

## МОНОАМИНЫ МОЗГА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ И ЭФФЕКТЫ СЕЛЕКЦИИ У КРЫС С ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ СТЕРЕОТИПИЕЙ

© 2025 г. Т. А. Алехина\*, О. И. Прокудина, В. С. Плеканчук, Р. В. Кожемякина, М. А. Рязанова

*Институт цитологии и генетики, СО РАН, Новосибирск, Россия*

*\*e-mail: alek@bionet.nsc.ru*

Поступила в редакцию 09.10.2024 г.

После доработки 31.12.2024 г.

Принята к публикации 14.01.2025 г.

Линия крыс с наследственной стереотипией в виде маятникообразных движений (МД) может рассматриваться как новая модель аудиогенной эпилепсии. Цель данной работы — исследование содержания моноаминов (МА) мозга на ранних стадиях постнатального онтогенеза у крыс линии МД, а также оценка выраженности МД, аудиогенной эпилепсии и агрессивности у взрослых крыс МД разных поколений селекции. К эффектам селекции у взрослых крыс с МД в 52–54 поколениях отбора отнесены увеличение амплитуды МД, повышение частоты и интенсивности клонико-тонических судорог, увеличение длительности постиктальной каталепсии и усиление агрессивности. Показан более высокий уровень серотонина (5НТ) в стволе мозга у крысят МД по сравнению с крысятами Вистар в возрасте 14 дней. В коре у 14-дневных крысят МД обнаружено повышенное содержание метаболита серотонина — 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5ГИУК). В этот же период в коре было обнаружено повышенное содержание метаболитов дофамина ДОФУК и гомованилиновой кислоты (ГВК) у крысят МД. При этом содержание ГВК в коре на 10 день у крысят МД ниже, чем у крысят Вистар. Установлено более высокое содержание дофамина (ДА) и его метаболита диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) в стволе мозга у двухнедельных крысят МД по сравнению с крысятами Вистар. В стволе мозга в этом возрасте обмен дофамина у крысят МД снижен по сравнению с крысятами Вистар. Полученные данные указывают на изменение уровней МА и их метаболитов в центральной моноаминергической системе в раннем постнатальном онтогенезе у крысят линии МД, что может вносить вклад в формирование поведенческих и физиологических отклонений у взрослых животных линии МД. Увеличение амплитуды МД и усиление аудиогенных припадков, наблюдаемое в ходе селекции, подтверждает связь кататонической и неврологической симптоматики в данной модели — на крысах с маятникообразным гиперкинезом.

*Ключевые слова:* стереотипии, моноамины мозга, онтогенез, селекция, модель кататонии, модель эпилепсии, маятникообразные движения, аудиогенные судороги, агрессия

**DOI:** 10.31857/S0044452925010021, **EDN:** CGXKQY

### ВВЕДЕНИЕ

Исследование патогенеза нервно-психических расстройств с кататоническими симптомами у человека является сложной задачей. В решении этой задачи исследователям могут помочь селекционированные экспериментальные модели, на которых продемонстрированы сходные с патологией человека реакции. Кататонический синдром — это психопатологическое расстройство, проявляющееся в том числе и в нарушениях двигательной активности (обездвиженности, стереотипиях, гипервозбудимости). Эти симптомы наблюдаются при различных психических заболеваниях — шизофрении, биполярном расстройстве, депрессии, эпилепсии и др. Стереотипные маятникообразные движения в естественных условиях описаны у мышей, крыс, кроликов-альбиносов и у скорпионовых хомячков [1].

Под руководством д.б.н. В.Г. Колпакова в ИЦиГ СО РАН путем селекции из крыс популяции Вистар была создана линия крыс МД, характеризующаяся выраженными маятникообразными движениями (МД) передней части туловища и предлагаемая как модель кататонии [2]. Селекция на сниженный порог проявления МД оказала дестабилизирующий эффект [3] и привела к дисбалансу физиологических систем и повышению вариабельности признаков. Усиление стереотипного гиперкинеза в ходе селекции сопровождалось появлением повышенной предрасположенности к аудиогенной эпилепсии [2, 4]. Предполагается, что отбор крыс на стереотипное маятникообразное поведение мог затронуть баланс центральных нейротрансмиттерных систем и привести к изменению уровней возбуждения и торможения, что могло способствовать проявлению эпилептических реакций.

Многочисленные литературные данные указывают на ведущую роль центральных моноаминов (МА) как модуляторных агентов и регуляторов высшей нервной деятельности, влияющих на развитие мозга на разных стадиях онтогенеза [5–8]. В ранний постнатальный период развития, сразу после рождения крысят, начинают работать врожденные двигательные программы, относительно не зависящие от влияния внешней среды [7, 9]. В неонатальном периоде показано влияние МА на возбудимость мембран нейронов мозга [8], и на системном уровне — на модуляцию локомоторной активности [7, 9]. Ранее на крысах со склонностью к кататоническому застыванию (линия ГК — “Генетическая Кататония”) в период раннего онтогенеза были продемонстрированы отклонения в уровнях центральных МА по сравнению с исходной популяцией Вистар [7]. Сдвиги в содержании МА мозга у крыс ГК сопровождались изменениями поведения, уровня гормонов, веса стресс-зависимых органов и снижением массы тела [7]. В раннем постнатальном периоде у крыс линии МД было описано замедленное развитие активности моторных подсистем, у самцов МД отмечены отставание в наборе массы тела и семенников, дисбаланс липидного метаболизма по сравнению с контрольными крысами Вистар [10]. Это, по-видимому, могло отразиться и на поведенческих характеристиках взрослых крыс линии МД. Однако у крыс с маятникообразным гиперкинезом в раннем онтогенезе уровень МА мозга не изучался.

Цель работы — анализ количества моноаминов в мозге на ранних этапах постнатального онтогенеза у крыс линии МД по сравнению с контрольными крысами Вистар, а также исследование характеристик стереотипных реакций и аудиогенных приступов, уровня агрессивности по отношению к человеку у взрослых крыс с маятникообразным гиперкинезом на последних этапах селекции.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Экспериментальные животные.* Исследования выполнены на взрослых крысах линии МД ( $n = 40$ ) 52–54 поколений селекции, взрослых крысах популяции Вистар ( $n = 46$ ) и на крысятах обеих линий ( $n = 74$ ). Животных содержали в стандартных условиях конвенционального вивария ИЦиГ СО РАН при свободном доступе к воде и корму.

*Оценка предрасположенности к МД* проводилась в домашней клетке путем визуального наблюдения характерных раскачиваний головы и плечевого пояса в латеральном направлении [2].

*Тест “на перчатку” для оценки агрессивности.* У интактных самцов в домашней клетке проверяли реакцию на руку человека в перчатке [11]. За проявление поведенческих реакций у животных по отношению к человеку присваивались соответствующие

баллы: за агрессивные реакции — от  $-4$  до  $-1$ , за толерантные реакции — от  $+1$  до  $+4$ . Описание присуждаемых баллов:  $-1$  — при открытии клетки крыса отбегает к дальней стенке, избегает руку человека и сопротивляется взятию в руки, забивается в угол, вокализует;  $-2$  — крыса у дальней стенки клетки, активно сопротивляется взятию в руки, пытается укусить при взятии в руку;  $-3$  — крыса у задней стенки клетки, вокализует и атакует руку при ее приближении;  $-4$  — при открытии клетки крыса остается около дверцы, вокализует и атакует руку человека;  $+1$  — крыса сидит у задней стенки, исследует вытянутую руку, но избегает прикосновений и взятия в руки;  $+2$  — крыса приближается к вытянутой руке и исследует ее, оставаясь у задней стенки клетки, избегает взятия в руки;  $+3$  — крыса приближается к руке при открытии дверцы клетки, исследует руку, при взятии в руки несколько сопротивляется, выскальзывает, может проявлять вокализацию;  $+4$  — активно исследует руку при открытии дверцы, при взятии в руки не проявляет реакций избегания [11].

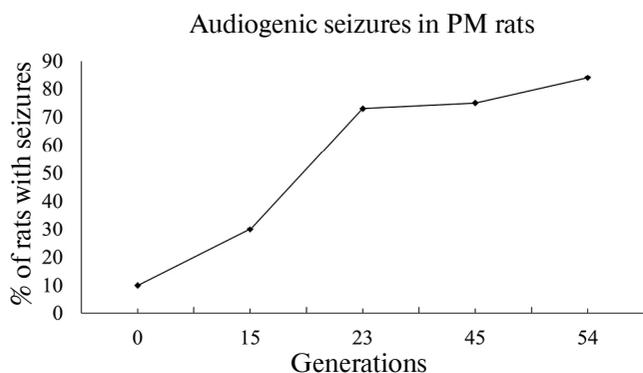
*Тестирование аудиогенной эпилепсии.* Использовали камеру из оргстекла с пластиковым полом размером  $50 \times 50 \times 50$  см и с закрепленным с внутренней стороны электрическим звонком силой звука 110 дБ и частотой 60 Гц. Звук включали после помещения крысы в камеру и выключали или после начала судорожного припадка или по истечении 1 мин. Поведение животного регистрировали с помощью видеокамеры. Оценку реакции на звуковой стимул проводили по балльной системе: 0 — отсутствие двигательного возбуждения; 1 — двигательное возбуждение (“дикий” бег и высокие прыжки), не заканчивающееся судорожным припадком; 2 — клонико-тонические судороги в позе на брюшке, заканчивающиеся после выключения звука; 3 — клонико-тонические судороги в позе на брюшке, продолжающиеся после выключения звука. Оценивали наличие вокализации во время тестирования. После выключения звука или окончания судорожного приступа оценивали наличие и длительность катаlepsии. Длительность постиктальной катаlepsии (сек) регистрировали до первого движения вибриссами или головой.

*Определение моноаминов (МА) мозга и их метаболитов* проводили у крысят на 1, 7, 10 и 14 день постнатального развития [12, 13]. Размер групп составил 7–10 животных (см. табл. 3). Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией определяли концентрацию норадреналина (НА), дофамина (ДА) и его метаболитов: диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) и гомованилиновой кислоты (ГВК), и уровень серотонина (5НТ) с его метаболитом — 5-гидроксииндолуксусной кислотой (5ГИУК).

После быстрой декапитации выделяли кору и ствол мозга на льду, образцы переносили в жидкий азот и хранили в холодильнике при  $-70^{\circ}\text{C}$  до определения моноаминов (МА). Образцы ткани гомогенизировали в  $\text{HClO}_4$  (0.8 М, 900 мкл), после чего аликвоту гомогената (100 мкл) разбавляли в 2 раза чистой деионизованной водой *Milli-Q* и центрифугировали (14000 оборотов/мин, 15 минут,  $4^{\circ}\text{C}$ ). Супернатант разбавляли в два раза водой *Milli-Q* и использовали для определения МА. Осадок хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$  до определения белка по Бредфорду.

Для определения белка к осадку прибавляли 1 мл 0.1М NaOH, проводили растворение путем встряхивания при  $37^{\circ}\text{C}$ . Реактив Бредфорд (BioRAD, США) разводили чистой деионизованной водой *Milli-Q* в соотношении 1 к 4. К 195 мкл раствора добавляли 5 мкл образца, встряхивали, центрифугировали. Концентрацию белка измеряли через 10 мин.

Определение МА проводили с использованием колонки Luna C18(2) (размер частиц 5мкм,  $L \times I.D.$  75  $\times$  4.6 mm; Phenomenex, США) с электрохимическим детектором (750 mV, DECADE II<sup>TM</sup> Electrochemical Detector; Antec, Нидерланды) и стеклоглеродной ячейкой (VT-03 ячейка 3mm GC sb; Antec, Нидерланды), контролера CBM-20A, насоса LC-20AD, проточного дегазатора DGU-20A5R и устройства автоматической подачи проб SIL-20A (Shimadzu Corporation, Япония). Мобильная фаза содержала 6.53 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 100 мкл 0.5 М  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , 150 мг 1-октансульфоната натрия (Sigma, США) и метанол (13% объема; Вектор, Россия), pH = 3.2. Скорость мобильной фазы составила 0.8 мл/мин. Раствор стандартов содержал по 2 нг каждого из определяемых веществ (НА, ДА, ДОФУК, ГВА, 5НТ, 5ГИУК). Площадь и высоту пиков оценивали с помощью программного обеспечения MultiChrom v.1.5 (Амперсанд, Россия) и калибровали по соответствующим стандартам.



**Рис. 1.** Доля крыс с аудиогенными припадками (абортивные и клонико-тонические) в разных поколениях селекции линии МД.

Содержание определяемых моноаминов и их метаболитов выражено в нг/мг белка. Показатели обмена моноаминов рассчитывались как отношение 5ГИУК / 5НТ, ГВК / ДА, ДОФУК / ДА.

*Статистическая обработка* проведена с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft, США). Сравнение характеристик поведения проведено с использованием критерия Манна–Уитни; эти данные представлены в таблице в виде медианы и межквартильного интервала (Me [Q2–Q3]), сравнение долей проведено с использованием критерия Фишера. Для оценки связи между степенью выраженности припадков и длительностью постиктальной катаlepsии вычислялись корреляции по Спирману. При анализе содержания моноаминов мозга использовали двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA (в качестве факторов брали генотип и возраст). Для апостериорных сравнений использовали критерий HSD. При оценке межлинейных различий сравнение проводили внутри одного возраста. В таблицах и на рисунках, отражающих содержание моноаминов, представлены средние значения и ошибка среднего ( $M \pm SEM$ ). Статистически значимыми считали различия при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Маятникообразные движения.* Видимым эффектом селекции у крыс линии МД 52 — 54 поколения явилось увеличение амплитуды раскачивания передней части тела по сравнению с крысами Вистар. Наибольшее отклонение от основной оси тела составило 7 см (отбор был начат с животных из популяции Вистар с амплитудой раскачивания 0.5 см).

*Эпилептические реакции и агрессивность.* Несмотря на отсутствие отбора на предрасположенность к эпилепсии, в ходе селекции в линии МД произошло увеличение доли животных с аудиогенными припадками (рис. 1).

Также в процессе селекции на предрасположенность к стереотипиям произошло увеличение длительности постиктальной катаlepsии, оцениваемой после воздействия звукового стимула (табл. 1). Подтвердилась положительная корреляция между

**Таблица 1.** Отклонения длительности постиктальной катаlepsии у крыс линии МД в разных поколениях селекции по сравнению с крысами контрольной популяции Вистар (%)

Показатель	Поколение МД	Отклонения (%) МД от Вистар
Постиктальная катаlepsия	45	~ 100
	48	~ 230
	52	~ 580

**Таблица 2.** Иктальные и постиктальные показатели и показатели толерантности / агрессивности в тесте “на перчатку” у крыс линии МД 54 поколения селекции и крыс Вистар

Признаки Ме [Q2-Q3]	Вистар (n = 10)	МД (n = 12)	Критерий Манна-Уитни
Аудиогенный приступ (балл)	0 [0–0]	3.0 [2.5–3.0]	$p < 0.05$ , U = 23
Постиктальная катаlepsия (сек)	0 [0–0]	605 [585–605]	$p < 0.01$ , U = 13
Толерантность / агрессивность в тесте “на перчатку” (балл)	2.5 [2.5–2.5]	0.5 [–0.7–0.8]	$p < 0.001$ , U = 0

выраженностью припадков и временем послесудорожной катаlepsии  $R = 0.59$ ,  $p < 0.05$  (ранее было установлено  $R = 0.90$ ) [14].

При тестировании крыс линии МД 54-го поколения селекции подтверждено усиление тяжести эпилептических реакций (табл. 2). Если в 17–23 поколениях у 50% животных наблюдались аудиогенные приступы, не завершённые клонико-тоническими судорогами, и у 33% животных наблюдались судорожные припадки [4], то к 54-му поколению доля генерализованных припадков возросла, и эта форма реакции стала преобладающей. В нашей работе у 67% животных наблюдались генерализованные судорожные припадки, 25% животных продемонстрировали реакцию в форме абортивных приступов в форме “дикого” бега и каскадов высоких беспорядочных прыжков. У крыс линии МД отмечены реакции вокализации (67% по сравнению с 0% у крыс Вистар,  $p < 0.001$ ). Они наблюдались после судорожных припадков, но не при абортивных приступах. Крысы Вистар в 2 случаях из 10 продемонстрировали реакцию на звук в виде двигательного возбуждения в форме бега, не сопровождавшегося прыжками и не заканчивающегося судорогами. Ранее было показано, что в популяциях крыс Вистар и крыс линии WAG (Wistar Albino Glaxo) в редких случаях могут наблюдаться мятникообразные движения, и у таких крыс наличие эпилептических припадков в группе из 26 животных составило 10% [10].

Сопутствующим эффектом селекции на мятникообразные движения стало также и повышение агрессивности по отношению к человеку в тесте на “перчатку”. Крысы линии МД, начиная с 23-го поколения селекции, начали показывать снижение толерантных реакций по отношению к человеку и стали избегать контактов с рукой исследователя [2, 14].

В процессе селекции негативная реакция на исследователя в тесте “на перчатку” усиливалась, и в

настоящее время все животные линии МД активно сопротивляются попыткам взять их в руки, могут вокализовать, что не свойственно крысам контрольной популяции Вистар (табл. 2).

*Уровень моноаминов и их метаболитов.* Выявлены некоторые особенности нейрохимии мозга крысят линии МД в раннем постнатальном периоде. Для анализа были выбраны следующие критические точки: 1 день — рождение, адаптация к внеутробным условиям жизни; 7 день — развитие кортико-спинального тракта; 10 день — крысята обретают способность подниматься на 4 лапы; 14 день — открытие глаз и ушных раковин, резкий рост потока сенсорной информации [12, 13]. Для всех исследованных моноаминов (рис. 2) и их метаболитов (рис. 3) было показано влияние фактора возраста ( $p < 0.001$ ). Было обнаружено влияние фактора генотипа на уровень серотонина в коре ( $F[1, 66] = 6.82$ ,  $p = 0.011$ ) и в стволе головного мозга ( $F[1, 66] = 8.72$ ,  $p = 0.004$ ). Также показано влияние фактора генотипа на содержание дофамина ( $F[1, 66] = 18.95$ ,  $p < 0.001$ ) и ДОФУК ( $F[1, 66] = 20.32$ ,  $p < 0.001$ ) в стволе мозга. Влияние взаимодействия факторов возраста и генотипа обнаружено для содержания ДА ( $F[3, 65] = 4.2$ ,  $p = 0.009$ ), ДОФУК ( $F[3, 66] = 12.5$ ,  $p < 0.001$ ), ГВК ( $F[3, 65] = 13.5$ ,  $p < 0.001$ ) и 5ГИУК ( $F[3, 66] = 3.62$ ,  $p = 0.018$ ) в коре. В стволе показано влияние взаимодействия факторов на уровень ДА ( $F[3, 66] = 18.68$ ,  $p < 0.001$ ), 5НТ ( $F[3, 66] = 3.6$ ,  $p = 0.018$ ), ДОФУК ( $F[3, 66] = 7.58$ ;  $p < 0.001$ ) и ГВК ( $F[3, 66] = 4.03$ ,  $p = 0.011$ ).

Показан более высокий уровень серотонина, дофамина и его метаболита ДОФУК в стволе мозга у крысят МД по сравнению с крысятами Вистар в возрасте 14 дней (рис. 2 и рис. 3). Также у 14-дневных крысят МД в коре обнаружено более высокое содержание метаболита серотонина 5ГИУК и метаболитов дофамина ДОФУК и ГВК. При этом содержание ГВК в коре на 10 день у крысят МД ниже, чем у крысят Вистар (рис. 3).

Показатели обмена моноаминов и размеры исследованных групп представлены в табл. 3. Обнаружено влияние фактора возраста на показатели обмена дофамина: в коре — ДОФУК / ДА ( $F[3, 65] = 4.54$ ,  $p = 0.006$ ) и ГВК / ДА ( $F[3, 65] = 8.95$ ,  $p < 0.0001$ ), в стволе — ГВК / ДА ( $F[3, 66] = 3.58$ ,  $p = 0.018$ ). Показано влияние взаимодействия факторов генотипа и возраста на ДОФУК / ДА ( $F[3, 66] = 5.46$ ,  $p = 0.002$ ) и ГВК / ДА ( $F[3, 66] = 6.98$ ,  $p < 0.001$ ) в стволе. Показано, что у 14-дневных крысят МД снижен обмен дофамина в стволе мозга по сравнению с крысятами Вистар.

В отношении серотонинергической системы обнаружена тенденция влияния фактора генотипа на обмен серотонина в стволе ( $F[1, 66] = 3.97$ ,  $p = 0.050$ ).

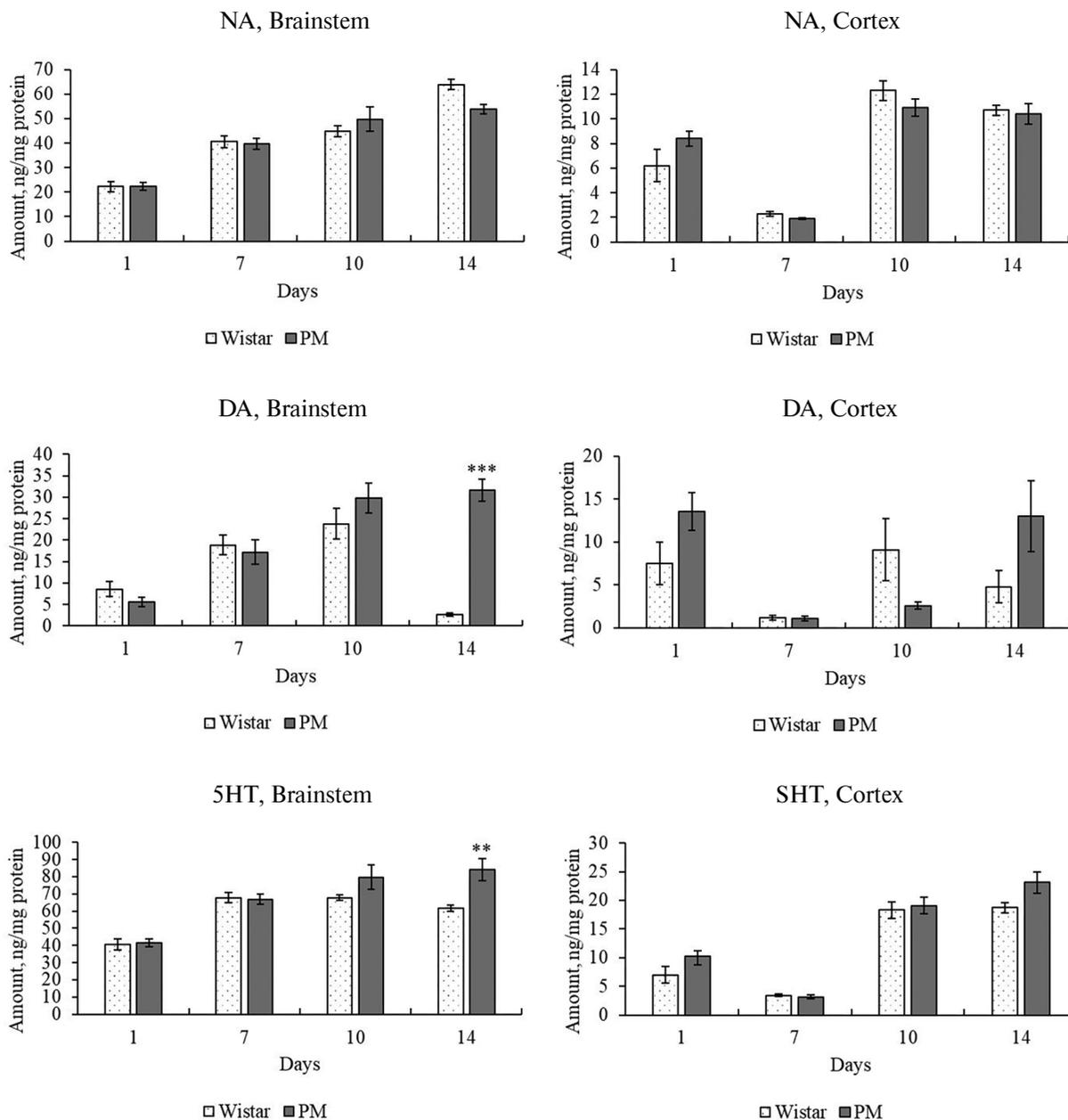


Рис. 2. Уровень моноаминов мозга у крыс линии МД и крыс Вистар в раннем онтогенезе.

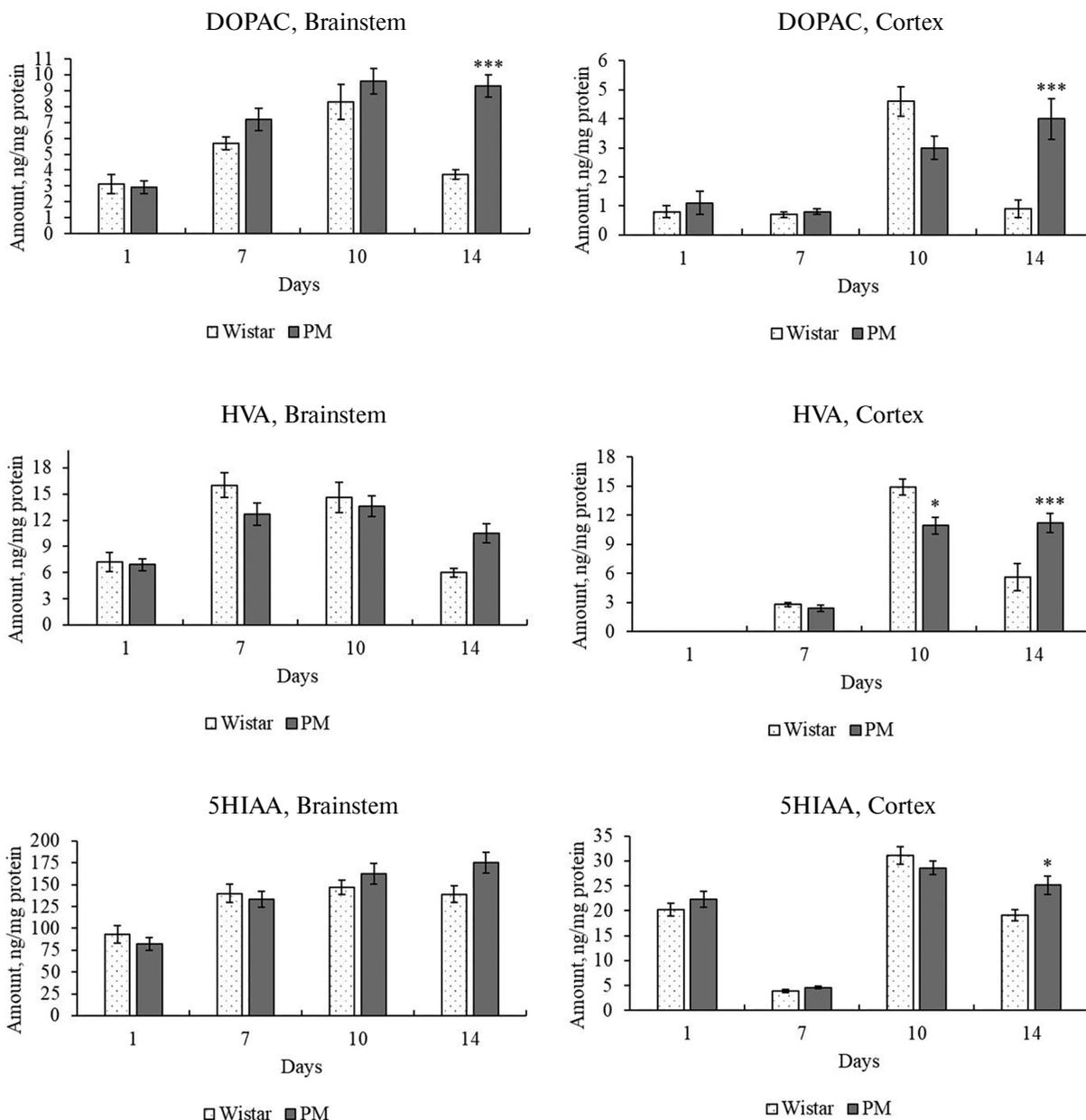
\*\* —  $p < 0.01$ , \*\*\* —  $p < 0.001$  МД vs. Вистар. Данные подвергнуты двухфакторному дисперсионному анализу ANOVA с использованием *post hoc* критерия HSD. NA — норадrenalин, DA — дофамин, 5HT — серотонин.

Таким образом, были выявлены особенности содержания МА, их метаболитов и показателей обмена у крыс с МД в раннем онтогенезе в критических точках.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Прямой и основной эффект селекции у крыс линии МД выразился в увеличении амплитуды раскачивания тела, и этот показатель возрос в несколько раз в процессе многолетнего отбора. Селекция на усиление маятникообразных движений (МД),

вероятно, послужила триггером для роста вариабельности поведенческих характеристик и привела к появлению другого патологического признака — повышенной предрасположенности к аудиогенным судорогам [4]. Показано, что на последних этапах отбора наблюдается повышение доли генерализованных припадков и даже их преобладание над абортивными. В 2008 г. были опубликованы данные о прямой зависимости между тяжестью судорожного приступа и длительностью послезвонковой катаlepsии на крысах линии Крушинского—Молодкиной [14]. Аналогичные данные были получены на



**Рис. 3.** Уровни метаболитов моноаминов мозга у крыс линии МД и крыс Вистар в раннем онтогенезе. \* —  $p < 0.05$ , \*\*\* —  $p < 0.001$  МД vs. Вистар. Данные подвергнуты двухфакторному дисперсионному анализу ANOVA с использованием *post hoc* критерия HSD. DOPAC — диоксифенилуксусная кислота, HVA — гомованилиновая кислота, 5HIAA — 5-гидроксииндолуксусная кислота.

крысах линии МД с маятникообразным гиперкинезом [15]. В данном исследовании показано увеличение времени постиктальной каталепсии у крыс линии МД в ходе селекции.

В настоящее время в психиатрии и неврологии механизмы взаимоотношений между кататоноподобными психозами и эпилепсией пересматриваются [16, 17]. Путем анализа родословных было выявлено, что встречаемость эпилепсии у родственников пациентов, страдающих шизофренией, в 4–5 раз выше, чем в популяции [16]. Имеется ин-

формация об общей генетической основе, которая предрасполагает к кататоноподобным симптомам и к эпилепсии [18, 19]. Также в литературе показана высокая встречаемость моторных нарушений у людей с генетически обусловленной эпилепсией, при этом наиболее часто наблюдались стереотипии (у 48% исследованных пациентов) [20].

Нами показано усиление агрессивности в тесте “на перчатку” в процессе селекции у крыс-маятников. Ранее было описано, что при попытке опустить крысу линии МД в воду в тесте Морриса животное

**Таблица 3.** Показатели обмена моноаминов в мозге крыс МД и Вистар (В) в раннем онтогенезе

Индекс обмена	Дни Размер групп	1 день	7 день	10 день	14 день
		<i>n</i> (В) = 10, <i>n</i> (МД) = 10	<i>n</i> (В) = 10, <i>n</i> (МД) = 10	<i>n</i> (В) = 7, <i>n</i> (МД) = 9	<i>n</i> (В) = 10, <i>n</i> (МД) = 10
ДОФУК / ДА (кора)	В	0.52 ± 0.35	0.80 ± 0.16	0.93 ± 0.23	0.67 ± 0.35
	МД	0.08 ± 0.03	1.50 ± 0.45	1.28 ± 0.20	0.41 ± 0.08
ДОФУК / ДА (ствол)	В	0.49 ± 0.11	0.35 ± 0.05	0.36 ± 0.02	1.49 ± 0.16
	МД	0.79 ± 0.22	1.06 ± 0.58	0.34 ± 0.02	0.30 ± 0.02 *
ГВК / ДА (кора)	В	0.00 ± 0.00	3.46 ± 0.76	3.59 ± 0.99	3.64 ± 1.33
	МД	0.00 ± 0.00	5.18 ± 1.78	4.59 ± 0.54	1.32 ± 0.28
ГВК / ДА (ствол)	В	1.43 ± 0.40	1.05 ± 0.23	0.65 ± 0.05	2.54 ± 0.36
	МД	1.73 ± 0.31	1.40 ± 0.54	0.48 ± 0.03	0.34 ± 0.03 ***
5ГИУК / 5НТ (кора)	В	4.59 ± 1.12	1.17 ± 0.04	1.76 ± 0.16	1.03 ± 0.05
	МД	2.21 ± 0.13	5.48 ± 4.12	1.52 ± 0.06	1.10 ± 0.04
5ГИУК / 5НТ (ствол)	В	2.29 ± 0.11	2.05 ± 0.08	2.16 ± 0.08	2.24 ± 0.11
	МД	1.99 ± 0.12	1.99 ± 0.06	2.07 ± 0.07	2.12 ± 0.15

\* —  $p < 0.05$ , \*\*\* —  $p < 0.001$  МД vs. Вистар. Данные подвергнуты двухфакторному дисперсионному анализу ANOVA с использованием *post hoc* критерия HSD.

активно сопротивлялось, прокусывало перчатку исследователя и вело себя агрессивно по сравнению со спокойным поведением особей из линий WAG, ГК и популяции Вистар [21]. Также крысы линии МД характеризуются повышенной внутривидовой агрессией в тесте “резидент-интродер” [22]. Сочетание эпилепсии и патологических поведенческих реакций, в том числе повышенной агрессивности, описано и для собак [23; 24]. Также у собак с эпилепсией были показаны когнитивные нарушения, в частности худшее выполнение заданий, связанных с пространственной памятью [25; 26]. Для крыс линии МД было показано худшее пространственное обучение в тесте Морриса [21] и отсутствие использования пространственной стратегии в лабиринте Барнс [22]. Исследования подтверждают, что у людей, страдающих эпилепсией, также наблюдается повышенная частота агрессивных реакций [27, 28].

Моноамины являются основными нейромодуляторами ЦНС, и они вовлечены в регуляцию моторного и психоэмоционального поведения, играют роль в предрасположенности к психиатрическим заболеваниям и эпилепсии у человека [29–31]. Стоит заметить, что содержание центральных МА в раннем онтогенезе является недостаточно изученным на генетических моделях, хотя дисфункция нейромедиаторных систем является важным звеном патогенеза целого ряда психических заболеваний.

У двухнедельных крысят линии МД в коре выявлены более высокие уровни метаболитов серотони-

на (5ГИУК) и дофамина (ДОФУК, ГВК). В образцах мозга, полученных от пациентов после резекции эпилептического очага, было обнаружено значительное увеличение количества 5ГИУК и ГВК [29]. У детей с ранней эпилептической энцефалопатией были найдены отклонения в содержании 5ГИУК и ГВК [30] в мозге, что свидетельствует о нарушениях метаболизма моноаминов при эпилепсии у человека. На экспериментальных моделях также получены данные, указывающие на участие моноаминов в процессах, влияющих на судорожную активность [32, 33]. На мышцах линии DBA/2J, предрасположенных к аудиогенной эпилепсии, было показано, что наибольшая частота судорог наблюдается у них в возрасте 3 недель на фоне наименьшего уровня обмена ДА, измеренного в целом мозге [34]. Сниженный обмен ДА в стволе обнаружен и у крысят МД в возрасте 2 недель, однако уровень ДА, в отличие от мышей DBA/2J, у крысят линии МД выше, чем у контрольных. Также у крысят линии МД, характеризующейся предрасположенностью к стереотипному гиперкинезу с третьей недели жизни, на 14-й день постнатального развития было обнаружено более высокое содержание 5НТ в стволе мозга по сравнению с контрольными крысятами Вистар. Известно, что некоторые, в том числе и стресс-индуцированные виды стереотипий, связаны с гиперфункцией серотонинергической и дофаминергической систем [35].

Крысы линии МД демонстрируют повышенную агрессивность по отношению к человеку в “тесте

на перчатку”. У агрессивных по отношению к человеку лисиц были снижены уровни 5НТ и 5ГИУК в среднем мозге. При этом в больших полушариях уровни 5НТ и 5ГИУК не различались [36]. Схожие результаты были получены на агрессивных крысах ранних поколений селекции [36]. Обнаруженные нами изменения в серотониновой системе у 14-дневных крысят МД (повышение 5НТ в стволе и 5ГИУК в коре) имеют противоположную направленность.

Известно, что уровень моноаминов в мозге крысят при рождении значительно ниже, чем у взрослых животных, и в постнатальном периоде идет интенсивное созревание моноаминергических систем [37]. В неонатальном периоде, при созревании нисходящих проекций мозга, локомоторная и метаболическая активность модулируется моноаминергическими системами [7–9]. Полученные нами данные свидетельствуют о различной динамике развития МА-систем у крысят линии МД и крысят Вистар. Дизонтогенез моноаминергических систем может объяснить обнаруженные ранее отличия в становлении моторных навыков у крысят МД в раннем периоде развития (в возрасте 7, 10 и 14 дней). Крысята МД демонстрировали сниженную двигательную активность, более позднее развитие циркулярных движений, более длительную щипковую каталепсию, а также отклонения физиологических параметров по сравнению с контрольными животными [10]. Предполагается, что особенности МА-систем крыс линии МД в раннем постнатальном онтогенезе могут отразиться на двигательной-эмоциональной сфере у взрослых животных, что выражается, в частности, в низком стартл-рефлексе [38], отсутствии подъема артериального давления при рестрикции [15], повышенной межсамцовой территориальной агрессии [22]. Изменения в содержании МА и их метаболитов, обнаруженные в ранние периоды развития у крысят линии МД, могут быть связаны с дестабилизацией в результате селекционного процесса. Эти изменения могут сохраняться и во взрослом возрасте, что требует дополнительного исследования. Ранее у взрослых крыс МД не было обнаружено отличий в уровне серотонина в стволе по сравнению с Вистар, но было обнаружено снижение 5НТ в гипоталамусе [4]. У взрослых крыс линии Крушинского–Молодкиной высокая функциональная активность серотонинергической системы, выявленная в ряде структур мозга, ослабевала при развитии у них аудиогенного киндлинга, что подтверждает значимую роль нарушения моноаминового баланса мозга в генезе эпилептиформных припадков [39]. При сравнении экспериментальных моделей эпилепсии — линий Крушинского–Молодкиной, GEPR-3 и GEPR-9 — и линии МД, было обнаружено сходство между ни-

ми по снижению уровней норадреналина и серотонина в ЦНС [40–42].

Таким образом, эффекты селекции в линии МД выразились в увеличении амплитуды раскачивания тела и в усилении эпилептических реакций. В ходе отбора образовался кластер симптомов генетически детерминированных признаков — кататонических проявлений, эпилепсии и агрессивности. Одной из причин полученных эффектов могут оказаться отклонения в моноаминергических системах в ранний период развития, обуславливающие поведенческие и физиологические отклонения у взрослых крыс этой линии. Собранные в данной работе данные указывают на сочетание кататонических и эпилептических реакций на селекционной модели крыс с маятникообразным гиперкинезом — в линии МД.

#### ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента принадлежит Т.А.А., сбор данных — О.И.П., В.С.П., Р.В.К., М.А.Р., обработка данных — Т.А.А., О.И.П., написание и редактирование манускрипта — Т.А.А., О.И.П., В.С.П., Р.В.К., М.А.Р.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Условия содержания животных утверждены комиссией по биоэтике ИЦиГ СО РАН, все процедуры на крысах проведены в соответствии с рекомендациями Европейского парламента и Совета Европейского Союза (директива 2010/63/EU от 22 сентября 2010 г.).

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследования поддержаны бюджетным проектом FWNR-2022-0019 и выполнены с использованием оборудования ЦКП “Центр генетических ресурсов лабораторных животных” ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023).

#### КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы сообщают об отсутствии конфликтов интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Колпаков ВГ* (1990) Кататония у животных. Новосибирск: Наука.
2. *Барыкина НН, Чугуй ВФ, Прокудина ОИ, Плюснина ИЗ, Колпаков ВГ* (2007) Подтверждение положительной генетической взаимосвязи маятникообразных движений с аудиогенной эпилепсией, каталепсией и “нервностью”. *Генетика* 43(7): 987–993.
3. *Беляев ДК, Бородин ПМ* (1982) Влияние стресса на наследственную изменчивость и его роль в эволюции. *Эволюция генетика* 35–59.
4. *Алехина ТА, Прокудина ОИ, Рязанова МА, Уколова ТН, Барыкина НН, Колпаков ВГ* (2007) Проявление ти-

- пологических свойств поведения у линий крыс, селектированных на усиление и отсутствие маятникообразных движений. Связь с моноаминами мозга. Журн высш нерв деят 57(3): 336–343.
5. *Alekhina TA, Gilinsky MA, Kolpakov VG* (1994) Catecholamines level in the brain of rats with a genetic predisposition to catatonia. *Biogenic Amines* 10(5): 443–449.
  6. *Алексеев ВВ, Кошелев ВВ, Ковалев ГИ, Полетаева ИИ* (2003) Влияние неонатальных воздействий на болевую и аудиогенную чувствительность и на содержание моноаминов в мозгу взрослых крыс Онтогенез 34(6): 484–471.
  7. *Igonina TN, Alekhina TA, Palchikova NA, Prokudina OI* (2016) Prodromal signs of catatonia are associated with hereditary dysfunction of body systems in rat pups. *J Experim Integr Med* 6(3): 99–108. <https://doi.org/10.5455/jeim.270816.or.157>
  8. *Fedirchuk B, Day Y* (2004) Monoamines increase the excitability of spinal neurons in the neonatal rat by hyperpolarizing the threshold for action potential production. *J Physiol* 557(2): 355–361.
  9. *Cazalets JR, Border M, Clarac F* (1995) Localization and organization of the central pattern generator for hind limb locomotion in newborn rat. *J Neurosci* 15(7): 4943–4951.
  10. *Alekhina TA, Plekanchuk VS, Osadchuk LV* (2021) Prodromal characteristics of epilepsy in rats with pendulum-like movements. *J evol biochem physiol* 53(3): 240–249. <https://doi.org/10.1134/S0022093021030042>
  11. *Plyusnina IZ, Oskina IN, Tibeikina MA, Popova NK* (2009) Cross-fostering effects on weight, exploratory activity, acoustic startle reflex and corticosterone stress response in Norway gray rats selected for elimination and for enhancement of aggressiveness towards human. *Behav Genet* 39(2): 202–212. <https://doi.org/10.1007/s10519-008-9248-6>
  12. *Clarac F, Brocard F, Vinay L* (2004) The maturation of locomotor networks. *Prog brain res* 143: 57–66. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(03\)43006-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(03)43006-9)
  13. *Schark C* (2008) The development of locomotor kinematics in neonatal rats: an agent-based modeling analysis in group and individual contexts. *J theor boil* 254: 826–842. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.07.024>
  14. *Федотова ИБ, Сурина НМ, Маликова ЛА, Раевский КС, Полетаева ИИ* (2008) Исследование изменений мышечного тонуса (катаlepsии), наступающих у крыс после аудиогенного судорожного припадка. Журн высш нерв деят 58(5): 620–627.
  15. *Alekhina TA, Kozhemyakina RV* (2019) Modeling of Focal Seizures with Automatism in Rats with Pendulum Movements *Bull Exp Biol Med* 168(2): 300–303. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04695-7>
  16. *Adachi N, Ito M* (2022) Epilepsy in patients with schizophrenia: Pathophysiology and basic treatments. *Epilepsy Behav* 27: 108520. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.108520>
  17. *Cascella NG, Schretlen DJ, Sawa A* (2009) Schizophrenia and epilepsy: is there a shared susceptibility? *Neurosci Res* 63(4): 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2009.01.002>
  18. *Kam H, Jeong H* (2020) Pharmacogenomic Biomarkers and Their Applications in Psychiatry. *Genes (Basel)* 11(12): 1445. <https://doi.org/10.3390/genes11121445>
  19. *Moffat JJ, Ka M, Jung EM, Rim WY* (2015) Genes and brain malformations associated with abnormal neuron positioning. *Molecular brain* 8: 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13041-015-0164-4>
  20. *van der Veen S, Tse GTW, Ferretti A, Garone G, Post B, Specchio N, Fung VSC, Trivisano M, Scheffer IE* (2023) Movement Disorders in Patients with Genetic Developmental and Epileptic Encephalopathies. *Neurology* 101: e1884–e1892. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000207808>
  21. *Барыкина НН, Чугуй ВФ, Алехина ТА, Рязанова МА, Уколова ТН, Сахаров ДГ, Колпаков ВГ* (2009) Обучение крыс, предрасположенным к кататоническим состояниям, в водном тесте Морриса. Журн высш нерв деят 59(6): 728–735.
  22. *Plekanchuk VS, Prokudina OI, Ryazanova MA* (2022) Social behavior and spatial orientation in rat strains with genetic predisposition to catatonia (GC) and stereotypes (PM). *Vavilov J Genet Breed* 26: 281–289. <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-35>
  23. *Levitin H, Hague DW, Ballantyne KC, Selmic LE* (2019) Behavioral Changes in Dogs With Idiopathic Epilepsy Compared to Other Medical Populations. *Front Vet Sci* 6: <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00396>
  24. *Watson F, Packer RMA, Rusbridge C, Volk HA* (2020) Behavioural changes in dogs with idiopathic epilepsy. *Veterinary Record* 186: 93. <https://doi.org/10.1136/vr.105222>
  25. *Winter J, Packer RMA, Volk HA* (2018) Preliminary assessment of cognitive impairments in canine idiopathic epilepsy. *Veterinary Record* 182: 633. <https://doi.org/10.1136/vr.104603>
  26. *Hobbs SL, Law TH, Volk HA, Younis C, Casey RA, Packer RMA* (2020) Impact of canine epilepsy on judgement and attention biases. *Sci Rep* 10: 17719. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74777-4>
  27. *Brodie MJ, Besag F, Ettinger AB, Mula M, Gobbi G, Comai S, Aldenkamp AP, Steinhoff BJ* (2016) Epilepsy, Antiepileptic Drugs, and Aggression: An Evidence-Based Review. *Pharmacol Rev* 68(3): 563–602. <https://doi.org/10.1124/pr.115.012021>
  28. *Seo JG, Kim JM, Park SP* (2015) Perceived stigma is a clinical factor for interictal aggression in people with epilepsy. *Seizure* 26: 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2015.01.011>
  29. *Louw D, Sutherland GR, Glavin GB, Girvin J* (1989) A Study of Monoamine Metabolism in Human Epilepsy. *Canadian Journal of Neurological Sciences. Journal Canadien des Sciences Neurologiques* 16(4): 394–397. <https://doi.org/10.1017/S0317167100029449>
  30. *Svob Strac D, Pivac N, Smolders IJ, Fogel WA, De Deurwaerdere P, Di Giovanni G* (2016) Monoaminergic mechanisms in epilepsy may offer innovative therapeutic opportunity for monoaminergic multi-target drugs. *Frontiers in neuroscience* 10: 492. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00492>

31. Juliá-Palacios N, Molina-Anguita C, Bondarenko MS, Cortés-Saladelafont E, Aparicio J, Cuadras D, Horvath G, Fons C, Artuch R, García-Cazorla A (2022) Monoamine neurotransmitters in early epileptic encephalopathies: New insights into pathophysiology and therapy. <https://doi.org/10.1111/dmcn.15140>
32. Lu X, Sharkey L, Bartfai T (2007) The brain galanin receptors: targets for novel antidepressant drugs CNS Neurol Disord Drug Targets 6(3): 183–192. <https://doi.org/10.2174/187152707780619335>
33. Kobayashi Y, Segi-Nishida E (2019) Search for factors contributing to the electroconvulsive treatment model using adrenocorticotrophic hormone-treated mice Pharmacol Biochem Behav 186: 172767. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2019.172767>
34. Shaywitz BA, Yager RD, Gordon JW (1978) Ontogeny of brain catecholamine turnover and susceptibility to audiogenic seizures in DBA/2J mice. Dev Psychobiol 11(3): 243–250. <https://doi.org/10.1002/dev.420110308>
35. Schoenecker B, Heller KE (2001) The involvement of dopamine (DA) and serotonin (5-HT) in stress-induced stereotypies in bank voles (*Clethrionomys glareolus*). Appl Anim Behav Sci 27. 73(4): 311–319. [https://doi.org/10.1016/s0168-1591\(01\)00143-5](https://doi.org/10.1016/s0168-1591(01)00143-5)
36. Попова НК (2017) Доместикация и мозг: сорок лет спустя. Вавиловский журнал генетики и селекции 21(4): 414–420. <https://doi.org/10.18699/VJ17.259>
37. Brady S, Siegel G, Wayne R, Albers (2012) Basic Neurochemistry Principles of Molecular, Cellular, and Medical Neurobiology. Eighth Edition. Oxford.
38. Колпаков ВГ, Алехина ТА, Барыкина НН, Чузуй ВФ, Попова НК (2000) Некоторые физиологические проявления действия гена, контролирующего предрасположенность к маятникообразным движениям у грызунов. Росс Физиол журн 86(1): 33–40.
39. Litvinova SA, Voronina TA, Kudrin VS, Narkevich VB, Surina NM, Poletaeva II, Fedotova IB (2023) The Role of Brain Monoamines in the Formation of Audiogenic Myoclonic Seizures in Krushinsky–Molodkina Rats. Neurochem J 17: 84–90. <https://doi.org/10.1134/S1819712423010130>
40. Сергиенко НГ, Логинова ГА (1983) Изучение роли медиаторов в формировании судорожной готовности, содержание биогенных аминов в головном мозге крыс с различной предрасположенностью к аудиогенным судорогам Вопросы мед химии 29(6): 21–24.
41. Yan QS, Jobe PC, Daily JW (1993) Thalamic deficiency in norepinephrine release detected via intracerebral microdialysis: a synaptic determinant of seizure predisposition in the genetically epilepsy-prone rat Epilepsy Res 14(3): 229–236.
42. Szot P, Reigel CE, White SS, Veith RC (1996) Alteration in mRNA expression of systems that regulate neurotransmitter synaptic content in seizure-naïve genetically epilepsy-prone rat (GEPR): transporter proteins and rate-limiting synthesizing enzymes for norepinephrine, dopamine and serotonin Brain Res Mol Brain Res 43(1-2): 233–245. [https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(96\)00184-2](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(96)00184-2)

## BRAIN MONOAMINES IN EARLY ONTOGENESIS AND SELECTION EFFECTS IN RATS WITH BEHAVIORAL STEREOTYPY

T. A. Alekhina\*, O. I. Prokudina, V. S. Plekanchuk, R. V. Kozhemyakina, and M. A. Ryazanova

*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

\*e-mail: [alek@bionet.nsc.ru](mailto:alek@bionet.nsc.ru)

The rat strain with hereditary stereotypy in the form of pendulum movements (PM) can be considered as a new model of audiogenic epilepsy. The purpose of this study was to investigate levels of brain monoamines (MA) at the early stages of postnatal ontogenesis in PM rats, as well as to assess the severity of PM, audiogenic epilepsy and aggressiveness in adult PM rats of different generations of selection. The effects of selection in adult rats with PM in 52–54 generations of selection included an increase in the amplitude of PM, an increase in the frequency and intensity of clonic-tonic seizures, an increase in the duration of postictal catalepsy and increased aggressiveness. The higher level of serotonin (5HT) in the brainstem was shown in PM pups compared to Wistar pups at the age of 14 days. The higher level of the serotonin metabolite, 5-hydroxyindoleacetic acid (5HIAA), was found in the cortex of 14-day-old PM pups. Higher levels of dopamine metabolites DOPAC and homovanillic acid (HVA) were found in the cortex of 14-day-old PM rat pups. But the level of HVA in the cortex was lower in 10-day-old PM pups than it in Wistar pups. Higher levels of dopamine (DA) and its metabolite dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) were shown in the brainstem of PM pups compared to Wistar pups at the specified age. The reduced dopamine turnover was shown in the brainstem of 14-day-old PM pups in compare with Wistar pups. This data indicate changes in the levels of MA and their metabolites in the central monoaminergic system in early postnatal ontogenesis in PM rats, which may contribute to the formation of behavioral and physiological abnormalities in adult PM rats. The growth of the PM amplitude and the increased severity of audiogenic seizures, observed during selection, confirms the connection between catatonic and neurological symptoms in this model — rats with pendulum-like hyperkinesia.

**Keywords:** stereotypes, brain monoamines, ontogenesis, selection, model of catatonia, model of epilepsy, pendulum movements, audiogenic seizures, aggression