НЕЙРОХИМИЯ, 2023, том 40, № 1, с. 68–74

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 577

РОЛЬ МОНОАМИНОВ МОЗГА В ФОРМИРОВАНИИ АУДИОГЕННЫХ МИОКЛОНИЧЕСКИХ СУДОРОГ У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО–МОЛОДКИНОЙ

© 2023 г. С. А. Литвинова[1], *, Т. А. Воронина[1], В. С. Кудрин[1], В. Б. Наркевич[1], Н. М. Сурина[2], И. И. Полетаева[2], И. Б. Федотова[2]

[1]ФГБНУ "НИИ фармакологии им. В.В. Закусова", Москва, Россия

[2]Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Поступила в редакцию 05.05.2022 г.
После доработки 19.09.2022 г.
Принята к публикации 23.09.2022 г.

Опыты проведены на крысах линии Крушинского–Молодкиной (КМ) без звуковой стимуляции (группа КМ-фон) и после выработки у них аудиогенного киндлинга (АуК) (группа КМ-АуК). Контрольной группой служили крысы линии "0", у которых судороги в ответ на звук полностью отсутствовали. АуК вырабатывали с помощью 20-кратных звуковых стимуляций (120 дБ). Нейрохимический анализ проводили методом ВЭЖХ/ЭД во фронтальной коре, гиппокампе, гипоталамусе, стриатуме, прилежащем ядре, стволе мозга. Показано, что у крыс линии КМ АуК приводит к появлению миоклонических и ослаблению интенсивности генерализованных судорожных припадков, что сопровождается изменением функциональной активности норадренергической и серотонергической систем мозга. У крыс КМ в фоне (без действия звука и развития судорог) отмечается низкое содержание норадреналина в гиппокампе и гипоталамусе, а при выработке АуК дефицит норадреналина наблюдается во фронтальной коре. После формирования АуК более интенсивный, чем у крыс линии "0", метаболизм серотонина, выявленный у КМ, замедляется в гиппокампе, прилежащем ядре и, особенно, в стволе мозга, а также исчезает дефицит серотонина в стриатуме. Особенности обмена норадреналина у крыс КМ до и после АуК подчеркивают важную роль коры в развитии миоклонических судорог, а также возможное участие гиппокампа и гипоталамуса в реализации тонико-клонических судорожных припадков. Высокая функциональная активность серотонергической системы, выявленная у крыс КМ в ряде структур мозга в фоне, при выработке АуК ослабевает. Полученные результаты демонстрируют и подтверждают значимую роль дисбаланса моноаминов мозга в генезе эпилептиформных судорожных припадков у крыс линии КМ с генетически детерминированной аудиогенной эпилепсией и при выработке у них АуК.

Ключевые слова: крысы, линия Крушинского–Молодкиной, аудиогенная эпилепсия, аудиогенный киндлинг, нейротрансмиттеры, норадреналин, серотонин, структуры мозга

DOI: 10.31857/S1027813323010132, **EDN:** EQRAQU

ВВЕДЕНИЕ

Одним из перспективных подходов к изучению патофизиологических механизмов эпилептиформных состояний являются генетические модели эпилепсии, к числу которых относится аудиогенная эпилепсия (АЭ). Известно, что около 15–20% особей лабораторных аутбредных линий крыс (например, Спрегг-Доули, некоторые стоки Вистар) реагируют на громкий звук сильным двигательным возбуждением (так называемым "клоническим бегом"), которое часто переходит в эпилептиформный судорожный припадок с клонической и, иногда, тонической фазами. В конце 1940 гг. Л.В. Крушинский, Л.Н. Молодкина и Д.А. Флесс (биолого-почвенный факультет МГУ) начали селекцию крыс Вистар на проявление АЭ – скрещивали между собой животных, у которых в ответ на сильный звук развивался эпилептиформный припадок [1, 2]. К середине 1950 гг. линия была сформирована, и позднее ей дали название "линия крыс Крушинского–Молодкиной" (КМ). В последующий период времени, в ходе поддержания и селекции крыс этой линии интенсивность эпилептиформного припадка АЭ крыс КМ постепенно повышалась, а к 1996 г. линия была переведена в инбредное состояние с почти 100% проявлением этого признака [3]. В 1990–2000 гг. для крыс КМ были получены нейрохимические данные о содержании нейротрансмиттерных моноаминов

* Адресат для корреспонденции: 125315, Москва, Балтийская ул., д. 8; тел. (495) 601-21-14; e-mail: sa_litvinova@mail.ru.

и аминокислот, а также их метаболитов в стуктурах мозга, как в состоянии покоя, так и на пике судорожного припадка после однократной экспозиции действию звука [4, 5]. В линиях, предрасположенных к АЭ, КМ, GEPR (Genetic Epilepsy-Prone Rats, США) и WAR (Wistar Audiogenic Rats, Бразилия), ежедневная экспозиция животных действию звука в течение 10–20 дней приводит к появлению миоклонических судорог (феномен “аудиогенного киндлинга” АуК) с небольшим снижением интенсивности тонических судорог [6, 7]. Этот тип судорог рассматривают как модель височной формы эпилепсии человека. АуК проявляется в виде коротких клонических судорог лицевой мускулатуры, мышц шеи и передних конечностей. Установлено, что в развитии собственно судорожного припадка АЭ ключевыми являются структуры ствола мозга, а формирование АуК происходит в структурах переднего мозга – в новой коре и гиппокампе [1, 8–12].

Важно отметить, что в приведенных выше исследованиях уровни нейротрансмиттеров в структурах мозга крыс линии КМ сопоставляли с таковыми аутбредной линии Вистар, на основе которой проводили селекцию крыс КМ. Однако за много десятков поколений разведения крыс КМ и крыс Вистар (с конца 1940 гг.) в обеих линиях могло произойти большое число мутационных изменений, в силу чего такое сравнение может быть малоинформативным. Это обстоятельство послужило основанием для проведения селекции крыс на отсутствие судорожного припадка АЭ, т.е. на создание линии крыс, обозначенной как “0” [13]. Исходной популяцией для этого селекционного эксперимента послужили гибриды F2 КМ × Вистар. Для получения гибридов F1 были выбраны крысы Вистар (питомник “Столбовая”), не проявлявшие никаких признаков АЭ при трехкратной экспозиции звука с интервалом в 5–7 дней. В линии “0” доля крыс (в возрасте 3–4 мес.), не обнаруживающих судорог АЭ при трехкратном применении звука с интервалом в 5 дней, колеблется от 20 до 60% [13].

Исследование спектра нейрохимических показателей содержания моноаминов в структурах мозга крыс КМ в сравнении с показателями крыс линии “0”, так же, как и изучение влияния на данные параметры аудиогенного киндлинга у крыс КМ ранее не проводилось.

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение содержания нейротрансмиттерных моноаминов, в также их метаболитов в структурах мозга крыс КМ после развития АуК в сопоставлении с показателями крыс линии “0”, не предрасположенных к АЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные. Эксперименты проводили на крысах линии Крушинского–Молодкиной (КМ) в возрасте 5 мес. с максимальной выраженностью судорог аудиогенной эпилепсии (АЭ) у 100% животных и крысах линии “0” в возрасте 5 мес., у которых судороги в ответ на звуковой раздражитель полностью отсутствовали. Животные были получены из лаборатории физиологии и генетики поведения (биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва), где проводится селекция и поддержание данных линий. Для целей настоящего эксперимента животных содержали в условиях лабораторного вивария ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова” при 12-часовом световом режиме со свободным доступом к воде и стандартному корму в соответствии с ГОСТ 33215-2014 и ГОСТ 33216-2014 “Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными” от 01 июля 2016 г.

Согласно лабораторному протоколу, в возрасте 3 месяцев крыс КМ подвергали звуковому воздействию, чтобы определить у них наличие АЭ (тестировали только один раз). Крысы линии “0” экспонировались действию звука 3 раза (с интервалом в 7–8 дней) в возрасте 2–3 месяца и в эксперимент отбирались только животные, не проявившие признаков АЭ все 3 раза.

Формирование аудиогенных миоклонических судорог (аудиогенного киндлинга, АуК). Экспозицию действию звука у крыс КМ проводили в 5 мес. возрасте в пластиковой звукоизолирующей камере размерами 30 × 55 × 45 см (фирма Open Science, www.openscience.ru) (аудиторный звонок, сила звука 120 дБ). Через 3–4 с после включения звука у крыс КМ развивалось двигательное возбуждение (“клонический бег”), переходящее, к 7–8 с действия звука, в клонико-тонический судорожный припадок. Через 20 дней ежедневных экспозиций действию звука для формирования аудиогенного киндлинга у всех крыс КМ ослаблялись тонические судороги с параллельным развитием аудиогенного миоклонуса (АуК).

Животные были разделены на группы:

1. “КМ-фон” без звуковой стимуляции непосредственно перед опытом (без АуК) ($n = 8$).

2. “КМ-АуК” через 7 дней после последней экспозиции действию звука в серии из 20 ежедневных ($n = 9$).

3. Группа крыс линии “0” (без звуковой стимуляции непосредственно перед опытом) ($n = 8$).

Нейрохимические методы исследования. Для определения содержания моноаминов в структурах мозга животных декапитировали с помощью гильотины (Open Science, Россия), группу крыс КМ-АуК – через 7 дней после последней экспозиции действию звука. Структуры мозга всех крыс (фронтальная кора, гипоталамус, прилежащее ядро, стриатум, гиппокамп и ствол) извлекали на льду, замораживали в жидком азоте и взвешивали. Пробы хранили в жидком азоте. Для определения содержания нейротрансмиттеров пробы размельчали в гомогенизаторе Поттера (тефлон-

стекло) в 1 мл 0.1 н $HClO_4$ с добавлением 3,4-диоксибензиламина (0.5 нмоль/мл) в качестве внутреннего стандарта. Пробы центрифугировали при 10000 *g* в течение 10 мин. Определяли содержание ((нейротрансмиттеров -)) норадреналина (НА), дофамина (ДА), 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК), гомованилиновой кислоты (ГВК), серотонина (5-окситриптамина, 5-ОТ) и 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) (наномоль/грамм ткани). Использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ/ЭД, хроматограф LC-304T, BAS, США с аналитической колонкой ReproSil-Pur ODS, C18, 100 × 4 мм, 3 мкм, Dr. Maisch, Германия). Скорость элюции подвижной фазы была 1.0 мл/мин, давление до 200 атм. Подвижная фаза состояла из: 0.1 М цитратно-фосфатного буфера, содержащего 1.1 мМ октансульфоновой кислоты, 0.1 мМ ЭДТА и 9% ацетонитрила (pH 3.0). Измерение проводили с помощью электрохимического детектора LC-4B (BAS США) на двойном стеклоугольном электроде (+0.85 V) против электрода сравнения Ag/AgCl. Регистрация образцов проводилась с помощью аппаратно-программного комплекса “Мультихром 1.5” (“Амперсенд”). Все использовавшиеся для анализа реактивы были высокой степени чистоты: “ос. ч.” или “analytical grade”.

Обработку данных по содержанию моноаминов проводили следующим образом. Соответствие массива данных нормальному распределению проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Полученные результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных отклонений. Данные обрабатывали с помощью непараметрического аналога дисперсионного анализа по Краскалу–Уоллису с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Данну. Во всех случаях использовали двухсторонний критерий при критическом уровне значимости $\alpha = 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Содержание норадреналина (НА). Во фронтальной коре и прилежащем ядре содержание НА в группе крыс КМ-фон (т.е. в отсутствие выработанных миоклонических судорог) и у крыс линии “0” (нечувствительных к действию звука) практически не различалось. Однако во фронтальной коре группы КМ-АуК содержание НА было достоверно ниже, чем у КМ-фон ($p < 0.001$) и чем у крыс линии “0” ($p < 0.05$) (табл. 1). Более низкое по сравнению с линией “0” содержание НА в группе КМ-фон отмечалось в гиппокампе ($p \leq 0.05$) и гипоталамусе ($p \leq 0.05$), тогда как в стволе мозга у обеих групп крыс КМ уровень НА был, напротив, достоверно ($p < 0.05$) выше, чем у линии “0” (табл. 1), т.е. процедура формирования АуК не повлияла на содержание НА в стволе мозга у КМ. Статистически значимых изменений в содержании НА в прилежащем ядре и стриатуме выявлено не было.

Таким образом, формирование АуК у крыс линии КМ в результате многократных звуковых экспозиций сопровождалось снижением содержания НА во фронтальной коре, тогда как в группе крыс КМ-фон (не подвергавшихся процедуре АуК) низкие значения уровня НА отмечались в гиппокампе и гипоталамусе.

Содержание дофамина (ДА). Статистически значимых изменений содержания ДА во всех исследованных структурах мозга всех трех групп крыс не наблюдалось, отмечено лишь недостоверное увеличение этого параметра в гипоталамусе крыс КМ- АуК (табл. 1). Вместе с тем, в содержании метаболитов ДА был выявлен ряд отличий, которые отражали изменение интенсивности внутриклеточного обмена – в гипоталамусе отмечено более высокое содержание ДОФУК у КМ, по сравнению с линией “0”, причем для группы КМ-фон оно было достоверно выше ($p < 0.05$). Содержание ГВК, являющееся показателем скорости внеклеточного метаболизма ДА, в гиппокампе было достоверно ($p < 0.05$) ниже у группы КМ-фон по сравнению с линией “0”. У группы КМ-АуК внеклеточный оборот ДА был несколько выше, чем у группы КМ-фон, о чем может свидетельствовать более высокое содержание ГВК в прилежащем ядре (отличие КМ-АуК vs КМ-фон достоверно, $p < 0.05$) и в стриатуме (отличие КМ АуК vs “0” достоверно, $p < 0.05$) (табл. 1).

Содержание серотонина и его метаболитов. Содержание серотонина (5-ОТ) во фронтальной коре у обеих групп КМ было достоверно ($p < 0.05$) выше, чем у крыс линии “0”. В стриатуме у группы КМ-фон этот показатель был достоверно ниже, чем у линии “0”, тогда как у КМ-АуК он был равен таковому линии “0”, при этом отличия от КМ-фон были недостоверны. В стволе мозга крыс группы КМ-АуК содержание 5-ОТ было достоверно ($p < 0.05$) ниже, чем у КМ-фон, тогда как различия между линий “0” и КМ-фон были недостоверными.

Содержание 5-ОИУК (метаболита 5-ОТ), являющимся показателем скорости утилизации 5-ОТ, у крыс группы КМ-фон было выше, чем у крыс линии “0” в таких структурах мозга, как фронтальная кора, прилежащее ядро, гиппокамп и ствол. Отношение 5-ОИУК/5-ОТ (показатель утилизации 5-ОТ) во всех исследованных структурах мозга крыс группы КМ-фон было значительно выше, чем у крыс линии “0”. В данной группе особенно интенсивный оборот серотонина отмечался в стволе мозга, где наблюдалось также и более высокое содержание 5-ОТ по сравнению с линией “0” (табл. 2).

В группе крыс КМ-АуК отмечалось снижение интенсивности оборота серотонина относительно группы КМ-фон во всех структурах (кроме гипоталамуса) мозга, не достигшее, однако, уровня достоверности. Тем не менее, в данной группе статистическая значимость по величине отношения 5-ОИУК/5-ОТ при сравнении с крысами линии “0” сохранялась только в гипоталамусе, стриатуме и стволе мозга. Обнаруженное более низкое содержание 5-ОТ в стволе мозга у крыс КМ-АуК (по сравнению с КМ-фон), возможно, причинно

Таблица 1. Содержание катехоламинов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в структурах мозга крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ) до и после аудиогенного киндлинга (АуК) в сравнении с линией “0”

Группа	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА
Фронтальная кора						
“0”	1.49 ± 0.09	0.5 ± 0.10	0.11 ± 0.03	0.05 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.10 ± 0.07
КМ-фон	1.50 ± 0.22@@	0.46 ± 0.12	0.11 ± 0.11	0.03 ± 0.03	0.27 ± 0.10	0.07 ± 0.06
КМ-АуК	**1.28 ± 0.10****	0.57 ± 0.11	0.10 ± 0.05	0.04 ± 0.047	0.19 ± 0.06	0.09 ± 0.06
Гипоталамус						
	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА
“0”	7.31 ± 1.26	1.61 ± 0.27	0.17 ± 0.05	0.11 ± 0.16	0.10 ± 0.03	0.06 ± 0.08
КМ-фон	**5.93±1.15*@@@**	1.48 ± 0.38	0.24 ± 0.09	0.06 ± 0.07	0.17 ± 0.01*	0.05 ± 0.06
КМ-АуК	8.52 ± 0.38	1.97 ± 0.12	0.29 ± 0.04*	0.13 ± 0.04	0.15 ± 0.02	0.05 ± 0.01
Прилежащее ядро						
	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА
“0”	5.89 ± 1.38	28.90 ± 4.00	2.83 ± 0.68	2.46 ± 0.72	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.02
КМ-фон	5.85 ± 2.33	29.05 ± 8.56	2.75 ± 0.79	2.53 ± 0.54	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.03
КМ-АуК	4.42 ± 1.16	31.95 ± 7.45	3.30 ± 0.98	3.19 ± 0.67	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.03
Стриатум						
	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА
“0”	0.61 ± 0.31	93.59 ± 7.32	12.34 ± 1.59	4.35 ± 0.77	0.13 ± 0.01	0.05 ± 0.01
КМ-фон	0.43 ± 0.17	87.67 ± 14.07	11.67 ± 2.24	4.62 ± 0.88	0.13 ± 0.01	0.05 ± 0.01
КМ-АуК	0.47 ± 0.24	92.14 ± 8.99	11.60 ± 1.12	5.50 ± 1.27	0.13 ± 0.01	0.06 ± 0.01*
Гиппокамп						
	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА
“0”	2.10 ± 0.23	0.31 ± 0.14	0.10 ± 0.04	0.109 ± 0.05	0.52 ± 0.19	0.91 ± 0.35
КМ-фон	**1.81 ± 0.15**@@**	0.13 ± 0.16	0.06 ± 0.05	0.051 ± 0.04	0.362 ± 0.26	0.36 ± 0.10
КМ-АуК	2.10 ± 0.19	0.19 ± 0.12	0.10 ± 0.05	0.068 ± 0.08	0.72 ± 0.70	0.57 ± 0.76
Ствол мозга						
	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА
“0”	2.13 ± 0.29	0.81 ± 0.30	0.18 ± 0.09	0.04 ± 0.08	0.22 ± 0.07	0.09 ± 0.19
КМ-фон	**2.74 ± 0.60***	0.83 ± 0.24	0.22 ± 0.04	0.03 ± 0.02	0.288 ± 0.091@	0.04 ± 0.02
КМ-АуК	**2.75 ± 0.55***	1.19 ± 0.55	0.24 ± 0.14	0.03 ± 0.03	0.195 ± 0.03	0.03 ± 0.02

Примечания: КМ-фон – крысы КМ без звуковой стимуляции; КМ-АуК – крысы КМ с аудиогенным киндлингом; “0” – контрольные крысы; *, **, *** – отличие от крыс линии “0”, различия достоверны при $p \le 0.05$, 0.01 и 0.001 соответственно; @, @@ – отличие от КМ-АуК, различия достоверны при $p \le 0.05$ и 0.01 соответственно (Крускал–Уоллиса с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Данну).

связано с более низкими значениями показателя оборота 5-ОТ в данных структурах (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Как было показано ранее, у крыс линии КМ наблюдаемые тонико-клонические судороги при воздействии акустического раздражителя начинаются “диким бегом” и завершаются тоническим судорожным припадком с экстензией конечностей [14]. Аудиогенный киндлинг (АуК) у крыс КМ, так же как и у крыс других линий с АЭ (GEPR и WAR), представляет собой появление новых по своей форме судорог – миоклонических, проявляющихся как короткие “тикообразные” подергивания мышц морды и передних конечностей [14], что было продемонстрировано и в данном исследовании. Появление миоклонических судорог сопровождается некоторым ослаблением интенсивности тонических судорог (у крыс линии КМ проявляющимся нерегулярно) [8, 10–12].

Как было показано в настоящем исследовании, АуК в наибольшей степени оказывал влияние на содержание норадреналина (НА) и серотонина (5-ОТ) в мозге крыс КМ. В ряде исследований было показано, что НА можно рассматривать как ингибитор судорожной активности, и при многих моделях эпилепсии обнаруживают его дефицит [15–18]. Установлено, что функциональная активность норадренергической системы игра-

Таблица 2. Содержание серотонина и его метаболитов (нмоль/г ткани) в структурах мозга крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ) до и после аудиогенного киндлинга (АуК) в сравнении с линией “0”

Группа	5-ОТ	5-ОИУК	5-ОИУК/5-ОТ
	Фронтальная кора		
“0”	2.92 ± 0.48	3.07 ± 0.53	1.01 ± 0.13
КМ-фон	3.32 ± 0.27*	**3.92 ± 0.62****	**1.18 ± 0.16***
КМ-АуК	3.40 ± 0.39*	3.79 ± 0.59*	1.12 ± 0.15
	Гипоталамус		
“0”	3.58 ± 0.87	5.42 ±1.64	1.51 ± 0.23
КМ-фон	3.81 ± 0.99	6.81 ± 1.70	**1.79 ± 0.16****
КМ-АуК	4.19 ± 0.22	7.50 ± 0.43*	**1.87 ± 0.07****
	Прилежащее ядро		
“0”	1.14 ± 0.26	0.73 ± 0.42	0.61 ± 0.26
КМ-фон	1.37 ± 0.55	**2.06 ± 1.06****	**1.31 ± 0.40****
КМ-АуК	1.25 ± 0.32	1.24 ± 0.95	0.96 ± 0.59
	Стриатум		
“0”	3.58 ± 0.45	10.03 ±1.36	2.82 ± 0.42
КМ-фон	**3.13 ± 0.41****	10.25 ± 1.33	**3.28 ± 0.17****
КМ-АуК	3.46 ± 0.43	11.24 ± 1.85	**3.25 ± 0.34***
	Гиппокамп		
“0”	1.31 ± 0.27	2.65 ± 0.81	1.88 ± 0.78
КМ-фон	1.39 ± 0.29	**3.31 ± 0.62***	**2.39 ± 0.21****
КМ-АуК	1.32 ± 0.54	2.99 ± 1.4	2.21 ± 0.30
	Ствол мозга		
“0”	3.11 ± 1.16	4.26 ±0.89	1.48 ± 0.39
КМ-фон	**3.23 ± 0.56@**	**8.03 ± 2.77**@**	**2.43 ± 0.40*****
КМ-АуК	2.44 ± 0.47	5.19 ± 0.78	**2.16 ± 0.33****

Примечания: см. таблицу 1.

ет значительную роль в реализации противосудорожного действия многих противоэпилептических препаратов, эффект которых ослаблен у грызунов с дефицитом НА [17, 19]. Показано также, что противосудорожный эффект стимуляции блуждающего нерва (способа ослабления пилокарпиновых судорог), достигается за счет повышения уровня НА в гиппокампе [20, 21]. Как известно, источником норадренергической иннервации практически всех отделов мозга является ядро locus coeruleus (голубое пятно), расположенное в области моста. Роль этого ядра в генезе аудиогенной эпилепсии была показана достаточно давно [22], как и то, что феномен киндлинга, вызванного электростимуляцией миндалины, сопровождается ослаблением норадренергической нейротрансмиссии в мозге [23]. Ранее, при сопоставлении двух групп крыс с АЭ (линий GEPR-9 и GEPR-3), было установлено, что у GEPR-9 (с повышенной предрасположенностью к АЭ) норадренергическая “недостаточность” выражена сильнее, чем у GEPR-3 [24]. У крыс линии GEPR-3 формирование АуК сопровождается усилением дефицита НА в стволе мозга, в новой коре, гиппокампе, гипоталамусе и миндалине [25]. Авторы полагают, что это связано с тем, что повторные судороги при выработке АуК у крыс GEPR-3 снижают и без того низкую активность тирозингидроксилазы (фермента лимитирующего синтез НА) в locus coeruleus и в нижнем бугорке четверохолмия [26]. Однако следует также помнить, что линии GEPR имеют иной, чем линия КМ, генетический фон.

В настоящей работе у крыс группы КМ-АуК содержание НА в гипоталамусе и гиппокампе было выше, чем у животных группы КМ-фон (практически не отличаясь по этому показателю от линии “0”). В то же время во фронтальной коре группы КМ-АуК этот показатель был достоверно ниже, чем у линии “0” и у группы КМ-фон. Это может быть одним из индикаторов участия фронтальной коры в генезе миоклонических судорог (возможно через связи этой корковой структуры с миндалиной и гиппокампом). Отметим, однако, что в стволе мозга содержание НА было выше у обеих групп КМ по сравнению с группой “0”, что, по всей видимости, не совпадает с концепцией НА как ингибитора судорожной активности, во всяком случае, для структур ствола. Ранее было показано, что снижение содержания НА в переднем мозге при амигдалярном киндлинге значительно потенциирует развитие последнего [23, 27].

Анализ изменения показателей дофаминергической системы выявил только одно достоверное различие между двумя группами КМ – в прилежащем ядре содержание ГВК, показателя отражающего внеклеточный оборот дофамина, было достоверно выше у КМ-АуК vs КМ-фон.

Показатели метаболизма серотонина во всех структурах мозга крыс линии КМ значительно превышали таковые значения для крыс линии “0”, что

соотносится с результатами, полученными ранее при сравнении с крысами Вистар [4]. При этом во всех отделах мозга наблюдались более высокие, чем у линии “0”, величины отношения 5-ОИУК/5-ОТ (как показателя “истощения” серотонина). Однако достоверное снижение уровня серотонина отмечалось только в стриатуме крыс КМ. Аналогичная картина наблюдалась у крыс линии GEPR-9, проявляющих стволовые судороги, у которых уровень серотонина был значительно ниже в данной структуре, чем у GEPR-3, проявляющих только клонические судороги [28]. АуК приводил к некоторому изменению показателей метаболизма серотонина в структурах мозга КМ. Наблюдалось снижение его интенсификации в гиппокампе, прилежащем ядре и особенно в стволе.

Таким образом, серийное предъявление звука (120 дБ) и формирование миоклонических судорог у крыс линии КМ привело к развитию изменения функциональной активности норадренергических и серотонергических систем мозга. Обнаруженные различия находятся в общем русле особенностей метаболизма нейротрансмиттеров у крыс линий, предрасположенных к АЭ [22, 29–31, 12, 32], хотя могут быть и отражением повышенной судорожной готовности в целом [33]. Следует, однако, отметить, что особенности состояния нейротрансмиттерных систем мозга при судорожных состояниях в ответ на звук, по всей видимости, следует рассматривать как модуляторные факторы, поскольку в развитии аудиогенной эпилепсии ключевую роль играют глутаматергическая и ГАМК-ергическая нейротрансмиттерные системы [34–36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленные в настоящем исследовании особенности обмена норадреналина у крыс КМ до и после АуК подчеркивают важную роль коры (и как минимум ее фронтальных отделов) в генезе миоклонических судорог, развивающихся при ритмической провокации тонических судорожных припадков, имеющих “стволовое” происхождение. Содержание норадреналина в гиппокампе и гипоталамусе может быть индикатором того, что селекция на высокую предрасположенность к аудиогенной эпилепсии повлияла на этот показатель не только в структурах ствола. Интенсификация метаболизма серотонина более выражена у крыс КМ в “фоне”, а при формировании АуК наблюдается замедление метаболизма нейротрансмиттера в гиппокампе, прилежащем ядре и особенно в стволе мозга и “фоновый” дефицит серотонина в стриатуме исчезает. Полученные в данной работе результаты, наряду с описанными ранее аномалиями в ГАМКергической и глутаматергической системах [34–36], демонстрируют и подтверждают существенную роль дисбаланса моноаминов в определении повышенной судорожной готовности крыс линии Крушинского–Молодкиной.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана Госпрограммой № FGFG-2022-0004, научной программой Московского государственного университета № 121032500080-8 и Междисциплинарной научной и образовательной Школой Московского университета “Мозг, когнитивные системы, искусственный интеллект”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова” (Протокол №1 Комиссии по биомедицинской этике от 21 января 2021 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Семиохина А.Ф., Федотова И.Б., Полетаева И.И.* // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2006. Т. 56 (3). С. 298–316.
2. *Poletaeva I., Surina N., Kostina Z., Perepelkina O., Fedotova I.* // Epilepsy & Behavior. 2017. V. 71. P. 130–141.
3. *Семиохина А.Ф., Ратькин А.Е., Федотова И.Б., Кузнецова Л.М., Костына З.А., Сотская М.Н., Чебыкина Л.И.* // Журнал высш. нерв. деят. 1996. Т. 46 (3). С. 592–596.
4. *Косачева Е.С., Кудрин В.С., Федотова И.Б., Семиохина А.Ф., Раевский К.С.* // Экспериментальная и клиническая Фармакология. 1998. Т. 61. № 3. С. 25–27.
5. *Сорокин А.Я., Кудрин В.С., Клодт П.М., Туомисто Л., Полетаева И.И., Раевский К.С.* // Генетика. 2004. Т. 40. № 6. С. 846–849.
6. *Dutra Moraes M.F., Galvis-Alonso O.Y., Garcia-Cairasco N.* // Epilepsy Res. 2000. V. 39 (3). P. 251–9.
7. *Полетаева И.И., Перепелкина О.В., Огиенко Н.А., Федотова И.Б., Плескачева М.Г., Кошлань И.В., Богданова Ю.В., Кошлань Н.А., Павлова Г.В., Ревищин А.В.* // Биофизика. 2020. Т. 65. № 4. С. 773–779.
8. *Naritoku D.K., Mecozzi L.B., Aiello M.T., Faingold C.L.* // Exp Neurol. 1992. V.155. P. 317–24.
9. *Ishida N., Kato N., Kanai H., Watanabe Y., Kuroda Y., McEwen B.S.* // Psychiatry Clin. Neurosci. 1995. V. 49(3): S280-2.
10. *Garcia-Cairasco N., Wakamatsu H., Oliveira J.A., Gomes E.L., Del Bel E.A., Mello L.E.* // Epilepsy Res. 1996. V. 26. P. 177–192.
11. *Romcy-Pereira R.N., Garcia-Cairasco N.* // Neuroscience. 2003. V. 119 (2). P. 533–546.
12. *Merrill M.A., Clough R.W., Jobe P.C., Browning R.A.* // Epilepsia. 2005. V. 46 (9). P. 1380–1388.
13. *Федотова И.Б., Костына З.А., Сурина Н.М., Полетаева И.И.* // Генетика. 2012. Т. 48 (6). С. 685–691.
14. *Полетаева И.И., Сурина Н.М., Федотова И.Б.* // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2019. Т. 105. № 6. С. 742–748.
15. *Kokaia M., Cenci M.A., Elmér E., Nilsson O.G., Kokaia Z., Bengzon J., Björklund A., Lindvall O.* // Exp. Neurol. 1994. V. 130 (2). P. 351–61.

16. *Weinshenker D., Szot P., Miller N.S., Rust N.C., Hohmann J.G., Pyati U., White S.S., Palmiter R.D.* // J. Neurosci. 2001. V. 21(19). P. 7764–7769.

17. *Weinshenker D., Szot P.* // Pharmacol. Ther. 2002. V. 94. P. 213–233.

18. *Giorgi F.S., Pizzanelli C., Biagioni F., Murri L., Fornai F.* // Neurosci. Biobehav. Rev. 2004. V. 28. P. 507–524.

19. *Szot P., Weinshenker D., Rho J.M., Storey T.W., Schwartzkroin P.A.* // Brain research. Developmental Brain Research. 2001. V. 129 (2). P. 211–214.

20. *Meurs A., Clinckers R., Raedt R., El Tahry R., De Herdt V., Vonck K., Smolders I.J., Michotte Y., Boon P.* // Epilepsia. 2008. V. 49(1). P. 350.

21. *Raedt R., Clinckers R., Mollet L., Vonck K., El Tahry R., Wyckhuys T., De Herdt V., Carrette E., Wadman W.J., Michotte Y., Smolders I., Boon P., & Meurs A.* // Journal of Neurochemistry. 2011. P. 117.

22. *Jerlicz M., Kostowski W., Bidziński A., Hauptman M., Dymecki J.* // Acta Physiol. Pol. 1978. V. 29 (5). P. 409–412.

23. *Corcoran M.E., Mason S.T.* // Brain Res. 1980. V. 190. P. 473–484.

24. *Jobe P.C., Browning R.A.* // Epilepsy & Behavior. 2005. V. 7 (4). P. 602–619.

25. *Jobe P.C., Mishra P.K., Browning R.A., Wang C., Adams-Curtis L.E., Ko K.H., Dailey J.W.* // Brain Res. Bulletin. 1994. V. 35 (5–6). P. 493–504.

26. *Ryu J.R., Shin C.Y., Park K.H., Jeon G.S., Kim H., Kim W., Dailey J.W., Jobe P.C., Cho S.S., Ko K.H.* // Brain Res. Bull. 2000. V. 53 (6). P. 777–782.

27. *Altman I.M., Corcoran M.E.* // Brain Res. 1983. V. 270. P. 174–177.

28. *Dailey J.W., Mishra P.K., Ko K.H., Penny J.E., Jobe P.C.* // Life Sci. 1992. V. 50(4). P. 319–326.

29. *Jobe P.C., Dailey J.W., Reigel C.E.* // Life Sci. 1986. V. 39(9). P. 775–782.

30. *Dailey J.W., Mishra P.K., Ko K.H., Penny J.E., Jobe P.C.* Epilepsia. 1991 V. 32(2). P. 168–173.

31. *Raisinghani M., Faingold C.L.* // Brain Res. 2005. V. 1064(1–2). P. 90–97.

32. *Petrucci A.N., Joyal K.G., Purnell B.S., Buchanan G.F.* // Exp. Neurol. 2020. V. 325/ P. 113145.

33. *De Sarro G., Russo E., Citraro R., Meldrum B.S.* // Epilepsy Behav. 2017. V. 71 (Pt B). P. 165–173.

34. *Korotkov A., Glazova M., Nikitina L., Dorofeeva N., Kirillova O., Chernigovskaya E.* // Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova. 2015. V. 101. P. 1135.

35. *Solius G.M., Revishchin A.V., Pavlova G.V., Poletaeva I.I.* // Dokl. Biochem. Biophys. 2016. V. 466. P. 32–341.

36. *Ribak C.E.* // Epilepsy Behav. 2017. V. 71 (Pt B). P. 160–164.

Role of Brain Monoamines in the Formation of Audiogenic Myoclonic Seizures in Krushinsky–Molodkina Rats

S. A. Litvinova[a], T. A. Voronina[a], V. S. Kudrin[a], V. B. Narkevich[a], N. M. Surina[b], I. I. Poletaeva[b], and I. B. Fedotova[b]

[a] *FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russia*

[b] *Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

The results demonstrate and confirm the significant role of monoamine imbalance in the ictogenesis of Krushinsky–Molodkina rats with genetically determined audiogenic epilepsy and in the development of audiogenic kindling (AuK) in them. The experiments were carried out on rats of the Krushinsky–Molodkina (KM) line without sound stimulation (KM-background) and after the development of AuK (KM-AuK). The control group was rats of line "0", in which convulsions in response to sound were completely absent. AuK was generated using 20-fold sound stimulation (120 dB). Neurochemical analysis was performed by HPLC/ED in the frontal cortex, hippocampus, hypothalamus, nucleus accumbens, and brainstem. It has been established that AuK in KM rats leads to the appearance of myoclonic and attenuation of stem convulsions, which is accompanied by a change in the functional activity of the noradrenergic and serotonergic systems of the brain. KM rats exhibiting tonic convulsions in the "background" have a low content of norepinephrine in the hippocampus and hypothalamus, and when audiogenic myoclonic convulsions develop, norepinephrine deficiency is observed in the frontal cortex. After the formation of AuK, the excessively intense serotonin metabolism revealed in KM slows down in the hippocampus, nucleus accumbens, and, especially, in the brainstem, and the serotonin deficiency in the striatum also disappears. The peculiarities of norepinephrine metabolism in KM rats before and after AuK emphasize the important role of the cortex in the development of myoclonic convulsions, and of the hippocampus and hypothalamus in the implementation of stem convulsions. Excessive functional activity of the serotonergic system, revealed in KM "background" rats, slows down in a number of brain structures during the production of AuK.

Keywords: Krushinsky–Molodkina rats, audiogenic epilepsy, audiogenic kindling, neurotransmitters, norepinephrine, serotonin, brain structures