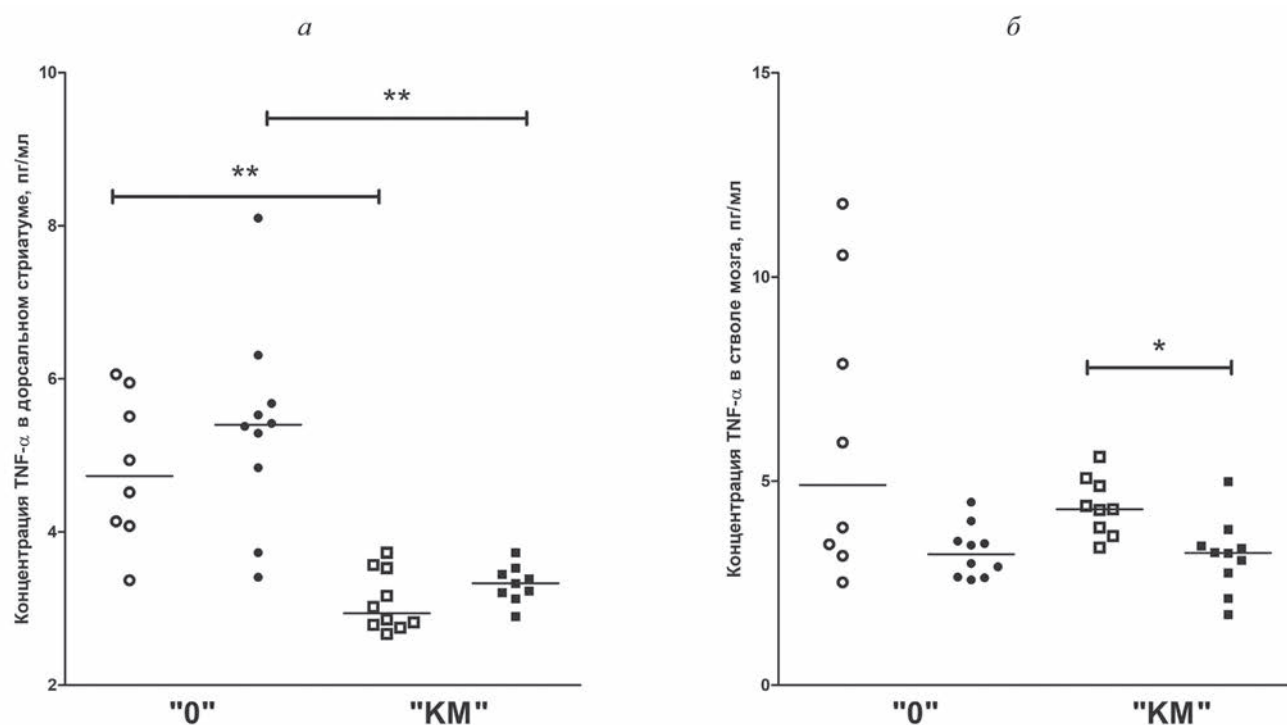


Рис. 3. Концентрации TNF-α в дорсальном стриатуме (а) и стволе мозга (б). Обозначения как на рис. 1

Генотип-специфические сниженные уровни провоспалительных цитокинов у крыс КМ в сравнении с не предрасположенными к судорогам крысами следует исследовать более подробно.

Индексы уровней этих соединений в стволе мозга соответствуют участию данных структур в реакции на звук, вызывающий припадки АЭ. Участие дорсального стриатума в АЭ изучено

недостаточно, хотя о вовлечении этого отдела мозга в генерацию аудиогенных судорог свидетельствуют биохимические данные [31–33]. В настоящей работе представлено ещё одно свидетельство участия структур стриатума в реализации судорог АЭ. Представленные данные свидетельствуют, что развитие припадка АЭ у крыс КМ сопровождалось (через 4 ч после судорог, как в работах De Souza Bernardino et al. и Sayyah et al. [12, 13]) достоверно более высокими уровнями IL-1 β и IL-6 в этой структуре мозга. Уровни цитокинов в стриатуме у крыс линии «0» (отсутствие АЭ после действия звука) не обнаружили отличий от таковых «фона». Логично предположить, что изменения этих показателей в стриатуме крыс КМ могут быть вызваны активными движениями животных (во время фазы быстрого бега и клонико-тонических судорог), поскольку ни таких движений, ни изменений этих показателей у крыс «0» не было. В то же время уровень IL-1 β в стволе мозга у крыс линии «0» после экспозиции действию звука был ниже такового в «фоне», как и у крыс КМ (что могло быть связано с «латентной» реакцией крыс «0» на действие звука). Это, по-видимому, может указывать на то, что у этих крыс предрасположенность к АЭ существует в скрытой форме, поскольку введение подпороговых доз коразола позволило вызвать у них припадки АЭ [46]. Изменение уровня продукции TNF- α в тканях головного мозга при развитии судорог АЭ (впервые показанное в данной работе) заслуживает дальнейшего внимания и более детального анализа.

В литературных источниках, касающихся возможной связи между уровнями провоспалительных цитокинов и судорожными состояниями, содержатся данные и о клинических случаях, и об исследованиях эпилептогенеза в моделях на животных. В целом данные, полученные в настоящем исследовании (т.е. о реакциях мозговых цитокинов на развитие судорог) сходны с многочисленными клиническими и экспериментальными результатами, некоторые из них будут упомянуты ниже.

Исследования отклонений от нормы уровня ряда цитокинов, и, в особенности, IL-1 β и его функционального рецептора IL-1RI в спинномозговой жидкости и даже в ткани мозга (в случаях хирургических операций) у больных разными формами эпилепсии [47–52], показали, что у больных вскоре после тонико-клонических судорог активируется продукция цитокинов (включающих NGF, IL-1 β и TNF- α). Это предполагает связь данной активации с недавним гипервозбуждением во время судорожного припадка. Рассматривается

также вопрос о возможной дисфункции гематоэнцефалического барьера вследствие судорог [53]. На негенетических моделях эпилепсии также было показано вовлечение системы цитокинов в процесс развития судорог [8–15, 54–57].

Цитокины рассматриваются так же, как соединения-медиаторы при развитии спонтанных судорог у мышей [58]. В исследованиях эпилепсии наиболее часто анализируют экспрессию IL-1, IL-6 и TNF- α . Уровни этих цитокинов варьируют в зависимости от типа судорог, продуцируемых в лабораторных моделях [53–55]. IL-2 играет важную роль в регуляции иммунного ответа путём активации Т-клеток [56, 57]. Внутривенное введение IL-2 мышам DBA/2 активировало аудиогенные и фармакологически вызванные судороги [55]. При этом у собак с эпилепсией уровни цитокинов также отклонялись от нормы [59].

Многофункциональная цитокиновая система IL-6 вовлечена в воспалительные реакции организма, включая центральную нервную систему [60–63], и было непосредственно показано участие IL-6 в процессе дегенерации нейронов [60]. В настоящей работе не рассматривается вопрос о корреляциях уровней цитокинов с феноменами «киндинга» и status epilepticus.

Как упоминалось выше, исследования процессов нейровоспаления на экспериментальных моделях эпилепсии немногочисленны. Было обнаружено, что у мышей-нокаут по IL-6 (IL-6 $-/-$) порог судорог, вызванных электрошоком, не отличался от такового у животных дикого типа, однако у мышей-нокаут обнаружился аудиогенный припадок [58].

По всей видимости, связь воспаления и эпилептогенеза достаточно сложна. Провокация воспаления может запустить судороги специфического типа (например, при лихорадочном состоянии), тогда как судороги *per se* могут вызвать в мозге воспалительный процесс. Дексаметазон, синтетический глюкокортикоид с противовоспалительными и иммуносупрессивными свойствами, выявленными и в клинике, и в эксперименте, влияет на состояние системы воспаления и на астроглиоз [64–66]. Положительный терапевтический эффект дексаметазона был обнаружен у больных с рефлекторной формой эпилепсии — добавление его к стандартной противосудорожной терапии вызвало прекращение судорог [67]. У крыс линии КМ хроническое введение дексаметазона резко снижало интенсивность АЭ, увеличивало латентный период судорог. В большей части случаев фаза «дикого бега»

после дексаметазона проходила у крыс КМ «в две волны» с тормозной паузой между ними. «Двухволновость» этой фазы припадка АЭ является индикатором снижения судорожной готовности [68].

В целом, значимые уровни IL-1 β , IL-6 и TNF- α обнаруживаются физиологически в мозге взрослого человека и влияют на развитие судорог при эпилепсии [6, 67].

В любом случае, для оценки роли нейровоспаления в развитии судорожных состояний как полученные в настоящей работе данные, так и межлинейные различия, обнаруживаемые в разных лабораторных моделях эпилепсии, требуют дальнейшего анализа [69, 70].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Уровни цитокинов в стволе мозга и дорсальном стриатуме обнаружили ряд межлинейных различий (линия КМ vs линия «0», из которых первая – линия с высокой предрасположенностью к АЭ, а животные второй таких припадков не обнаруживают). Различия выявлены в мозге крыс и в состоянии покоя («фона»), и через 4 ч после экспозиции животных действию звука (соответственно у крыс КМ после судорог АЭ, а у крыс линии «0» без судорог). Экспозиция действию звука сопровождалась изменениями уровня IL-1 β в стволе мозга у крыс обеих линий и выражалась в более низких уровнях этого метаболита после действия звука, изменения уровня TNF- α в стволе мозга были достоверными только для крыс КМ. Изменения уровней цитокинов в стриатуме после судорог АЭ указывают, возможно, на пока предполагаемую регуляторную

роль этой структуры в реализации припадков рефлекторной эпилепсии. Это означает, что животных с предрасположенностью к АЭ (вместе с соответствующими контрольными группами) можно успешно использовать для экспериментального исследования про- и противовоспалительных процессов в мозге как возможных факторов эпилептогенеза.

Вклад авторов. Концептуализация – Н.М.С., И.И.П., И.Б.Ф., В.В.Г.; программное обеспечение – В.В.Г., И.И.П., Л.В.Г., Г.М.Н.; проверка данных – И.И.П., И.Б.Ф., В.В.Г.; обеспечение эксперимента – Н.М.С., И.Б.Ф., В.В.Г.; курирование данных – Н.М.С., В.В.Г., А.Д.О.; подготовка оригинального проекта – Н.М.С., И.И.П.; рецензирование и редактирование – Н.М.С., И.И.П.; руководство – И.Б.Ф.; привлечение финансирования – И.И.П., Н.М.С., И.Б.Ф. Все авторы прочитали опубликованную версию рукописи и согласились с ней.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032500080-8 и междисциплинарной научной и образовательной школы Московского государственного университета «Мозг, когнитивные системы, искусственный интеллект».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Эксперименты проводились в соответствии с биоэтическими требованиями Комиссии по биоэтике Московского государственного университета (регистрация 12.03.2014) и Директивой 2010/63/ЕС Европейского парламента и Совета Европейского Союза «О защите животных, использующихся для научных целей».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Li, G., Bauer, S., Nowak, M., Norwood, B., Tackenberg, B., Rosenow, F., Knake, S., Oertel, W. H., and Hamer, H. M. (2011) Cytokines and epilepsy, *Seizure*, **20**, 249-256, doi: 10.1016/j.seizure.2010.12.005.
2. Lehtimäki, K. A., Keränen, T., Palmio, J., Mäkinen, R., Hurme, M., Honkaniemi, J., et al. (2007) Increased plasma levels of cytokines after seizures in localization-related epilepsy, *Acta Neurol. Scand.*, **116**, 226-230, doi: 10.1111/j.1600-0404.2007.00882.x.
3. Vezzani, A., Balosso, S., and Ravizza, T. (2019) Neuro-inflammatory pathways as treatment targets and biomarkers in epilepsy, *Nat. Rev. Neurol.*, **15**, 459-472, doi: 10.1038/s41582-019-0217-x.
4. Zhang, Z., Liu, Q., Liu, M., Wang, H., Dong, Y., Ji, T., Liu, X., Jiang, Y., Cai, L., and Wu, Y. (2018) Upregulation of HMGB1-TLR4 inflammatory pathway in focal cortical dysplasia type II, *J. Neuro-inflamm.*, **15**, 27, doi: 10.1186/s12974-018-1078-8.
5. Zhang, X., Wang, M., Feng, B., Zhang, Q., Tong, J., Wang, M., Lu, C., and Peng, S. (2022) Seizures in PPT1 knock-in mice are associated with inflammatory activation of microglia, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 5586, doi: 10.3390/ijms23105586.
6. Wolinski, P., Ksiazek-Winiarek, D., and Glabinski, A. (2022) Cytokines and neurodegeneration in epileptogenesis, *Brain Sci.*, **12**, 380, doi: 10.3390/brainsci12030380.

7. Plata-Salaman, C. R., Ilyin, S. E., Turrin, N. P., Gayle, D., Flynn, M. C., Romanovitch, A. E., et al. (2000) Kindling modulates the IL-1 β system, TNF- α , TGF- β 1 and neuropeptide mRNAs in specific brain regions, *Mol. Brain Res.*, **75**, 248-258, doi: 10.1016/s0169-328x(99)00306-x.
8. Kalueff, A. V., Lehtimäki, K. A., Ylinen, A., Honkaniemi, J., and Peltola, J. (2004) Intranasal administration of human IL-6 increases the severity of chemically induced seizures in rats, *Neurosci. Lett.*, **365**, 106-110, doi: 10.1016/j.neulet.2004.04.061.
9. Hopkins, S. J., and Rothwell, N. J. (1995) Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition, *Trends Neurosci.*, **18**, 83-88, doi: 10.1016/0166-2236(95)93890-a.
10. Walker, A., Russmann, V., Deeg, C. A., von Toerne, C., Kleinwort, K. J. H., Szober, C., Rettenbeck, M. L., von Rüden, E. L., Goc, J., Ongerth, T., Boes, K., Salvamoser, J. D., Vezzani, A., Hauck, S. M., and Potschka, H. (2016) Proteomic profiling of epileptogenesis in a rat model: focus on inflammation, *Brain Behav. Immun.*, **53**, 138-158, doi: 10.1016/j.bbi.2015.12.007.
11. Vezzani, A., Balosso, S., Aronica, E., and Ravizza, T. (2009) Basic mechanisms of status epilepticus due to infection and inflammation, *Epilepsia*, **50**, 56-57, doi: 10.1111/j.1528-1167.2009.02370.x.
12. De Souza Bernardino, T. C., Teixeira, A. L., Miranda, A. S., Guidine, P. M., Rezende, G., Doretto, M. C., Castro, G. P., Drummond, L., Dutra Moraes, M. F., Lopes Tito, P. A., Pinheiro de Oliveira, A. C., and Reis, H. J. (2015) Wistar Audiogenic Rats (WAR) exhibit altered levels of cytokines and brain derived neurotrophic factor following audiogenic seizures, *Neurosci. Lett.*, **597**, 154-158, doi: 10.1016/j.neulet.2015.04.046.
13. Sayyah, M., Beheshti, S., Shokrgozar, M. A., Eslami-far, A., Deljoo, Z., Khabiri, A. R., et al. (2005) Antiepileptogenic and anticonvulsant activity of interleukin-1 β in amygdala-kindled rats, *Exp. Neurol.*, **191**, 145-153, doi: 10.1016/j.expneurol.2004.08.032.
14. Minami, M., Kuraishi, Y., Yamaguchi, T., Nakai, S., Hirai, Y., and Satoh, M. (1990) Convulsants induce interleukin-1 β messenger RNA in rat brain, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **171**, 832-837, doi: 10.1016/0006-291x(90)91221-d.
15. Eriksson, C., Tehranian, R., Iverfeldt, K., Winblad, B., and Schultzberg, M. (2000) Increased expression of mRNA encoding interleukin-1 β and caspase-1, and the secreted isoform of interleukin-1 receptor antagonist in the rat brain following systemic kainic acid administration, *J. Neurosci. Res.*, **60**, 266-279, doi: 10.1002/(SICI)1097-4547(20000415)60:2<266::AID-JNR16>3.0.CO;2-P.
16. Lehtimäki, K. A., Peltola, J., Koskikallio, E., Keränen, T., and Honkaniemi, J. (2003) Expression of cytokines and cytokine receptors in the rat brain after kainic acid-induced seizures, *Mol. Brain Res.*, **110**, 253-260, doi: 10.1016/s0169-328x(02)00654-x.
17. Vezzani, A., Conti, M., De Luigi, A., Ravizza, T., Moneta, D., Marchesi, F., et al. (1999) Interleukin-1 β immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures, *J. Neurosci.*, **19**, 5054-5065, doi: 10.1523/JNEUROSCI.19-12-05054.1999.
18. Gahring, L. C., White, H. S., Skradski, S. L., Carlson, N. G., and Rogers, S. W. (1996) Interleukin-1 α in the brain is induced by audiogenic seizure, *Neurobiol. Dis.*, **3**, 263-269, doi: 10.1006/nbdi.1996.0123.
19. Mika, J. (2008) Modulation of microglia can attenuate neuropathic pain symptoms and enhance morphine effectiveness, *Pharmacol. Rep.*, **60**, 297-307.
20. Wyatt-Johnson, S. K., Herr, S. A., and Brewster, A. L. (2017) Status epilepticus triggers time dependent alterations in microglia abundance and morphological phenotypes in the hippocampus, *Front. Neurol.*, **8**, 700, doi: 10.3389/fneur.2017.00700.
21. Bosco, D. B., Zheng, J., Xu, Z., Peng, J., Eyo, U. B., Tang, K., Yan, C., Huang, J., Feng, L., Wu, G., Richardson, J. R., Wang, H., and Wu, L. J. (2018) RNAseq analysis of hippocampal microglia after kainic acid-induced seizures, *Mol. Brain*, **11**, 34, doi: 10.1186/s13041-018-0376-5.
22. Poletaeva, I. I., Surina, N. M., Kostina, Z. A., Perepelkina, O. V., and Fedotova, I. B. (2017) The Krushinsky-Molodkina rat strain: the study of audiogenic epilepsy for 65 years, *Epilepsy Behav.*, **71**, 130-141, doi: 10.1016/j.yebeh.2015.04.072.
23. Ross, K. C., and Coleman, J. R. (2000) Developmental and genetic audiogenic seizure models: behavior and biological substrates, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **24**, 639-653, doi: 10.1016/s0149-7634(00)00029-4.
24. Dailey, J. W., Reigel, C. E., Mishra, P. K., and Jobe, P. C. (1989) Neurobiology of seizure predisposition in the genetically epilepsy-prone rat, *Epilepsy Res.*, **3**, 3-17, doi: 10.1016/0920-1211(89)90063-6.
25. Ribak, C. E. (2017) An abnormal GABAergic system in the inferior colliculus provides a basis for audiogenic seizures in genetically epilepsy-prone rats, *Epilepsy Behav.*, **71**, 160-164, doi: 10.1016/j.yebeh.2015.02.024.
26. Garcia-Cairasco, N., Doretto, M. C., Prado, R. P., Jorge, B. P., Terra, V. C., and Oliveira, J. A. (1992) New insights into behavioral evaluation of audiogenic seizures. A comparison of two ethological methods, *Behav Brain Res.*, **48**, 49-56, doi: 10.1016/s0166-4328(05)80138-x.
27. Garcia-Cairasco, N., Umeoka, E. H. L., and Cortes de Oliveira, J. A. (2017) The Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain and its contributions to epileptology and related comorbidities: history and perspectives, *Epilepsy Behav.*, **71**, 250-273, doi: 10.1016/j.yebeh.2017.04.001.

28. Muñoz, L. J., Carballosa-Gautam, M. M., Yanowsky, K., García-Atarés, N., and López, D. E. (2017) The genetic audiogenic seizure hamster from Salamanca: the GASH:Sal, *Epilepsy Behav.*, **71**, 181-192, doi: 10.1016/j.yebeh.2016.03.002.
29. Maxson, S. C. (2017) A genetic context for the study of audiogenic seizures, *Epilepsy Behav.*, **71**, 154-159, doi: 10.1016/j.yebeh.2015.12.031.
30. Fedotova, I. B., Surina, N. M., Nikolaev, G. M., Revishchin, A. V., and Poletaeva, I. I. (2021) Rodent brain pathology, audiogenic epilepsy, *Biomedicines*, **9**, 1641, doi: 10.3390/biomedicines9111641.
31. Фирстова Ю. Ю., Абаимов Д. А., Сурина Н. М., Полетаева И. И., Федотова И. Б., Ковалёв Г. И. (2012) Связывание специфических лигандов D2- и NMDA-рецепторами клеток стриатума крыс двух линий, контрастных по предрасположенности к аудиогенной эпилепсии, *Бюлл. Эксп. Биол. Мед.*, **154**, 196-198, doi: 10.1007/s10517-012-1910-6.
32. Сорокин А. Я., Кудрин В. С., Клодт П. М., Туомисто Л., Полетаева И. И., Раевский К. С. (2004) Межлинейные различия в эффектах амфетамина и раклоприда на активность дофаминергической системы в дорзальном стриатуме крыс линии КМ и Вистар (микродиализное исследование), *Генетика*, **40**, 846-849.
33. Дорофеева Н. А., Глазова М. В., Худик К. А., Никитина Л. С., Кириллова Д., Черниговская Е. В. (2015) Сравнительное исследование нигростриарной системы у крыс линии Вистар и крыс, предрасположенных к судорогам, *Журн. Эвол. Биохим. Физиол.*, **51**, 204-213.
34. Федотова И. Б., Костына З. А., Полетаева И. И., Колпаков В. Г., Барыкина Н. Н., Аксенович Т. И. (2005) Генетический анализ предрасположенности крыс линии Крушинского—Молодкиной к аудиогенной эпилепсии, *Генетика*, **41**, 1487-1494.
35. Kurtz, B. S., Lehman, J., Garlick, P., Amberg, J., Mishra, P. K., Dailey, J. W., Weber, R., and Jobe, P. C. (2001) Penetrance and expressivity of genes involved in the development of epilepsy in the genetically epilepsy-prone rat (GEPR), *J. Neurogenet.*, **15**, 233-244, doi: 10.3109/01677060109167379.
36. Doretto, M. C., Fonseca, C. G., Lobo, R. B., Terra, V. C., Oliveira, J. A., and Garcia-Cairasco, N. (2003) Quantitative study of the response to genetic selection of the Wistar audiogenic rat strain (WAR), *Behav. Genet.*, **33**, 33-42, doi: 10.1023/a:1021099432759.
37. Lee, Y., Rodriguez, O. C., Albanese, C., Santos, V. R., Cortes de Oliveira, J. A., Donatti, A. L. F., Fernandes, A., Garcia-Cairasco, N., N'Gouemo, P., and Forcelli, P. A. (2018) Divergent brain changes in two audiogenic rat strains: a voxel-based morphometry and diffusion tensor imaging comparison of the genetically epilepsy prone rat (GEPR-3) and the Wistar Audiogenic Rat (WAR), *Neurobiol. Dis.*, **111**, 80-90, doi: 10.1016/j.nbd.2017.12.014.
38. Damasceno, S., Gómez-Nieto, R., Garcia-Cairasco, N., Herrero-Turrión, M. J., Marín, F., and López, D. E. (2020) Top common differentially expressed genes in the epileptogenic nucleus of two strains of rodents susceptible to audiogenic seizures: WAR and GASH/Sal, *Front. Neurol.*, **11**, 33, doi: 10.3389/fneur.2020.00033.
39. Damasceno, S., Menezes, N. B., Rocha, C. S., Matos, A. H. B., Vieira, A. S., Moraes, M. F. D., Martins, A. S., Lopes-Cendes, I., and Godard, A. L. B. (2018) Transcriptome of the Wistar audiogenic rat (WAR) strain following audiogenic seizures, *Epilepsy Res.*, **147**, 22-31, doi: 10.1016/j.eplepsyres.2018.08.010.
40. Chuvakova, L. N., Funikov, S. Y., Rezvykh, A. P., Davletshin, A. I., Evgen'ev, M. B., Litvinova, S. A., Fedotova, I. B., Poletaeva, I. I., and Garbuz, D. G. (2021) Transcriptome of the Krushinsky—Molodkina audiogenic rat strain and Identification of possible audiogenic epilepsy-associated genes, *Front. Mol. Neurosci.*, **14**, 738930, doi: 10.3389/fnmol.2021.738930.
41. Klein, B. D., Fu, Y. H., Ptacek, L. J., and White, H. S. (2004) c-Fos immunohistochemical mapping of the audiogenic seizure network and tonotopic neuronal hyperexcitability in the inferior colliculus of the Frings mouse, *Epilepsy Res.*, **62**, 13-25, doi: 10.1016/j.eplepsyres.2004.06.007.
42. Neumann, P. E., and Collins R. L. (1991) Genetic dissection of susceptibility to audiogenic seizures in inbred mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 5408-5412, doi: 10.1073/pnas.88.12.5408.
43. Damasceno, S., Fonseca, P. A. S., Rosse, I. C., Moraes, M. F. D., de Oliveira, J. A. C., Garcia-Cairasco, N., and Brunialti Godard, A. L. (2021) Putative causal variant on Vlgf1 for the epileptic phenotype in the model Wistar audiogenic rat, *Front. Neurol.*, **9**, 12, 647859, doi: 10.3389/fneur.2021.647859.
44. Shin, D., Lin, S.T., Fu, Y.H., Ptáček, L.J. (2013) Very large G protein-coupled receptor 1 regulates myelin-associated glycoprotein via Gαs/Gαq-mediated protein kinases A/C, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 19101-19106, doi: 10.1073/pnas.1318501110.
45. Федотова И.Б., Костына З.А., Сурина Н.М., Полетаева И.И. (2012) Селекция лабораторных крыс на признак «отсутствие предрасположенности к аудиогенной эпилепсии», *Генетика*, **48**, 685-691.
46. Fedotova, I. B., Surina, N. M., Nikolaev, G. M., and Poletaeva, I. I. (2016) Subthreshold corazol doses induced generalized seizures in audigenic seizure-prone rats, *Int. J. Neurol Brain Disord.*, **3**, 1-6.
47. Ravizza, T., Boer, K., Redeker, S., Spliet, W. G., van Rijen, P. C., Troost, D., Vezzani, A., and Aronica, E. (2006) The IL-1β system in epilepsy-associated malformations of cortical development, *Neurobiol. Dis.*, **24**, 128-43, doi: 10.1016/j.nbd.2006.06.003.

48. Peltola, J., Palmio, J., Korhonen, L., Suhonen, J., Miettinen, A., Hurme, M., et al. (2000) Interleukin-6 and Interleukin-1 receptor antagonist in cerebrospinal fluid from patients with recent tonic-clonic seizures, *Epilepsy Res.*, **41**, 205-211, doi: 10.1016/s0920-1211(00)00140-6.
49. Haspolat, S., Mihci, E., Coskun, M., Gumuslu, S., Ozben, T., and Yegin, O. (2002) Interleukin1beta, tumor necrosis factor-alpha, and nitrite levels in febrile seizures, *J. Child Neurol.*, **17**, 749-751, doi: 10.1177/08830738020170101501.
50. Uludag, I. F., Bilgin, S., Zorlu, Y., Tuna, G., and Kirkali, G. (2013) Interleukin-6, interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist levels in epileptic seizures, *Seizure*, **22**, 457-461, doi: 10.1016/j.seizure.2013.03.004.
51. Ryo, Y., Yamaguchi, H., Matsushita, T., Fujii, T., Hiwatashi, A., and Kira, J.-I. (2017) Early strong intrathecal inflammation in cerebellar type multiple system atrophy by cerebrospinal fluid cytokine/chemokine profiles: a case control study, *J. Neuroinflamm.*, **14**, 89, doi: 10.1186/s12974-017-0863-0.
52. Tan, T. H., Perucca, P., O'Brien, T. J., Kwan, P., and Monif, M. (2021) Inflammation, ictogenesis, and epileptogenesis: an exploration through human disease, *Epilepsia*, **62**, 303-324, doi: 10.1111/epi.16788.
53. Matsuo, T., Komori, R., Nakatani, M., Ochi, S., Yokota-Nakatsuma, A., Matsumoto, J., Takata, F., Dohgu, S., Ishihara, Y., and Itoh, K. (2022) Levetiracetam suppresses the infiltration of neutrophils and monocytes and downregulates many inflammatory cytokines during epileptogenesis in pilocarpine-induced status epilepticus mice, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 7671, doi: 10.3390/ijms23147671.
54. Balosso, S., Ravizza, T., Perego, C., Peschon, J., Campbell, I. L., De Simoni, M. G., et al. (2005) Tumor necrosis factor-alpha inhibits seizures in mice via p75 receptors, *Ann. Neurol.*, **57**, 804-812, doi: 10.1002/ana.20480.
55. De Sarro, G., Rotiroti, D., Audino, M.G., Gratteri, S., and Nistico, G. (1994) Effects of interleukin-2 on various models of experimental epilepsy in DBA/2 mice. *Neuroimmunomodulation*, **1**, 361-369, doi: 10.1159/000097189.
56. De Simoni, M. G., Perego, C., Ravizza, T., Moneta, D., Conti, M., Marchesi, F., et al. (2000) Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus, *Eur. J. Neurosci.*, **12**, 2623-2633, doi: 10.1046/j.1460-9568.2000.00140.x.
57. Benczik, M., and Gaffen, S. L. (2004) The interleukin IL-2 family cytokines: survival and proliferation signaling pathways in T lymphocytes, *Immunol. Invest.*, **33**, 109-142, doi: 10.1081/imm-120030732.
58. De Luca, G., Di Giorgio, R. M., Macaione, S., Calpona P. R., Costantino, S., Di Paola, E. D., De Sarro, A., Ciliberto, G., and De Sarro, G. (2004) Susceptibility to audiogenic seizure and neurotransmitter amino acid levels in different brain areas of IL-6-deficient mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **78**, 75-81, doi: 10.1016/j.pbb.2004.02.004.
59. Kostic, D., Carlson, R., Henke, D., Rohn, K., and Tipold, A. (2019) Evaluation of IL-1 β levels in epilepsy and traumatic brain injury in dogs, *BMC Neurosci.*, **20**, 29, doi: 10.1186/s12868-019-0509-5.
60. Yamada, M., and Hatanaka, H. (1994) Interleukin-6 protects cultured rat hippocampal neurons against glutamate-induced cell death, *Brain Res.*, **643**, 173-180, doi: 10.1016/0006-8993(94)90023-x.
61. Ali, C., Nicole, O., Docagne, F., Lesne, S., MacKenzie, E. T., Nouvelot, A., et al. (2000) Ischemia-induced interleukin-6 as a potential endogenous neuroprotective cytokine against NMDA receptor-mediated excitotoxicity in the brain, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **20**, 956-966, doi: 10.1097/00004647-200006000-00008.
62. Toulmond, S., Vige, X., Fage, D., and Benavides, J. (1992) Local infusion of interleukin-6 attenuates the neurotoxic effects of NMDA on rat striatal cholinergic neurons, *Neurosci. Lett.*, **144**, 49-52, doi: 10.1016/0304-3940(92)90713-h.
63. Kishimoto, T., Akira, S., Narazaki, M., and Taga, T. (1995) Interleukin-6 family of cytokines and gp130, *Blood*, **86**, 1243-1254, doi: 10.1182/blood.V86.4.1243.bloodjournal8641243.
64. Ramos, A. B., Cruz, R. A., Villemarette-Pittman, N. R., Olejniczak, P. W., and Mader, Jr. E. C (2019) Dexamethasone as abortive treatment for refractory seizures or status epilepticus in the inpatient setting, *J. Invest. Med. High Impact Case Rep.*, **7**, 2324709619848816, doi: 10.1177/2324709619848816.
65. Vizuite, A. F. K., Hansen, F., Negri, E., Leite, M. C., de Oliveira, D. L., and Gonçalves, C. A. (2018) Effects of dexamethasone on the Li-pilocarpine model of epilepsy: protection against hippocampal inflammation and astrogliosis, *J. Neuroinflamm.*, **15**, 68, doi: 10.1186/s12974-018-1109-5.
66. Guzzo, E. F. M., Lima, K. R., Vargas, C. R., and Coitinho, A. S. (2018) Effect of dexamethasone on seizures and inflammatory profile induced by Kindling Seizure Model, *J. Neuroimmunol.*, **325**, 92-98, doi: 10.1016/j.jneuroim.2018.10.005.
67. Kamali, A. N., Zian, Z., Bautista, J. M., Hamedifar, H., Hossein-Khannazer, N., Hosseinzadeh, R., Yazdani, R., and Azizi, G. (2021) The potential role of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in epilepsy pathogenesis, *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets*, **21**, 1760-1774, doi: 10.2174/1871530320999201116200940.
68. Surina, N. M., Fedotova, I. B., and Poletaeva, I. I. (2022) The effects of acute and chronic infusions of dexamethasone on audiogenic seizures and catalepsy in rats of Krushinsky-Molodkina and "0" Strains, *J. Evol. Biochem. Physiol.*, **58**, 1110-1118, doi: 10.1134/S0022093022040147.

69. Leo, A., Nesci, V., Tallarico, M., Amodio, N., Gallo Cantafio, E. M., De Sarro, G., Constanti, A., et al. (2020) IL-6 receptor blockade by tocilizumab Has anti-absence and anti-epileptogenic effects in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy, *Neurotherapeutics*, **17**, 2004-2014, doi: 10.1007/s13311-020-00893-8.
70. Löscher, W., Ferland, R. J., and Ferraro, T. N. (2017) The relevance of inter- and intrastrain differences in mice and rats and their implications for models of seizures and epilepsy, *Epilepsy Behav.*, **73**, 214-235, doi: 10.1016/j.yebeh.2017.05.040.

**NEUROINFLAMMATION IN THE PATHOGENESIS
OF THE AUDIOGENIC EPILEPSY:
ALTERED PROINFLAMMATORY CYTOKINE LEVELS
IN KRUSHINSKY–MOLODKINA SEIZURE-PRONE RATS**

**N. M. Surina^{1*}, I. B. Fedotova¹, G. M. Nikolaev¹, V. V. Grechenko², L. V. Gankovskaya²,
A. D. Ogurtsova², and I. I. Poletaeva¹**

¹ *Biology Department, Lomonosov Moscow State University,
119234 Moscow, Russia; e-mail: opera_ghost@inbox.ru, ingapoletaeva@mail.ru*

² *Pirogov Russian National Research Medical University, 117997 Moscow, Russia*

Neuroinflammation plays an important role in epileptogenesis, however, most studies are performed on pharmacological models of epilepsy, while data on non-invasive, including genetic, models are practically absent. In Krushinsky–Molodkina (KM) strain rats with high genetically caused predisposition to AE (intensive audiogenic seizure fit in response to the action of sound) and in the control strain “0” (not predisposed to AE), the levels of a number of pro-inflammatory cytokines were investigated using multiplex immunofluorescence magnetic assay (MILLIPLEX map Kit). Cytokine levels were determined in the dorsal striatum tissue and in the brain stem. Background levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the dorsal striatum of KM rats were significantly lower than in rats “0” (32.31, 27.84 and 38.87% of decrease, respectively, $p < 0.05$, 0.05 and 0.01), whereas in the brain stem in the “background” state of interstrain differences in levels of these metabolites were not detected. 4 h after sound exposure, the TNF- α level in the dorsal striatum of KM rats was significantly (38.34%, $p < 0.01$) lower than in “0” rats. In KM rats, after the action of sound and the subsequent seizure fit, the levels of IL-1 β and IL-6 in the dorsal striatum were significantly higher compared to the background (35.29 and 50.21%, of increase, $p < 0.05$, 0.01, respectively). The IL-2 level in KM rats in the background state was not detected, whereas after audiogenic seizures its level was 14.01 pg/ml (significantly higher, $p < 0.01$). In the brain stem of KM rats, the levels of IL-1 β and TNF- α after audiogenic seizures were significantly lower than in the background (13.23 and 23.44% of decrease, respectively, $p < 0.05$). In rats of the “0” strain, the levels of cytokines in the dorsal striatum after the action of sound (which did not cause AE seizures) did not differ from those in the background, while the levels of IL-1 β in their brain stem were lower than in the background (40.28%, $p < 0.01$). Thus, the differences between the background levels of cytokines and those after the action of sound were different in rats that differed in their predisposition to AE, which suggests the involvement of these metabolites in the pathophysiology of epilepsy.

Keywords: audiogenic epilepsy, Krushinsky–Molodkina strain, “0” strain rats, seizures, cytokines, inflammation, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF- α , multiplex assay