Гендерные различия в формировании эпилептической системы у самцов и у самок крыс в зависимости от стадий эстрального цикла на модели очаговой кобальтовой эпилепсии

Воронина Т. А., Литвинова С. А., Филатова Ю. Б.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Аннотация. В настоящей работе на модели очаговой кобальтовой эпилепсии изучены особенности формирования эпилептической системы у самцов и у самок крыс в зависимости от стадий эстрального цикла. Установлено, что у самцов крыс на стабильном этапе первой стадии развития эпилептической системы Эпи активность (число и длительность разрядов в минуту) наиболее выражена в контрлатеральной и ипсилатеральной коре, а у самок крыс ведущие структуры мозга, вовлекаемые в генерацию ЭпА, зависят от фаз эстрального цикла. В фазу диэструс2 у самок ведущей структурой, генерирующей ЭпА, как и у самцов, является контрлатеральная кора, а в фазы проэструс и эструс, которые характеризуются высоким содержанием половых гормонов, у самок наблюдается существенное преобладание ЭпА в латеральном гипоталамусе и дорзальном гиппокампе.

Ключевые слова: гендерные различия; самцы крыс; самки крыс; эстральный цикл; эпилептическая система; кобальтовая эпилепсия; ЭЭГ

Для цитирования:

Воронина Т. А., Литвинова С. А., Филатова Ю. Б. Гендерные различия в формировании эпилептической системы у самцов и у самок крыс в зависимости от стадий эстрального цикла на модели очаговой кобальтовой эпилепсии. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2021;(3):26–30. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-3-26-30>

Поступила: 26 ноября 2021 г. **Принята:** 03 декабря 2021 г. **Опубликована:** 15 декабря 2021 г.

Gender differences in the formation of the epileptic system in male and female rats depending on the stage of the estrous cycle on the model of focal cobalt epilepsy

Voronina TA, Litvinova SA, Filatova YuB

FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russia

Abstract. In this work, the features of the formation of the epileptic system in male and female rats, depending on the stages of the estrous cycle, were studied on the model of focal cobalt epilepsy. It was found that in male rats at the stable stage of the first stage of development of the epileptic system, Epi activity (the number and duration of discharges per minute) is most pronounced in the contralateral and ipsilateral cortex, and in female rats, the leading brain structures involved in the generation of EpA depend on the phases of the estrous cycle. In the diestrus2 phase, in females, the leading structure generating EpA, as in males, is the contralateral cortex, and in the proestrus and estrus phases, which are characterized by a high content of sex hormones, in females there is a significant predominance of EpA in the lateral hypothalamus and dorsal hippocampus.

Keywords: gender differences; male rats; female rats; estrous cycle; epileptic system; cobalt epilepsy; EEG

For citations:

Voronina TA, Litvinova SA, Filatova YuB. Gender differences in the formation of the epileptic system in male and female rats depending on the stage of the estrous cycle on the model of focal cobalt epilepsy. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2021;(3):26–30. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-3-26-30>

Received: November 26, 2021. **Accepted:** December 03, 2021. **Published:** December 15, 2021.

Введение / Introduction

Эпилепсия представляет собой гетерогенную группу заболеваний (около 40 форм), которые имеют различные клинические проявления. Эпилепсией страдают мужчины и женщины, дети, взрослые и пожилые люди, а поскольку эпилепсия является неврологическим расстройством, которое затрагивает гормональную сферу и может осложнять репродуктивное здоровье женщины [1–5], большое значение имеет исследование гендерных различий в патологии эпилепсии и особенностей действия противоэпилептических препаратов у мужчин и женщин. В экспериментальных исследованиях на самках животных показано, что в разные фазы менструального цикла наблюдается изменение нейрональной возбудимости и судорожной готовности, выброса нейромедиаторов, что связано, прежде всего, с колебаниями в секреции гонадотропинов в течение цикла [6–9]. Показано, что эстрогены являются про-

конвульсантами и усиливают судорожные состояния, а прогестерон оказывает противосудорожное действие [10–12]. У женщин с эпилепсией эпилептические припадки, связанные с менструальным циклом, составляют до 70 % приступов [13, 14].

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей формирования эпилептической системы у самцов и у самок крыс в зависимости от стадий эстрального цикла на модели очаговой кобальтовой эпилепсии.

Материалы и методы / Materials and methods

Животные / Animals. Исследование выполнено на аутбредных, половозрелых самках и самцах белых аутбредных крыс массой 250–290 г. (Питомник Филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России). Животные содержались в соответствии с СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству,

оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51. Организацию и проведение работы осуществляли в соответствии с Приказом Минздрава РФ №199н от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Проведение опытов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Стадии эстрального цикла у самок крыс определялись при исследовании вагинального мазка с выделением стадий: Диэструс1, Диэструс2, Проэструс и Эструс.

Моделирование кобальтовой эпилепсии проводили согласно методике, описанной ранее [15]. Крысам вживляли долгосрочные электроды в левую (ипсилатеральную) (ИК) и правую (контралатеральную) (КК) сенсомоторную кору, латеральный гипоталамус (ЛГТ) и дорзальный гиппокамп (ДГК). Операции по вживлению долгосрочных электродов в структуры мозга крыс осуществляли под хлоралгидратным наркозом (300 мг/кг) с помощью стереотаксического прибора по координатам атласа мозга крыс. Индифферентный электрод, используемый при монополярной записи, помещался в носовой кости черепа. Кортикальные электроды изготавливались из нихромовой проволоки диаметром 120 микрон, в лаковой изоляции. Кончик электрода зачищался. В качестве подкорковых электродов использовалась нихромовая проволока диаметром 70–90 микрон. Концы электродов припаивались к серебряным штырькам, которые крепились на поверхности черепа зубным висфат-цементом протакрилом. Запись биоэлектрической активности производилась в условиях свободного передвижения животного по экспериментальной камере. Для того, чтобы избежать артефактов от движения штырьков, использовались специальные пружинные контакты.

Эпилептогенный очаг создавали аппликацией порошка металлического кобальта на поверхность сенсомоторной области коры левого полушария мозга крыс (ипсилатеральная кора). С этой целью в кости черепа просверливалось трепанационное отверстие, в которое вводилась стеклянная канюля с порошком кобальта (диаметр канюли соответствовал диаметру отверстия и не превышал 1 мм). Канюля опускалась на поверхность коры (твёрдая мозговая оболочка предварительно вскрывалась тонкой инъекционной иглой). В развитии эпилептической системы, вызванной аппликацией кобальта на сенсомоторную кору мозга, выделяют несколько стадий. Основными из них являются: стадия формирования первичного и вторичного эпилептогенных очагов через 48 часов после операции, стадия генерализованной эпилептиформной активности (ЭпА) в различных структурах мозга со стабильным уровнем синхронизированных пароксизмальных разрядов на 6-й день после аппликации кобальта (вторая стадия развития ЭпА).

Регистрация ЭЭГ осуществлялась на 16-канальном нейрографе «Нейросенсор», работающем на базе IBM-PC. Параметры Эпи активности в структурах мозга были изучены на втором стабильном этапе первой стадии формирования эпилептической системы (на 3–4 сутки после наложения кобальта). Регистрировали число Эпи разрядов за минуту и их длительность в минуту в ипсилатеральной коре, контралатеральной коре, гиппокампе и гипоталамусе у самцов и самок крыс в различные фазы эстрального цикла.

Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента, а также компьютерных программ «Brainwin» и «Brainsys». Полученные результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение / The results of the study and their discussion

Эпилептическая активность (ЭПА) у самцов крыс / Epileptic activity (EPA) in male rats

Показано, что у самцов крыс с кобальтовой эпилепсией на втором стабильном этапе первой стадии развития эпилептической системы ЭпА наиболее выражена в электрокортикограммах — контралатеральной и ипсилатеральной коре, тогда как в подкорковых структурах — латеральном гипоталамусе и дорзальном гиппокампе эпилептиформная активность представлена в меньшей степени (рис. 1). Ведущие структуры генерации ЭпА у самцов по показателям числа и длительности разрядов в минуту располагаются следующим образом: контралатеральная кора = ипсилатеральная кора > гиппокамп = гипоталамус. Полученные данные свидетельствуют о том, что у самцов на втором стабильном этапе первой стадии развития эпилептической системы показатели ЭпА были выше в корковых структурах, чем в подкорковых структурах.

Эпилептическая активность (ЭПА) у самок крыс в различные фазы эстрального цикла / Epileptic activity (EPA) in female rats in various phases of the estrous cycle

Установлено, что в фазу диэструс2, в которой наблюдается минимальное содержание половых гормонов и которая соответствует фазе менструации у женщин, наблюдается существенное преобладание ЭпА в корковых структурах, а именно в контралатеральной коре и, в меньшей степени, в подкорковых структурах — дорзальном гиппокампе и латеральном гипоталамусе (рис. 2).

В противоположность этому, в фазы проэструс и эструс, которые характеризуются высоким содержанием половых гормонов, выявлено существенное преобладание ЭпА в подкорковых структурах — латеральном гипоталамусе (ЛГТ) и дорзальном гиппокампе (ДГК) по сравнению с корковыми структурами — ипси- и контралатеральной корой (рис. 2).

Рис. 1. Число и длительности разрядов за минуту в структурах мозга самцов крыс с кобальтовой эпилепсией на втором стабильном этапе первой стадии развития эпилептической системы

Fig. 1. The number and duration of discharges per minute in the brain structures of male rats with cobalt epilepsy at the second stable stage of the first stage of development of the epileptic system

Примечания: ИК – ипсилатеральная кора; КК – контралатеральная кора; ГПТ – латеральный гипоталамус; ГПК – дорзальный гиппокамп.

Notes: ИК – ipsilateral cortex; КК – contralateral cortex; ГПТ – lateral hypothalamus; ГПК – dorsal hippocampus.

Рис. 2. Эпилептическая активность (число разрядов в минуту и длительность разрядов в минуту) в различные фазы эстрального цикла в структурах мозга самок крыс с кобальт-индуцированной эпилепсией

Fig. 2. Epileptic activity (number of discharges per minute and duration of discharges per minute) in various phases of the estrous cycle in the brain structures of female rats with cobalt-induced epilepsy

Примечания: ИК – ипсилатеральная кора; КК – контралатеральная кора; ГПТ – латеральный гипоталамус; ГПК – дорзальный гиппокамп. Достоверность при $p < 0,05$: ^ – по соотношению Диэструс2–Диэструс1; # – по соотношению Диэструс1–Проэструс; ~ – по соотношению Диэструс1–Эструс; * – по соотношению Диэструс2–Проэструс, • – по соотношению Эструс–Диэструс2; & – по соотношению Проэструс–Эструс. Notes: ИК – ipsilateral cortex; КК – contralateral cortex; ГПТ – lateral hypothalamus; ГПК – dorsal hippocampus. Reliability at $p < 0.05$: ^ – by the ratio Diestrus2–Diestrus1; # – by the ratio Diestrus1–Proestrus; ~ – by the ratio Diestrus1–Estrus; * – by the ratio Diestrus2–Proestrus; • – by the ratio Estrus–Diestrus2; & – by the ratio Proestrus–Estrus.

В фазу диэструс1 ведущие структуры генерации ЭпА располагаются следующим образом: гиппокамп > гипоталамус ≥ ипсилатеральная кора > контралатеральная кора (рис. 2).

Таким образом на втором стабильном этапе первой стадии развития эпилептической системы у самцов Эпи активность наиболее выражена в электрокортикограммах – контралатеральной и ипсилатеральной коре, тогда как в подкорковых структурах – латеральном гипоталамусе и дорзальном гиппокампе – эпилептиформная активность представлена в меньшей степени.

У самок крыс формируются детерминантные эпилептические очаги не только в ипсилатеральной коре,

но и в контралатеральной коре и подкорковых структурах – латеральном гипоталамусе и дорзальном гиппокампе. Однако у самок крыс паттерны ЭпА (число и длительность разрядов в минуту) и ведущие структуры, вовлекаемые в генерацию ЭпА, зависят от фаз эстрального цикла. В фазу диэструс2, в которой наблюдается минимальное содержание половых гормонов, ведущей структурой, генерирующей ЭпА, как и у самцов, является контралатеральная кора, а в фазы проэструс и эструс, которые характеризуются высоким содержанием половых гормонов, наблюдается существенное преобладание ЭпА в подкорковых структурах – латеральном гипоталамусе и дорзальном гиппокампе.

Ранее было показано [16], что у самок крыс с кобальтовой эпилепсией достоверные колебания уровней ГАМК, глицина и таурина в зависимости от фаз эстрального цикла наблюдаются в контралатеральной коре; а наиболее выраженное снижение уровней аминокислот по сравнению с показателями ложнооперированных животных наблюдается в фазу диэструс2. Выявленные особенности формирования эпилептической системы у самцов и у самок крыс в зависимости от стадий эстрального цикла могут быть использованы для индивидуального подбора противоэпилептических препаратов для лечения некоторых форм очаговой эпилепсии у женщин.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания (проект № 0521-2019-0007) «Разработка средств лечения эпилепсии, болезни Паркинсона и аутизма на основе новых данных патогенеза заболеваний».

Financing. This work was carried out as part of the state assignment (project No. 0521-2019-0007) "Development of treatments for epilepsy, Parkinson's disease and autism based on new data on the pathogenesis of diseases".

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Воронина Татьяна Александровна
Автор, ответственный за переписку
 e-mail: voroninata38@gmail.com
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3566-6203>
 д. м. н., профессор, руководитель лаборатории психофармакологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Voronina Tatiana A.
Corresponding author
 e-mail: voroninata38@gmail.com
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3566-6203>
 Dr. Sci. (Med.), professor, Head of the Laboratory of Psychopharmacology FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Литвинова Светлана Александровна
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9139-2334>
 к. б. н., в. н. с. лаборатории психофармакологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Litvinova Svetlana A.
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9139-2334>
 PhD in Biology, Leading researcher Laboratory of Psychopharmacology FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Филатова Юлия Борисовна
 Лаборант исследователь лаборатории психофармакологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Filatova Julia B.
 Laboratory Research Assistant Laboratory of psychopharmacology FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Список литературы / References

1. Карлов В.А. Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин: руководство для врачей. Москва: Медицина; — 2019. — 893 С. [Karlov VA. Epilepsy in children and adult women and men: a guide for doctors. Moscow: Medicine; 2019. (In Russ).]
2. Авакян Г.Н., Воронина Т.А., Хромых Е.А. Эпилепсии. Патогенез. Патогенетическая терапия. Пособие для врачей. М.: 2007; 148 с. [Avakian GN, Voronina TA, Khromykh EA. Epilepsy. Pathogenesis. Pathogenetic therapy. Posobie dlya vrachev. Moscow: 2007. (In Russ).]
3. ВОЗ World Health Organization. International Classification of Functioning Disability and Health. 2017.
4. Hauser WF. The descriptive epidemiology of epilepsy. Epilepsy: translational, clinical and social aspects. Proceeding of the conference Moscow. 2013. p. 83–117.
5. Wolf P. Nosology of the epilepsies and its reflection in classification. Comprehensive Epileptology. Proceeding of the conference Saint Petersburg. 2011. p. 181–189

6. Ридер Ф.К., Воронина Т.А., Неробкова Л.Н., Бурд С.Г., Соломатин Ю.В., Калинина Т.С., Волкова А.В. Различная эффективность ламиктала у самок крыс на протяжении эстрального цикла. XII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». — Москва; 2005. — 55 с. [Reader FK, Voronina TA, Nerobkova LN, Burd SG, Solomatina YuV, Kalinina TS, Volkova AV. Different efficacy of lamictal in female rats during the estrous cycle. Russian National Congress "Man and Medicine". Russia, Moscow. 2005. p. 55. (In Russ).]
7. Сапронов Н.С., Федотова Ю.О., Гончаров Н.П. Половые гормоны и поведенческие реакции. *Вестник ПАМН*. 2001;12:29–34. [Sapronov NS, Fedotova YuO, Goncharov NP. Sex hormones and behavioral reactions. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2001;12:29–34. (In Russ).]
8. Herzog AG, Coleman AE, Jacobs AR, Klein P, Friedman MN, Drislane FW, Ransil BJ, Schomer DL. Interictal EEG discharges, reproductive hormones, and menstrual disorders in epilepsy. *Ann Neurol*. 2003 Nov;54(5):625–637. DOI: 10.1002/ana.10732.

9. Motta E. Epilepsy and hormones. *Neurol Neurochir Pol.* 2000;34 Suppl 1:31–33.

10. Foldvary-Schaefer N, Harden C, Herzog A, Falcone T. Hormones and seizures. *Cleve Clin J Med.* 2004 Feb;71 Suppl 2:S11–8. DOI: 10.3949/ccjm.71.suppl_2.s11.

11. Reddy DS, Castaneda DC, O'Malley BW, et al. Anticonvulsant activity of progesterone and neurosteroids in progesterone receptor knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;310:230–239. DOI: 10.1124/jpet.104.065268.

12. Reddy DS, Rogawski MA. Neurosteroid replacement therapy for catamenial epilepsy. *Neurotherapeutics.* 2009 Apr;6(2):392–401. DOI: 10.1016/j.nurt.2009.01.006.

13. Morrell MJ. Epilepsy in women. *Am Fam Physician.* 2002;66(8):1489–1494.

14. Herzog AG. Disorders of reproduction in patients with epilepsy: Primary neurological mechanisms. *Seizure* 2008;17(2):101–110. DOI: 10.1016/j.seizure.2007.11.025.

15. Воронина Т.А., Неробкова Л.Н. Методические рекомендации по доклиническому изучению противосудорожной активности лекар-

ственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Москва: 2012. с. 235–250. [Voronina TA, Nerobkova LN. Methodological recommendations for the preclinical study of anticonvulsant activity of drugs. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines, Moscow: 2012. pp. 235–250. (In Russ).].

16. Филатова Ю.Б., Авакян Г.Н., Воронина Т.А., Неробкова Л.Н., Клодт П.М., Кудрин В.С., Гайдуков И.А. Изменение содержания тормозных и возбуждающих аминокислот и эпилептической активности в структурах мозга самок крыс с кобальтовой эпилепсией в зависимости от фазы эстрального цикла. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния.* 2012;4(1):29–33. [Filatova YuB, Avakian GN, Voronina TA, Nerobkova LN, Klodt PM, Kudrin VS, Gaidukov IA. Changes in the levels of inhibitory and excitatory amino acids and neurophysiology characteristics in the brain structures of female rats with cobalt epileptogenic focus during different phases of the estrous cycle. *Epilepsy and paroxysmal states.* 2012;4(1):29–33. (In Russ).].