

ВЛИЯНИЕ ЭТОСУКСЕМИДА НА АУДИОГЕННУЮ ЭПИЛЕПСИЮ КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО—МОЛОДКИНОЙ

И.Б.Федотова, О.В.Перепелкина, Г.М.Николаев, Н.М.Сурина, И.И.Полетаева

Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, РФ

У крыс линии Крушинского—Молодкиной, предрасположенных к аудиогенной эпилепсии, оценивали противосудорожный эффект этосуксемида (блокатора Т-типа кальциевых каналов). Взрослые крысы получали препараты с питьевой водой (300 мг/кг в сутки) в течение 45 сут, что привело к незначительному снижению предрасположенности к аудиогенной эпилепсии и к усилению двигательной активности животных на периферии “открытого поля”. Неонатальное введение этосуксемида (в дозе 3-4 мг на животное, со 2-го по 10-й день жизни) незначительно модулировало показатели аудиогенной эпилепсии у этих животных в возрасте 1.5 мес и снизило проявление аудиогенных миоклонических судорог, развивающихся после длительной ежедневной экспозиции действию звука, начатой в возрасте 3 мес. Данные показывают слабый противосудорожный эффект этосуксемида на тонические судороги, с преимущественным его влиянием на судороги с переднемозговой локализацией.

Ключевые слова: аудиогенная эпилепсия, аудиогенный миоклонус, этосуксемид, крысы линии Крушинского—Молодкиной

Инбредная селектированная линия крыс Крушинского—Молодкиной (КМ) характеризуется высокой предрасположенностью к аудиогенной эпилепсии (АЭ). Это перспективная модель для исследования не только эффективности противосудорожных агентов, но и для анализа генетической предрасположенности к эпилептогенезу [2,5]. Эти животные демонстрируют повышенную общую судорожную готовность, например, реагируют развернутым судорожным припадком в ответ на введение подпороговых доз коразола [7]. Развернутые клоникотонические судороги в ответ на звук у крыс КМ, как и у животных других линий с АЭ, развиваются при активации структур ствола мозга [3]. Ежедневная (в течение 15-20 сут) экспозиция действию звука вызывает у крыс КМ формирование миоклонических судорог (феномен аудиогенного “киндлинга”) [5], субстрат которых — структуры переднего мозга.

Цель данной работы — оценить действие этосуксемида на показатели АЭ крыс линии КМ. Было проведено две серии экспериментов по влиянию этосуксемида [5] на показатели АЭ.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на крысах инбредной линии КМ, 42-е поколение инбридинга (питомник лаборатории физиологии и генетики поведения животных). Работа проводилась в соответствии с требованиями Декларации 2010 ЕС.

Этосуксемид (ЭС) — общепризнанное противоэпилептическое средство, эффективно блокирующее “малые припадки” (абсансы, т.е. бессудорожные эпилептические приступы), связанные с эпилептиформной активностью в таламо-кортикальных цепях нейронов [3].

В I серии экспериментов ЭС (Суксилеп, Jenapharm GmbH & Co. KG) давали самцам крыс КМ (n=16) с питьевой водой (300 мг/кг в сутки) в течение 45 сут, начиная с 3-месячного возраста. Контрольные жи-

вотные ($n=8$) пили чистую воду. По окончании приема ЭС крыс однократно тестировали на АЭ (звон, сила звука 120 дБ, звукоприглушающая камера). Через 3-5 сут проводили тест “открытое поле” (в течение 3 мин, диаметр арены 1.5 м, освещенность 100 лк).

Во II серии оценивали отдаленные эффекты введения ЭС новорожденным крысам линии КМ ($n=13$). ЭС в дозе 3-4 мг на животное подкожно вводили со 2-го по 10-й день жизни. Были сформированы две контрольные группы. Животным одной из них ($n=17$) в те же сроки вводили равный объем физиологического раствора (для контроля эффекта неонатальной болевой стимуляции), вторую контрольную группу составили интактные животные ($n=8$). В возрасте 1.5 мес проводили первую экспозицию животных опытной и контрольных групп действию звука. В возрасте 3 мес была проведена серия ежедневных экспозиций действию звука (в течение 20 сут) для провокации аудиогенных миоклонических судорог.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью однофакторного ANOVA с post-hoc LSD-анализом по Фишеру, а также непараметрического критерия Манна—Уитни. Разность альтернативных долей оценивали методом ϕ Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В I серии опытов у крыс, получавших ЭС в воде, латентность начала припадка — фазы двигательного возбуждения — была незначительно, но достоверно больше, чем в контроле (3.1 ± 0.35 и 1.6 ± 0.5 с; критерий Манна—Уитни, $p < 0.05$). Судороги также развивались несколько позже по сравнению с контролем (8.6 ± 0.7 и 6.2 ± 0.9 с). Среди получавших ЭС крыс было меньше животных с тоническими судорогами (с условным баллом “4” [5]). Их не было у 8 (50%) из 16 животных опытной группы, тогда как в контроле — только у 1 (12.5%) из 8 крыс ($t=1.96$). Выход из припадка после судорог происходил быстрее у крыс после ЭС (152.5 ± 13.5 и 162.1 ± 19.1 с, $p > 0.05$). Иными словами, прием ЭС в течение 45 сут вызывал незначительное снижение предрасположенности к АЭ у крыс КМ.

Тест “открытое поле” показал повышенную по сравнению с контролем (рис. 1) двигательную активность крыс на периферии арены (но не в центре) после ЭС, а также большее время, занятое грумингом (рис. 2, б). Число эпизодов груминга и вертикальных стоек (рис. 2, а) было незначительно выше у крыс после ЭС.

Во II серии экспериментов проводили однократную звуковую экспозицию крыс КМ в возрасте

1.5 мес после неонатального введения ЭС (таблица). К 1.5-месячному возрасту у крыс КМ начинают формироваться судорожные припадки АЭ на звук, однако их интенсивность достигает максимума к 3-4 мес [5].

Некоторые показатели АЭ у крыс всех 3 групп были сходны по значениям (таблица), однако интенсивность АЭ была достоверно выше у контрольных групп по сравнению с группой ЭС. Доля животных, обнаруживших “затяжное возбуждение” (состояние, сходное с начальной фазой двигательного возбуждения, которое развивается у некоторых крыс КМ после прекращения тонической фазы), была выше в группе после неонатального ЭС (среди интактных крыс таких животных не было).

Важно отметить более низкие показатели интенсивности АЭ у крыс после введения физиологического раствора (т.е. после неонатальной болевой стимуляции), как и более длительный латентный период развития у них судорожной фазы приступа АЭ. Показатели АЭ у этих животных следует сравнивать с показателями и интактных крыс, и группы ЭС. Сравнение с интактными животными позволяет выявить отдаленный эффект болевой стимуляции, описанный нами ранее, когда было выявлено снижение интенсивности АЭ и повышение болевой чувствительности [1]. Такой же эффект был обнаружен и в данных экспериментах, что было особенно заметно по более высокой доле животных, у которых не было АЭ. Неонатальное введение ЭС “устранило” такое снижение, т.е. неонатальное введение ЭС несколько усилило АЭ 1.5-месячных крыс. Такие же соотношения (но только в виде тенденции) были выявлены и у животных, обнаруживших “постиктальную” каталепсию — специфическое

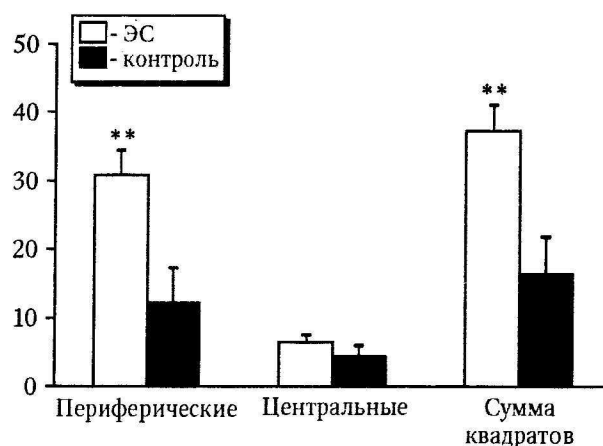


Рис. 1. Число периферических и центральных квадратов арены “открытого поля” и их суммарное число, пересеченных в I-ю минуту теста, у крыс после длительной экспозиции ЭС и у контрольных животных. ** $p < 0.01$ по сравнению с контролем.

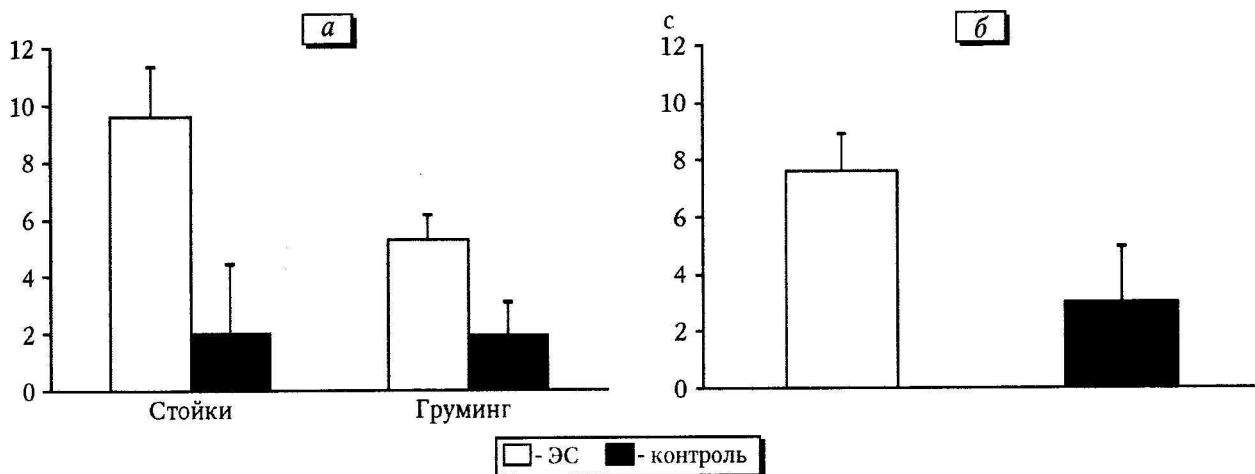


Рис. 2. Число стоек и эпизодов груминга (а) в 1-ю минуту теста “открытое поле” и время, занятое грумингом (б), у крыс после ЭС и в контрольной группе.

Показатели АЭ крыс линии КМ (неонатальное введение ЭС)

Группа	Латентный период двигательной фазы, с	Интенсивность АЭ, баллы	Латентный период судорог, с	Затяжное возбуждение*	Нет реакции на звук*	Постиктальная катаlepsия*
ЭС (n=13)	2.6	1.8	20.3	53.8 ⁺⁺	7.7	76.9
Физиологический раствор (n=17)	8	1.6	37.8 ^o	17.6	41.2 [*]	41.2
Интактная (n=8)	2.9	2.9 ^x	20.6	0	0	62.5

Примечание. *Доля животных (%), обнаруживших данный признак. ^op<0.05, ⁺⁺p<0.01 по сравнению с интактной группой, ^op<0.05 по сравнению с группами ЭС и интактной, ^xp<0.05 по сравнению с группами ЭС и физиологического раствора.

нарушение мышечного тонуса, характерное для крыс с АЭ. Эти данные в целом показывают, что неонатальные воздействия (и ЭС, и болевая стимуляция) изменили “рисунок” судорожной реакции на звук у 1.5-месячных животных.

Различия между опытными и контрольными животными в предрасположенности к судорогам к 3 мес практически отсутствовали (данные не приводятся). В динамике появления аудиогенных миоклонических судорог после серии ежедневных звуковых экспозиций были выявлены различия между группами. После неонатального введения ЭС у 4 из 7 животных миоклонические судороги не проявились, тогда как у всех животных обеих контрольных групп (суммарно n=24) они были выявлены (экспозиция действию звука в течение 21 сут). Поскольку феномен аудиогенного киндлинга связан с генерацией эпилептиформных разрядов в структурах переднего мозга [5], отдаленный эффект неонатально введенного ЭС в виде меньшей доли крыс, у которых проявился этот феномен, можно считать подтверждением его влияния на судороги с локализацией очага в структурах переднего мозга. Показано, что ЭС достоверно снижал

число разрядов “пик-волна” в ЭЭГ у крыс линии Wag/Rij [6]. Поскольку ЭС — блокатор кальциевых каналов Т-типа [8], его эффективность в подавлении “абсансов” у крыс Wag/Rij логично связывают со снижением возбудимости кортико-таламических сетей. Изменения показателей теста “открытое поле” после ЭС свидетельствуют об умеренно активизирующем действии этого соединения на локомоцию взрослых крыс, интерпретация которого в сопоставлении со слабым противосудорожным эффектом ЭС затруднительна.

Слабовыраженное влияние ЭС на судорожные состояния у крыс линии КМ в ответ на звук можно объяснить участием Ca²⁺-каналов (и их аномалий) в функции нижнего двухолмия (ключевой структуры в развитии приступов АЭ) [4].

Представленные данные показывают хотя и слабую, но доступную обнаружению модуляцию АЭ у крыс линии КМ под действием ЭС и свидетельствуют о влиянии блокатора кальциевых каналов Т-типа на феномены АЭ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 18-015-00173) и Государственной программы N NIOKTR AAAA-A16-116021660055-1.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев В.В., Кошелев В.Б., Ковалев Г.И., Поletaева И.И. Влияние неонатальных воздействий на болевую и аудиогенную чувствительность и на содержание моноаминов в мозге взрослых крыс // Онтогенез. 2003. Т. 34, № 6. С. 464-471.
2. Федотова И.Б., Сурина Н.М., Николаев Г.М., Костына З.А., Перепелкина О.В., Поletaева И.И. Исследование генеза судорожных состояний на модели аудиогенной эпилепсии (линия крыс Крушинского—Молодкиной) // Журн. высш. нервн. деят. 2018. Т. 68, № 4. С. 448-458.
3. Faingold C.L. Neuronal networks in the genetically epilepsy-prone rat // Adv. Neurol. 1999. Vol. 79. P. 311-321.
4. N'Goueto P., Morad M. Voltage-gated calcium channels in adult rat inferior colliculus neurons // Neuroscience. 2003. Vol. 120, N 3. P. 815-826.
5. Poletaeva I.I., Surina N.M., Kostina Z.A., Perpelkina O.V., Fedotova I.B. The Krushinsky—Molodkina rat strain: The study of audiogenic epilepsy for 65 years // Epilepsy Behav. 2017. Vol. 71, Pt B. P. 130-141.
6. Sarkisova K.Y., Kuznetsova G.D., Kulikov M.A., van Luijtelaaar G. Spike-wave discharges are necessary for the expression of behavioral depression-like symptoms // Epilepsia. 2010. Vol. 51, N 1. P. 146-160.
7. Surina N., Fedotova I., Poletaeva I. Corazole-induced changes in seizure proneness and postictal muscle tonus in two strains contrasting in audiogenic epilepsy // Act. Nerv. Super Rediviva. 2012. Vol. 54, N 2. P. 86-86.
8. van Luijtelaaar G., Wiaderna D., Elants C., Scheenen W. Opposite effects of T- and L-type Ca(2+) channels blockers in generalized absence epilepsy // Eur. J. Pharmacol. 2000. Vol. 406, N 3. P. 381-389.

Получено 30.11.18