

ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АУДИОГЕННЫХ СУДОРОГ И ПОСТИКТАЛЬНОЙ КАТАЛЕПСИИ У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ: ВЛИЯНИЕ ДИЗОЦИЛПИНА И D-СЕРИНА

© 2024 г. Н. М. Сурина^{1,*}, И. Б. Федотова¹, И. И. Полетаева¹

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, Москва, Россия;

*e-mail: Opera_ghost@inbox.ru

Поступила в редакцию 14.07.2024 г.

После доработки 01.09.2024 г.

Принята к публикации 02.09.2024 г.

Анализировали участие глутаматергической нейротрансмиттерной системы (введение D-серина и дизоцилпина) в формировании аудиогенного судорожного припадка (АП) и после-судорожной катаlepsии (АПК) у крыс линии Крушинского-Молодкиной. У интактных крыс КМ интенсивность АП коррелирует с длительностью АПК. Введение D-серина (острое (однократное) введение, дозы 200, 400 и 600 мг/кг, хроническое введение – 5 дней по 300 мг/кг, $n = 34$) не оказало статистически значимого воздействия на АП и АПК. Дизоцилпин (МК-801, неконкурентный NMDA-антагонист) вводили однократно в дозах 0.1, 0.2 и 0.4 мг/кг ($n = 41$). МК-801 дозозависимо снизил интенсивность АП и вызвал у большинства животных “двухволновый паттерн” судорог, купировал АПК при меньшей дозе, чем судороги АП. АПК полностью отсутствовала уже при дозе 0.2 мг/кг, в то время как клонический компонент АП еще сохранялся. Таким образом, удалось показать “диссоциацию” АП и АПК. Предполагается, что хотя развитие АПК осуществляется под контролем дофаминергической нейромедиаторной системы, в ее экспрессии задействована также и глутаматергическая нейротрансмиссия.

Ключевые слова: аудиогенная эпилепсия, постиктальная катаlepsия, дизоцилпин, D-серин, глутаматергическая нейротрансмиссия, дофамин, крысы линии Крушинского-Молодкиной

DOI: 10.31857/S0044452924050081, **EDN:** XOUFEG

ВВЕДЕНИЕ

Клонико-тонический судорожный припадок при аудиогенной эпилепсии (АЭ) у крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ), начинается через 1–2 с после включения звука, с переходом в тоническую фазу припадка на 5–10 с. После выхода из аудиогенного припадка (АП) у крыс КМ развивается катаlepsическое состояние с характерным мышечным тонусом – “восковой гибкостью” – и арефлексией длительностью от 5 до 60 мин. Подобная аудиогенная постиктальная катаlepsия (АПК) наблюдается у крыс Вистар с АЭ, а также у черно-капюшонных крыс, селективированных на АЭ из популяции крыс Лонг-Эванс [1], однако у крыс этих групп АПК была выражена слабее.

Ранее было показано, что и выраженность, и длительность АПК у крыс разных генотипов зависели от интенсивности предшествующего припадка

АЭ [1]. Введение кофеина (антагониста аденозиновых рецепторов) крысам линии “0”, селективированной на отсутствие судорожного припадка в ответ на звук, приводило к проявлению у них аудиогенных припадков (и АПК). Снижение интенсивности припадка АЭ в ответ на введение антиэпилептического препарата леветирацетама крысам линии КМ, сопровождалось снижением интенсивности АПК [1].

У крыс КМ дофаминергическая система также отличается от животных без АЭ [2–4]. Вне приступа АЭ, уровни дофамина и ДОФУК у крыс линии КМ были достоверно выше, чем у контрольных крыс Вистар. Этот факт был также подтвержден в экспериментах с прижизненным микродиализом – реакции нейронной системы стриатума крыс КМ и Вистар на введение амфетамина и раклоприда обнаружили достоверно разную динамику [5]. Развитие “нейролептической” катаlepsии сопровождается повышением уровней ДА и ДОФУК [5, 6]. Кроме того, нейролептическая катаlepsия развивается у крыс линии КМ при значительно меньших

Сокращения: АП – аудиогенный судорожный припадок, АЭ – аудиогенная эпилепсия, АПК – аудиогенная постиктальная катаlepsия, КМ – линия крыс Крушинского-Молодкиной.

дозах галоперидола, чем у крыс Вистар и Лонг-Эванс-селекция. Косвенным подтверждением измененного дофаминергического статуса крыс линии КМ является фоновая каталепсия у 32% животных [7].

Нами было выдвинуто предположение о том, что глутаматергическая и дофаминергическая системы базальных ганглиев (стриатума) при развитии АПК действуют взаимосвязанно. В связи с этим были проведены эксперименты с введением D-серина и МК-801 крысам КМ. D-серин — агонист глицинового стрихнин-нечувствительного модуляторного сайта, который ассоциирован с NMDA-рецептором [8]. Данные о взаимодействии D-серина с эффектами введения МК-801 противоречивы. D-серин не усиливал противосудорожного действия МК-801 при судорогах, вызванных электростимуляцией [9], однако совместно с саркозином (ингибитором обратного захвата глицина) он противодействовал противосудорожному эффекту МК-801 [10]. Проконвульсивное действие D-серина показано и на других моделях эпилепсии [11]. МК-801 (дизоцилпин, неконкурентный NMDA-антагонист), обладает противосудорожным эффектом, что было показано на крысах GEPR и при АП, вызванных метафитом [12, 13]. Известно, что МК-801 при введении в стриатум, в субталамическое ядро, или в ретикулярную часть черной субстанции предотвращает галоперидоловую каталепсию и каталептогенный эффект от хронического введения раклоприда и SCH 23390 [14, 15]. Иными словами, МК-801 обладает и антиконвульсивным действием и подавляет нейролептическую каталепсию. Обнаруженные в настоящей работе эффекты МК-801 могут предоставить информацию о связи развития АПК и судорог при АЭ у крыс линии КМ.

Целью настоящей работы было изучить роль глутаматергической нейромедиаторной системы мозга в проявлении аудиогенного судорожного припадка и постиктальной каталепсии крыс линии КМ, проанализировав эффекты таких препаратов, как D-серин и дизоцилпин, что будет сделано впервые.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные животные

Работа проведена на крысах-самцах инбредной линии КМ в возрасте 4 мес (лаборатория физиологии и генетики поведения, кафедра высшей нервной деятельности Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова). Число животных в сериях указано в таблицах 1 и 3 ($n = 100$). Крысы содержались в пластиковых клетках (46 x 30 x 16 см) по 6–7 животных в каждой со свободным доступом к воде и корму (фирма Лабораторкорм) с 12-часовым

световым режимом. Предварительной процедуры хэндлинга экспериментатором не проводилось.

Введение МК-801 в дозе 0.1 мг/кг представлено тремя экспериментальными группами крыс, т.к. результаты в этих группах не представляется возможным объединить в одну статистически.

Экспериментальные процедуры

Аудиогенная эпилепсия. Тестирование животных осуществляли в частично звукоизолированной пластиковой камере размером 40 x 30 x 50 см, интенсивность звука — 120 ± 2 дБ, звук оставляли включенным до максимального развития АП или, в случае его отсутствия, до 90 с (данное время выбрано экспериментально на основании данных по большой выборке животных) [1]. При этом вручную фиксировался латентный период (ЛП) начала припадка, его интенсивность, время наступления различных стадий и время “выхода из припадка” — когда животное становится двумя парами конечностей на опору. Предрасположенность к аудиогенной эпилепсии оценивали в условных баллах, где 0 — было отсутствие реакции, 1 — двигательное возбуждение (клонический бег), 2 — клонические судороги, 3 — клонико-тонические судороги, 4 — тонические судороги с экстензией конечностей. Отмечали также наличие или отсутствие “тормозной паузы” в фазе “клонического бега” (т.е. наличие двух “волн” двигательного возбуждения).

Тестирование каталепсии. После прекращения судорожного припадка животное тестировали на наличие АПК — передние лапы крысы осторожно приподнимали с помощью тонкого стержня, придавая животному вертикальную позу на задних лапках и фиксируя время сохранения этой позы. Тест повторяли трижды: 1) в первые пять минут после выхода из припадка, 2) с шестой по десятую минуту; 3) по истечении десятой минуты.

Фармакологические препараты. D-Серин — агонист глицинового сайта NMDA рецепторов (Sigma-ALDCH, Германия), вводили крысам КМ в/бр в дозах 200 мг/кг, 400 мг/кг и 600 мг/кг ($n = 34$).

Дизоцилпин — (МК-801), неконкурентный антагонист NMDA рецепторов (Sigma-ALDCH, Германия), вводили крысам КМ в/бр в дозах 0.1 мг/кг, 0.2 мг/кг и 0.4 мг/кг ($n = 41$).

Действие препаратов оценивали через 1 ч после введения. Разведение до необходимой концентрации производили дистиллированной водой.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью стандартного пакета программ Statistica 6.0. Учитывая малый размер экспериментальных групп, а также ненормальное распределение данных (проверка на нормальность проводилась с использованием критерия Колмогорова—Смирнова), использовались непараметри-

ческие критерии. Изменение показателей исследуемых групп по отношению к группе контроля оценивали с использованием критерия Манна–Уитни. Для оценки доли крыс демонстрирующих каталепсию использовали угловой тест Фишера “φ” для оценки долей альтернативного признака.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эффекты D-серина представлены в табл. 1 и 2. Хроническое введение D-серина (5 дней, в дозе 300 мг/кг) вызвало статистически незначимое (парадоксальное) ослабление интенсивности АП и увеличение его ЛП, что требует специального анализа. В то же время хроническое и острое введение D-серина увеличило долю животных, обнаруживших АПК, в более поздние периоды наблюдения, усилив и ее длительность, и интенсивность (данные различия были, однако, статистически незначимыми, т.к. статистически значимое усиление АПК, близкой по проявлению к 100%, было бы невозможным). Кроме того, при дозе D-серина 600 мг/кг у одного животного проявились миоклонические тикообразные судороги головы и конечностей. Хроническое введение D-серина (5 дней, доза 300 мг/кг) также вызвало у двух крыс тикообразные подергивания всего тела, а у одного животного обнаружилось затяжное двигательное возбуждение при выходе из припадка, что у крыс КМ в настоящий период селекции обнаруживается редко.

Эффекты дизоцилпина (МК-801). В 1-й серии экспериментов ($n = 9$) введение 0.1 мг/кг МК-801

практически полностью устранило АПК, но мало изменило собственно АП, (см. табл. 3 и 4). Во 2-й и 3-й сериях ($n = 8$ и $n = 5$) введение МК-801 вызывало увеличение ЛП припадков и снижение его интенсивности, с появлением “двухволновых” реакций на звук. При этом ослабленная АПК наблюдалось у 22.2 % в первой серии и у 40% крыс в 3-й серии опытов, при полном отсутствии во второй. Эти различия в результатах можно объяснить различной чувствительностью животных к препарату в его “пороговой” дозе [16]. При более высокой дозе МК-801 (0.2 мг/кг) каталепсия после АП отсутствовала полностью с сохранением судорожных компонентов АП (средний балл 2.3). При дозе 0.4 мг/кг введение МК-801 устраняло и судорожный компонент припадков. Установлено, что доза 0.4 мг/кг — относится к категории токсичных [16], что в наших экспериментах проявилось в виде нарушений мышечного тонуса, координации движений и появления двигательных стереотипий.

Таким образом, введение небольших доз МК-801 крысам линии КМ позволило наблюдать “диссоциацию” аудиогенного судорожного припадков и АПК, чего никогда не обнаруживали у интактных животных, а также не наблюдалось в столь выраженной форме при модуляции интенсивности АП другими фармакологическими препаратами.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Особенности дофаминергической системы мозга у крыс КМ (выявленные, в частности, в

Таблица 1. Показатели аудиогенного судорожного припадков в контроле (К) и после введения D-серина у самцов крыс КМ

Группа, доза (мг/кг)	Доля чувств. жив., %	ЛП АП, с	Ср. балл АП	Доля “двухв.” жив, %	Время выхода из припадков, с
К, $n = 25$	100	1.4 ± 0.1	4.0 ± 0.0	0	129.4 ± 8.8
D-серин, 200, $n = 7$	100	1.4 ± 0.3	4.0 ± 0.0	0	160.3 ± 17.3
D-серин, 400, $n = 5$	100	1.4 ± 0.3	3.8 ± 0.1	0	128.8 ± 6.3
D-серин, 600, $n = 10$	100	2.9 ± 1.1	3.8 ± 0.2	0	179.1 ± 17.8
D-серин, 300 хрон, $n = 12$	100	3.0 ± 0.8	3.4 ± 0.5	0	168.4 ± 22.7

n — число животных

Таблица 2. Постиктальная каталепсия в контроле (К) и после введения D-серина у крыс КМ, доля животных, %.

Группа, доза (мг/кг)	Наличие каталепсии после припадков в периоды:		
	1–5 мин	5–10 мин	10 мин и более
К, $n = 25$	100	80.0 ± 0.1	76.0 ± 0.1
D-серин, 200, $n = 7$	100	100	100
D-серин, 400, $n = 5$	100	100	100
D-серин, 600, $n = 10$	100	100	80.0 ± 0.1
D-серин, 300 хрон, $n = 12$	100	100	80.0 ± 0.1

Таблица 3. Показатели аудиогенного судорожного припадка у крыс линии КМ в контроле (К) и после введения МК-801

Группа, доза (мг/кг)	Nn	Доля чувствит. жив, %	ЛП АП, с	Ср. балл АП	Доля “двухв.” жив, %	Время выхода из припадка, с
К	25	100	1.4±0.1	4.0±0.0	0	129.4±8.8
МК-801, 0.1 мг/кг	9	88.9±0.1, <i>n</i> = 8	3.9±0.8*	3.2±0.4	0	165.9±33.5
	8	100	8.0±0.7***	2.5±0.3**	62.5±0.2***	121.8±24.1
	5	100	7.6±1.5***	1.4±0.4**	80.0±0.1***	—
МК-801, 0.2 мг/кг	8	87.5±0.11, <i>n</i> = 7	5.9±1.4***	2.3±0.4**	50.0±0.2***	123.5±28.2
МК-801, 0.4 мг/кг	11	54.6±0.2*, <i>n</i> = 6	15.3±3.2***	0.5±0.1***	0	—

n — число животных; * — статистически значимо отличается от показателей контрольной группы при $p < 0.05$, ** — $p < 0.01$, *** — $p < 0.001$.

Прим. Знак “—” в столбце “Время выхода из припадка” обозначает, что тонический компонент АП не развивался и определение времени выхода по стандартному протоколу (фиксация времени постановки всех конечностей на опору) не представлялось возможным.

Таблица 4. Постиктальная катаlepsия в контроле (К) и после введения МК-801 у самцов крыс КМ, доля животных, %

Группа, доза (мг/кг)	<i>n</i>	Наличие катаlepsии после АП в периоды:		
		Тест через 1–5 мин	Тест через 5–10 мин	Тест через 10 мин и более
К	25	100	80.0±0.1	76.0±0.1
МК-801, 0.1 мг/кг	9	22.2±0.1***	11.1±0.1***	11.1±0.1***
	8	0***	0***	0***
	5	40.0±0.2*	40.0±0.2	40.0±0.2
МК-801, 0.2 мг/кг	8	0***	0***	0***
МК-801, 0.4 мг/кг	11	0***	0***	0***

n — число животных; * — статистически значимо отличается от показателей контрольной группы при $p < 0.05$, *** — $p < 0.001$.

стриатуме) [4, 5] достаточно сложны, однако они указывают на то, что предрасположенность к АЭ — признак, затрагивающий многие структуры мозга, а не только участки ствола, критически важные для развития собственно АП. Статистически значимые межлинейные различия в величинах V_{max} , отражающих плотность мест специфического связывания и для дофаминовых (D2), и для глутаматных (NMDA) рецепторов, а также различия в динамике повышения уровня дофамина у КМ при введении амфетамина и раклоприда, по сравнению с крысами Вистар, возможно связаны со сниженным числом мест специфического связывания (D2 рецепторов) в этой структуре, и это может сказываться и на особенностях формирования АПК, точнее в различиях экспрессии АП и АПК.

Феномены нарушения мышечного тонуса — катаlepsию, ригидность и акинезию (при блокаде дофаминовой системы стриатума) можно снять ло-

кальным применением NMDA-антагонистов [17]. МК-801 (дизоцилпин) является наиболее сильным NMDA-антагонистом по степени воздействия на катаlepsию, вызванную галоперидолом [15]. Системно или локально введенные NMDA-антагонисты снижают симптомы катаlepsии, вызванные D2-антагонистами благодаря противоположно направленному действию D2 и NMDA рецепторов в стриатуме [18]. Антагонисты глицинового сайта снимают каталептогенное действие галоперидола при введении их в стриатум [19]. Отметим, что и в наших экспериментах NMDA-агонист D-серин усиливал АПК у крыс линии КМ. Характеристики специфического связывания лигандов с D2 и NMDA рецепторами в сопоставлении с межлинейными неврологическими особенностями (в нашем случае — с АЭ и постиктальной катаlepsией) практически не известны.

Можно предположить, что описанное в стриатуме снижение плотности рецепторов является компенсаторной down-регуляцией, которая способствует “переносимости” тяжелых аудиогенных приступов у крыс КМ. Иными словами, при селекции крыс линии КМ на высокую “аудиогенную” судорожную готовность, в процессе селекции в размножение отбирали тех особей (с АП), у которых имелись (вследствие естественной внутривидовой изменчивости) особенности глутаматергической системы.

Установлено, что D1-рецепторы расположены в основном на нейронах стрио-нигрального пути и возбуждают ГАМК-ергические эфференты, а D2-рецепторы расположены на нейронах непрямого пути через стриатум и ингибируют ГАМК-ергические пути [20]. Можно предположить, что такая координация в паттерне активации дофаминовых и NMDA-рецепторов и лежит в основе того, что МК-801 уже в дозе 0.1 мг/кг (в нашем эксперименте) значительным образом подавил проявление постиктальной каталепсии и полностью купировал ее в дозе 0.2 мг/кг, при которой судорожные компоненты АП у крыс КМ все еще сохранялись.

Отметим, что существуют вопросы, для ответа на которые именно АПК крыс линии КМ могла бы послужить продуктивной моделью. В частности, каким образом в неостриатум поступает информация о необходимости контроля АП (иными словами, почему АПК возникает после АП)? Еще вопрос — неостриатум получает глутаматергические афференты из новой коры, однако АП развивается при активации структур ствола мозга? Кроме того, известно, что инъекции NMDA в нижнее двухолмие в зависимости от дозы приводят либо к реакции замирания, либо к двигательному возбуждению. Механизм генерации данных реакций не вполне известен, однако показано, что при этом в стриатуме не происходит активации нейронов (по экспрессии гена *c-fos*) [21]. Такую реакцию замирания можно сопоставить с аудиогенной каталепсией (развивающейся после звука в отсутствие АП у ряда крыс Вистар, Wag/Rji и крыс линии “0”), и, вероятнее всего, она не гомологична АПК, однако так же, как и АПК, она потенцируется галоперидолом [7]. Отсутствие гомологии подтверждается и разной картиной формирования аудиогенной каталепсии и АПК в онтогенезе крыс Вистар (1–4 мес. жизни) [1] — последовательным снижением пенетрантности первой и повышением в случае последней.

Исходя из общих соображений, можно предположить, что как реакция замирания, так и реакция бегства (в том числе и АП) должны ослабляться или нивелироваться NMDA-антагонистами. И действительно — у крыс КМ купирование как АП, так и каталепсии, происходят в случае действия

МК-801. Однако если проявление АПК, вероятнее всего, происходит с участием стриатума, то для реакции замирания, вызванной введением NMDA в нижнее двухолмие, стриатум не является критической структурой [21].

Как уже упоминалось выше, предрасположенные к АЭ крысы (выведенные в разных лабораториях) обнаруживают отклонения в функции многих нейромедиаторных систем [22–27]. Это заставляет предполагать возможное существование некоего генетически детерминированного нарушения развития ЦНС, которое впоследствии выражается как во множественных нейрохимических отклонениях, так и в генезе аудиогенных судорог и последующей каталепсии. Сходный “рисунки” девиаций в связывании D2 и NMDA рецепторов у крыс линии КМ является косвенным подтверждением этого предположения и ставит задачу более подробного анализа данного феномена.

Следует отметить, что селекция крыс линии КМ по признаку аудиогенной эпилепсии привела к появлению у них множественных скоррелированных морфологических, нейрохимических и поведенческих изменений [28]. По всей видимости, к особенностям линии КМ следует отнести то, что помимо снижения плотности D2-рецепторов в стриатуме, в этой структуре на 40% снижена плотность и NMDA-рецепторов [4], что не вызывает удивления в связи с тем, что в стриатуме эти рецепторы взаимодействуют в опосредуемых эффектах. Особенно важным представляется тот факт, что эти соотношения выявлены при сравнении данных по КМ с показателями крыс линии “0” [29], т.е. крыс с генотипом, имеющим большую долю генетического фона, общего с линией КМ. В этом плане может показаться противоречивым тот факт, что у крыс КМ и линии “0” (а также линии “4”) имеется определенное сходство во взаимодействии состояния каталепсии после действия звука с галоперидоловой каталепсией. Возможно, что это противоречие можно объяснить тем, что мишенью галоперидола являются и D1-рецепторы. К сожалению, ни нейрохимических данных, ни данных по радиолигандному связыванию для рецепторов данной категории в применении к крысам этих генотипов нет.

Агонист глицинового сайта NMDA-рецептора D-серин, усиливает способность пентилентетразола индуцировать судороги и способен блокировать антиконвульсивный эффект неселективного антагониста глициновых рецепторов, кинурениновой кислоты против судорог, вызываемых NMDLA (рацемическая смесь NMDA) [8]. В наших экспериментах D-серин не усилил интенсивность АП у крыс линии КМ (она и без воздействия была максимальной), однако усилил проявление каталепсии в более поздние периоды наблюдения (различие

статистически незначимое, т.к. выраженность АПК у интактных крыс КМ также близка к максимальной). Эти данные согласуются с тем, что галоперидол-индуцированная каталепсия ингибируется рядом антагонистов глицинового сайта NMDA-рецептора, такими как MRZ 2/570, MRZ 2/571 и MRZ 2/576 [30]. Парадоксально, что при хроническом его введении D-серин несколько снизил интенсивность судорог (статистически незначимо), что можно объяснить десенситизацией этих рецепторов.

Как известно, острое и хроническое введение МК-801 (а также других NMDA-антагонистов) является моделью шизофреноподобного расстройства как у животных (крыс, мышей, птиц) так и у людей, вызывая социальный дефицит, проблемы с пространственным обучением, стереотипии и гиперлокомоцию [31, 32]. В нашем эксперименте аналогичные двигательные нарушения наблюдались при введении 0.4 мг/кг МК-801. Интересно, что мыши-нокауты по NMDAR-субъединице GluN1 рецептора в парвальбумин-позитивных интернейронах оказываются парадоксальным образом гиперсенситивизированы к шизофреноподобным эффектам МК-801, демонстрируя стереотипии и каталепсию [33].

Глутаматергическая система нижнего двуххолмия, критической структуры для инициации АП, вовлечена как в эпилептогенез, так и в патогенез двигательных нарушений. Так, через сутки после завершения семикратного ежедневного прозвания крыс линии КМ наблюдалось усиление глутаматергической трансмиссии в нижних буграх четверохолмия: повышался уровень активности ERK1/2-киназы и белка экзоцитоза синапсина 1, а также экспрессия VGLUT1 и VGLUT2 и синаптического белка SV2B [34].

Кроме того, микроинъекции МК-801 в нижние холмики снимают моторный дефицит, возникающий у мышей после терапии МРТР (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин) [35], а также каталепсию, вызываемую золпидемом (действующим на $\alpha 1$ -содержащие GABA рецепторы) [36]. Далее, было показано, что билатеральное введение NMDA в нижние холмики четверохолмия с последующей микроинъекцией галоперидола в дорсо-роstralный стриатум вызывает каталепсию (в то время как введение физраствора в нижние холмики в аналогичной ситуации не способно ее вызвать). В то же время, каталепсия, вызываемая микроинъекцией галоперидола в вентро-роstralный стриатум полностью предотвращается предварительным введением МК-801 в нижние холмики четверохолмия. Таким образом, глутаматергическая трансмиссия в нижних холмиках может значительным образом воздействовать на интрастриарную галоперидол-индуцированную каталепсию. То есть нижние

холмики, критическая структура для инициации АП, являются также важной структурой для сенсомоторной интеграции, в том числе, проявления каталептических реакций [37]. Это согласуется с нашими данными: препарат, снимающий АП у крыс линии КМ, снимает и АПК, находящуюся под дофаминергическим контролем. Хотя рассматривать каталепсию после АП как запредельное торможение с охранительной функцией, как это делали наши предшественники [38] было бы и не совсем верно, но определенная восстановительная функция, возможно, этому состоянию свойственна.

Обобщая наши данные, следует отметить, что на крысах линии КМ мы наблюдали потенцирование АПК NMDA-агонистом D-серином (хотя и статистически незначимое) и ее снятие NMDA-антагонистом МК-801, что также имеет место и в случае каталепсии, вызванной D2-антагонистами. Исследование влияния агонистов и антагонистов NMDA рецепторов на АП и АПК у крыс линии КМ было проведено впервые. Полученные данные позволили показать возможность “диссоциации” АП и АПК у крыс линии КМ, чего никогда не наблюдается у интактных животных [1]. Таким образом, АП *per se* не является достаточным условием для развития АПК. Можно предположить, что NMDA-антагонист МК-801 снимает каталептогенный эффект АП, опосредуемый D2-рецепторами стриатума крыс линии КМ.

ВЫВОДЫ

1. Введение D-серина не оказало статистически значимого воздействия на аудиогенный судорожный припадок и постиктальную каталепсию крыс линии КМ.
2. МК-801 в дозозависимой манере снизил интенсивность аудиогенного судорожного припадка и повысил его латентный период у крыс линии КМ.
3. Удалось показать “диссоциацию” аудиогенного судорожного припадка и постиктальной каталепсии. Аудиогенная постиктальная каталепсия была полностью купирована при дозе 0.2 мг/кг, в то время как клонический компонент аудиогенного судорожного припадка при этой дозе все еще сохранялся.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Н.М.С., И.Б.Ф., И.И.П.), сбор данных (Н.М.С., И.Б.Ф.), обработка данных (Н.М.С.), написание и редактирование манускрипта (И.И.П., Н.М.С.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032500080-8 и Междисциплинарной научной и образовательной Школой

Московского государственного университета “Мозг, Когнитивные системы, Искусственный интеллект”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Эксперименты, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по биоэтике Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, протокол N 12 от 12.03.2014 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Федотова ИБ, Сурина НМ, Маликова ЛА, Раевский КС, Поletaева ИИ (2008) Исследование изменений мышечного тонуса (катаlepsии), наступающих у крыс после аудиогенного судорожного припадка. Журн высшнervндeят 58(5):620–627. [Fedotova IB, Surina NM, Malikova LA, Raevskii KS, Poletaeva II (2008) The investigation of cataleptic muscle tonus changes in rats after audiogenic seizures. Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova 58(5): 620–627. (In Russ)].
2. Долина СА, Коган БМ, Тананова ГВ (1982) Содержание катехоламинов в стриатуме, гипоталамусе и надпочечниках крыс, генетически предрасположенных к судорожным припадкам. Бюл эксп биол мед 93(2): 12–14. [Dolina SA, Cogan BM, Tananova GV (1982) Catecholamine levels in the striatum, hypothalamus, and adrenals of rats with genetic predisposition to epileptic seizures. Biull Eksp Biol Med 93(2): 12–14. (In Russ)].
3. Косачева ЕС, Кудрин ВС, Федотова ИБ, Семиохина АФ, Раевский КС (1998) Влияние карбамазепина на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс с аудиогенной эпилепсией. Эксп клин фармакол 61(3): 25–27. [Kosacheva ES, Kudrin VS, Fedotova IB, Semiokhina AF, K S Raevskii KS (1998) The effect of carbamazepine on the content of monoamines and their metabolites in the brain structures of rats with audiogenic epilepsy Eksp Klin Farmakol 61(3): 25–27. (In Russ)].
4. Фирстова ЮЮ, Абаимов ДА, Сурина НМ, Поletaева ИИ, Федотова ИБ, Ковалёв ГИ (2012) Связывание специфических лигандов D2- и NMDA-рецепторами клеток стриатума крыс двух линий, контрастных по предрасположенности к аудиогенной эпилепсии. Бюлл Эксп Биол Мед 154 (8): 158–161. [Firstova YY, Abaimov DA, Surina NM, Poletaeva II, Fedotova IB, Kovalev IB (2012) Binding of specific ligand by D2- and NMDA-receptors of striatum cells in two rat strains predisposed and resistant to audiogenic seizures. Biull Eksp Biol Med 154(2):196–198. (In Russ)]. <https://doi.org/10.1007/s10517-012-1910-6>.
5. Сорокин АЯ, Кудрин ВС, Клодт ПМ, Туомисто Л, Поletaева ИИ, Раевский КС (2004) Межлинейные различия в эффектах амфетамина и раклоприда на активность дофаминергической системы в дорзальном стриатуме крыс линии КМ и Вистар (микродиализное исследование). Генетика 40(6): 846–849. [Sorokin AY, Kudrin VS, Klodt PM, Tuomisto L, Poletaeva II, Raevskii KS (2004) The interstrain differences in the effects of D-amphetamine and raclopride on dorsal striatum dopaminergic system in KM and Wistar rats (microdialysis study). Genetika 40(6): 846–849. (In Russ)].
6. Куликов АВ, Тихонова МА, Чузуй ВФ, Алехина ТА, Колпак ВФ, Попова НК (2004) Хроническое введение имипрамина снижает время застывания у крыс, генетически предрасположенных к катаlepsии. Бюлл эксп биол мед 138(4): 401–403. [Kulikov AV, Tikhonova MA, Chugui BF, Alekhina TA, Kolpakov VF, Popova NK (2004) Chronic administration of imipramine reduces the hardening time in rats genetically predisposed to catalepsy. Biull Eksp Biol Med 138(4):401–403. (In Russ)]. <https://doi.org/10.1007/s10517-005-0111-y>.
7. Сурина НМ (2011) Физиолого-генетическое исследование предрасположенности к катаlepsии. дисс канд биол наук: 03.03.01.— Моск. гос. университет, Москва, 2011 — 180 с. [Surina NM (2011) Fiziologo-geneticheskoe issledovanie predraspologennosti k katalepsii. PhD dissertation: 03.03.01.— Moscow State University, Moscow, 2011—180 p (In Russ)].
8. Singh L, Oles RJ, Tricklebank MD (1990) Modulation of seizure susceptibility in the mouse by the strychnine-insensitive glycine recognition site of the NMDA receptor-ion channel complex. Br J Pharmacol 99(2): 285–288.
9. Long KD, Mastroaolo J, Rosse RB, Deutsch SL (2007) Exogenously administered D-serine failed to potentiate the ability of MK-801 to antagonize electrically precipitated seizures in nonhandled control and stressed mice. Eur Neuropsychopharmacol 17(1): 53–57. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2006.02.007>.
10. Long KD, Mastroaolo J, Rosse RB, Manaye KF, Deutsch SL (2006) Modulatory effects of d-serine and sarcosine on NMDA receptor-mediated neurotransmission are apparent after stress in the genetically inbred BALB/c mouse strain. Brain Res Bull 69(6): 626–630. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2006.03.007>.
11. Liu YH, Wang L, Wei LC, Huang YG, Chen LW (2009) Up-regulation of D-serine might induce GABAergic neuronal degeneration in the cerebral cortex and hippocampus in the mouse pilocarpine model of epilepsy. Neurochem Res 34(7): 1209–1218. <https://doi.org/10.1007/s11064-008-9897-0>.
12. Debler EA, Lipovac MN, Lajtha A, Zlocovic BV, Dunlop DS, Jakobson AE, Rice KC, de Costa B, Reith ME (1993) Mephital — induced audiogenic seizures in mice: 1. Pharmacologic characterization. Epilepsia 34(2): 201–210.
13. Faingold CL, Randall ME, Naritoku DK, Boersma CA, Anderson CA (1993) Noncompetitive and competitive NMDA antagonists exert anticonvulsant effects by actions on different sites within the neuronal network for audiogenic seizures. Exp Neurol 119(2): 198–204.
14. Verma A, Kulkarni SK (1992) D1/D2 dopamine and NMDA receptor participation in experimental catalepsy in rats. Psychopharmacology (Berl) 109(4): 477–483.
15. Рукояткина НИ, Горбунова ЛВ, Гмиро ВЕ, Лукомская НЯ (2000) Способность антагонистов глутаматных рецепторов ослаблять экспериментальную катаlepsию

- у крыс. Росс Физиол Журн им ИМ Сеченова 86(6): 626–633. [*Rukoiatkina NI, Gorbunova LV, Gmiro VE, Lukomskaia NYa* (2000) Glutamate receptor antagonists attenuate experimental catalepsy in rats. Russ Fiziol J 86(6): 626–633. (In Russ)].
16. *De Sarro GB, De Sarro A* (1993) Anticonvulsant properties of non-competitive antagonists of the N-methyl-D-aspartate receptor in genetically epilepsy-prone rats: comparison with CPPene. *Neuropharmacology* 32(1): 51–58.
 17. *Calderon SF, Sanberg PR, Norman AB* (1988) Quinolinic acid lesions of rat striatum abolish D1- and D2- dopamine receptor-mediated catalepsy. *Brain Res* 450: 403–407.
 18. *Yoshida Y, Ono T, Kawano K, Miyagishi T* (1994) Distinct sites of dopaminergic and glutamatergic regulation of haloperidol-induced catalepsy within the rat caudate-putamen. *Brain Res* 639: 139–148.
 19. *Kretschmer BD, Winterscheid B, Danysz W, Schmidt WJ* (1994) Glycine site antagonists abolish dopamine D2 but not D1 receptor mediated catalepsy in rats. *J Neural Transm* 123–136.
 20. *Gerfen CR, Engber TM, Mahan LC, Sussel Z, Chase TN, Monsma FJ, Sibley DR* (1990) D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 250: 1429–1432.
 21. *Ferreira-Netto C, Borelli GK, Brandao ML* (2007) Distinct Fos expression in the brain following freezing behavior elicited by stimulation with NMDA of the ventral or dorsal inferior colliculus. *Exp Neurol* 204: 693–704. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.12.023>.
 22. *Lasley SM* (1991) Roles of neurotransmitter amino acids in seizure severity and experience in the genetically epilepsy-prone rat. *Brain Res* 560(1–2): 63–70. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)91215-m](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)91215-m)
 23. *Jobe PC, Dailey JW, Reigel CE* (1986) Noradrenergic and serotonergic determinants of seizure susceptibility and severity in genetically epilepsy-prone rats. *Life Sci* 39(9): 775–782. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(86\)90455-8](https://doi.org/10.1016/0024-3205(86)90455-8).
 24. *Jobe PC, Dailey JW* (2006) Genetically Epilepsy-Prone Rats (GEPRs) in Drug Research. *CNS Drug Rev* 6: 241–260. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2000.tb00150.x>
 25. *Jobe PC, Mishra PK, Browning RA, Wang C, Adams-Curtis LE, Ko KH, Dailey JW* (1994) Noradrenergic abnormalities in the genetically epilepsy-prone rat. *Brain Res Bull* 35(5–6): 493–504. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(94\)90163-5](https://doi.org/10.1016/0361-9230(94)90163-5).
 26. *Jobe PC, Dailey JW* (2006) Genetically Epilepsy-Prone Rats (GEPRs) in Drug Research. *CNS Drug Rev* 6: 241–260. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2000.tb00150.x>.
 27. *Garcia-Cairasco N, Umeoka EHL, Cortes de Oliveira JA* (2017) The Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain and its contributions to epileptology and related comorbidities: History and perspectives. *Epilepsy Behav* EB71:250–273. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.04.001>.
 28. *Poletaeva II, Surina NM, Kostina ZA, Perepelkina OV, Fedotova IB* (2017) The Krushinsky-Molodkina rat strain: The study of audiogenic epilepsy for 65 years. *Epilepsy Behav* 71(Pt B): 130–141. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.04.07>
 29. *Федотова ИБ, Костына ЗА, Сурина НМ, Поletaева ИИ* (2012) Селекция лабораторных крыс по признаку “отсутствие предрасположенности к аудиогенному судорожному припадку”. *Генетика* 48(6): 685–691. [*Fedotova IB, Kostina ZA, Surina NM, Poletaeva II* (2012) Laboratory rat selection for the trait “the absence of audiogenic seizure proneness”. *Genetika* 48(6): 685–691. (In Russ)].
 30. *Karcz-Kubicha M, Lorenz B, Danysz W* (1999) GlycineB antagonists and partial agonists in rodent models of Parkinson's disease – comparison with uncompetitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *Neuropharmacology* 38(1):109–119. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(98\)00165-8](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(98)00165-8).
 31. *Adell A* (2020) Brain NMDA Receptors in Schizophrenia and Depression. *Biomolecules* 10(6): 947. <https://doi.org/10.3390/biom10060947>.
 32. *Bae HJ, Bae HoJ, Kim JY, Park K, Yang X, Jung SY, Park SJ, Kim DH, Shin CY, Ryu JH* (2023) The effect of lansoprazole on MK-801-induced schizophrenia-like behaviors in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 120:110646. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2022.110646>.
 33. *Bygrave AM, Masiulis S, Nicholson E, Berkemann M, Barkus C, Sprengel R, Harrison PJ, Kullmann DM, Banerjee DM, Kätzel D* (2016) Knockout of NMDA-receptors from parvalbumin interneurons sensitizes to schizophrenia-related deficits induced by MK-801. *Transl Psychiatry* 6(4):e778. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.44>.
 34. *Николаева СД, Никитина ЛС, Глазова МВ, Бахтеева ВТ, Черниговская ЕВ* (2024) Анализ состояния глутамат- и ГАМКергических нейронов нижних бугров четверохолмия крыс линии Крушинского-Молодкиной на ранних этапах эпилептогенеза. *Росс физиол журн им ИМ Сеченова* 110(3): 480–498. [*Nikolaeva SD, Nikitina LS, Glazova MV, Bakhteeva VT, Chernigovskaya EV* (2024) Analysis of the state of glutamate- and GABA-ergic neurons in the inferior colliculi of Krushinsky-Molodkina strain rats at early stages of epileptogenesis. *Russ Fiziol J* 110(3): 480–498. (In Russ)]. <https://doi.org/10.31857/S0869813924030108>.
 35. *Melo-Thomas L, Gil-Martínez AL, Cuenca L, Estrada C, Gonzalez-Cuello A, Schwarting RK, Herrero MT* (2018) Electrical stimulation or MK-801 in the inferior colliculus improve motor deficits in MPTP-treated mice. *Neurotoxicology* 65:38–43. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2018.01.004>.
 36. *Mierzejewski P, Kolaczowski M, Nowak N, Korkosz A, Scinska A, Sienkiewicz-Jarosz H, Samochowiec J, Kostowski W, Bienkowski P* (2013) Pharmacological characteristics of zolpidem-induced catalepsy in the rat. *Neurosci Lett* 556:99–103. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.10.011>.
 37. *Medeiros P, Viana MB, Barbosa-Silva RC, Tonelli LC, L Melo-Thomas L* (2014) Glutamatergic neurotransmission in the inferior colliculus influences intrastriatal haloperidol-induced catalepsy. *Behav Brain Res* 268:8–13. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.03.027>.
 38. *Прокопец ИМ* (1958) Экспериментальное исследование защитно-восстанавливающей роли функционального каталептоидного состояния. *Научн докл Высш Шк Биол наук Физиол биохим жив* 3: 84–89. [*Prokopets IM* (1958) An experimental study of the protective and restorative role of the functional cataleptoid state. *Nauchn dokl Vish Shkol Biol nauk Fiziol biohim zhivotn* 3: 84–89. (In Russ)].

GLUTAMATERGIC REGULATION OF THE AUDIOGENIC SEIZURES AND POSTICTAL CATALEPSY IN KRUSHINSKY–MOLODKINA STRAIN RATS: EFFECTS OF DIZOCILPINE AND D-SERINE

N. M. Surina^{a, #}, I. B. Fedotova^a and I. I. Poletaeva^a

^a*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

[#]*e-mail: Opera_ghost@inbox.ru*

The participation of the glutamatergic neurotransmitter system in the pathogenesis of audiogenic seizures (AS) and post-ictal catalepsy (PIC) in Krushinsky-Molodkina rats was analyzed. Effects of D-serine and disocilpine administration was investigated. In intact KM rats, the intensity of AS correlates with the duration of PIC. The administration of D-serine (acute administration, doses of 200, 400 and 600 mg / kg, as well as after chronic administration – 5 days of 300 mg / kg, $n = 34$) had no significant effect on AS and PIC. Disocilpine (MK-801, a non-competitive NMDA antagonist) was administered in an acute experiment at doses of 0.1, 0.2 and 0.4 mg/kg ($n = 41$). MK-801 dose-dependently reduced the intensity of AS and caused a "two-wave pattern" of seizures in the most of animals, and removed PIC at a lower dose than AS seizures. PIC was completely eliminated already at a dose of 0.2 mg/kg, while the clonic component of AS still persisted. Thus, it was possible to show the "dissociation" of AS and PIC. It is assumed that although dopaminergic control is involved in the mechanisms of PIC development, glutamatergic neurotransmission is also taking part in the PIC expression.

Keywords: audiogenic epilepsy, postictal catalepsy, dysocilpine, D-serine, glutamatergic neurotransmission, dopamine, Krushinsky-Molodkina strain rats