

© 2016 г.
УДК 616.853-0.92.4

Рефлекторная эпилепсия у крыс линии Крушинского—Молодкиной, вызванная гипобарической декомпрессией

Копаладзе Р.А.

Федеральное государственное научное учреждение «Институт общей патологии и патофизиологии».
Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская 8, e-mail: revazkop@mail.ru

Ранее нами было показано, что гипобарическая декомпрессия в барокамере вызывает у нелинейных крыс гипобарическую эпилептиформную реакцию (ГЭР). Однако у крыс случайной популяции ГЭР возникает редко и нерегулярно, что затрудняет использование метода на практике. **Цель исследования:** показать возможность использования крыс линии Крушинского—Молодкиной (КМ) для моделирования ГЭР; классифицировать и проанализировать различные фазы ГЭР; разработать критерии для оценки тяжести ГЭР и противосудорожной активности лекарственных средств. **Методы.** Крыс линии КМ подвергали гипобарической декомпрессии следующим образом: поднимали в индивидуальной барокамере до «высоты» 5000 метров со скоростью 50 м/с. **Результаты.** Установлено, что в ответ на гипобарическую декомпрессию у крыс КМ возникает ГЭР в 96% случаев. Охарактеризованы все фазы ГЭР и судорожного припадка. Разработаны методы оценки тяжести ГЭР и защитных эффектов лекарственных средств. **Заключение.** Экспериментальная модель ГЭР у крыс линии КМ может быть использована как в эпилептологии, так и в авиакосмической и экологической медицине.

Ключевые слова: гипобария, эпилепсия, крысы Крушинского—Молодкиной, карбамазепин.

Для цитирования: Копаладзе Р.А. Рефлекторная эпилепсия у крыс линии Крушинского—Молодкиной, вызванная гипобарической декомпрессией. Патогенез. 2016. 14 (4): 35–42.

Для корреспонденции: Копаладзе Реваз Александрович, канд. биол. наук, Федеральное государственное научное учреждение «Институт общей патологии и патофизиологии». Россия, 125315 Москва. e-mail: revazkop@mail.ru.

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 12.09.2016

Reflex epilepsy in rats of Krushinsky—Molodkina line induced by hypobaric decompression

Kopaladze R.A.

Federal state budgetary scientific institute «Scientific Institute of General Pathology and Pathophysiology»;
Baltiyskaya str, 8, Moscow, 125315, Russian Federation

Previously we have shown that hypobaric decompression in the chamber causes in the rats hypobaric epileptiform response (HER), which is very similar to reflex epilepsy caused by a sound stimulus. However, the HER in rats of random population occurs in only 5–10% of the original number, which complicates the use of the method in practice. **The purpose** — to study the possibility of using of Krushinsky—Molodkina (KM) line rats for modeling HER; to classify and analyse the different phases of the HER; to develop a system for evaluating the severity of HER and analysis of drugs anticonvulsant activity. **Methods.** Rats of KM line in an individual chamber were raised to the «height» of 5000 m at a speed of 50 m/sec hypobaric decompression. The severity of epileptic seizures in rats KM, caused by hypobaric decompression was evaluated on 9-point scale. **Results.** It is established that in rats KM in 96% of cases epileptic seizures occur in response to hypobaric decompression, which are effectively prevented by the antiepileptic carbamazepine means. All forms of convulsive seizure and all phases before and after the onset of the seizure were characterized. **Conclusion.** Experimental model of HER in rats of KM line can be used not only in epilepsy, but also beyond its limits, particularly in the aviation, space and environmental medicine.

Key words: rats of Krushinsky—Molodkina line, hypobaric decompression, epilepsy, carbamazepine.

For citation: Kopaladze R.A. Reflex epilepsy in rats of Krushinsky—Molodkina line induced by hypobaric decompression. Patogenesis. 2016; 14(4): 35–42 (in Russian).

For correspondence: Revaz A. Kopaladze leading specialist FSBSI «Institute of general pathology and pathophysiology», Moscow, e-mail: revazkop@mail.ru.

Conflict of interest: the author declare that there is not potential conflict of interest.

Funding: The study had no sponsorship.

Received 12.09. 2016

Введение

Среди экспериментальных моделей эпилепсии важное место занимает рефлекторная эпилепсия, вызываемая звуковым раздражителем у крыс линии Крушинского—Молодкиной (КМ) [1]. Эпилептическую реакцию, весьма сходную с рефлекторной звуковой эпилепсией, можно вызвать у нелинейных крыс с помощью гипобарической декомпрессии. Этот тип реакции именуется нами «гипобарическая эпилептиформная реакция» (ГЭР) [2]. Однако у крыс случайной популяции или у крыс Вистар ГЭР возникает редко, лишь у 5—10%, что затрудняет использование метода на практике. В этой связи актуально исследовать возможности использования крыс линии КМ, генетически предрасположенных к рефлекторной звуковой эпилепсии для моделирования ГЭР. В этом случае в качестве эпилептогенного раздражителя вместо звука используется гипобарическая декомпрессия. Для того, чтобы ясно представить важность феномена ГЭР, скажем несколько слов об истории и состоянии моделирования рефлекторной эпилепсии на животных.

Рефлекторная эпилепсия у крыс, стимулируемая звуковым раздражителем, впервые была описана Дональдсоном. Им же впервые в 1906 году в Вистаровском институте США была выведена популяция белых крыс Вистар (Wistar) [1, 3]. Развитие генетики в начале XX века позволило ставить вопрос о наследственной природе эпилепсии человека. В последующем в России началась работа по созданию генетической модели эпилепсии на животных. В результате многолетней работы Крушинским Л.В. и Молодкиной Л.Н. на основе популяции крыс Вистар в 40-е годы прошлого столетия была выведена линия крыс КМ по признаку высокой чувствительности к действию звука, проявляющейся в виде эпилептиформной судорожной активности. Все припадки у человека и животных разделяются на две основные категории — генерализованные и фокальные. Генерализованные припадки делятся на спонтанные припадки (малые припадки — *petit mal*) и индуцированные судорожные припадки (большие припадки — *grand mal*). Наиболее известными генетическими моделями эпилепсии типа *petit mal* являются линии крыс GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg) [4] и WAG/Rij (Wistar Albino Glaxo from Rijswijk). Эти крысы были получены путем селекции на основе аутбредной крыс линии Wistar [5]. Спонтанная эпилепсия описана также у крыс IGER (Ihar's Genetically Epileptic Rat в Японии) и WER (Wakayama epileptic rat) в Японии [6, 7]. Спонтанные припадки отмечаются и у некоторых линий мышей [8], а также у кроликов, рогатого скота, песчанок [9].

Наиболее известными генетическими моделями рефлекторной эпилепсии типа *grand mal*, индуцируемыми звуковым раздражителем, являются: линия крыс КМ в России [1]; Wistar AS (Wistar audiogenic susceptible rats) во Франции [10]; WAR (Wistar Audiogenic Rat) в Бразилии [11, 12]; P77PMC в Китае [13].

В США на основе крыс линии Sprague—Dawley в 50-е годы прошлого века была выведена предрасположенная к аудиогенной эпилепсии линия крыс GEPR (genetically epilepsy-prone rat) [14]. Важно отметить, что у последних выявлены морфологические аномалии строения среднего уха [15]. К настоящему времени выведены сублинии крыс GEPR-9 с тоническими судорогами и GEPR-3 — с клоническими судорогами [16]. По мнению некоторых авторов,

у крыс линии КМ и её аналогов спонтанные судороги наблюдаются крайне редко [17], но, по нашим наблюдениям, припадки у крыс КМ нередко возникают при содержании их в клетках во время драки животных между собой. У мышей и крыс рефлекторному судорожному припадку, как правило, предшествует интенсивное двигательное возбуждение (ДВ). Следует подчеркнуть, что крысы с высокой судорожной готовностью к звуковому раздражителю чувствительны и к другим эпилептогенным раздражителям, например электростимуляции и действию эпилептогенными веществами (пентилентетразол, пилокарпин). В то же время высокой чувствительностью к звуковому раздражителю характеризуются многие животные модели неврологических заболеваний человека [18].

Как уже отмечалось, крысы линии КМ характеризуются генетически обусловленным стабильным и высоким уровнем чувствительности к звуку. В 80-е годы крысы КМ были переведены в инбредное состояние [19]. Высокая генетическая однородность крыс КМ была доказана как с помощью биохимического анализа [20] так и методом реципрокной изотрансплантации кожи [21].

Цель работы — показать возможность использования крыс линии Крушинского—Молодкиной (КМ) для моделирования ГЭР; классифицировать и проанализировать различные фазы ГЭР; разработать критерии оценки тяжести ГЭР и противосудорожной активности лекарственных средств.

Методика

Опыты проводились на крысах линии КМ, полученных из Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, обладающих генетически обусловленной повышенной судорожной готовностью в ответ на звуковой стимул. Для тестирования на ГЭР использовались крысы массой 150 ± 20 г. Крыс содержали в стандартных условиях. Брикетированный корм и питье животные получали *ad libitum*. Индукция гипобарической эпилептиформной реакции (ГЭР) производилась следующим образом: крысу КМ помещали в индивидуальную вентилируемую барокамеру, снабженную специальной крышкой с игольчатым клапаном, высотомером и вакуум — насосом, включали вакуум-насос, и крыс «поднимали» со скоростью 50 м/с до уровня 5000 метров. Скорость «подъема» регулировали игольчатым клапаном. Время «подъема» — 100 секунд. Давление воздуха в барокамере при этом падает с 760 до 405 мм рт. ст., а содержание кислорода в воздухе — с 21% до 10%. Процесс подъема крыс приостанавливали с помощью игольчатого клапана в момент наступления припадка, а затем производили рекомпрессию — нормализацию давления атмосферного воздуха в барокамере. Рекомпрессию после отключения вакуум-насоса осуществляли со скоростью 500 м/с. На чувствительность к декомпрессии были протестированы 125 крыс КМ обоих полов. Уровень гипобарической декомпрессии выражали в метрах «высоты», на которую осуществлялся «подъем».

Оценка противосудорожного эффекта карбамазепина проводилась на крысах — самцах весом 150 г. Прежде чем приступить к опытам, проверяли возможность влияния на животных шума вакуум-насоса. Для этого крысы КМ помещались в индивидуальную барокамеру и выдерживались в условиях «ложной экспозиции» в течение 100 се-

кунд при включенном вакуум-насосе. Кроме того, крыс КМ по 10 особей помещали в специальную клетку установки фирмы Nuroxia Medical и уменьшали содержание кислорода в клетке с 21% до 10% в течение 100 секунд. Затем крыс в течение 10 секунд вновь возвращали в условия нормального содержания кислорода в воздухе. Все крысы (20 крыс) спокойно, без видимого двигательного возбуждения, переносили как падение содержания кислорода с 21% до 10%, так и нормализацию содержания кислорода с 10% до 21% в условиях нормального давления атмосферного воздуха.

Суспензию карбамазепина готовили следующим образом. Карбамазепин 20 мг помещали в фарфоровую ступку, добавляли две капли твин-80 и растирали фарфоровым пестиком. Затем добавляли 2 мл физиологического раствора и вновь осторожно, не допуская образования пены, растирали пестиком до получения однородной гомогенной массы. Эту суспензию вводили крысе внутривентриально в дозе 20 мг/кг в объеме 2 мл на кг веса. Крысам КМ контрольной группы вводили такой же объем физиологического раствора с твином. Определяли следующие параметры ГЭР: высоту начала двигательного возбуждения (ДВ) и высоту начала судорожного припадка (СП) в метрах. Тяжесть судорожного припадка оценивали по 9-балльной шкале по методике, описанной в работах [22, 23]. У крыс КМ, получавших препарат (22 крысы), определяли параметры ГЭР трижды: за 48 ч до введения, через 1 час и через 24 часа после введения карбамазепина. У крыс КМ контрольной группы (16 крыс) так же определяли параметры ГЭР трижды: за 48 ч до введения физиологического раствора, через 1 и 24 часа после введения. Результаты обрабатывались статистически с помощью t-критерия Стьюдента.

Все процедуры и эксперименты на животных проводились в соответствии с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных, утвержденными Приказом Минздрава СССР № 755 от 12.03.1977 г., а также с Приказом Минздрава РФ от 1 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

Результаты и обсуждение

В результате тестирования крыс КМ было выявлено, что припадки в ответ на декомпрессию у крыс КМ возникали в 96% случаев, что открывает возможность использовать крыс КМ для моделирования ГЭР. Картина ГЭР имеет сходство с таковой при рефлекторной эпилепсии, вызываемой звуковым раздражителем. Это позволяет использовать метод аналогии, перенос знания, полученного в ходе рассматривания какого-либо сходного объекта, на другой, менее изученный.

Картина звуковой рефлекторной эпилепсии у крыс различных линий (КМ, WAR, GERP), а также у мышей различных инбредных линий сходна [19]. Ранее проведенные исследования показали, что наибольшие изменения электрической активности мозга во время звукового рефлекторного судорожного припадка у крыс КМ наблюдаются в продолговатом мозге (область вестибулярных и слуховых ядер и ретикулярная формация) [24]. Согласно концепции Л.В. Крушинского, «перегрузка слухового анализатора крысы действием непрерывного звукового раздражителя приводит к широкой иррадиации раздра-

жительного процесса по нейронам мозга, которая, захватывая двигательные центры, приводит к появлению двигательной активности животного» [1]. В настоящее время полагают, что в большинстве случаев источником наследственно закрепленной повышенной чувствительности к звуку являются слуховые ядра, а в поддержании этого состояния важную роль играют нижние и верхние бугры четверохолмий медиального колленчатого тела и амигдала [19, 25, 26]. Установлены механизмы преобразования колебаний звуковых волн в электрические импульсы, передающиеся в центральную нервную систему [27]. Можно полагать, что резкое падение давления атмосферного воздуха через слуховой проход, так же как и звук, воздействует на вестибулярный аппарат и продолговатый мозг. Это приводит к расстройству электрической активности мозга и возникновению ГЭР у крыс КМ. Такая точка зрения подтверждается и тем, что у крыс линии GEPR, генетически предрасположенных к аудиогенной эпилепсии, встречаются морфологические аномалии в вестибулярном аппарате [15].

Следует отметить, что факт возникновения определенного патологического симптомокомплекса у человека при понижении барометрического давления (декомпрессии) известен уже более ста лет, и наиболее характерными расстройствами нервной системы при этом являются вестибулярные расстройства в виде нистагма и судорог. Впервые с этим столкнулись при проведении кессонных и водолазных работ [28].

В данной работе изучены различные фазы эпилептиформной реакции у крыс КМ в ответ на действие гипобарической декомпрессии.

Двигательное возбуждение. При действии декомпрессии у крыс возникает резкое двигательное возбуждение (ДВ). Но до возникновения ДВ наблюдается фаза затишья, крыса спокойна. Этот период можно назвать латентным периодом, он определяется по «высоте» начала ДВ в метрах. Минимальная высота, на которой начиналось ДВ (латентный период) в наших экспериментах соответствовало 400 метрам, т.е. 8 секундам, а максимальная — 5000 метрам, т.е. 100 секундам. Следует отметить, что фаза ДВ, предшествующая аудиогенным припадкам, называют «клоническим бегом» (wild running clonus) и считают, что феномен ДВ отражает распространение возбуждения на отделы мозга, ответственные за локомоторные реакции [19, 29]. Двигательное возбуждение, индуцируемое гипобарической декомпрессией, также происходит по типу «клонического бега» и протекает непрерывно, вплоть до наступления судорожного припадка (СП) или обрывается торможением, которое на фоне действия декомпрессии носит временный характер. Очевидно, что высота, при которой начинается ДВ, отражает уровень возбудимости мозга: чем меньше «высота» начала ДВ, тем больше возбудимость нейронов мозга, вовлекаемых в патологическую реакцию, и наоборот.

Инерция нервных процессов. Двигательное возбуждение протекает по типу одно- или двухфазового ДВ. Между двумя фазами ДВ возникает тормозная пауза (ТП). Эксперименты показали, что приостановление декомпрессии сразу после первой фазы ДВ приводит к тому, что следующая фаза возбуждения может отсутствовать, но иногда может наступать и вторая фаза возбуждения. Однако, ес-

ли декомпрессию возобновить позже, после истощения тормозного процесса, в момент начала второй фазы ДВ, то инерция ДВ продолжается и в большинстве случаев возникает судорожный припадок.

Тормозная пауза между двумя фазами возбуждения. В ответ на начавшееся возбуждение, вызываемое гипобарической декомпрессией, в нервной системе индуцируется процесс активного торможения, который нередко временно обрывает патологическое возбуждение. Наличие тормозной паузы (ТП) между двумя фазами возбуждения при ГЭР, вероятно, обусловлено гиперполяризацией нейронов, и указывает на эффективную работу тормозного механизма мозга против эпилептогенного действия декомпрессии. О механизме ТП между двумя фазами возбуждения при ГЭР можно судить по аналогии с аудиогенной эпилепсией. По мнению Л.В. Крушинского, ТП между двумя фазами возбуждения при аудиогенной эпилепсии носит характер активного торможения [1]. Эта точка зрения была подтверждена методом электрофизиологического анализа на клеточном уровне [30]. Было также показано, что введение убаина, ингибитора Na^+K^+ -АТФазы, в дорзальный гиппокамп и продолговатый мозг приводило к значительному сокращению ТП между двумя фазами возбуждения, тогда как ц-АМФ, введенный в те же отделы мозга, удлинит ее [31]. Следует отметить, что убаин способствует возникновению пароксизмальных деполяризационных сдвигов в нейронах, тогда как ц-АМФ стимулирует фосфорилирование синаптических мембран и вызывает изменение мембранного потенциала в сторону гиперполяризации [32, 33]. Идейной основой для такой интерпретации результатов экспериментов послужили также работы [34, 35, 36], в которых показано, что деполяризационный сдвиг и высокочастотный разряд являются главным признаком эпилептизации нейронов и, что в основе прекращения эпилептических разрядов лежат два противоположных механизма: торможение путем гиперполяризации и инактивация путем деполяризации. Можно полагать, что в случаях с ГЭР в основе ТП между двумя фазами возбуждения у крыс линии КМ также лежит активное торможение, после истощения которого в результате непрерывного действия декомпрессии возникает вторая фаза возбуждения и судорожный припадок. Минимальная продолжительность торможения между двумя фазами ДВ при ГЭР соответствует 50 метрам (1 с),

тогда как максимальная продолжительность ТП, которая имеет место на практике, достигает 2000 метров (40 секунд). По продолжительности ТП можно судить об уровне возбудимости мозга — чем длиннее тормозная пауза в метрах (или в секундах), тем меньше возбудимость нейронов мозга, и наоборот.

«Высота» начала фазы судорожного припадка в метрах. Следует отличать друг от друга «высоту» ДВ и «высоту» начала судорожного припадка (в дальнейшем — припадок) в процессе подъема крыс со скоростью 50 м/с до 5000 метров. «Высота» наступления припадка всегда больше, чем «высоты», при которых начинаются все предшествующие фазы. Она включает в свою структуру как «высоту» начала фазы ДВ, так и длину ТП в метрах, и высоту окончания второй фазы ДВ, если она имеется. Иначе — высота начала фазы судорожного припадка включает в свою структуру весь период от включения вакуум-насоса и до возникновения судорожного припадка. Степень декомпрессии, при которой начинается припадок, характеризует возбудимость нервной системы животного: чем ниже этот показатель, тем выше возбудимость нейронов мозга, вовлекаемых в патологическую реакцию, и наоборот. В этом смысле «высота» начала ДВ и припадка подчиняются общим законам. Однако, в отличие от ДВ, судорожный припадок оценивается не только в метрах «высоты», но и по тяжести припадка в баллах, а именно, фаза припадка определяется двумя параметрами: «высота» наступления припадка в метрах и его тяжесть в баллах по 9-балльной шкале. Следует при этом отметить, что строгой корреляции между высотой начала припадка и его тяжестью в баллах нет.

Тяжесть судорожного припадка в баллах. Фаза судорожных припадков проявляется в виде четырех форм — I, II, III, IV. В случае 1-фазового ДВ каждой форме судорожного припадка соответствует одно из нечетных чисел баллов — «3», «5», «7» или «9». В случае 2-фазного ДВ тяжесть припадка на один балл меньше и каждой форме соответствует — «2», «4», «6» или «8» баллов. Соотношение тяжести и формы припадка представлены в табл. 1.

При определении тяжести припадка в баллах сначала визуально определяли форму припадка (I, II, III, IV), а затем — соответствующее этим формам число баллов. При этом помимо формы припадка, в табл. 1 учитывается и

Таблица 1

Формы судорожного припадка (СП) и их тяжесть, выраженная в баллах

Формы СП	Описание форм судорожного припадка	Число фаз ДВ	Тяжесть фазы СП в баллах
	Нет реакции	0	0
	ДВ без припадка	2 1	1
I	ДВ с последующим падением животного на живот и генерализованными клоническими подергиваниями всех конечностей	2 1	2 3
II	ДВ с последующим падением животного на бок, тоническим сгибанием шеи, туловища и передних конечностей, клоническими подергиваниями задних конечностей	2 1	4 5
III	ДВ, похожее на предыдущую форму (II), но отличающееся неполным тоническим напряжением задних конечностей.	2 1	6 7
IV	ДВ, похожее на две предыдущие формы (II и III), но отличающееся, полным тоническим напряжением всех конечностей (катотонический ступор).	2 1	8 9

количество фаз (2 или 1) ДВ, предшествующих припадку. Тяжесть судорожного припадка при 2-фазовом ДВ ниже по сравнению с тяжестью припадка у крыс с 1-фазовым ДВ. Из этой же таблицы следует, что при полном отсутствии ГЭР у крыс КМ пишется балл «0», а при наличии ДВ без судорожного припадка балл «1», в этом случае количество фаз ДВ (2 или 1) значения не имеет.

О физиологическом механизме прекращения судорожного припадка. Возникает вопрос, какие защитные механизмы использует нервная система для подавления возбуждения, вызываемого гипобарической декомпрессией. После того, как активное торможение истощается, а декомпрессия продолжает действовать, вслед за эпилептическим припадком возникает запредельное торможение, которое ограничивает предел возбудимости нейронов мозга. Основное, чем характеризуется состояние нервной системы в этот период — это чрезвычайно повышенная ее возбудимость. Можно даже утверждать, что при чрезмерном перевозбуждении деполяризационная инактивация ограничивает предел возбуждения нейронов мозга. В пользу такого предположения свидетельствуют данные, полученные на модели аудиогенной эпилепсии. Эти данные, полученные методом прерывистых (сильного и слабого с 10-секундными интервалами) звуковых раздражителей, показывают, что в основе прекращения аудиогенного судорожного припадка лежит запредельное, парабитическое торможение, открытое Н.Е. Введенским и И.П. Павловым [1]. Однако использование метода прерывистого звукового раздражителя различной силы и продолжительности для исследования характеристик запредельного торможения на модели ГЭР — дело будущего.

Постиктальное состояние. В постиктальном периоде наблюдались взрывная наступательная агрессия и состояние кататонического ступора. У крыс с припадком низкой тяжести нередко наблюдалось состояние агрессии, которое сохранялось и после выключения вакуум-насоса и осуществления рекомпрессии. Состояние агрессии продолжалось в течение 3 минут, а иногда и до 15 минут в условиях нормального давления атмосферного воздуха. Крыса подпрыгивает и непроизвольно бьется головой о потолок камеры. В таком состоянии, если крысу выпускали из барокамеры в бачок с другими крысами, она набрасывалась на своих сородичей и кусала их. На 12 крысах, находившихся в состоянии постиктальной агрессии, были проведены исследования по влиянию на это состояние гипобарической гипоксии. В этих случаях, вместо того чтобы выключить вакуум-насос и нормализовать давление воздуха в барокамере, продолжали подъем крыс, находящихся в состоянии агрессии, до 5000 метров (10% O₂, 400 мм рт. ст.) и выдерживали их на этом уровне в течение 5 минут. После такого воздействия в нервной сис-

теме животного происходит сдвиг в сторону нормализации, то есть вместо патологической повышенной возбудимости с явлением взрывчатости наступает нормализация состояния животного. После выключения вакуум-насоса и нормализации давления атмосферного воздуха в барокамере (рекомпрессии) агрессия у этих крыс не возобновлялась. Гипобарическая гипоксия подавляет послеприпадочную агрессию и нормализует состояние животного. Если постиктальное состояние проявлялось в виде кататонического ступора, то гипобарическая гипоксия в ряде случаев способствовала выходу из кататонического ступора и нормализации состояния животного.

Использование ГЭР для подтверждения противосудорожного эффекта карбамазепина. Антиконвульсанты — карбамазепин, ламотриджин и вальпроат — увеличивают латентный период и снижают интенсивность судорожных припадков у крыс КМ, также как и у крыс линии GERP. Введение в организм животных этих антиконвульсантов вызывает достоверное снижение содержания аспартата и глутамата в стриатуме и повышает содержание тормозных медиаторов (ГАМК и глицина), и изменяет уровень моноаминов в ряде отделов мозга [19, 37—40].

Цель данного эксперимента заключалась в том, чтобы проверить пригодность ГЭР для испытания антиконвульсантов на примере карбамазепина. Действие карбамазепина на ГЭР определяли по трём параметрам: по высоте начала двигательного возбуждения (ДВ) в метрах, по высоте начала судорожного припадка (СП), по тяжести СП в баллах. При определении высоты ДВ и СП пользовались показаниями высотомера. При определении тяжести припадков в баллах сначала визуально определяли форму припадков, а затем — соответствующее этой форме число баллов по табл. 1. При этом учитывалось количество фаз ДВ, предшествующих судорожным припадкам. Количество крыс в опытной группе соответствовало — 22, а в контрольной — 16. Результаты исследования влияния карбамазепина на параметры ГЭР представлены в табл. 2.

Из представленных в табл. 2 данных видно, что карбамазепин оказывал выраженное противосудорожное действие — через 1 час после его введения наблюдалось резкое увеличение высоты начала ДВ и судорожного припадка (СП) ($p < 0,001$), а также уменьшение тяжести судорожного припадка в баллах ($p < 0,001$) по сравнению с фоном. У 6 крыс ГЭР вообще отсутствовала, и эти животные не были включены в статистическую обработку данных. Через 24 часа противосудорожный эффект карбамазепина у опытных животных исчезал, и параметры ГЭР у них не отличались от фоновых значений. У 6 крыс, которые через час после введения карбамазепина не реагировали на декомпрессию, уязвимость к действию декомпрессии повышалась, и ГЭР восстанавливалась. В контрольной

Таблица 2

Влияние карбамазепина на параметры ГЭР

Условия опыта	«Высота» начала ДВ в метрах	«Высота» начала СП в метрах	Тяжесть фазы СП в баллах
До введения	861 ± 57	1457 ± 95	7,4 ± 0,32
1 час после введения	1559 ± 135*	4281 ± 213*	1,68 ± 0,24*
24 часа после введения	916 ± 53	1632 ± 73	6,8 ± 0,37

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем.

группе крыс, какие-либо различия между фоновыми значениями ГЭР и через 1 и 24 часа после введения физиологического раствора с твином не наблюдались. Важно отметить, что введение карбамазепина крысам с 1-фазовым ДВ приводит к появлению двух фаз ДВ с тормозной паузой между ними, а у крыс с 2-фазовым ДВ значительно удлиняет тормозную паузу. Таким образом, методом ГЭР был подтвержден противосудорожный эффект карбамазепина, что позволяет считать правомерным использование ГЭР для оценки противосудорожной активности фармакологических препаратов.

О некоторых перспективах изучения механизмов ГЭР. Эпилептическая активность с генерализованными приступами судорог, вызываемая действием на крыс различных раздражителей, сопровождается нарушением нормального течения энергетического, ионного и медиаторного обмена мозга. В настоящее время большое внимание уделяется дисбалансу глутамат- и ГАМКергических систем [41, 42]. Повышение уровня секреции глутамата нервными окончаниями приводит к сдвигу баланса между возбуждением и торможением, что способствует снижению порога возникновения эпилептических судорог. Способность блокаторов глутаматных рецепторов предупреждать судорожные припадки, вызываемые звуковой стимуляцией у крыс линии КМ, была показана в работах [43, 44]. Кроме того у аудиогенных крыс была отмечена некоторая функциональная недостаточность ГАМКергической тормозной системы и усиление возбудимости нейронов гиппокампа [45, 46]. Чувствительность крыс КМ к судорожным агентам — камфорному маслу и пентилентетразолу — значительно выше, чем у крыс Вистар, нечувствительных к звуку [19, 44]. В основе эпилептогенного действия пентилентетразола лежит его способность ослаблять ГАМКергическую систему мозга. Считается, что пентилентетразоловая судорожная модель наиболее близка по механизмам патогенеза к некоторым формам эпилепсии у человека [47, 48].

В настоящее время показано, что пентилентетразол оказывает сенсibilизирующее влияние на ГЭР у крыс Вистар [49]. Как выше уже было сказано, в ответ на декомпрессию ГЭР редко возникает у крыс случайной популяции («беспородные крысы») или у крыс Вистар. Селекция крыс линии Вистар по их чувствительности к декомпрессии привела уже в пятом поколении к увеличению количества крыс Вистар с ГЭР до 60% случаев. Это позволило нам разделить крыс Вистар на 2 группы — чувствительных и нечувствительных к ГЭР. Эксперименты показали, что крысы, чувствительные к декомпрессии, оказались более восприимчивыми к пентилентетразоловым судорогам, чем крысы, резистентные к декомпрессии. Введение крысам Вистар пентилентетразола приводит к сокращению ТП между двумя фазами ДВ или преобразование двухфазовой реакции возбуждения в однофазовую реакцию. Кроме того, введение пентилентетразола усугубляет тяжесть ГЭР у чувствительных к декомпрессии крыс и увеличивает частоту возникновения ГЭР у резистентных к декомпрессии крыс.

Важно подчеркнуть, что использование биологически активных веществ, с заранее известными свойствами, способных оказывать специфическое влияние на энергетический и ионный обмен, — баланс тормозных и возбуждающих медиаторов, — процессы окислительного

фосфорилирования, — ионную проницаемость мембранных структур клеток может служить одним из подходов к управлению ГЭР, изучения в эксперименте молекулярных механизмов возникновения, развития и прекращения ГЭР.

Как было сказано выше, картина ГЭР имеет сходство со звуковой эпилептиформной реакцией, что позволяет осуществить сравнительный анализ физиологических механизмов этих двух моделей эпилепсии. Однако задачей нашего дальнейшего исследования является не только установление аналогии между звуковой эпилепсией и ГЭР, но и выявление отличительных черт между ними. Достаточно отметить, что фазы возбуждения и торможения при звуковой эпилептиформной реакции оцениваются в секундах, тогда как фазы ГЭР оцениваются не только в секундах, но и по «высоте» начала этих фаз в метрах или в миллиметрах ртутного столбца. Все фазы ГЭР, включая судорожные припадки и постиктальное состояние, протекают в условиях разреженного воздуха, что принципиально отличает новую модель эпилепсии от звуковой эпилепсии. Использование декомпрессии в качестве эпилептогенного раздражителя открывает новые возможности для управления эпилептогенезом, исследования влияния гипобарической гипоксии на постиктальную агрессию, кататонический ступор, постиктальную кому, а также коррекции этих состояний.

Заключение

Эпилептическая реакция у крыс КМ, индуцируемая гипобарической декомпрессией, может быть использована в качестве экспериментальной модели для изучения патогенетических механизмов эпилепсии и её лекарственной коррекции. Разумеется, для моделирования ГЭР могут быть использованы и другие линии крыс, генетически предрасположенные к эпилепсии. ГЭР позволяет проводить исследования по протекторному влиянию гипобарической гипоксии на такие тяжелые постиктальные состояния, как затяжное возбуждение (агрессия), кататонический ступор, каталепсия, постиктальная кома. Экспериментальная модель ГЭР может использоваться в исследованиях по эпилептологии, авиакосмической медицине, гипобарической и водолазной физиологии, реаниматологии, адаптационной, спортивной и экологической медицине.

References

1. Крушинский Л.В. *Формирование поведения животных в норме и патологии*. Москва. Издательство МГУ. 1960. 264 с.
2. Krushinsky L.V. *The formation of animal behavior in norm and pathology*. Moskva.: Izdatel'stvo Moskovskogo Gosudarstvennogo Universiteta. 1960. 264 p. (in Russian).
3. Копаладзе Р.А., Дудченко А.М., Кубатиев А.А. Эпилептиформная реакция индуцированная резким снижением давления атмосферного воздуха у крыс. *Патогенез*. 2014; 12 (2):61-66
4. Kopaladze R.A., Dudchenko A.M., Kubatiev A.A. Epileptic reaction in rats induced by sharp reduction of atmospheric air pressure. *Patogenez*. 2014; 12 (2):61-66. (In Russian)
5. Donaldson H.H. The history and zoological position the albino rat. *J. Acad. Nat. Sci. Philadelphia*. 1912; 15:315-369
6. Francois J., Boehrer A., Nehlig A. Effects of carisbamate (RWJ-333369) in two models of genetically determined generalized epilepsy, the GAERS and the audiogenic Wistar AS. *Epilepsia*. 2008; 49 (3):393-399.

5. Coenen A.M.L., Drinkenburg W.H.I.M., Inoue M., Van Luijckelaar E.L.J.M. Genetic models of absence epilepsy with emphasis on the WAG/Rij strain of rats. *Epilepsy Res.* 1992; (12): 75-86.
6. Takahashi Y., Sadamatsu M., Kanai H., Masui A., Amano S., Ihara N., Kato N. Changes of immunoreactive neuropeptide Y, somatostatin and corticotropin-releasing factor (CRF) in the brain of a novel epileptic mutant rat, Ihara's genetically epileptic rat (IGER). *Brain Res.* 1997; 776 (1-2):255-60.
7. Tsubota Y., Miyashita E., Miyajima M., Owada-Makabe K., Yukawa K., and Maeda M. The Wakayama epileptic rat (WER), a new mutant exhibiting tonic-clonic seizures and absence-like seizures. *Exp. Anim.* 2003; 52: 53-62.
8. Baumann N., Lachapelle F. Neurological Mutant. *Handbook Neurochemistry. Experimental neurochemistry.* 1982; 2:253-279 Plumb. Press, New York.
9. Cypess R.H., Hurvitz A.I. Animal Models. Melby, Eduard C. & Altman, N. ed. *CRC Handbook of laboratory Animal science.* Cleveland. CRC Pr., 1974; 1-3:207-27.
10. Marescaux C, Vergnes M, Kiesmann M, Depaulis A, Micheletti G, Varter GM. Kindling of audiogenic seizures in Wistar rats: an EEG study. *Exp. Neurol.* 1987; (97): 160-168.
11. Garcia-Cairasco N. A critical review on the participation of inferior colliculus in acoustic-motor and acoustic-limbic networks involved in the expression of acute and kindled audiogenic seizures. *Hear Res.* 2002; 168 (1-2):208-22.
12. Doretto M.C, Cortes-de-Oliveira J.A, Rossetti F, Garcia-Cairasco N. Role of the superior colliculus in the expression of acute and kindled audiogenic seizures in Wistar audiogenic rats. *Epilepsia.* 2009; 50 (12):2563-74.
13. Zhao D.Y., Wu X.P., Pei Y.Q., Zuo Q.H. Long-term effect of febrile convulsion on seizure susceptibility in P77PMC rat resistant to acoustic stimuli but susceptible to kainate-induced seizure. *Exp. Neurol.* 1985; (88) 688-695.
14. Consroe P., Piccioni A., Chin L. Audiogenic seizure susceptible rats. *Fed. Proc.* 1979; 38 (10): 2411-6.
15. Penny J.E., Brown R.D., Hodges K.B., Kupeta S.A., Glann D.W., Jobe P.C. Cochlear morphology of the audiogenic-seizure susceptible (AGS) or genetically epilepsy prone rat (GERP). *Acta Otolaringol.* 1983; 95 (1-2):1-12.
16. Reigel C.E., Dailye J.W., Jobe P.C. The genetically epilepsy-prone rat: an overview of seizure-prone characteristics and responsiveness to anticonvulsant drugs. *Life Sci.* 1986; (39) 763-774.
17. Coffey L.L., Reith M.E.A., Chen N., Mishra P.K., Jobe P.C. Amygdala kindling of forebrain seizures and the occurrence of brainstem seizures in genetically epilepsypone rats. *Epilepsia.* 1996; (37): 188-197.
18. Scarlatelli-Lima A.V., Magalhaes L.H.M., Doretto M.C., Moraes M.F.D. Assessment of the seizure susceptibility of Wistar Audiogenic rat to electroshock, pentylenetetrazole and pilocarpine. *Brain Res.* 2003; (960): 184-189.
19. Семиохина А.Ф., Федотова И.Б., Поletaева И.И. Крысы линии КМ: исследования аудиогенной эпилепсии, сосудистой патологии и поведения. *Жур. Высш. нервной деят.* 2006. 56 (3): 298-316.
- Semiokhina A.F., Fedotova I.B., Poletaeva I.I. Rats of Krushinsky-Molodkina Strain: Studies of Audiogenic Epilepsy, Vascular Pathology and Behavior. *Zh. Vyssh. Nerv. Deyat.* 2006; 56 (3): 298-316. (in Russian).
20. Иванов П.А., Семиохина А.Ф., Рысков А.П. Геномная дактилоскопия крыс *Rattus norvegicus*. Новый подход к генетическому маркированию. *Генетика.* 1989; 25 (2): 238-49.
- Ivanov P.L., Semiokhina A.F., Ryskov A.P. Rat DNK fingerprinting for *rattus norvegicus*: new approach in genetic analysis. *Genetica.* 1989; 25 (2): 238-249. (in Russian).
21. Семиохина А.Ф., Раткин А.Э., Федотова И.Б., Кузнецова Л.М., Костына З.А., Сотская М.Н., Чебыкина Л.И. Модель аудиогенной эпилепсии — крысы линии Крушинского-Молодкиной. Доказательство генетической однородности. *Журнал высш. Нерв. деят.* 1996; 46(3): 592-6.
- Semiokhina A.F, Ratkin A.E., Fedotova I.B., Kuznetsova L.M., Kostina Z.A. Sotskaya M.N., Chebykina L.I. The model of audiogenic epilepsy: Krushinsky-Molodkina rats. The proof of genetic homogeneity of strain. *Zh. Vyssh. Nerv. Deyat.* 1996; 46 (3): 592-596. (in Russian)
22. Jobe P.C., Picchioni A.L., Chin L. Role of brain hydroxytryptamine in audiogenic seizure in the rat. *Life Sci.* 1973; 13:1-13.
23. Tacke U. *Audiogenic seizures in rats — an experimental study of a genetic model of Epilepsy.* Diss. Department of Pharmacology and Toxicology University of Kuopio; 1984. 134 p.
24. Гусельникова К.Г. Некоторые данные о механизме эпилептиформного звукового припадка у крыс. *Научные доклады высшей школы, биологические науки.* 1959 (1):69-75.
- Gusel'nikova K.G. Some data about the mechanism of sound epileptiform seizures in rats: *Nauchnie doklady vysshey shkoly, biologicheskie nauki,* 1959; (1): 69-75. (in Russian)
25. Faingold C.L. The genetically epilepsy-prone rat. *Gen. Pharmac.* 1988; 19(3):331-8.
26. Feng H.J., Faingold C.L. Repeated generalized audiogenic seizures induce plastic changes on acoustically evoked neuronal firing in the amygdala. *Brain Res.* 2002; 932 (1-2):61-62
27. Xiong W, Grillet N., Elledge H.M., Wagner Th.F.J., Zhao B., Johnson K.R., Kazmierczak P, Muller U. TMHS Is an Integral Component of the Mechanotransduction Machinery of Cochlear Hair Cells. *Cell,* 2012; 151 (6): 1283.
28. Соколов Ю.А., Пантюхов А.П. Функциональное состояние летчика при изменении барометрического давления. Минск. БМГУ. 2010. 28 с.
- Sokolov Yu.A., Pantyuchoy A.P. The functional state of the pilot when changing barometric pressure. Minsk. BMGU. 2010. 28 p. (in Russian)
29. Fehr C., Shirley R.L., Metten P., Kosobur A.E.K., Belknap J.K. Crabbe J.C., Buck K.J. Potential pleiotropic effects of Mpdz on vulnerability to seizures. *Genes, Brain, Behavior,* 2004; 3(1): 8-19.
30. Копаладзе Р.А., Кольс О.Р., Семиохина А.Ф., Козлов Ю.П. Некоторые физико-химические и нейрофизиологические механизмы аудиогенной эпилепсии. *Сообщение АН Грузинской ССР.* 1973; 70 (3):709-713.
- Kopaladze R.A., Kols O.R., Semyochina A.F., Kozlov Yu.P. Some physiological and neurophysiological mechanisms of audiogenic epilepsy. *Bulletin of Academy of Sciences of the Georgian SSR.* 1973. 70 (3):709-713. (in Russian)
31. Копаладзе Р.А., Семиохина А.Ф. Влияние введения уабаина и циклического АМФ в разные отделы мозга крыс на течение эпилептиформной реакции. *Биологические науки.* 1982; (2):59-62.
- Kopaladze R.A., Semyochina A.F. The impact of the introduction of ouabain and cyclic AMP in different separate of the brain of rats during epileptic reaction. *Biologicheskie nauki.* 1982; (2):59-62. (in Russian)
32. Shimizu H., Daly J.W. Effect of depolarizing agents of accumulation of cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate in cerebral cortical slices. *European Jour. Pharmacol.* 1972; 17:240-52.
33. Bradshaw R.A., Schneider D.M. Protein in the nervous system. 2nd ed. — New York: *Raven Press.* 1980; 395 p.
34. Окуджав В.М. Основные нейрофизиологические механизмы эпилептической Активности. Тбилиси. Изд. Ганатлеба. 1969; 224 с.
- Okudzhava V.M. *Basic neurophysiological mechanism of epileptic activity.* Publishing House «Ganatleba» Tbilisi. 1969. 224 p. (in Russian)
35. Matsumoto H., Ajmone Marsan C. Cortical cellular phenomena in experimental epilepsy: ictal manifestations. *Expl. Neurol.* 1964; 9:286-304.
36. Matsumoto H., Ajmone Marsan C. Cortical cellular phenomena in experimental epilepsy: interictal manifestations. *Expl. Neurol.* 1964; 9:305-326.
37. Федотова И.Б., Семиохина А.Ф., Косачева Е.С., Башкатова В.Г., Раевский К.С. Влияние ламотриджина и карбамазепина на развития аудиогенной судорожной реакции у крыс линии Крушинского-Молодкиной. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 1996; 59(6):6-9.
- Fedotova I.B, Semiokhina A.F, Kosacheva E.S, Bashkatova V.G, Raevskii K.S. The effect of lamotrigine and carbamazepine on the development of the audiogenic seizure reaction in rats of the Krushinskii-Molodkina strain. *Experimental and clinical pharmacology.* 1996; 59 (6):6-9. (in Russian)
38. Косачева Е.Б., Кудрин В.С., Федотова И.Б., Семиохина А.Ф., Раевский К.С. Влияние карбамазепина на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс с аудиогенной эпилепсией. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 1998; 61 (3):25-7.
- Kosacheva E.S, Kudrin V.S, Fedotova I.B, Semiokhina A.F, Raevskii K.S. The effect of carbamazepine on the content of monoamines and their metabolites in the brain structures of rats with audiogenic epilepsy. *Experimental and clinical pharmacology.* 1998; 61 (3):25-27. (in Russian)
39. Раевский К.С., Башкатова В.Г., Кудрин В.С., Меликова Л.А., Косачева Е.С., Вицкова Г.Ю., Семиохина А.Ф., Федотова И.Б. Влияние карбамазепина на содержание нейромедиатор-

ных аминокислот и продуктов перекисного окисления липидов в структурах мозга крыс с аудиогенной эпилепсией. *Нейрохимия*. 1995; 12 (4):47-54.

Raevskii K.S., Bashkatova V.G., Kudrin V.S., Melikova L.A., Kosacheva E.S., Vitskova G.Yu., Semiokhina A.F., Fedotova I.B. Neurotransmitter amino acid and lipid peroxidation products in brain of rats genetically prone to audiogenic seizures. *Neurochimia*. 1995; 12(4):47-54. (in Russian)

40. Graumlich Y.F., Mc Laughlin R.G., Birkkahn D., Shah N., Burk A., Jobe P.C., Dailey J.W. Carbamazepine pharmacokinetics-pharmacodynamics in genetically epilepsy-prone rats. *Eur. J. Pharm.* 1999; 369 (3):305-11.

41. Chapman A.G. Glutamate and epilepsy. *J. Nutr.* 2000; 130 (4):1043-1045. УФН

42. Raol Y.H., Lynch D.R., Brooks-Kayal A.R. role of excitatory amino acid in development epilepsies. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2001; 7(4):254-60 УФН.

43. Лукомская Н.Я., Ватаев С.И., Жабко Е.П., Магазанике Л.Г. Влияние блокаторов каналов ионотропных глутаматных рецепторов на аудиогенные судорожные реакции крыс линии Крушинского-Молодкиной. *Российский физиологический журнал*. 2012; 98 (4):449-460.

Lukomskaia N.Ia., Vataev S.I., Zhabko E.P., Magazanik L.G. Effects of ionotropic glutamate receptor channel blockers on the development of audiogenic seizures in Krushinski-Molodkina rats. *Russian journal of physiology*. 2012; 98 (4):449-460. (in Russian)

44. Ким К.Х., Зайцев А.В., Лаврентьева В.В., Жабко Е.П., Ватаев С.И., Лукомская Н.Я., Магазаник Л.Г. Влияние блокаторов ионотропных и глутаматных рецепторов на вызванные пенти-

лентетразолом судорог у крыс Крушинского-Молодкиной. *Российский физиологический журнал*. 2012; 98 (12):1520-1529.

Kim K. Kh., Zaitsev A.V., Lavrentieva V.V., Zhabko E.P., Vataev S.I., Lukomskaia N.Ya., Magazanik L.G. The effect of ionotropic glutamate receptor antagonist on pentilentetrazole-induced seizures in Krushinsky-Molodkina rats. *Russian journal of physiology*. 2012; 98 (12):1520-29. (in Russian)

45. Drumond L.E., Kushmerick C., Guidine P.A., Dorrato M.C., Moraes M.F., Massensini A.R. Reduced hippocampal GABAergic function in Wistar audiogenic rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2011; 44(10):1054-1059.

46. Verma-Ahuja S., Evans M.S., Espinosa J.A. Evidence of increased excitability in GERP hippocampus preceding development of seizure susceptibility. *Epilepsiy Res.* 1998; 31(3):161-73.

47. Losher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drug. *Seizure*. 2011; 20 (5):359-68.

48. Corda M.G., Orlandi M., Lacca D., Giorgi O. Decrease in GABAergic function induced by pentilentetrazol kindling in rats: antagonism by MK-801. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 1992; 262 (2):792-800.

49. Копаладзе Р.А., Дудченко А.М. Сенситизирующее действие пентилентетразола на эпилептиформную реакцию, индуцируемую гипобарической декомпрессией у крыс Вистар. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2015; 78 (9):36. Приложение.

Kopaladze R.A., Dudchenko A.M. Sensitizing action of pentilentetrazol on epileptiform response induced by hypobaric decompression in Wistar rats. *Experimental and clinical pharmacology*. 2015; 78 (9):36. Supplement. (in Russian)

Сведения об авторах

Копаладзе Реваз Александрович (Kopaladze R.A.) — канд. биол. наук, Федеральное государственное научное учреждение «Институт общей патологии и патофизиологии», e-mail: revazkor@mail.ru