

Роль нейровоспаления в развитии эпилептических процессов в литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии у крыс

Зубарева О.Е., Дёмина А.В., Захарова М.В., Коваленко А.А., Харисова А.Р., Зайцев А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова» Российской академии наук.
194223, Санкт-Петербург, проспект Тореза, д. 44

The role of neuroinflammation in the development of epileptic processes in the lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in rats

Zubareva O.E., Demina A.V., Zakharova M.V., Kovalenko A.A., Kharisova A.R., Zaitsev A.V.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences,
Prospekt Torez 44, St. Petersburg 194223, Russian Federation

Эпилепсия — одно из наиболее тяжелых неврологических заболеваний человека, характеризующееся предрасположенностью к развитию спонтанных рецидивирующих судорог. Сложность лечения эпилепсии связана с недостаточной изученностью её патогенетических механизмов. Существующие на сегодняшний день методы лечения оказываются неэффективными у 30% пациентов, что делает актуальным разработку новых методов терапии. В последние годы активно обсуждается роль нейровоспалительных процессов в патогенезе эпилепсии. В частности, предполагается, что высокая продукция в мозге провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1 бета (IL-1 β), фактор некроза опухоли альфа (TNF- α) и другие, может усугублять развитие эпилепсии. С другой стороны, действие провоспалительных цитокинов в мозге ограничивается противовоспалительными цитокинами, антагонистом рецептора IL-1 (IL-1RA, ген - *Il1rn*), блокирующего эффекты IL-1 β , и другими. Экспрессия этих факторов в процессе эпилептогенеза изучена недостаточно. Также малоизученной остается роль провоспалительных цитокинов в формировании спонтанных рецидивирующих судорог и связанных с ними нарушений поведения.

Целью данной работы было исследование роли про- и противовоспалительных цитокинов в развитии патологических процессов в экспериментальной модели височной эпилепсии. Решались задачи: 1) изучения экспрессии про- и противовоспалительных цитокинов на разных этапах эпилептогенеза; 2) исследования влияния курсовых введений противовоспалительного цитокина IL-1RA (препарат анакинра) на развитие спонтанных рецидивирующих судорог и связанных с ними нарушений поведения. Исследование выполнено с использованием литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии. Данная модель является хронической, она позволяет смоделировать различные этапы эпилепто-

генеза: острый период, вызванный введением пилокарпина (ПК), латентный (когда судороги не проявляются) и хронический, характеризующийся развитием спонтанных рецидивирующих судорог. Патоморфологические изменения, происходящие в мозге экспериментальных животных в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии, подобны тем, которые наблюдаются при развитии эпилепсии у людей. Исследование выполнено на крысах самцах Вистар в возрасте 7–8 недель жизни. Крысам вводили хлорид лития в дозе 127 мг/кг, через сутки после этого были сделаны инъекции метилскополамина (1 мг/кг) для предотвращения периферических эффектов конвульсанта. Через час после метилскополамина у животных индуцировали судороги, для чего вводили пилокарпин в/б по 10 мг/кг через каждые полчаса до достижения выраженного эпилептического статуса (сила судорог 4 и более баллов по шкале Racine, 1972), всего по 20–40 мг/кг. Через 75 минут после развития эпилептического статуса судороги купировались введением диазепама в дозе 10 мг/кг. Контрольной группе вводили LiCl и физиологический раствор. Через 3, 7 дней (латентная фаза модели) и 60 дней (хроническая фаза модели) осуществляли забор образцов мозга. Анализ экспрессии генов *Il1b*, *Tnfa* и *Il1rn*, а также *Aif1* (*IBA1*, маркер активации микроглии) и *Nlrp3* (*NLRP3*, основной компонент инфламмосом) проводили методом ОТ-ПЦР в реальном времени в височной коре, вентральном и дорзальном гиппокампе. Отдельной группе крыс через час после пилокарпина и далее в течение 10 дней 1 раз в сутки вводили препарат анакинра (в/б, 5 инъекций по 100 мг/кг и 5 инъекций по 50 мг/кг). Через 6 недель после введения пилокарпина у леченых и нелеченых крыс оценивали выраженность спонтанных рецидивирующих судорог. На 7–10-е и 45–52-е сутки производили тестирование поведения в тестах Открытое поле и Социальный тест.

Результаты и обсуждение. Показано, что пилокарпин-индуцированные судороги приводили к значительному повышению экспрессии всех исследованных генов как в гиппокампе, так и в височной коре. Усиление экспрессии гена *Tnfa* было краткосрочным, к 7-му дню после судорог оно уже не наблюдалось. Экспрессия гена *Ш1b* на третий день анализа была увеличена в височной коре. Через неделю после судорог повышение продукции мРНК *Ш1b* выявлялось в вентральном и дорзальном гиппокампе, в дорзальной области гиппокампа оно сохранялось и в хроническую фазу модели (60-е сутки после введения пилокарпина). Увеличение экспрессии гена *Ш1n* имело место во всех исследованных структурах мозга в латентную фазу модели, в хроническую фазу оно сохранялось только в дорзальной области гиппокампа.

Производство мРНК *Nlrp3* и *Aif1* аналогично было значительно повышено в обеих областях гиппокампа и в височной коре в латентную фазу литий-пилокарпиновой модели. Увеличение экспрессии данных генов

сохранялось к 60-м суткам анализа только в дорзальной области гиппокампа.

Заключение. Таким образом, при развитии хронических эпилептических процессов, наиболее выраженное нейровоспаление развивается в дорзальном гиппокампе.

Показано также, что введение анакинры подавляло продолжительность и частоту спонтанных рецидивирующих припадков в хронической фазе литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии. Кроме того, оно предотвращало характерную для экспериментальных животных двигательную гиперактивность в тесте Открытое поле (в латентном периоде) и нарушение социальных взаимодействий (как в латентном, так и в хроническом периоде модели).

Полученные данные углубляют представление о роли воспалительных процессов в эпилептогенезе и могут быть использованы при разработке новых методов лечения.

Работа поддержана грантом РФФ №21-15-00430.