



# Оптимизация условий экспериментальных моделей, опосредованных нарушением ГАМК-ергической нейротрансмиссии

Шангин С. В.<sup>1</sup>, Мариевский В. Е.<sup>1</sup>, Вахитова Ю. В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», Москва, Российская Федерация

## Аннотация

**Актуальность.** Эпилепсия представляет собой одно из наиболее распространённых неврологических заболеваний, в основе которого лежит нарушение баланса между возбуждающей и тормозной нейротрансмиссией в центральной нервной системе. В связи с этим оптимизация условий используемых в настоящее время моделей судорог, отражающих патофизиологию эпилепсии, для оценки эффективности потенциальных лекарственных средств остаётся актуальной задачей экспериментальной фармакологии.

**Цель работы.** Оптимизация условий трёх экспериментальных моделей судорог, индуцированных внутривенным введением конвульсантов с различными механизмами действия, для последующей фармакологической оценки противосудорожной и просудорожной активностей.

**Материалы и методы.** Для индукции эпилепсии внутривенно в боковую хвостовую вену при постоянной скорости вводили пентилентетразол, бикикуллин или пикротоксин мышам ICR. Порог судорог определяли в соответствии с минимальной дозой конвульсантов. Клинические подергивания, генерализованные клонические судороги и генерализованные тонические судороги регистрировали с помощью видеокамеры с дальнейшей оценкой.

**Результаты.** По результатам экспериментов для моделей пентилентетразол-, бикикуллин- и пикротоксин-индуцированных судорог установлены оптимальные параметры введения, обеспечивающие воспроизводимость и чувствительность к противосудорожным препаратам. Оптимальность условий введения конвульсантов для моделей подтверждается демонстрацией дозозависимого противосудорожного эффекта диазепама, который статистически значимо повышает судорожный порог и замедляет развитие приступа во всех моделях судорог.

**Заключение.** В результате проведённого исследования были определены оптимальные условия введения конвульсантов с различными механизмами действия на трёх экспериментальных моделях судорог. Полученные результаты могут быть использованы для последующих доклинических исследований потенциальных соединений, обладающих противосудорожным действием.

**Ключевые слова:** эпилепсия; судороги; пентилентетразол; бикикуллин; пикротоксин; диазепам; мыши

## Для цитирования:

Шангин С. В., Мариевский В. Е., Вахитова Ю. В. Оптимизация условий экспериментальных моделей, опосредованных нарушением ГАМК-ергической нейротрансмиссии. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(4):32–41. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-4-32-41>. EDN: QRHZYM

**Поступила:** 16.11.2025. **В доработанном виде:** 16.12.2025. **Принята к печати:** 27.12.2025. **Опубликована:** 30.12.2025.

## The optimization of experimental models mediated by impaired gabaergic neurotransmission

Stanislav V. Shangin<sup>1</sup>, Valentin E. Marievskii<sup>1</sup>, Yulia V. Vakhitova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

## Abstract

**Relevance.** Epilepsy is one of the most common neurological diseases, which is based on a dysregulation of the balance between excitatory and inhibitory neurotransmission in the central nervous system. In this regard, the optimization of conditions for the currently used seizure models that reflect the pathophysiology of epilepsy, for the evaluation of the efficacy of potential drugs, remains a relevant task in experimental pharmacology.

**Objective.** Optimization of the conditions of three experimental seizure models induced by intravenous administration of convulsants with different mechanisms of action for subsequent pharmacological evaluation of anticonvulsant and pro-convulsive activities.

**Materials and methods.** Epilepsy was induced in ICR mice by intravenous administration of pentylenetetrazole, bicuculline, or picrotoxin into the lateral tail vein at a constant rate. The seizure threshold was determined as the minimum dose of convulsants. Clonic seizures, generalized clonic seizures, and generalized tonic seizures were recorded using a video camera with subsequent evaluation.

**Results.** Based on the experimental results, optimal administration parameters were established for models of pentylenetetrazole, bicuculline, and picrotoxin-induced seizures, ensuring reproducibility and sensitivity to anticonvulsants. The optimality of the convulsant administration conditions for the models is confirmed by the demonstration of a dose-dependent anticonvulsant effect of diazepam, which statistically significantly increases the seizure threshold and slows the development of a seizure in all models.

**Conclusion.** As a result of this study, the optimal conditions for the administration of convulsants with different mechanisms of action were determined for three experimental seizure models. The obtained results can be used for subsequent preclinical studies of potential compounds possessing anticonvulsant activity.

**Keywords:** epilepsy; seizures; pentylenetetrazole; bicuculline; picrotoxin; diazepam; mice

**For citations:**

Shangin SV, Marievskii VE, Vakhitova YuV. The optimization of experimental models mediated by impaired gabaergic neurotransmission. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(4):32–41. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-4-32-41>. EDN: QRHZYM

Received: 16.11.2025. Revision received: 16.12.2025. Accepted: 27.12.2025. Published: 30.12.2025.

**Введение / Introduction**

Эпилепсия представляет собой одно из наиболее распространённых хронических неврологических заболеваний, в основе патогенеза которого лежит нарушение баланса между возбуждающими и тормозными процессами в центральной нервной системе. Это нарушение приводит к возникновению повторяющихся непровоцируемых приступов, связанных с патологически повышенной и синхронной активностью нейронов [1]. Несмотря на значительный прогресс в фармакотерапии, существующие противоэпилептические препараты демонстрируют недостаточную эффективность в отношении примерно 30 % пациентов, формируя группу фармакорезистентной эпилепсии [2]. Учитывая хронический характер заболевания и необходимость длительного, зачастую пожизненного приёма лекарственных средств (ЛС), сохраняется потребность в разработке новых терапевтических агентов, обладающих не только повышенной эффективностью, но и улучшенным профилем безопасности и переносимости [3].

Доклинические исследования на животных моделях являются неотъемлемым этапом в решении этой задачи. Поскольку эпилептический приступ представляет собой сложное сочетание электрических, поведенческих, биохимических и молекулярных феноменов, экспериментальные модели позволяют воспроизводить ключевые аспекты патологии *in vivo* и всесторонне оценивать потенциальную эффективность новых соединений.

В данном исследовании оптимизировались условия введения конвульсантов с различными ГАМК-ергическими механизмами действия. Используемые конвульсанты вводились внутривенно с постоянной скоростью, что позволяет с высокой точностью и воспроизводимостью количественно оценивать судорожный порог, обеспечивая надёжную оценку противосудорожного потенциала исследуемых веществ. В отличие от других типов введения, при инфузии конвульсантов в хвостовую вену у животных последовательно проявляются различные типы судорог — от первичных клонических подергиваний до тонической экстензии задних конечностей с утратой рефлекса переворачивания, что обеспечивает определение влияния исследуемых в данных условиях соединений в каждом из судорожных проявлений [4]. Модель, индуцированная пентилентетразолом, считается хорошо воспроизводимой и надёжной в доклинической эпилептологии [5–7]. Модель на основе бикикуллина позволяет изучить эффекты, специфич-

чески связанные с конкурентным антагонизмом в отношении ортостерического сайта связывания ГАМК на ГАМК<sub>A</sub>-рецепторах [8]. Связываясь с этим сайтом, ВИС напрямую ингибирует взаимодействие с эндогенным медиатором, что приводит к стабилизации рецептора в закрытом состоянии [9], снижению частоты и времени открытия хлоридных каналов и, как следствие, к выраженному снижению тормозного контроля [10]. Модель с применением пикротоксина дополняет исследование, поскольку данный конвульсант действует как неконкурентный антагонист, связываясь непосредственно с внутриклеточной порой хлоридного канала ГАМК<sub>A</sub>-рецептора. Подобное влияние блокирует ионный ток, опосредованный ГАМК, и физически препятствует тормозной нейротрансмиссии, приводя к развитию судорог через механизм, отличный от ВИС [11]. Вышеописанные модели позволяют не только исследовать наличие потенциальных противосудорожных свойств, но также и просудорожное действие у изучаемых соединений.

Таким образом, целью работы является оптимизация условий трёх экспериментальных моделей судорог, индуцированных внутривенным введением конвульсантов с различными механизмами действия, для создания удобного инструмента фармакологической оценки потенциальной противосудорожной и просудорожной активности.

**Материалы и методы / Materials and methods**

**Животные/Animals.** Для исключения влияния на эффекты изучаемых соединений гормонального цикла, исследование выполнено на 146 мышцах-самцах ICR массой 22–28 г (питомник филиала «Столбовая» ФГБНУ «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (Московская область)). Животные имели ветеринарный сертификат и были адаптированы в виварии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», содержались в условиях вивария при температуре 20–22 °С, относительной влажности 30–70 % и 12-часовом световом цикле в пластиковых клетках по 6 особей. Мыши имели свободный доступ к воде и корму *ad libitum*. Эксперименты проводили во время световой фазы с 9.00 до 16.00.

Все экспериментальные процедуры были одобрены комитетом по биоэтике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». Все процедуры с лабораторными животными выполнялись в соответствии с россий-

скими и международными документами: Решением Совета ЕЭК №81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» от 03.11.2016, ГОСТом 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» от 20.11.2014 и Рекомендацией Коллегии ЕЭК от 14.11.2023 № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении Доклинических (неклинических) исследований».

**Реактивы/Reagents.** Диазепам (7-Хлор-1,3-дигидро-1-метил-5-фенил-2Н-1,4-бензодиазепин-2-он, АО «Органика», Новокузнецк, Россия), пентилентетразол (PTZ) (6,7,8,9-tetrahydro-5H-tetrazolo[1,5-a]azepine, Sigma Aldrich, Burlington, MA, США), бикуккуллин (BIC) ((+)-Bicuculline, Sigma Aldrich, Burlington, MA, США) пикротоксин (PIC) (picrotoxin, Sigma Aldrich, Burlington, MA, США). Растворители: полиэтилен гликоль 400 (ПЭГ 400, Sigma-Aldrich, Burlington, MA, США), диметилсульфоксид (ДМСО, Corning, Manassas, VA, США).

Для внутривенного введения использовали различные концентрации PTZ в физиологическом растворе; растворы BIC и PIC готовили с добавлением 50 мкл ДМСО, которые доводили до необходимой концентрации физиологическим раствором [12, 13]. Использование низких концентраций ДМСО для приготовления растворов для введения *in vivo* в концентрациях менее 1 % считается безопасным и не сказывающимся на показателях при моделировании острых судорог [14]. Растворы для внутрибрюшинного введения в необходимых дозах готовили непосредственно перед экспериментом. Диазепам растворяли в 20 % водном растворе ПЭГ 400 [15].

### Дизайн эксперимента / Experiment design

За 48 часов до начала проведения исследования животных перемещали в комнату, в которой должно проводиться исследование. Каждую мышшь взвешивали. В экспериментальные группы не включали животных с массами тел, отличающимися от средних значений. Далее животных маркировали, нанося порядковый номер на основании хвоста химически нейтральным маркером. Данные по нумерации животных вносили в программу «RandoMice v1.1.7» [16], в которой производили рандомизацию и включение животных в экспериментальные группы с учётом минимальных разбросов по массе тела.

Для внутривенного введения PTZ, BIC или PIC экспериментальных животных помещали в прозрачный бокс из плексигласа с отверстиями, обеспечивающими вентиляцию, удерживание за хвост и доступ к боковой хвостовой вене. Животное сохраняло подвижность в боксе. Иглу 27G с подсоединенной инфузионной канюлей вводили в боковую хвостовую вену [17], предварительно прогрев место введения

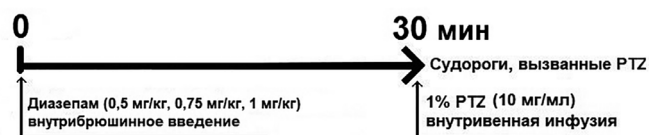
инфракрасной лампой в соответствии с рекомендациями [18]. PTZ, BIC или PIC вводили с постоянной скоростью с использованием контроллера «MD-1020-K BASi Bee Hive Controller 240V/50 Hz» и шприцевого насоса «MD 1001 BASi Bee Baby Bee syringe drive» (BASi Corporate Headquarters, West Lafayette, США). Точность попадания в вену и отсутствие тромбообразования оценивали по наличию крови в катетере. Порог судорог определяли в соответствии с минимальной дозой PTZ, BIC или PIC, вызывающей судороги. Введение прекращали в момент начала генерализованных тонических судорог. Клонические подергивания (КП), генерализованные клонические судороги (ГКС) и генерализованные тонические судороги (ГТС) регистрировали с помощью видеокамеры и оценивали в соответствии с ранее описанными критериями [19].

При определении оптимальных условий экспериментальной модели внутривенного введения PTZ, мышшь ICR случайным образом разделили на шесть групп с разными параметрами введения (доза, скорость введения) [20], которым предварительно вводили диазепам в одной дозе, обеспечивающей противосудорожное действие, или его растворитель:

- 20 % ПЭГ400, 1 % PTZ со скоростью введения 6 мкл/с ( $n = 8$ );
- 20 % ПЭГ400, 1 % PTZ со скоростью введения 12 мкл/с ( $n = 8$ );
- 20 % ПЭГ400, 0,5 % PTZ со скоростью введения 6 мкл/с ( $n = 8$ );
- диазепам 0,5 мг/кг, 1 % PTZ со скоростью введения 6 мкл/с ( $n = 8$ );
- диазепам 0,5 мг/кг, 1 % PTZ со скоростью введения 12 мкл/с ( $n = 8$ );
- диазепам 0,5 мг/кг, 0,5 % PTZ со скоростью введения 6 мкл/с ( $n = 8$ ).

Для установления дозы диазепама, обеспечивающей противосудорожное действие, в модели судорог, вызванных внутривенным введением PTZ, мышшь ICR случайным образом разделили на четыре группы, для каждой из которых использовали различные дозы диазепама или его растворитель (рис. 1):

- контрольная группа (20 % раствор ПЭГ400,  $n = 8$ );
- диазепам 0,5 мг/кг ( $n = 8$ );



**Рис. 1.** Схема введения диазепама при валидации экспериментальной модели внутривенного введения пентилентетразола мышам

**Fig. 1.** The scheme of diazepam administration in the validation of an experimental model of intravenous pentylentetrazole administration to mice

- диазепам 0,75 мг/кг ( $n = 8$ );
- диазепам 1 мг/кг ( $n = 8$ ).

На основе данных литературы [21] при определении оптимальных условий экспериментальной модели внутривенного введения PIC, мышей ICR случайным образом разделили на группы, отличающиеся параметрами введения (доза и скорость введения):

- 0,2 % PIC со скоростью введения 6 мкл/с ( $n = 8$ );
- 0,2 % PIC со скоростью введения 12 мкл/с ( $n = 8$ );
- 0,4 % PIC со скоростью введения 6 мкл/с ( $n = 8$ );
- диазепам (1 мг/кг) + 0,4 % PIC со скоростью введения 6 мкл/с ( $n = 10$ ).

На основе данных литературы [20], при определении оптимальных условий экспериментальной модели внутривенного введения VIC мышей ICR случайным образом разделили на группы, отличающиеся параметрами введения VIC (доза и скорость введения):

- 0,01 % VIC со скоростью введения 6 мкл/с ( $n = 9$  животных);
- 0,01 % VIC со скоростью введения 12 мкл/с ( $n = 8$  животных);
- 0,02 % VIC со скоростью введения 6 мкл/с ( $n = 9$  животных);
- диазепам (1 мг/кг) + 0,02 % VIC со скоростью введения 6 мкл/с ( $n = 8$ ).

**Статистическая обработка экспериментальных данных/Statistical processing of experimental data.** Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью программы GraphPad Prism 10.5.0. Статистическая обработка данных выполнена согласно Руководству по проведению доклинических исследований ЛС [22]. Нормальность распределения данных проверяли с использованием критерия Шапиро—Уилка. В случае нормального распределения данных для сравнения нескольких экспериментальных групп использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннету или Шидаку, а также Т-теста. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты / Results

После внутривенного введения PTZ у животных развивались судорожные проявления в следующей последовательности: КП, ГКС и ГТС.

В эксперименте по подбору условий на экспериментальной модели судорог для внутривенного введения определяли оптимальные условия скорости введения и концентрации PTZ. В качестве контроля к каждой экспериментальной группе с определёнными условиями использовалась группа животных, которым вводили диазепам в дозе 0,5 мг/кг при тех же условиях.

Показано, что при введении 1 % PTZ (10 мг/мл) со скоростью 12 мкл/с статистически достоверное увеличение судорожного порога на фоне диазепама проявлялось только на этапе ГКС ( $p = 0,036$ ) и составляло 18,9 % от соответствующего контроля (рис. 2).

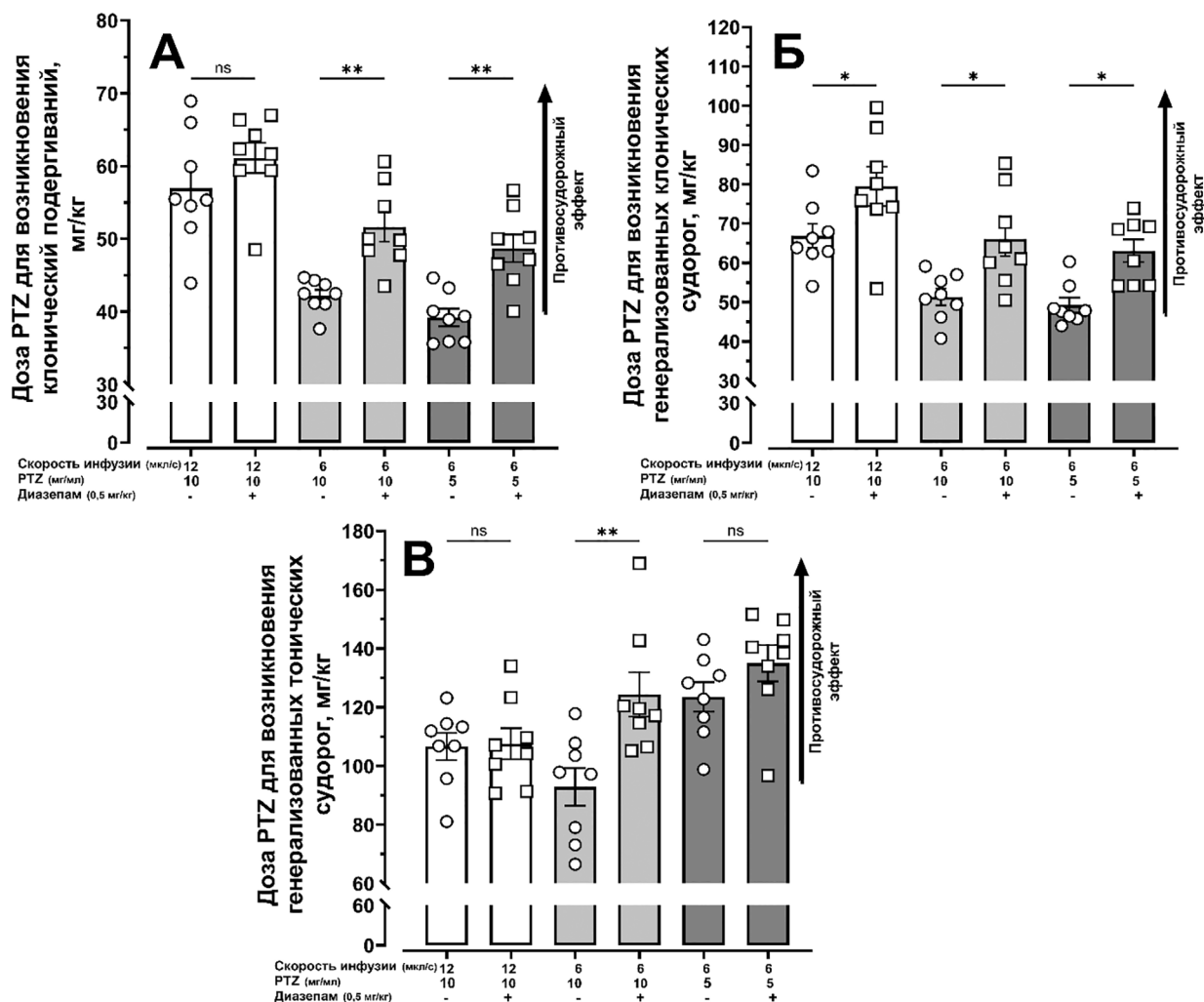
При КП и ГТС противосудорожный эффект составлял 7,3 и 0,9 % соответственно по отношению к контрольной группе. При введении 0,5 % PTZ (5 мг/мл) со скоростью 6 мкл/с статистически значимый противосудорожный эффект диазепама обнаруживался на этапе развития КП ( $p = 0,003$ ; 24,3 % от контроля) и при ГКС ( $p = 0,02$ ; 27,9 % от контроля) (рис. 2), тогда как при ГТС данный эффект составлял 9,3 % от контроля. При введении 1 % PTZ (10 мг/мл) со скоростью 6 мкл/с достоверное увеличение судорожного порога на фоне введения диазепама обнаруживалось во всех регистрируемых параметрах ( $p = 0,0035$ , 22,4 % от контроля для КП;  $p = 0,012$ ; 28,7 % от контроля для ГКС;  $p = 0,0015$ ; 34 % от контроля для ГТС) (рис. 2).

Таким образом, основываясь на полученных данных, релевантными параметрами условий для проведения последующих экспериментов являлось введение 1 % раствора PTZ (10 мг/мл) со скоростью 6 мкл/с в хвостовую вену.

В последующем мы определяли оптимальную дозу диазепама в диапазоне 0,5–1 мг/кг, оказывающую противосудорожное действие, для последующих исследований на данной модели, основываясь на литературных данных [23, 24]. При предварительном введении диазепама во всём диапазоне исследуемых доз обнаруживалось статистически значимое увеличение судорожного порога на каждом этапе развития судорожных проявлений. Однако в дозе 0,5 мг/кг диазепам снижал скорость возникновения судорог только на 30,9 % для КП ( $*p = 0,034$ ), на 49,3 % для ГКС ( $p = 0,028$ ) и на 42,2 % для ГТС ( $p = 0,018$ ) (рис. 3) по сравнению с контрольными значениями. При увеличении дозы диазепама до 0,75 мг/кг противосудорожный эффект составлял 34,8 % для КП ( $p = 0,015$ ), 62,4 % для ГКС ( $p = 0,005$ ), 48,3 % для ГТС ( $p = 0,006$ ) от контрольных значений. Максимальные значения судорожного порога были зарегистрированы у животных, которым вводили диазепам в дозе 1 мг/кг — 59,5 % КП ( $p < 0,0001$ ), 80,6 % для ГКС ( $p = 0,0003$ ) и 82,5 % для ГТС ( $p < 0,0001$ ) от контроля. Полученные результаты на данной модели подтверждают известное противосудорожное действие диазепама, проявляющееся дозозависимо в каждом из регистрируемых параметров ( $p < 0,0001$  для КП и ГТС,  $p = 0,0001$  для ГКС) (рис. 3).

Таким образом, на основе полученных результатов для исследований противосудорожной активности на данной модели была выбрана доза диазепама 1 мг/кг, демонстрирующая максимальный противосудорожный эффект.

С целью подбора условий эксперимента тестировались концентрации PIC 0,2–0,4 % и скорости внутривенного введения экспериментальным животным 6–12 мкл/с. Как и в экспериментах с PTZ, оценивались те же типы судорог: КП, ГКС и ГТС, и по мере введения препарата переходили из одной стадии в другую. В качестве параметра для выбора оптимальных усло-



**Рис. 2.** Подбор условий экспериментальной модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением пентилентетразола. (А) клонические судороги; (Б) генерализованные клонические судороги; (В) генерализованные тонические судороги

**Fig. 2.** Selection of conditions for an experimental model of seizures in mice caused by intravenous administration of pentylenetetrazole. (A) clonic seizures; (Б) generalized clonic seizures; (В) generalized tonic seizures

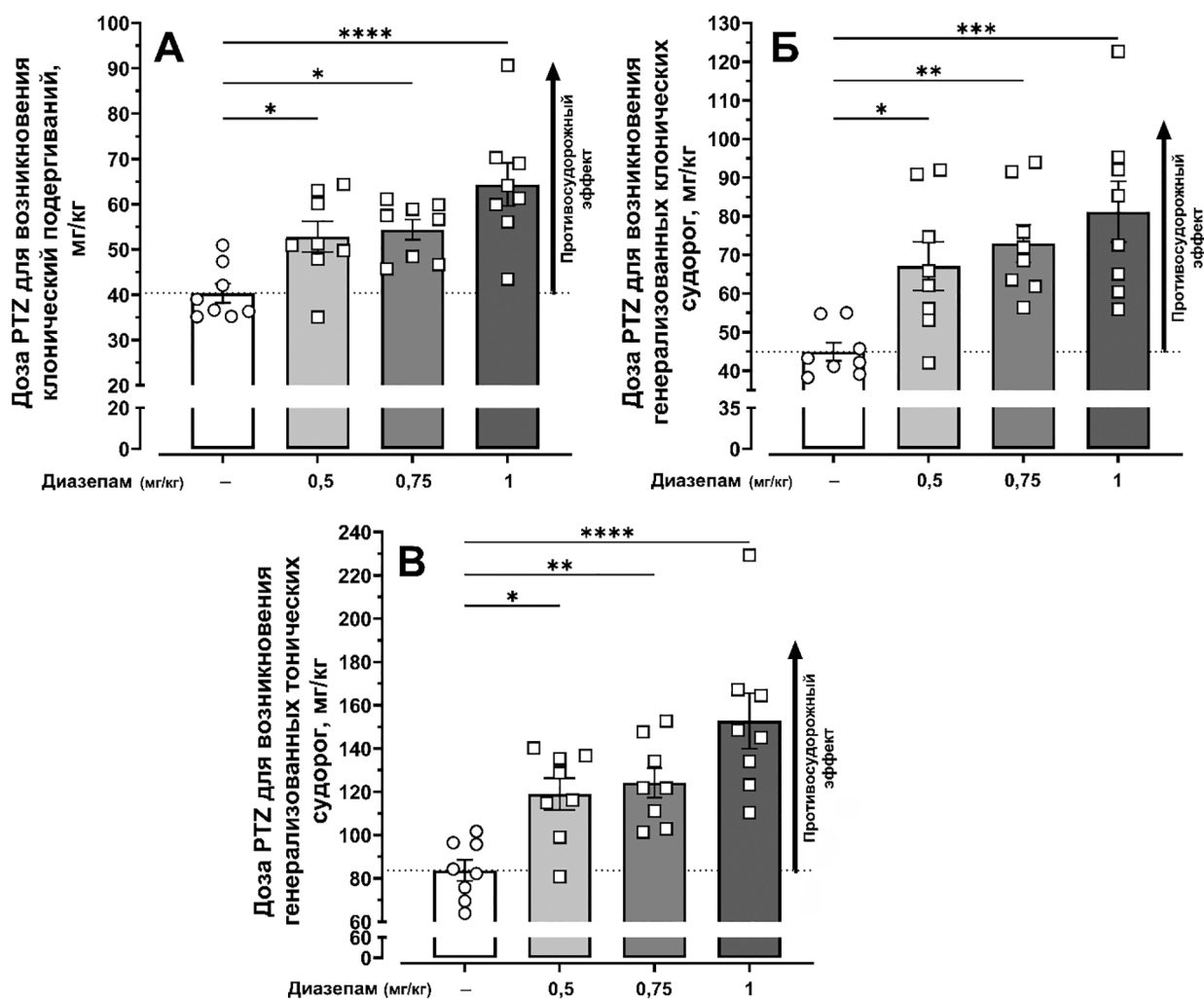
*Примечания:* Стрелка вверх указывает на то, что соединение повышает порог судорог и оказывает противосудорожное действие. Диазепам (0,5 мг/кг) или его растворитель вводили внутрибрюшинно за 30 минут до введения PTZ. Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  SEM. Статистически значимые различия по сравнению с соответствующими условиями и диазепамом (0,5 мг/кг) согласно одностороннему ANOVA с *post-hoc* тестом Шидака: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; ns — not significant.

*Notes:* The up arrow indicates, that the compound increases the seizure threshold and has an anticonvulsant effect. Diazepam (0,5 mg/kg) or its solvent was administered intraperitoneally 30 minutes before PTZ administration. The data are presented as standard deviation  $\pm$  SEM. Statistically significant differences compared with the corresponding conditions and diazepam (0,5 mg/kg) according to a one-way ANOVA with Shidak's *post-hoc* test: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; ns — not significant.

вий введения была выбрана длительность развития эффектов и, соответственно, дозы РИС, необходимые для развития регистрируемых эффектов.

Показано, что при одинаковой скорости введения (6 мкл/с) увеличение концентрации РИС с 0,2 до 0,4 % приводит к существенному повышению дозы, необходимой для возникновения судорог (для КП на 48,79 %, для ГКС на 36,38 %). Более концентрированный раствор РИС требует введения большей абсолютной дозы (в мг/кг) для достижения порогового уровня в мозге,

что, вероятно, связано с кинетикой распределения и достижения эффективной концентрации в области рецепторов. Сравнение групп при ГТС с одинаковой концентрацией (0,2 %), но разной скоростью (6 мкл/с и 12 мкл/с), показывает, что увеличение скорости введения также повышает пороговую дозу (на 7,37 % относительно 6 мкл/с), но этот эффект менее выражен, чем от изменения концентрации. При одинаковой концентрации (0,2 %) увеличение скорости инфузии с 6 мкл/с до 12 мкл/с приводит к резкому сокраще-



**Рис. 3.** Исследование противосудорожной активности диазепама на модели острых пентилентетразоловых судорог. (А) клонические судороги; (Б) генерализованные клонические судороги; (В) генерализованные тонические судороги

**Fig. 3.** Study of the anticonvulsant activity of diazepam on the model of acute pentylentetrazole seizures. (A) clonic seizures; (B) generalized clonic seizures; (B) generalized tonic seizures

*Примечания:* Стрелка вверх указывает на то, что соединение повышает порог судорог и оказывает противосудорожное действие. Диазепам (0,5; 0,75 и 1 мг/кг) или его растворитель вводили внутривентриально за 30 минут до введения PTZ. Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  SEM. Статистически значимые различия по сравнению с контролем согласно одностороннему ANOVA с *post-hoc* тестом Даннета: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

*Notes:* The up arrow indicates, that the compound increases the seizure threshold and has an anticonvulsant effect. Diazepam (0,5; 0,75 and 1 mg/kg) or its solvent was administered intraperitoneally 30 minutes before PTZ administration. The data are presented as standard deviation  $\pm$  SEM. Statistically significant differences compared with control according to a one-way ANOVA with Dunnett's *post-hoc* test: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

нию времени до развития всех стадий судорог, что соответствует общему увеличению концентрации конвульсанта в крови в два раза (КП на 43,31 %, ГКС на 37,27 %, ГТС на 43,65 %). При одинаковой скорости (6 мкл/с) увеличение концентрации с 0,2 до 0,4 % не приводит к однозначному изменению времени наступления эффекта. Однако пределы регистрации всех наблюдаемых судорожных эффектов в течение минуты позволяют обеспечивать точность и непре-

рывность внутривенного введения, а также возможность последующей фиксации как просудорожной, так и противосудорожной активности на данной модели (табл. 1). Таким образом, в последующих экспериментах на модели внутривенного введения PIC предполагаются параметры: концентрация PIC 0,4 %, скорость введения 6 мкл/с.

Предварительное введение диазепама в дозе 1 мг/кг в определённых экспериментальных условиях (0,4 %

Подбор условий для моделирования судорог при внутривенном введении пикротоксина

Table 1

Selection of conditions for seizures modeling with intravenous injection of picrotoxin

Группа	0,2 % PIC, 6 мкл/с	0,2 % PIC, 12 мкл/с	0,4 % PIC, 6 мкл/с	Диазепам 1 мг/кг 0,4 % PIC, 6 мкл/с
Доза PIC, вызывающая КП, мг/кг Среднее значение ± SEM	15,72 ± 0,76	16,51 ± 0,94	23,39 ± 1,55	24,75 ± 0,62 <i>p</i> = 0,39
Доза PIC, вызывающая ГКС, мг/кг Среднее значение ± SEM	23,31 ± 1,20	27,83 ± 1,42	31,79 ± 1,12	37,37 ± 1,62 <i>*p</i> = 0,016
Доза PIC, вызывающая ГТС, мг/кг Среднее значение ± SEM	30,39 ± 2,69	32,63 ± 1,59	39,71 ± 1,04	50,45 ± 1,84 <i>***p</i> = 0,0002
Время развития КП, с Среднее значение ± SEM	46,63 ± 2,01	25,50 ± 1,40	35,63 ± 1,99	38,80 ± 1,91 <i>p</i> = 0,27
Время развития ГКС, с Среднее значение ± SEM	68,75 ± 1,58	43,13 ± 2,45	48,50 ± 1,28	58,00 ± 1,83 <i>***p</i> = 0,0009
Время развития ГТС, с Среднее значение ± SEM	89,40 ± 6,55	50,38 ± 2,30	60,75 ± 1,81	78,50 ± 2,71 <i>****p</i> < 0,0001

*Примечания:* КП — клонические подергивания; ГКС — генерализованные клонические судороги; ГТС — генерализованные тонические судороги. Статистически значимые различия по сравнению с диазепамом (1 мг/кг) согласно Т-тесту: *\*p* < 0,05; *\*\*p* < 0,01; *\*\*\*p* < 0,001; *\*\*\*\*p* < 0,0001.  
*Notes:* КП — clonic seizures; ГКС — generalized clonic seizures; ГТС — generalized tonic seizures. Statistically significant differences compared with diazepam (1 mg/kg) according to the T-test: *\*p* < 0.05; *\*\*p* < 0.01; *\*\*\*p* < 0.001; *\*\*\*\*p* < 0.0001.

PIC со скоростью 6 мкл/с) при ГКС и ГТС оказывало значимый противосудорожный эффект (на 17,27 % для ГКС, *p* = 0,016; и на 27,05 % для ГТС, *p* = 0,0002, см. табл. 1) и замедляло прогрессирование судорожного приступа (на 19,59 % для ГТС, *p* = 0,0009; и на 28,21 % для ГТС, *p* < 0,0001, см. табл. 1), что указывало на релевантность условий данной модели и позволило её использовать для дальнейших экспериментов.

С целью подбора условий эксперимента тестировались концентрации ВИС 0,01–0,02 % и скорости внутривенного введения экспериментальным животным 6–12 мкл/с. В качестве параметра для выбора оптимальных условий введения была выбрана длительность развития эффектов и, соответственно, дозы ВИС, необходим для развития регистрируемых эффектов.

Показано, что при одинаковой скорости введения (6 мкл/с) увеличение концентрации ВИС с 0,01 до 0,02 % приводит к существенному снижению дозы, необходимой для возникновения судорог (для КП на 30,44 %, для ГКС на 30,59 %). Более концентрированный раствор ВИС требует введения меньшей абсолютной дозы (в мг/кг) для достижения порогового уровня в мозге, что указывает на более эффективное связывание с рецепторами при создании высокой локальной концентрации. Сравнение групп при ГТС с одинаковой концентрацией (0,01 %), но разной скоростью (6 мкл/с и 12 мкл/с), показывает, что увеличение скорости введения также снижает пороговую дозу (на 19,75 % относительно 6 мкл/с), причём этот эффект выражен значительно, чем на модели внутривенного введения PIC. При одинаковой концентрации (0,01 %) увеличение скорости инфузии с 6 мкл/с до 12 мкл/с

приводит к сокращению времени до развития всех стадий судорог (КП на 51,39 %, ГКС на 56,08 %, ГТС на 59,82 %). Аналогичный эффект наблюдался при увеличении концентрации с 0,01 до 0,02 % при одинаковой скорости 6 мкл/с (КП на 64,86 %, ГКС на 64,59 %, ГТС на 63,03 %). Сокращение времени развития судорог при использовании концентрации 0,02 % ВИС со скоростью 6 мкл/с делает данную комбинацию параметров оптимальной для создания релевантной и воспроизводимой экспериментальной модели. Таким образом, в последующих экспериментах на модели внутривенного введения ВИС предполагаются параметры: концентрация ВИС 0,02 %, скорость введения 6 мкл/с.

Предварительное введение диазепам в дозе 1 мг/кг в определённых экспериментальных условиях (0,02 % ВИС со скоростью 6 мкл/с) при КП, ГКС и ГТС оказывало значимый противосудорожный эффект (повышение пороговой дозы на 49,2 % для КП, на 42,50 % для ГКС, *p* = 0,012; и на 37,78 % для ГТС, *p* = 0,021) и замедляло прогрессирование судорожного приступа (увеличение времени развития на 45,06 % для КП, на 38,26 % для ГКС, *p* = 0,028; и на 36,85 % для ГТС, *p* = 0,034, табл. 2), что указывало на релевантность условий данной модели и позволило её использовать для дальнейших экспериментов.

**Заключение / Conclusion**

В результате проведённого исследования были успешно определены оптимальные условия для трёх экспериментальных моделей судорог, индуцированных внутривенным введением конвульсантов с различ-

**Подбор условий для моделирования судорог при внутривенном введении бихукуллина**

Table 2

**Selection of conditions for seizures modeling with intravenous injection of bicuculline**

Группа	0,01 % ВИС, 6 мкл/с	0,01 % ВИС, 12 мкл/с	0,02 % ВИС, 6 мкл/с	Диазепам 1 мг/кг 0,02 % ВИС, 6 мкл/с
Доза ВИС, вызывающая КП, мг/кг Среднее значение ± SEM	1,391 ± 0,056	1,352 ± 0,061	0,9678 ± 0,088	1,444 ± 0,101 ** <i>p</i> = 0,0028
Доза ВИС, вызывающая ГКС, мг/кг Среднее значение ± SEM	1,929 ± 0,127	1,685 ± 0,067	1,339 ± 0,092	1,908 ± 0,185 * <i>p</i> = 0,012
Доза ВИС, вызывающая ГТС, мг/кг Среднее значение ± SEM	2,785 ± 0,279	2,235 ± 0,100	2,049 ± 0,114	2,823 ± 0,292 * <i>p</i> = 0,021
Время развития КП, с Среднее значение ± SEM	84,11 ± 3,72	40,88 ± 1,85	29,56 ± 2,92	42,88 ± 2,37 ** <i>p</i> = 0,0033
Время развития ГКС, с Среднее значение ± SEM	116,4 ± 7,37	51,13 ± 2,59	41,22 ± 3,56	57,00 ± 5,60 * <i>p</i> = 0,028
Время развития ГТС, с Среднее значение ± SEM	168,3 ± 16,69	67,63 ± 3,06	62,22 ± 3,02	85,13 ± 9,87 * <i>p</i> = 0,034
<i>Примечания:</i> КП — клонические подергивания; ГКС — генерализованные клонические судороги; ГТС — генерализованные тонические судороги. Статистически значимые различия по сравнению с диазепамом (1 мг/кг) согласно Т-тесту: * <i>p</i> < 0,05; ** <i>p</i> < 0,01. <i>Notes:</i> КП — clonic seizures; ГКС — generalized clonic seizures; ГТС — generalized tonic seizures. Statistically significant differences compared with diazepam (1 mg/kg) according to the T-test: * <i>p</i> < 0.05; ** <i>p</i> < 0.01.				

ными механизмами действия — PTZ, ВИС и РС. Для каждой модели установлены оптимальные параметры введения, обеспечивающие воспроизводимость и чувствительность к противосудорожным препаратам. Релевантность моделей подтверждена демонстрацией дозозависимого противосудорожного эффекта

диазепам, который статистически значимо повышал судорожный порог и замедлял развитие приступа во всех моделях судорог. Полученные результаты создают надёжную экспериментальную базу для дальнейших исследований в области поиска новых противоэпилептических препаратов.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Участие авторов

*Шангин С. В.* — проведение экспериментов, анализ и обработка полученных результатов, написание текста статьи; *Мариевский В. Е.* — проведение экспериментов, написание текста статьи; *Вахитова Ю. В.* — анализ полученных результатов, написание текста статьи.

### Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № FGFG-2025-0004.

## ADDITIONAL INFORMATION

### Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

### Authors' participation

*Shangin SV* — conducting experiments, processing the results obtained, writing article's text; *Marievskii VE* — conducting experiments, writing article's text; *Vakhitova YuV* — analysis of the data obtained, writing article's text.

### Funding

This work was conducted under the government contracts of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Project FGFG-2025-0004).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

**Шангин Станислав Владимирович** — м. н. с. лаборатории молекулярной фармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация  
**Автор, ответственный за переписку**  
e-mail: shangin\_sv@academpharm.ru  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1065-8899>  
РИНЦ SPIN-код: 6105-1054

**Мариевский Валентин Евгеньевич** — м. н. с. лаборатории молекулярной фармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация  
e-mail: marievskii\_ve@academpharm.ru  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8946-2989>  
РИНЦ SPIN-код: 2760-7297

**Вахитова Юлия Венеровна** — д. б. н., член-корр. РАН ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет), Москва, Российская Федерация  
e-mail: juvv73@gmail.com  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7062-8261>  
РИНЦ SPIN-код: 1391-4533

**Stanislav V. Shangin** — Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Pharmacology, Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

**Corresponding author**

e-mail: shangin\_sv@academpharm.ru  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1065-8899>  
RSCI SPIN code: 6105-1054

**Valentin E. Marievskii** — Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Pharmacology, Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: marievskii\_ve@academpharm.ru  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8946-2989>  
RSCI SPIN code: 2760-7297

**Yulia V. Vakhitova** — PhD, Dr. Sci. (Biology), RAS corresponding member, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation  
e-mail: juvv73@gmail.com  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7062-8261>  
RSCI SPIN code: 1391-4533

Список литературы / References

- van van Hugte EJH, Schubert D, Nadif Kasri N. Excitatory/inhibitory balance in epilepsies and neurodevelopmental disorders: Depolarizing  $\gamma$ -aminobutyric acid as a common mechanism. *Epilepsia*. 2023 Aug;64(8):1975-1990. doi: 10.1111/epi.17651.
- Zhai W, Yu Q, Wu H. The efficacy and safety of novel antiepileptic drugs in treatment of epilepsy of patients with brain tumors. *Front Neurol*. 2024 Mar 7;15:1344775. doi: 10.3389/fneur.2024.1344775.
- Appleton RE, Freeman A, Cross JH. Diagnosis and management of the epilepsies in children: a summary of the partial update of the 2012 NICE epilepsy guideline. *Arch Dis Child*. 2012 Dec;97(12):1073-6. doi: 10.1136/archdischild-2012-302822.
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с. [Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products. Part one. Moscow: Griff and K, 2012 (In Russ.).]
- Shangin SV, Vakhitova YV, Litvinova SA, et al. Anticonvulsant Properties of Fabomotizole When Administered Separately and in Conjunction with Diazepam. *Pharm Chem J*. 2025;59:711-716. doi: 10.1007/s11094-025-03445-6.
- Voronin MV, Shangin SV, Litvinova SA, et al. Pharmacological Analysis of GABAA Receptor and Sigma1R Chaperone Interaction: Research Report I—Investigation of the Anxiolytic, Anticonvulsant and Hypnotic Effects of Allosteric GABAA Receptors' Ligands. *Int J Mol Sci*. 2023 May 31;24(11):9580. doi: 10.3390/ijms24119580.
- Socala K, Wlaż P. Acute seizure tests used in epilepsy research: Step-by-step protocol of the maximal electroshock seizure (MES) test, the maximal electroshock seizure threshold (MEST) test, and the pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizure test in rodents. *Experimental and translational methods to screen drugs effective against seizures and epilepsy*. 2021;167:79-102. doi: 10.1007/978-1-0716-1254-5\_5.

- Bukanova JV, Kondratenko RV, Solntseva EI. Positive allosteric modulators of GABAA receptor restore chloride current from blockade by competitive antagonists in a ligand-dependent manner. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2022 Nov;224:106158. doi: 10.1016/j.jsbmb.2022.106158.
- MacDonald RL, Rogers CJ, Twyman RE. Barbiturate regulation of kinetic properties of the GABAA receptor channel of mouse spinal neurones in culture. *J Physiol*. 1989 Oct;417:483-500. doi: 10.1113/jphysiol.1989.sp017814.
- Cully M. GABAA receptor structures solved. *Nat Rev Drug Discov*. 2019 Feb;18(2):98. doi: 10.1038/d41573-019-00002-1.
- Ghit A, Assal D, Al-Shami AS, Hussein DEE. GABAA receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders. *J Genet Eng Biotechnol*. 2021 Aug 21;19(1):123. doi: 10.1186/s43141-021-00224-0.
- Pressly B, Vasylyeva N, Barnych B, et al. Comparison of the toxicokinetics of the convulsants picrotoxinin and tetramethylenedisulfotetramine (TETS) in mice. *Arch Toxicol*. 2020 Jun;94(6):1995-2007. doi: 10.1007/s00204-020-02728-z.
- Seutin V, Scuvée-Moreau J, Dresse A. Evidence for a non-GABAergic action of quaternary salts of bicuculline on dopaminergic neurones. *Neuropharmacology*. 1997 Nov-Dec;36(11-12):1653-7. doi: 10.1016/s0028-3908(97)00147-0.
- Hoyberghs J, Bars C, Ayuso M, et al. DMSO Concentrations up to 1 % are Safe to be Used in the Zebrafish Embryo Developmental Toxicity Assay. *Front Toxicol*. 2021 Dec 21;3:804033. doi: 10.3389/ftox.2021.804033.
- Bastami Z, Soltanpour S, Panahi-Azar V, Jouyban A. Solubility of clonazepam and diazepam in binary and ternary mixtures of polyethylene glycols 400 or 600, propylene glycol and water at 298.2 K—experimental data and modeling. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 2014;79(4):445-56 doi: 10.2298/JSC121212079B.
- van Eenige R, Verhave PS, Koemans PJ, et al. RandoMice, a novel, user-friendly randomization tool in animal research. *PLoS One*. 2020 Aug 5; 5(8):e0237096. doi: 10.1371/journal.pone.0237096.

17. Hedrich H, Bullock G. The Laboratory Mouse: Part of the Handbook of Experimental Animals By Contributor: *Academic Press*; 2004. ISBN 0-12-336425-6
18. Greenfield EA. Sampling and Preparation of Mouse and Rat Serum. *Cold Spring Harb Protoc.* 2017 Nov 1;2017(11):pdb.prot100271. doi: 10.1101/pdb.prot100271
19. Van Erum J, Van Dam D, De Deyn PP. PTZ-induced seizures in mice require a revised Racine scale. *Epilepsy Behav.* 2019 Jun;95:51-55. doi: 10.1016/j.yebeh.2019.02.029.
20. Vavers E, Svalbe B, Lauberte L, et al. The activity of selective sigma-1 receptor ligands in seizure models *in vivo*. *Behav Brain Res.* 2017 Jun 15;328:13-18. doi: 10.1016/j.bbr.2017.04.008.
21. Bernardi G, Marciani MG, Morucutti C, Giacomini P. The action of picrotoxin and bicuculline on rat caudate neurons inhibited by GABA. *Brain Res.* 1976 Feb 6;102(2):379-84. doi: 10.1016/0006-8993(76)90896-9
22. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б., Маевский Е.И. Методические рекомендации по статистической обработке результатов доклинических исследований лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012; Глава 61:889-929. [Sergienko VI, Bondareva IB, Maevsky EI. Guidelines for Statistical Analysis of Preclinical Drug Research Results. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products. Part one. Moscow: Grif and K, 2012; Chapter 61:889-929. (In Russ.)].
23. Löscher W, Nolting B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. IV. Protective indices. *Epilepsy Res.* 1991 May-Jun;9(1):1-10. doi: 10.1016/0920-1211(91)90041-d.
24. Mazarati AM, Baldwin R, Klitgaard H, et al. Anticonvulsant effects of levetiracetam and levetiracetam-diazepam combinations in experimental status epilepticus. *Epilepsy Res.* 2004 Feb;58(2-3):167-74. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2004.02.002.