

Моделирование хронической эпилепсии на животных с помощью химических методов

Егорова Е.В.¹, Дмитренко Д.В.¹, Усольцева А.А.¹, Иптышев А.М.¹, Шнайдер Н.А.², Насырова Р.Ф.²

¹ Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

² Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева Россия, 192019, г. Санкт-Петербург ул. Бехтерева, д. 3

РЕЗЮМЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения, распространенность эпилепсии в мире высока: заболеваемость населения составляет около 0,5–1%. В 20–40% случаях из них, по данным различных источников, не удается достигнуть контроля над приступами стандартными способами лечения, что значительно ухудшает качество жизни пациента, повышает экономические затраты, ставит перед врачом сложную задачу в виде необходимости подбора оптимального лечения для снижения частоты приступов. Это объясняет актуальность создания новых и модификации классических противоэпилептических препаратов (ПЭП), а также поиска оптимальных и безопасных путей введения и доставки лекарственных средств. Для изучения механизмов действия ПЭП на различные пути эпилептогенеза используется моделирование судорожных припадков и хронической эпилепсии на животных, для этого применяются механические, физические, химические и генетические модели эпилепсии. В представленном обзоре обсуждаются химические модели хронической эпилепсии, которые сегодня наиболее часто используются в экспериментальной неврологии; приведены характеристики моделей, указаны их преимущества и недостатки; раскрыта специфика исследования, где модели могут быть использованы; рассмотрены шкалы оценки эпилептических приступов у животных.

Ключевые слова: эпилепсия, припадок, моделирование эпилепсии на мышах, химическая модель, пентилентетразол, пилокарпин, литий, каинат.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Егорова Е.В., Дмитренко Д.В., Усольцева А.А., Иптышев А.М., Шнайдер Н.А., Насырова Р.Ф. Моделирование хронической эпилепсии на животных с помощью химических методов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (4): 185–196. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-4-185-196>.

✉ Егорова Екатерина Вячеславовна, e-mail: Volka-katya@mail.ru.

УДК 616.853-036.12:57.084.1:57.044

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-4-185-196>

Modeling of chronic epilepsy in animals through chemical methods

Egorova E.V.¹, Dmitrenko D.V.¹, Usoltseva A.A.¹, Iptyshev A.M.¹, Shnayder N.A.², Nasyrova R.F.²¹ *Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Voyno-Yasenetsky KrasSMU)
1, P. Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation*² *Bekhterev National Medical Research Center (NMRC) of Psychiatry and Neurology
3, Bekhterev Str., St.-Petersburg, 192019, Russian Federation*

ABSTRACT

According to the World Health Organization, the prevalence of epilepsy in the world is high, at about 0.5–1% of the world's population. In 20–40% of cases, according to various sources, it is not possible with standard treatment methods to achieve control over attacks, which significantly impairs the patient's quality of life, increases economic costs, and poses a difficult task for the doctor to select the optimal treatment to reduce the frequency of attacks. This explains the urgency of creating new and modifying classical antiepileptic drugs (AEDs), as well as finding optimal and safe ways of administering and delivering the drugs. To study the mechanisms of AEDs' effect on various pathways of epileptogenesis, simulation of convulsive seizures and chronic epilepsy in animals is used; for this purpose, mechanical, physical, chemical, and genetic models of epilepsy are used. The present review discusses chemical models of chronic epilepsy, which are most often used in experimental neuroscience today. It also describes the characteristics, advantages and disadvantages of each of them, the specificity of the study where they can be used and the assessment scales for epileptic seizures in animals.

Key words: epilepsy, seizure, mouse epilepsy modeling, chemical model, pentylenetetrazol, pilocarpine, lithium, kainite.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

For citation: Egorova E.V., Dmitrenko D.V., Usoltseva A.A., Iptyshev A.M., Shnayder N.A., Nasyrova R.F. Modeling of chronic epilepsy in animals through chemical methods. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (4): 185–196. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-4-185-196>.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно определению Международной лиги по борьбе с эпилепсией (International League Against Epilepsy, ILAE), эпилепсия – это заболевание головного мозга, отвечающее следующим критериям: 1) не менее двух неспровоцированных (или рефлекторных) эпилептических приступов с интервалом более 24 ч; 2) один неспровоцированный (или рефлекторный) приступ и вероятность повторения приступов, близкая к общему риску рецидива (60%) после двух спонтанных приступов, в последующие 10 лет; 3) установленный диагноз эпилептического синдрома [1]. Базовой терапией для достижения контроля над эпилептическими приступами являются противоэпилептические препараты (ПЭП), число которых увеличивается по мере накопления знаний об эпилептогенезе и развития клинической фар-

макологии [2–4]. Оценку эффективности новых ПЭП на стадии доклинических исследований классически осуществляют на животных моделях эпилепсии и спровоцированных различными методами судорожных припадков. С этой целью используются различные методики: механические (травматизация структур центральной нервной системы, болевое воздействие); физические (звуковые и световые раздражения, гипертермия, воздействие электричеством); аппликации металлов (нанесение на поверхность коры головного или интрацеребральное введение соединений металлов: гидроксида алюминия, сульфата цинка, хлорида кобальта); химические методы; а также генетические модели эпилепсии [4, 5].

Высокую популярность в фундаментальной эпилептологии имеют киндлинг-модели эпилепсии (химические и электрические), когда раздражающий фактор воздействует на корковые нейроны

лабораторного животного многократно в пороговой дозировке, после чего его головной мозг способен генерировать патологическую синхронизацию в виде эпилептических разрядов без введения агента. При этом формируется устойчивое патологическое состояние стабильно повышенной судорожной готовности, сохраняющееся длительное время после отмены эпилептогенного стимула. В результате такого воздействия через определенное время эпилептические приступы на-

чинают развиваться сами по себе без воздействия провоцирующего фактора, который изначально запустил патологический процесс киндлинга. Такие животные модели позволяют изучать процессы, протекающие при хронической эпилепсии.

Наиболее экономичными и менее трудоемкими являются химические модели эпилепсии, позволяющие стандартизировать опыты, рассчитывая дозы вводимых фармакологических препаратов (табл. 1) [6–8].

Таблица 1
Table 1

Препараты для химических моделей эпилепсии Substances for chemical models of epilepsy		
Группа Group	Вещество Substance	Особенности применения Application features
Антагонисты гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) Gamma Aminobutyric Acid (GABA) antagonists	Бикукуллин, пикротоксин, бета-карболин, пенициллин G, коразол (пентилентетразол) Bicuculline, picrotoxin, beta-carboline, penicillin G, corazole (pentylenetetrazole)	Коразол – наиболее часто применяемый неконкурентный антагонист ГАМК _A -рецептора, который также обладает способностью активировать натриевые каналы нейронов Corazole is the most commonly used non-competitive antagonist of the GABA _A receptor, which also has the ability to activate sodium channels in neurons
Агонисты глутамата Glutamate antagonists	Кокаин, каиновая кислота, прокаин Cocaine, kainic acid, procaine	Плохо проникают через гематоэнцефалический барьер, поэтому применяются в форме аппликаций на поверхность головного мозга в определенной области They penetrate poorly through the blood-brain barrier, therefore, they are used in the form of applications on the surface of the brain in a certain area
M-холиномиметики M-cholinomimetics	Пилокарпин Pilocarpine	Применение ассоциировано с высокой смертностью животных, превышающей 50% Use is associated with high mortality among animals, exceeding 50%

КОРАЗоловая модель

Вещество коразолового ряда пентилентетразол (ПТЗ) – известный конвульсант, применяемый при животной модели эпилепсии, который моделирует как хроническую эпилепсию методом киндлинга, так и острые эпилептические приступы [9]. ПТЗ быстро проходит сквозь гематоэнцефалический барьер и вызывает судороги у различных лабораторных животных (мышей, крыс, кошек и приматов) при парентеральном введении. Механизм действия ПТЗ изучен недостаточно, но известно, что он приводит к изменениям в ГАМК-ергической и глутамат-ергической системах, а также в системе антиоксидантной защиты. ПТЗ действует через пикротоксиновый сайт ГАМКА-рецепторного комплекса, подавляя работу ГАМК-рецепторов и вызывая закрытие каналов для ионов хлора, что приводит к снижению гиперполяризации корковых нейронов и повышению их возбудимости. Предположительно, пикротоксин и другие схожие с ним лиганды, в том числе ПТЗ, связывают-

ся через канальную пору, образованную вторым трансмембранным доменом рецептора.

По механизму действия коразол отличается от пикротоксина и бикукуллина, которые также являются антагонистами ГАМК. Коразол способен взаимодействовать с двумя подклассами бензодиазепиновых рецепторов: бензодиазепиновые рецепторы 1-го типа участвуют в противосудорожном и анксиолитическом действии бензодиазепинов; бензодиазепиновые рецепторы 2-го типа индуцируют седативное действие и атаксию в ответ на применение бензодиазепинов. Вероятно, проконвульсантный эффект коразола связан с его конкурентным взаимодействием с бензодиазепиновыми рецепторами 1-го типа. Развитие судорожной активности сопровождается повышением внутриклеточной концентрации ионов кальция. Помимо клонического компонента при коразоловых судорогах наблюдается и тетанический компонент, связанный с действием препарата на нейроны спинного мозга.

При ПТЗ-киндлинге происходит уменьшение чувствительности ГАМКА-рецепторов и увеличение содержания самой ГАМК в центральной нервной системе, что приводит к снижению эффективности торможения. ПТЗ вызывает не только нарушение ГАМК-ергической системы, но и изменение плотности и чувствительности некоторых подтипов глутаматных рецепторов, а также увеличение содержания самого глутамата в гиппокампе [10]. Применение ПТЗ вызывает атрофию гиппокампа у крыс, после введения которого наблюдается селективная гибель нейронов и астроцитов в гиппокампе [11]. Большие дозы ПТЗ вызывают эпилептический статус, после которого в синапсах пирамидных клеток зоны СА1 гиппокампа индукция долговременной потенциации снижена по сравнению с контролем, тогда как кратковременная синаптическая активность увеличена [12]. Ослабление долговременной по-

тенциации обусловлено изменениями экспрессии NMDA рецепторов и (или) изменениями их субъединичного состава [13]. Как было показано методом полимеразной цепной реакции в реальном времени, через 3 ч после индукции судорог происходит существенное усиление экспрессии генов субъединиц GluN1 и GluN2A, что говорит об увеличении общего числа NMDA-рецепторов в гиппокампе. Через 24 ч наблюдается увеличение экспрессии мРНК GluN2B субъединицы, что является одной из причин уменьшения величины долговременной потенциации в синапсах гиппокампа после эпилептического статуса, вызванного ПТЗ [12].

При моделировании эпилепсии на животных ПТЗ используется в различных (субконвульсивных и конвульсивных) дозах, а тип и тяжесть индуцируемых эпилептических приступов зависят от дозы и пути введения ПТЗ (табл. 2) [14–16].

Таблица 2
Table 2

Дозы пентилентетразола для моделирования различных типов эпилептических приступов Doses of pentylentetrazole to model various types of epileptic seizures		
	Типы приступов Types of seizures	Доза и способ введения Dose and route of administration
Фокальные Focal	Фокальные Focal	Не вызывает N/A
	Билатеральные тонико-клонические с фокальным дебютом Bilateral tonic-clonic seizures with focal onset	80–90 мг/кг, подкожно или интраперитонеально 80-90 mg/kg, subcutaneous or intraperitoneal administration
Генерализованные Generalized	Тонико-клонические Tonic-clonic	25 мг/кг каждые 15 мин, интраперитонеально 25 mg/kg every 15 min, intraperitoneal administration
	Абсансы Absence seizures	10–20 мг/кг, интраперитонеально 10-20 mg/kg, intraperitoneal administration
	Миоклонические Myoclonic	Не вызывает N/A

Формирование модели хронической эпилепсии методом киндлинга происходит за счет введения субконвульсивных доз ПТЗ 24–35 мг/кг интраперитонеально через сутки или 1 раз в 2–3 дня. Этот метод прост и широко применяется в исследованиях патофизиологии эпилепсии и для доклинического скрининга противоэпилептических препаратов [17].

ПИЛОКАРПИНОВАЯ МОДЕЛЬ

Пилокарпиновая модель считается наиболее подходящей для моделирования височной эпилепсии. Пилокарпин – агонист мускариновых рецепторов, который используется для индуцирования эпилептического статуса за счет особенностей его влияния на центральную нервную систему, таких как гибель нейронов, реактивный глиоз и

ремоделирование синапсов. Литий в комбинации с пилокарпином потенцирует эпилептогенное действие пилокарпина и позволяет уменьшить дозы пилокарпина, необходимого для провокации эпилептического статуса. Поведенческие изменения, вызванные пилокарпином и литий-пилокарпином, у мышей сходные [18]. Поэтому наиболее востребованной в настоящее время является литий-пилокарпиновая модель (ЛПМ), при которой эпилептический статус достигается интраперитонеальным введением высоких доз пилокарпина (около 300 мг/кг). Предварительное ведение хлорида лития за 24 ч до применения пилокарпина потенцирует эпилептогенные свойства пилокарпина и позволяет снизить его дозировку в 10 раз.

Литий обладает нейропротективными свойствами, при этом не снижает глиальную акти-

вацию во время эпилептического приступа, вызываемую пилокарпином, и дает более низкую летальность животных. Это может использоваться как для моделирования эпилептического статуса, чтобы снизить долю гибели нейронов, так и для моделирования модели хронической эпилепсии на животных.

Преимущества ЛПМ эпилепсии: 1) более низкая летальность животных; 2) возможность моделирования повторяющихся эпилептических статусов в большем количестве раз; 3) возможность достоверной оценки эффективности фармакологических препаратов ввиду более сохранных структур головного мозга [19].

ЛПМ отличается отсутствием выраженных периферических холиномиметических эффектов пилокарпина, однако летальность лабораторных животных при применении данной модели эпилепсии превышает 50%. Кроме того, предварительное введение лития с последующим введением нескольких низких доз пилокарпина эффективно воспроизводит эпилептический статус и хроническую эпилепсию у крыс со значимо меньшим уровнем летальности, чем при использовании высокой дозы пилокарпина. Причины меньшей летальности животных при использовании такой методики неясны. Вероятно, повторное введение низких доз пилокарпина через определенные интервалы времени отражает «индивидуальное дозирование» в аспекте внутривидовых различий чувствительности головного мозга лабораторных животных к пилокарпину, что невозможно при однократном введении высокой дозы пилокарпина [20].

Локальное введение пилокарпина внутрь желудочков головного мозга или непосредственно в гиппокамп использовалось при изучении вызванной пилокарпиновыми судорогами динамики уровня аминокислот. В этих исследованиях не проводилось детального анализа поведенческих электрофизиологических и морфологических изменений потенциально эпилептогенных структур головного мозга, характерных для данной модели эпилепсии. Однако в 2002 г. М.А. Furtado показал, что интрагиппокампальное введение пилокарпина в дозе 2,4 мг/мл (в объеме 1,0 мл) вызывает эпилептический статус с нулевой летальностью. В данной модели эпилепсии также наблюдались спонтанные повторные судороги, параметры которых были сходны с теми, что были отмечены при системном введении пилокарпина [7, 21].

КАИНАТНАЯ МОДЕЛЬ

Каиновая кислота – агонист ионотропных глутаматных рецепторов КА (GluK), широко

представленных в регионе гиппокампа СА3 [22]. Введением каината, как локально (в желудочки мозга, интрагиппокампально в дозах 0,1–3,0 мкг для одного полушария), так и системно (обычно в дозах 15–30 мг/кг интраперитонеально), может быть вызван лимбический эпилептический статус. Однако данная экспериментальная модель часто ассоциирована с высоким уровнем летальности и малым числом животных с эпилептическими изменениями на выходе.

В 1998 г. J.L. Hellier и соавт. модифицировали каинатную модель эпилепсии, предложив многократное использование малых доз (5 мг/кг, интраперитонеально) каината. Эта модель отличается относительно меньшей летальностью лабораторных животных (15%), а практически все крысы (97%) демонстрируют спонтанные судороги в течение 2 мес и более [2].

Феноменология эпилептических приступов и стадийность развития хронической эпилепсии при использовании каинатной модели аналогичны пилокарпиновой. Хотя обе модели используются широко, но пилокарпиновая модель обладает некоторыми преимуществами по сравнению с каинатной, в том числе более предсказуемой биодоступностью препарата; большей вероятностью индуцирования эпилептического статуса [24]. В то же время каинатную модель считают более селективной, поскольку для нее менее характерны, хотя и не исключены, экстратемпоральные повреждения головного мозга (табл. 3) [5].

ОЦЕНКА ЭПИЛЕПТИЧЕСКИХ ПРИСТУПОВ

В ходе разработки и применения экспериментальной модели эпилепсии актуальным является вопрос о способе оценки силы эпилептических приступов в ходе нейроповеденческого тестирования лабораторных животных. Первой и наиболее широко применяемой стала шкала, предложенная R.J. Racine (1972) [23], которая включает следующие стадии эпилептогенеза, коррелирующие с изменениями на электроэнцефалограмме (ЭЭГ) (табл. 4).

Шкала R.J. Racine, в которой представлен количественно измеримый способ оценки силы индуцированных у животных эпилептических приступов, позволила изучить эпилепсию на ранее недоступном уровне (с использованием животных моделей) и стала основой для всех шкал, разработанных в дальнейшем. Поскольку данная шкала изначально разрабатывалась для оценки силы эпилептического приступа, вызванного электрическим раздражением амигдалы, были получены результаты, говорящие об отсутствии классических

Таблица 3
Table 3

Сравнительная характеристика основных химических моделей хронической эпилепсии Comparative characteristics of the main chemical models of chronic epilepsy				
Модель Model	Вещество Substance	Механизм Mechanism	Тип эпилептических приступов Seizure type	Преимущества и недостатки модели Advantages and disadvantages of the model
Коразоловая/ Пентилентетразоловая модель Corazole/ Pentylenetetrazole model	Пентилентетразол Pentylenetetrazole	<p>1. Вызывает изменения в ГАМК-ергической и глутамат-ергической системах, а также в системе антиоксидантной защиты:</p> <ul style="list-style-type: none"> – подавляет работу ГАМКА-рецепторного комплекса через взаимодействие с пикротоксиновым сайтом, ослабляя работу рецепторов и вызывая закрытие хлорных каналов; – уменьшение чувствительности ГАМК_A рецепторов; – изменение плотности и чувствительности некоторых подтипов глутаматных рецепторов; – увеличение содержания глутамата. <p>2. Действует на бензодиазепиновые рецепторы. Изменение экспрессии NMDA-рецепторов и (или) изменение их субъединичного состава; усиление экспрессии генов субъединиц GluN1 и GluN2A.</p> <p>3. Уменьшение величины долговременной потенциации в синапсах; увеличение экспрессии мРНК GluN2B субъединицы</p> <p>1. Causes changes in the GABA-ergic and glutamatergic systems, as well as in the antioxidant defense system:</p> <ul style="list-style-type: none"> – inhibits the functioning of the GABAA receptor complex through interaction with the picrotoxin site, suppressing the activity of receptors and causing closure of chloride channels; – decrease in the sensitivity of GABAA receptors; – changes in the density and sensitivity of some subtypes of glutamate receptors; – increase in the content of glutamate. <p>2. Impacts on benzodiazepine receptors.</p> <ul style="list-style-type: none"> – Changes in the expression of NMDA receptors and (or) changes in their subunit composition; increased gene expression of the GluN1 and GluN2A subunits. 3. Decrease in the long-term potentiation in synapses; increased GluN2B mRNA expression 	Хроническая эпилепсия / генерализованные типы приступов Chronic epilepsy / generalized seizures	Возможность создания различных животных моделей эпилепсии (эпилептический статус, хроническая эпилепсия, острые приступы), минимальная летальность животных / Плохо изучен механизм развития эпилептогенеза The possibility of creating various animal models of epilepsy (status epilepticus, chronic epilepsy, acute attacks), minimal animal mortality / The mechanism of development of epileptogenesis is poorly studied

Пилокарпиновая модель Pilocarpine model	Пилокарпин Pilocarpine	Агонист мускариновых рецепторов Muscarinic receptor antagonist	Эпилептический статус Status epilepticus	Моделирование височной эпилепсии; высокая биодоступность препарата; большая вероятность развития эпилептического статуса / Уровень летальности более 50% Modeling of temporal lobe epilepsy; high bioavailability of the drug; high probability of developing status epilepticus / Mortality rate over 50%
Литий-пилокарпиновая модель Lithium-pilocarpine model	Пилокарпин + Литий Pilocarpine + lithium	Литий: – потенцирует действие пилокарпина; – обладает нейропротективным эффектом Lithium: – potentiates the effect of pilocarpine; – has a neuroprotective effect	Эпилептический статус / хроническая эпилепсия Status epilepticus / chronic epilepsy	Моделирование височной эпилепсии; высокая биодоступность препарата; большая вероятность развития эпилептического статуса/Уровень летальности более 50% Modeling of temporal lobe epilepsy; high bioavailability of the drug; high probability of developing status epilepticus / Mortality rate over 50%
Каинатная модель Kainate model	Каиновая кислота Kainic acid	Потенцирует ионотропные глутаматные рецепторы КА (GluK) гиппокампа Potentiates ionotropic glutamate receptors KA (GluK) of the hippocampus	Лимбический эпилептический статус Limbic status epilepticus Хроническая Эпилепсия Chronic epilepsy	Более селективная модель, менее характерны экстратемпоральные осложнения, чем при пилокарпиновой модели/Малое количество животных с эпилептическими изменениями. A more selective model, extra-temporal complications are less characteristic than with the pilocarpine model / A small number of animals with epileptic changes. Меньшая летальность животных (15%) Lower mortality in animals (15%)

первой и второй стадий при электростимуляции гиппокампа [24]. Из-за того, что R.J. Racine использовал крыс в качестве экспериментальных животных, возникли проблемы при применении предложенной им шкалы в моделях эпилепсии, использующих другие виды животных. В связи с этим предложена шкала W.J. Loskota, разработанная для применения в моделях с использованием песчанок и включающая шесть стадий эпилептического приступа (см. табл. 4) [25].

Больше вопросов возникает при использовании шкалы R.J. Racine при оценке эпилептиче-

ских приступов в моделях эпилептогенеза, не связанных с электростимуляцией структур лимбической системы. Так, эта классическая шкала была отвергнута при изучении аудиогенных вторично генерализованных эпилептических приступов. Вместо нее была предложена шкала, включающая девять стадий [26]. Кроме того, была разработана модель кластерного анализа для оценки аудиогенных эпилептических приступов, учитывающая вероятностные отношения между их различными поведенческими проявлениями (см. табл. 4) [27].

Таблица 4
Table 4

Шкалы оценки эпилептических приступов на животных моделях Scales for assessing epileptic seizures in animal models			
Шкала Scale	Оценка Assessment		Автор Author
	Стадия Stage	Описание Description	
R.J. Racine	0	Отсутствие изменений в поведении No changes in behavior	R.J. Racine, V. Okujava, S. Chipashvili, 1972
	1	Животное неподвижно, непроизвольные движения мордочки и рта The animal is motionless, involuntary movements of the snout and mouth	
	2	Кивание головой Head nodding	
	3	Клонус передних конечностей, «лордотическая поза» – выгибание спины Clonus of the forelimbs, «lordotic posture» – back arching	
	4	Клонус передних конечностей с их разведением и падениями Clonus of the forelimbs with their spreading and falls	
	5	Генерализованная тонико-клоническая активность с потерей постурального тонуса, спонтанные прыжки. Часто заканчивается смертью животного Generalized tonic-clonic activity with loss of postural tone, spontaneous jumps. Often ends with death of the animal.	
W.J. Loskota	0	Отсутствие изменений в поведении No changes in behavior	W.J. Loskota, P. Lomax, 1974
	1	Животное движется, подергивания усов и ушей The animal moves, with twitches of the whiskers and ears	
	2	Неподвижность животного, подергивания усов и ушей The animal is motionless, with twitches of the whiskers and ears	
	3	Неподвижность животного с миоклоническими подергиваниями The animal is motionless, with myoclonic twitches	
	4	Тонико-клонические приступы (включающие тонико-клонические приступы в положении на боку и(или) спонтанные прыжки) Tonic-clonic seizures (including tonic-clonic seizures when lying on the side and(or) spontaneous jumps)	
	5	Тонико-клонические приступы (включающие тонико-клонические приступы с подергиванием усов и ушей, разведением конечностей и падением на спину, приступы в положении на боку, животе) Tonic-clonic seizures (including tonic-clonic seizures with twitches of the whiskers and ears, spreading of limbs and falling on the back, seizures when lying on the side and stomach)	
	6	Приступ, заканчивающийся смертью животного Seizure ending up with death of the animal	

Шкала Scale	Оценка Assessment		Автор Author
	Стадия Stage	Описание Description	
R.J. Racine (модификация) J. Racine (модификация)	0	Нормальное поведение без отклонений Normal behavior without deviations	Lüttjohann, P.F. Fabene, van G. Luijtelarvan, 2009
	1	Внезапное прекращение движения, лежа на животе Sudden cessation of motion when lying on the stomach	
	2	Кивки головы, миоклонус лица, передних или задних конечностей. Head nodding, myoclonus of the stout, forelimbs or hindlimbs	
	3	Миоклонический приступ всего тела, миклонические рывки, твердо приподнятый хвост Myoclonic seizure of the entire body, myoclonic jerks, high and stiff tail	
	4	Вытягивание, тонический припадок, падение набок Stretching, tonic seizure, falling on the side	
	5	Тонико-клонические приступы, падение на бок, спонтанные рывки и прыжки Tonic-clonic seizures, falling on the side, spontaneous jerks and jumps	
	6	Смерть животного Death of the animal	
W. Fischer	0	Отсутствие изменений в поведении No changes in behavior	W. Fischer, H. Kittner, 1998
	0,5	Слабое подергивание головы Weak twitches of the head	
	1	Подергивания ушей и мордочки Twitches of the ears and snout	
	1,5	Умеренные клонические подергивания передних конечностей Moderate clonic twitches of the forelimbs	
	2	Миоклонические подергивания тела, клонические движения передних конечностей без разведения Myoclonic twitches of the body, clonic movements of the forelimbs without spreading	
	2,5	Умеренные клонические подергивания передних конечностей, их неполное разведение Moderate clonic twitches of the forelimbs, their incomplete spreading	
	3	Тяжелые билатеральные клонические приступы (более 10 с) с их полным разведением (поза кенгуру) Severe bilateral clonic seizures (more than 10 sec) with complete spreading of the limbs (kangaroo posture)	
	3,5	Разведение конечностей и падение в дополнение к билатеральному клонусу передних конечностей Spreading of the limbs and falling in addition to bilateral clonus of the forelimbs	
	4	Генерализованные клонические приступы с разведением конечностей, падением, эпизодическими прыжками Generalized clonic seizures with limb spreading, falling and episodic jumps	
	4,5	Генерализованные тонико-клонические приступы с потерей лабиринтного рефлекса (тоническое разгибание передних конечностей) Generalized tonic-clonic seizures with loss of tonic labyrinthine reflex (tonic unbending of the forelimbs)	
5	Генерализованные тонико-клонические приступы и эпилептический статус (более 2 мин) Generalized tonic-clonic seizures and status epilepticus (more than 2 min)		

При изучении корреляции результатов определения стадии приступа по шкале R.J. Racine с данными электроэнцефалограммы в модели пилокарпин-индуцированного эпилептического статуса показана крайне слабая связь, особенно после провокации у животных эпилептического статуса [28].

Отдельно стоит обратить внимание на животную модель эпилепсии с использованием ГАМК-антагониста ПТЗ, которая совместно с использованием электрошоковой модели, является одной из наиболее часто применяемых при оценке эффективности ПЭП [29]. Показано, что классическая шкала R.J. Racine не способна достоверно отражать поведенческие проявления эпилептического приступа, индуцированного при использовании ПТЗ модели эпилепсии. В связи с этим была предложена модификация шкалы R.J. Racine, включающая шесть стадий (см. табл. 4) [17, 30].

Для оценки силы эпилептического приступа в моделях на крысах с ПТЗ-индуцированным эпилептогенезом также используется шкала W. Fischer, включающая пять основных стадий и подстадий, при учете которых число категорий в шкале увеличивается до 11, что дает ей большую чувствительность, но меньшую специфичность (см. табл. 4) [31].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, наиболее востребованными в фундаментальной эпилептологии являются химические модели эпилепсии как менее трудоемкие и менее затратные. Представленные способы моделирования эпилепсии на мышах используются для формирования хронической эпилепсии и эпилептического статуса. Каждый метод специфичен для определенного типа исследования. С помощью коразоловой модели можно исследовать генерализованные типы приступов, пилокарпиновая модель наиболее удобна при исследовании височной эпилепсии, каинатная модель индуцирует лимбический эпилептический статус.

К сожалению, в настоящее время нет высокоспецифичной шкалы для оценки эпилептических приступов у животных. Главным преимуществом классической шкалы R.J. Racine является ее широкое применение, позволяющее с легкостью сопоставлять результаты измерения силы эпилептического приступа, полученные в разных исследованиях. Однако обратной стороной является тот факт, что при существующем разнообразии экспериментальных моделей эпилепсии, классическая шкала R.J. Racine часто не способна

достоверно отразить силу эпилептического приступа у лабораторного животного, что ставит под вопрос и возможность сопоставления результатов, полученных с использованием разных моделей и протоколов. Оптимальным является поиск и использование шкал, которые доказали свою способность достоверно отражать силу индуцированных химическими триггерами эпилептических приступов в каждой конкретной модели.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Fisher R.S., Acevedo C., Arzimanoglou A. et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014; 55 (4): 475–482. DOI: 10.1111/epi.12550.
2. Hamada N.M., Ashour R.H., Shalaby A.A., El-Beltagi H.M. Calcitonin potentiates the anticonvulsant and antinociceptive effects of valproic pentylenetetrazole-kindled mice. *European Journal of Pharmacology*. 2018; 818: 351–355. DOI: 10.1016/ejphar.2017.11.003.
3. Народова Е.А., Шнайдер Н.А., Прокопенко С.В., Народова В.В., Народов А.А., Дмитренко Д.В. Эпидемиология фармакорезистентной эпилепсии у взрослых. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (3): 207–216. [Narodova E.A., Shnyder N.A., Prokopenko S.V., Narodova V.V., Narodov A.A., Dmitrenko D.V. Epidemiology of drug resistant epilepsy in adults. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (3): 207–216 (in Russ.)]. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-3-207-216.
4. Насырова Р.Ф., Сивакова Н.А., Липатова Л.В., Иващенко Д.В., Сосина К.А., Дроков А.П., Шнайдер Н.А. Биологические маркеры эффективности и безопасности противозэпилептических препаратов: фармакогенетика и фармакокинетика. *Сибирское медицинское обозрение*. 2017; 1 (103): 17–25. [Nasyrova R.F., Sivakova N.A., Lipatova L.V., Ivashchenko D.V., Sosina K.A., Drovok A.P., Shnyder N.A. Biological markers of the efficacy and safety of antiepileptic drugs: pharmacogenetics and pharmacokinetics. *Siberian Medical Review*. 2017; 1 (103): 17–25 (in Russ.)]. DOI: 10.20333/2500136-2017-1-17-25.
5. Калинина Д.С., Ганина О.Р., Вольнова А.Б., Журавин И.А. Патологические состояния мозга: использование животных моделей для исследования эпилепсии. *Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения*. 2014; 9 (1): 127–129. [Kaliniina D.S., Ganina O.R., Volnova A.B., Zhuravin I.A. Brain pathology conditions: research of epilepsy in animal models. *Health – the Basis of Human Potential: Problems and Ways to Solve Them*. 2014; 9 (1): 127–129 (in Russ.)].
6. Малышев С.М., Алексеева Т.М., Хачатрян В.А., Галагудза М.М. Негенетические экспериментальные модели эпилепсии *in vivo* и стимуляция блуждающего нерва. *Онкология. Трансляционная медицина*. 2018; 5 (3): 36–44. [Malyshev S.M., Alekseeva T.M., Khachatryan V.A., Galagudza M.M. Non-genetic *in vivo* experimental models of epilepsy and vagus nerve stimulation.

- Translational Medicine*. 2018; 5 (3): 36-44 (in Russ.)). DOI: 10.18705/2311-4495-2018-5-3-36-44.
7. Кашапов Ф.Ф. Модели эпилептиформной активности *in vivo*. *Apriori*. 2018; 1: 6. [Kashapov F.F. Models of epileptiform activity *in vivo*. *Apriori*. 2018; 1: 6 (in Russ.)].
 8. Kumar A., Sharma N., Bhardwaj M., Singh S. A review on chemical induced kindling models of epilepsy. *Journal of Veterinary Medicine and Research*. 2016; 3 (3): 1050.
 9. Dhir A. Pentylentetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. *Current Protocols in Neuroscience*. 2012; Chapter 9: Unit 9.37. DOI: 10.1002/0471142301.ns0937s58.
 10. ErgülErkeç Ö., Arthan O. Pentylentetrazole kindling epilepsy model. *Journal of the Turkish Chapter of ILAE*. 2015; 21 (1): 6–12. DOI: 10.5505/epilepsi.2015.08108.
 11. Akdogan I., Yonguc N.G. Experimental epilepsy models and morphologic alterations of experimental epilepsy models in brain and hippocampus. In: *Underlying Mechanisms of Epilepsy*. 2011; 269–282. DOI: 10.5772/19928.
 12. Постникова Т.Ю., Зубарева О.Е., Коваленко А.А., Ким К.Х., Магазаник А.Г., Зайцев А.В. Эпилептический статус вызывает нарушения синаптической пластичности в гиппокампе крыс, сопровождающиеся изменением уровня экспрессии NMDA-рецепторов. *Биохимия*. 2017; 82 (3): 418–428. [Postnikova T.Y., Zubareva O.E., Kovalenko A.A., Kim K.K., Magazanik L.G., Zaitsev A.V. Status epilepticus impairs synaptic plasticity in rat hippocampus and is followed by changes in expression of NMDA receptors. *Biochemistry*. 2017; 82 (3): 418–428 (in Russ.)].
 13. Bartlett T.E., Bannister N.J., Collett V.J., Dargan S.L., Massey P.V., Bortolotto Z.A., Fitzjohn S.M., Bashir Z.I., Collingridge G.L., Lodge D. Differential roles of NR2A and NR2B-containing NMDA receptors in LTP and LTD in the CA1 region of two-week old rat hippocampus. *Neuropharmacology*. 2007; 52 (1): 60–70. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2006.07.013.
 14. Klioueva I.A., van Luijtelaa E.L., Chepurnova N.E., Chepurnov S.A. PTZ-induced seizures in rats: effects of age and strain. *Physiol. Behav.* 2001; 72 (3): 421–426. DOI: 10.1016/s0031-9384(00)00425-x.
 15. Löscher W., Hönack D., Fassbender C.P. et al. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. III. Pentylentetrazole seizure models. *Epilepsy Res.* 1991; 8 (3): 171–189. DOI: 10.1016/0920-1211(91)90062-k.
 16. Chaisewikul R., Baillie N., Marson A.G. Calcium antagonists as an add-on therapy for drug-resistant epilepsy. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2001; (4). DOI: 10.1002/14651858.CD002750.
 17. Shimada T., Yamagata K. Pentylentetrazole-induced kindling mouse model. *J. Visualized Experiments*. 2018; 136: e56573. DOI: 10.3791/56573 (2018).
 18. Müller C.J., Bankstahl M., Gröticke I., Löscher W. Pilocarpine vs. lithium-pilocarpine for induction of status epilepticus in mice: development of spontaneous seizures, behavioral alterations and neuronal damage. *Eur. J. Pharmacol.* 2009; 619 (1–3): 15–24. DOI: 10.1016/j.ejphar.2009.07.020.
 19. Hong N., Choi Y.S., Kim S.Y., Kim H.J. Neuroprotective effect of lithium after pilocarpine-induced status epilepticus in mice. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 2017; 21 (1): 125–131. DOI: 10.4196/kjpp.2017.21.1.125.
 20. Ковалёв И.Г., Воронина Т.А., Литвинова С.А., Жмуренко Л.А., Мокров Г.В. Сравнение противосудорожных и мнемотропных свойств новых производных 4-фенилпирролидона, леветирацетама и пирацетама. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2017; 80 (6): 13–18. [Kovalev I.G., Voronina T.A., Litvinova S.A., Zhmurenko L.A., Mokrov G.V. Comparison of the anticonvulsant and mnemotropic properties of new derivatives of 4-phenylpyrrolidone, levetiracetam, and piracetam. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 2017; 80 (6): 13–18. (in Russ.)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2017-80-6-13-18.
 21. Furtado M. A., Braga G.K., Oliveira J.A., Del Vecchio F., Garcia-Cairasco N. Behavioral, morphologic, and electroencephalographic evaluation of seizures induced by intrahippocampal microinjection of pilocarpine. *Epilepsia*. 2002; 43 (5): 37–39. DOI:10.1046/j.1528-1157.43.s.5.41.x.
 22. Lévesque M., Avoli M., Bernard C. Animal models of temporal lobe epilepsy following systemic chemoconvulsant administration. *J. Neurosci. Methods*. 2016; 260: 45–52. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2015.03.009.
 23. Hellier J.L., Patrylo P.R., Buckmaster P.S., Dudek F.E. Recurrent spontaneous motor seizures after repeated low-dose systemic treatment with kainate: assessment of a rat model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* 1998; 31 (1): 73–84. DOI:10.1016/s0920-1211(98)00017-5.
 24. Leite J.P., Garcia-Cairasco N., Cavalheiro E.A. New insights from the use of pilocarpine and kainate models. *Epilepsy Res.* 2002; 50 (1–2): 93–103. DOI: 10.1016/s0920-1211(02)00072-4.
 25. Racine R., Okujava V., Chipashvili S. Modification of seizure activity by electrical stimulation. III. Mechanisms. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1972; 32 (3): 295–299. DOI: 10.1016/0013-4694(72)90178-2.
 26. McIntyre D.C., Poulter M.O., Gilby K. Kindling: Some old and some new. *Epilepsy Res.* 2002; 50 (1–2): 79–92. DOI: 10.1016/s0920-1211(02)00071-2.
 27. Loskota W.J., Lomax P., Rich S.T. The gerbil as a model for the study of the epilepsies. Seizure patterns and ontogenesis. *Epilepsia*. 1974; 15 (1): 109–119. DOI: 10.1111/j.1528-1157.1974.tb04000.x.
 28. Jobe P.C., Picchioni A.L., Chin A. Role of brain norepinephrine in audiogenic seizure in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1973; 184 (1): 1–10.
 29. Garcia-Cairasco N., Doretto M.C., Prado P., Jorge B.P.D., Terra V.C., Oliveira J.A. New insights into behavioral evaluation of audiogenic seizures. A comparison of two ethological methods. *Behav. Brain Res.* 1992; 48 (1): 49–56. DOI: 10.1016/s0166-4328(05)80138-x.

30. Phelan K.D., Shwe U.T., Williams D.K., Greenfield L.J., Zheng F. Pilocarpine-induced status epilepticus in mice: a comparison of spectral analysis of electroencephalogram and behavioral grading using the Racine scale. *Epilepsy Res.* 2015; 117: 90–96. DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2015.09.008.
31. Löscher W., Schmidt D. Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Res.* 1988; 2 (3): 145–181. DOI: 10.1016/0920-1211(88)90054-x.
32. Lüttjohann A., Fabene P.F., van Luijtelar G. A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats. *Physiol. Behav.* 2009; 98 (5): 579–586. DOI: 10.1016/j.physbeh.2009.09.005.
33. Fischer W., Kittner H. Influence of ethanol on the pentylenetetrazol-induced kindling in rats. *J. Neural. Transm.* 1998; 105 (10–12): 1129–1142. DOI: 10.1007/s007020050117.

Сведения об авторах

Егорова Екатерина Вячеславовна, аспирант, кафедра медицинской генетики и клинической нейрофизиологии, Институт последипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0001-7248-4946.

Дмитренко Диана Викторовна, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой медицинской генетики и клинической нейрофизиологии, Институт последипломного образования; руководитель неврологического центра эпилептологии, нейрогенетики и исследования мозга Университетской клиники, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0003-4639-6365.

Усолицева Анна Александровна, студент, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0002-9678-6719.

Иптышев Александр Максимович, студент, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0002-6025-7938.

Шнайдер Наталья Алексеевна, д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотрудник, отделение персонализированной психиатрии и неврологии, НМНЦ психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева, г. Санкт-Петербург. ORCID iD 0000-0002-2840-837X.

Насырова Регина Фаритовна, д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, науч. руководитель отделения персонализированной психиатрии и неврологии, НМНЦ психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева, г. Санкт-Петербург. ORCID iD 0000-0003-1874-9434.

(✉) Егорова Екатерина Вячеславовна, e-mail: Volkakatya@mail.ru.

Author information

Egorova Ekaterina V., Post-Graduate student, Department of Medical Genetics and Clinical Neurophysiology, Institute of Post-Graduate Education, Voyno-Yasenetsky KrasSMU, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7248-4946.

Dmitrenko Diana V., DM, Assistant Professor, Head of the Department of Medical Genetics and Clinical Neurophysiology, Institute of Post-Graduate Education, Voyno-Yasenetsky KrasSMU, Director of the Neurological Center for Epileptology, Neurogenetics and Brain Research of the University Clinic, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-4639-6365.

Usoltceva Anna A., Student, Voyno-Yasenetsky KrasSMU, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-9678-6719.

Iptyshev Alexander M., Student, Voyno-Yasenetsky KrasSMU, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-6025-7938.

Shnyder Natalia A., DM, Professor, Leading Researcher, Department of Personalized Psychiatry and Neurology, Bekhterev NMRC of Psychiatry and Neurology, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-2840-837X.

Nasyrova Regina F., DM, Principle Researcher, Scientific Supervisor, Department of Personalized Psychiatry and Neurology, Bekhterev NMRC of Psychiatry and Neurology, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-1874-9434.

(✉) Egorova Ekaterina V., e-mail: Volkakatya@mail.ru.

Received 01.02.2019

Accepted 12.09.2019

Поступила в редакцию 01.02.2019

Подписана в печать 12.09.2019