

АНАЛИЗ ОРЕКСИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ГИПОТАЛАМУСА
У КРЫС С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ГЕНЕТИЧЕСКИ
ОБУСЛОВЛЕННОЙ ЭПИЛЕПСИИ

© 2022 г. И. Ю. Морина¹, А. Л. Михрина¹, Е. В. Михайлова¹, С. И. Ватаев¹,
З. Р. Хисматуллина², И. В. Романова^{1, *}

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук,
Санкт-Петербург, Россия

²Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

*E-mail: irinaromanova@mail.ru

Поступила в редакцию 27.09.2022 г.

После доработки 06.10.2022 г.

Принята к публикации 12.10.2022 г.

Проведено исследование гипоталамуса у половозрелых самцов двух линий крыс с генетической предрасположенностью к различным формам эпилептической активности: линия Крушинского–Молодкиной (КМ) с аудиогенной судорожной активностью и линия WAG/Rij с абсансной эпилепсией. Результаты ПЦР демонстрируют у крыс КМ повышенный уровень мРНК D1- и D2-рецепторов дофамина, у крыс WAG/Rij не выявлено отличий в уровне экспрессии D1-рецепторов, но показано достоверно меньший уровень мРНК D2 рецепторов по сравнению с крысами Вистар. У крыс КМ и WAG/Rij выявлен более высокий уровень мРНК препро-орексина и белка орексина-А в нейронах перифорникальной области. У крыс КМ не обнаружено отличий в уровне экспрессии орексиновых рецепторов, а у крыс WAG/Rij уровень мРНК OX2R был выше, чем у крыс Вистар. Полученные данные обсуждаются в связи с участием орексинергической системы мозга в регуляции дофаминергической системы и энергетического баланса организма при эпилептической активности, а также вероятной функции орексинов как факторов адаптации при патологических состояниях.

Ключевые слова: гипоталамус, орексин, орексиновые рецепторы, дофамин, дофаминовые рецепторы, аудиогенная и абсансная эпилепсия

DOI: 10.31857/S0869813922110073

Гипоталамус — отдел мозга, который участвует в регуляции висцеральных функций, в контроле адаптивных реакций организма как при изменении внешних воздействий, так и при патологических состояниях [1]. Нейроны гипоталамуса проецируются в различные области мозга и выполняют интегративную роль. Одной из функций гипоталамуса является контроль энергетического баланса организма [2, 3]. В реализацию этой функции вовлечены различные типы гипоталамических нейронов, в частности вырабатывающие орексины [4–6].

Орексины (А и В) — два нейропептида, которые образуются из общей молекулы препро-орексина [4, 5]. В мозге экспрессия препро-орексина осуществляется преимущественно в гипоталамусе в нейронах перифорникальной области. Эффекты орексинов опосредуются двумя типами G-протеин-связанных рецепторов: первого (OX1R) и второго (OX2R) типа [7–9]. Показано, что OX1R селективен только

для орексина-А, а через OX2R осуществляют действие оба типа орексинов [4, 5]. Отростки орексинергических нейронов и рецепторы орексинов выявлены в различных областях мозга (гипоталамусе, таламусе, гиппокампе, ядрах среднего мозга, префронтальной коре, ядрах шва и др.), что свидетельствует об участии орексинов в регуляции различных функций мозга [10, 11]. Общеизвестно, что орексины вовлечены в регуляцию пищевого поведения, энергетического баланса, бодрствования и пробуждения [4, 5, 12, 13], иммунного ответа [14–16] и др.

Тесные морфофункциональные взаимосвязи выявлены между орексинергическими нейронами гипоталамуса и моноаминергическими системами мозга. Проекции орексинергических нейронов, OX1R и OX2R обнаружены в дофаминергических структурах среднего мозга [17], в телах орексин-иммунопозитивных нейронов выявлены рецепторы к дофамину [18]. В связи с этим можно предположить, что дисбаланс дофамина, развивающийся при различных патологиях, должен оказывать влияние и на функциональную активность орексинергической системы гипоталамуса.

Эпилепсия — неврологическое заболевание, которое широко распространено в обществе и является большой проблемой современной медицины. Этиология эпилепсии чрезвычайно разнообразна. При этом некоторые формы эпилепсии связывают с дисбалансом моноаминов, в частности дофамина [19–21]. В экспериментальных исследованиях на животных распространены фармакологические подходы, моделирующие эпилептическую активность. Однако существуют и естественные модели животных с генетической предрасположенностью к развитию эпилептической активности. Исследование таких животных необходимо для разработки подходов возможной фармакологической коррекции этих форм патологии.

Крысы линии Крушинского—Молодкиной (КМ) характеризуются генетической предрасположенностью к аудиогенной судорожной активности. Максимальная судорожная готовность у крыс КМ формируется к 3-месячному возрасту [22], проявляясь в виде однофазных или двухфазных генерализованных клонико-тонических судорожных припадков продолжительностью от 1.5 до 2.5 мин [22–25]. Обнаружено, что структурой мозга, где осуществляется запуск судорожной активности, в частности у крыс с наследственной предрасположенностью к аудиогенным судорогам, являются нижние бугры четверохолмия [26, 27], а дофаминергические нейроны черной субстанции, контролируемые двигательную активность, вовлечены в развертывание судорог [26].

Крысы линии Wistar Albino Glaxo rats, выведенной в Нидерландах в городе Rijswijk (WAG/Rij), являются моделью генетической генерализованной абсансной эпилептиформной активности. Причиной абсансной эпилепсии являются спонтанные пик-волновые комплексы (ПВК), которые инициируются в глубоких слоях соматосенсорной коры больших полушарий [28, 29], быстро распространяются в кортикально-таламокортикальную сеть [30, 31]. У крыс линии WAG/Rij первые ПВК начинают появляться в возрасте 2–3 мес. и полностью разворачиваются к 5–6 мес. За один день у крыс могут развиваться сотни ПВК с частотой 7–10 Гц. Были обнаружены ПВК нескольких типов: тип 1 (7.5–9.5 Гц длительностью 3–4 с) и тип 2 (частота 8 Гц длительностью около 1 с), которые спонтанно возникают в корковой ЭЭГ [29, 32]. Известно, что в популяции крыс WAG/Rij встречаются особи со смешанной формой эпилепсии: в дополнение к абсансной проявляется и аудиогенная эпилептиформная активность [33].

Развитие абсансной эпилепсии у человека связывают, в частности, с мутацией гена, кодирующего субъединицу GABA-A рецептора [34, 35]. Нарушение функционирования системы GABA, связанное с дефицитом нейротрансмиттера, отмечается в ряде структур мозга как у крыс WAG/Rij [36], так и у крыс КМ [37, 38]. Также у крыс КМ и WAG/Rij в различных отделах головного мозга отмечается дисбаланс

моноаминов по сравнению с крысами Вистар [39–43]. Однако эти данные получены на разных возрастных группах животных, при этом не было проведено анализа состояния орексинергической и дофаминергической систем в гипоталамусе.

Гипоталамус не является структурой мозга, непосредственно вовлеченной в генерацию эпилептической активности. Однако изменения в функционировании различных его систем при таких патологиях может носить адаптивный характер. Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы в гипоталамусе провести анализ уровня орексина и орексиновых рецепторов у крыс с различными формами эпилептической активности (крысы линий КМ и WAG/Rij), а также сопоставить полученные данные с характером изменения в гипоталамусе активности дофаминергической системы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были выполнены согласно дизайну исследования, одобренному Этическим комитетом Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, European Communities Council Directive 1986 (2010/63/ЕЕС) и согласно правилам, изложенным в “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”. Объектом исследований были самцы крыс КМ (возраст 4.5 мес.) аутбредной популяции, которая поддерживается в виварии Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН [25]. У крыс КМ в 3-месячном возрасте были подтверждены двухфазные генерализованные клонико-тонические судорожные припадки в ответ на звуковое воздействие (синусоидальный тон частотой 8 кГц, интенсивность 90 дБ). Контролем для крыс КМ служили нечувствительные к действию указанной звуковой стимуляции самцы крыс Вистар (4.5 мес.).

Также для исследования использованы самцы крыс WAG/Rij (6.5–7 мес.), популяция которых поддерживается в виварии Башкирского государственного университета. У использованных для исследования крыс WAG/Rij ПВК эпилептиформная активность была предварительно подтверждена энцефалографически с помощью подкожно вживляемых электродов. Отсутствие у этих крыс генерализованных судорожных припадков проверяли, предъявляя им звуковой стимул с указанными выше параметрами. Контролем для крыс WAG/Rij были самцы крыс Вистар того же возраста, у которых в ответ на действие звука аудиогенные эпилептиформные припадки не проявлялись.

Эксперименты проводили с 9:00 до 10:00 ч. После наркоза хлоралгидратом (400 мг/кг, внутривенно) крыс декапитировали, извлекали мозг и 1) либо замораживали в сухом льду, $n = 7–8$ в каждой группе; 2) либо погружали в 4%-ный раствор параформальдегида, разведенного на 0.2 М фосфатном буфере (PB, pH 7.4), для иммуногистохимических исследований ($n = 5$ в каждой группе).

Из замороженного мозга в криостате (при -20°C для избежания разморозки) во фронтальной плоскости вырезали область с гипоталамусом по координатам атласа мозга крысы [44] и делили ее вдоль на две половины: одну использовали для определения катехоламинов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), вторую половину – для анализа уровня экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени. У крыс Вистар и WAG/Rij для анализа уровня экспрессии генов также вырезали область префронтальной коры, которая, как известно, вовлечена в развитие абсансной эпилепсии.

Уровень дофамина (ДА) и его метаболита диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) определяли методом обращеннофазной ВЭЖХ с электрохимической детекцией на хроматографе Beckman Coulter (США) [45]. Протокол приготовления проб и условий детекции подробно описан ранее [46]. Конечная концентра-

Таблица 1. Характеристики праймеров, использованных для ПЦР в “реальном времени”

Ген	Положение	Последовательность (5'–3')	Длина продукта, пн	NCBI номер
<i>pOX</i>	F	GTTCTGCGGTCTCTACGA	72	NM_013179.2
	R	GCTTCCCAGAGTGAGGATG		
<i>Ox1r</i>	F	TGCGGCCAACCCSTATCATCTA	137	NM_013064.1
	R	ACCGGCTCTGCAAGGACAA		
<i>Ox2r</i>	F	ACTGTCTACGCCTGGTTAC	183	NM_013074.1
	R	CTCTGTACTTGTGCGTCCCC		
<i>D1r</i>	F	ACATCTGGGTAGCCTTTGACATC	76	NM_012546.3
	R	TACCTGTCCACGCTGATCACG		
<i>D2r(L)</i>	F	GCAGCAGTCGAGCTTTCAGA	124	NM_012547.1
	R	CGCCTGTTCAGTGGAAACT		
<i>Gapdh*</i>	F	GTGTTCCCTACCCCAATGTATCC	74	NM_017008.4
	R	GATGTCATCATACTTGGCAGGTTT		

* – контрольный ген (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase).

ция ДА и ДОФУК выражена в процентах относительно соответствующего уровня у крыс Вистар (100%).

Для оценки экспрессии генов, кодирующих препро-орексин (pOX), рецепторы орексины (OX1R и OX2R) и дофамина (D1R, D2R – Large form) использовали количественную ПЦР в реальном времени. Тотальную РНК выделяли из ткани гипоталамуса с помощью TRI-reagent (Invitrogen, США) согласно инструкции производителя. Чистоту ($A_{260}/A_{280} \geq 1.6$) и концентрацию РНК определяли с помощью “Nanophotometer C40” (Implen, Германия). Синтез обратной транскрипции (ОТ) проводили с помощью ОТ MMLV RT kit (Evrogen, Россия) с 1 мкг тотальной РНК по инструкции производителя. Амплификацию проводили в смеси (25 мкл), содержащей 10 нг ОТ-продукта, по 0.4 мкМ прямого (F – forward) и обратного (R – reverse) праймеров (табл. 1), qPCRmix-HS SYBR + LowROX (“Евроген”, Россия) в 96-луночных ПЦР-планшетах (в триплетах) с помощью прибора “7500 Real-Time PCR System” (“Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Inc.”, США). Протокол циклов амплификации ранее был подробно описан [47]. Для количественной оценки относительного уровня мРНК использовали метод delta-delta Ct.

Чистоту ПЦР-продукта проверяли с помощью электрофореза в 30%-ном агарозном геле с бромистым этидием. Свечение продукта в геле анализировали с помощью гель-документирующей системы (Chemidoc, Biorad, Великобритания).

Для иммуногистохимических исследований мозг фиксировали в течение 4 сут (4°C), далее промывали в 0.02 М фосфатном буфере с 0.9% NaCl (PBS, pH 7.4) и после криопротекции в 30%-ном растворе сахарозы, растворенной в PBS, замораживали при –42°C с помощью изопентана. Чередующиеся серии фронтальных срезов (20 мкм) из ткани гипоталамуса с перифорникальной областью [44] изготавливали с помощью криостата (Leica CM-1510, Германия). Каждый одиннадцатый срез монтировали на стекла SuperFrost/plus (Menzel, Германия), высушивали и хранили при –20°C. Перед проведением иммуногистохимических реакций стекла высушивали, промывали в PBS, кипятили 5 мин в цитратном буфере (pH 6.0) для демаскировки антигена, промывали в PBS, в течение 30 мин обрабатывали 0.6%-ной перекисью водорода, разведенной в PBS. После промывки в PBS с 0.1% Triton X-100 (PBST) срезы инкубировали 1 ч при комнатной температуре в блокирующем растворе (2% сыворотки быка и 3% сыворотки козы, разведенные в PBST) для предотвращения неспецифического связывания. Срезы инкубировали 48 ч при

4°C с первичными антителами кролика к орексину-А (Sigma, США) в разведении 1 : 1000 на 2%-ном блокирующем растворе. После тщательной промывки срезы инкубировали 1 ч при комнатной температуре со вторичными Ig козы против кролика, конъюгированными с биотином ("VectorLabs", США), разведенные 1 : 600 в PBST. Стекла тщательно промывали и наносили комплекс стрептовидин–пероксидаза (Sigma, США) в разведении 1 : 1000 на PBS. Визуализацию проводили с помощью 0.05%-ного раствора диаминобензида (Sigma, США) и 0.015%-ного раствора перекиси водорода. Реакцию останавливали дистиллированной водой и после тщательной промывки и стандартной гистологической обработки срезы заключали под покровное стекло и высушивали. Изображения получали с помощью микроскопа "Carl Zeiss" Axio A1 (Германия) со встроенной телевизионной камерой и программы Axio-Vision 4.8. С помощью программы Image J на каждом из снимков (8–10 для каждого животного) в нейронах определяли оптическую плотность орексина-А в условных единицах (у. е.).

Статистический анализ данных биохимических и иммуногистохимических исследований выполнен с помощью программы STATISTICA.10, при уровне значимости $p < 0.05$. Оценку нормальности распределения данных проводили с использованием теста D'Agostino–Pearson. Сравнение двух независимых групп проводилось с помощью U-критерия Манна–Уитни. Результаты представлены как медиана (М) 50% данных с интерквартильными размахами. Статистический анализ результатов ПЦР выполняли с помощью программного обеспечения "GraphPad Prism 7" ("GraphPad Software", США). Оценку нормальности распределения данных проводили с использованием теста D'Agostino–Pearson. В случае нормального распределения ($\alpha = 0.05$) различия между группами оценивали с помощью непарного t -теста и рассматривали как статистически значимые при $p < 0.05$. Результаты ПЦР представлены как $M \pm SEM$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У крыс КМ с наследственной предрасположенностью к аудиогенной эпилептиформной активности в гипоталамусе отмечался более высокий уровень дофамина $M = 577$ (379; 693) и ДОФУК $M = 160$ (120; 180) по сравнению с крысами Вистар соответственно $M = 100$ (69; 314), $p < 0.05$ и $M = 100$ (80; 120), $p < 0.05$. Таким образом, катаболический коэффициент ДОФУК/ДА крыс КМ $M = 0.29$ (0.17; 0.27) по сравнению с крысами Вистар $M = 1.0$ (0.56; 1.4) был снижен ($p < 0.05$).

Результаты ПЦР демонстрируют в гипоталамусе повышенный уровень мРНК D1- (в 3.5 раза, $p < 0.05$) и D2-рецепторов дофамина (в 5.3 раза, $p < 0.05$) по сравнению с крысами Вистар (рис. 1а). Полученные данные свидетельствуют о том, что дофаминергическая система в гипоталамусе крыс КМ находится в более активном состоянии по сравнению с крысами Вистар.

Результаты ПЦР демонстрируют в гипоталамусе крыс КМ более высокий уровень мРНК препро-орексина (в 2 раза, $p < 0.05$) по сравнению с крысами Вистар, при этом не выявлено отличий в уровне мРНК OX1R и OX2R (рис. 1а).

Анализ орексин-А-иммунопозитивных нейронов перифорникальной области гипоталамуса на препаратах мозга свидетельствует о более интенсивной реакции в телах нейронов и отростках у крыс КМ по сравнению с крысами Вистар (рис. 2а, 2б). Количественный анализ демонстрирует более высокий уровень оптической плотности орексина-А в телах нейронов ($M = 0.56$; 0.47, 0.66, $p < 0.05$, рис. 2с) по сравнению с крысами Вистар ($M = 0.52$; 0.37, 0.54).

Таким образом, в гипоталамусе у крыс КМ на фоне более высокого уровня дофамина, экспрессии D1- и D2-рецепторов наблюдается более высокий уровень как экспрессии гена препро-орексина, так и его белка в нейронах, в частности орекси-

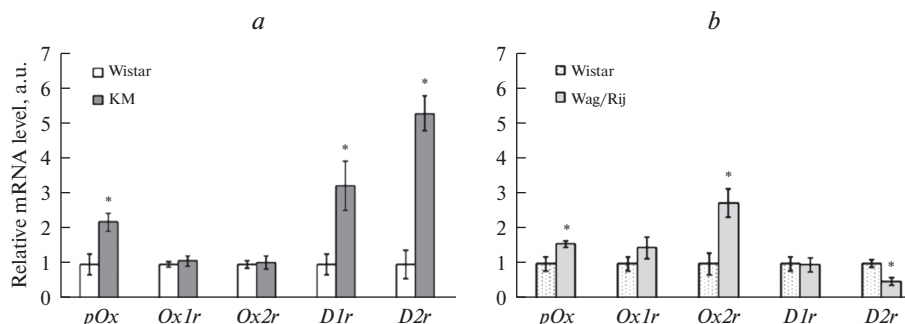


Рис. 1. Анализ экспрессии генов в гипоталамусе крысы КМ (a) и Wag/Rij (b) по сравнению с крысами Wistar соответствующего возраста. *Обозначения:* гены, кодирующие препро-орексин (*pOx*), орексиновый рецептор 1 и 2 (*Ox1r* и *Ox2r*), дофаминовые рецепторы 1 и 2 (*D1r* и *D2r*); * – достоверность отличий ($p < 0.05$) от соответствующей группы Wistar. Результаты представлены в условных единицах (arbitrary units – a.u.).

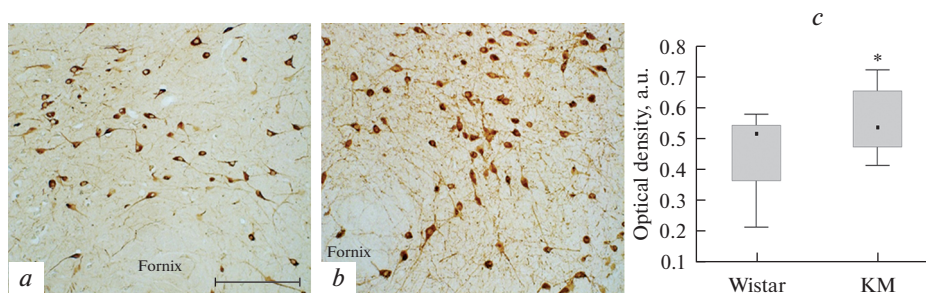


Рис. 2. Иммуногистохимическая реакция к орексину-А в перифорникальной области гипоталамуса крысы Wistar (a) и Крушинского–Молодкиной (КМ, b) и количественный анализ оптической плотности орексина-А в нейронах (c). Бокс-плоты соответствуют 50% данных (от 25 до 75%), черная точка внутри бокса – медиана, линии предела – интерквартильный размах. Результаты представлены в условных единицах (arbitrary units – a.u.). * – достоверность отличий ($p < 0.05$). Масштаб 100 мкм.

на-А. Но при этом в гипоталамусе не выявлено изменения экспрессии генов, кодирующих орексиновые рецепторы (OX1R и OX2R).

Результаты ВЭЖХ демонстрируют в гипоталамусе меньший уровень дофамина у крыс WAG/Rij ($M = 87; 78, 92$) по сравнению с крысами Вистар ($M = 100; 84, 115$) на 13% ($p < 0.001$). Но достоверных отличий уровня ДОФУК ($M = 82; 69, 116$ и $M = 100; 91, 188$, $p > 0.05$) и катаболического коэффициента ДОФУК/ДА ($M = 0.79; 0.63, 1.58$ и $M = 1.0; 0.96, 0.41$, $p > 0.05$) у крыс WAG/Rij по сравнению с крысами Вистар, несмотря на тенденцию к снижению, не выявлено.

Результаты ПЦР демонстрируют в гипоталамусе у крыс линии WAG/Rij отсутствие отличий в уровне мРНК D1 и более низкий (на 40%, $p < 0.05$) уровень мРНК D2-рецепторов дофамина по сравнению с крысами Вистар (рис. 1b). Полученные данные свидетельствуют о том, что у крыс линии WAG/Rij в гипоталамусе наблюдается снижение активности дофаминергической системы по сравнению с крысами Вистар.

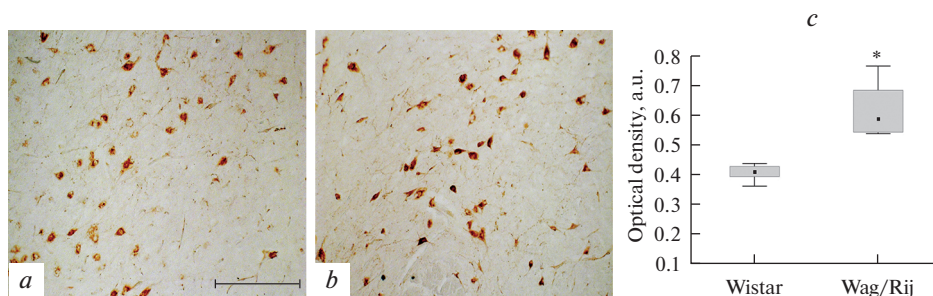


Рис. 3. Иммуногистохимическая реакция к орексину-А в перифорникальной области гипоталамуса крысы Wistar (*a*) и Wag/Rij (*b*) и количественный анализ оптической плотности орексина-А в нейронах (*c*). Бокс-плоты соответствуют 50% данных (от 25 до 75%), черная точка внутри бокса – медиана, линии предела – интерквартильный размах. Результаты представлены в условных единицах (arbitrary units – a.u.). * – достоверность отличий ($p < 0.05$). Масштаб 100 мкм.

Результаты ПЦР демонстрируют в гипоталамусе у крыс WAG/Rij по сравнению с крысами Вистар более высокий уровень мРНК препро-орексина (в 1.5 раза, $p < 0.05$) и OX2R (в 2.7 раз, $p < 0.05$), а изменение уровня мРНК OX1R (увеличение на 45%) не было статистически достоверным (рис. 1b). В области префронтальной коры больших полушарий не выявлено достоверных отличий в уровне мРНК OX1R между крысами WAG/Rij (0.77 ± 0.13 у. е.) и Вистар (1.0 ± 0.08 у. е.). Однако в этой области у крыс WAG/Rij выявлено уменьшение (более низкий уровень) уровня препро-орексина (на 65%, $p < 0.05$) и OX2R (на 69%, $p < 0.05$) по сравнению с крысами Вистар.

Анализ препаратов мозга крыс WAG/Rij свидетельствует о более интенсивной реакции к орексину-А в нейронах перифорникальной области гипоталамуса по сравнению с крысами Вистар (рис. 3а, б). Количественный анализ выявил у крыс WAG/Rij увеличение оптической плотности орексина-А в телах нейронов на 40% ($M = 0.60$; $0.55, 0.69$, $p < 0.05$) по сравнению с крысами Вистар ($M = 0.43$; $0.41, 0.44$, рис. 3с).

Таким образом, в гипоталамусе у крыс WAG/Rij на фоне снижения уровня дофамина и экспрессии гена, кодирующего рецепторы D₂, наблюдается увеличение экспрессии генов, кодирующих препро-орексин и OX2R, а также увеличение уровня белка орексина-А в нейронах перифорникальной области.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящем исследовании был проведен анализ орексинергической системы гипоталамуса у крыс, генетически предрасположенных к эпилептической активности различного генезиса: аудиогенной эпилепсии (крысы линии КМ), которая сопровождается развитием судорог, и абсансной эпилепсией (крысы линии WAG/Rij). Использованные линии животных рассматривались нами как модели дисбаланса моноаминов в структурах головного мозга [39, 40, 43]. Полученные нами данные с помощью методов ВЭЖХ и ПЦР подтверждают изменение активности дофаминергической системы в гипоталамусе, однако направленность этих изменений у исследованных животных была различной.

У крыс КМ в гипоталамусе отмечается активация дофаминергической системы, что выражается в повышенном уровне дофамина и его метаболита ДОФУК, меньшим значением метаболического коэффициента. Выявлены более высокие уровни

мРНК D1- (активирующих) и D2- (тормозных) рецепторов дофамина, что может быть связано как с повышенной чувствительностью структур гипоталамуса к дофамину, так и быть направлено на уравнивание его эффектов. У крыс WAG/Rij в гипоталамусе, напротив, выявлен статистически достоверно меньший уровень дофамина, но достоверных отличий уровня ДОФУК и катабolicеского коэффициента от соответствующих показателей у крыс Вистар не обнаружено. Это сопровождалось отсутствием отличия в уровне мРНК D1- и меньшим уровнем мРНК D2-рецепторов ($p < 0.05$), что может быть связано с повышенной чувствительностью структур гипоталамуса к действию дофамина в условиях его дефицита по сравнению с крысами Вистар.

Ранее у крыс WAG/Rij меньший уровень D1-рецепторов дофамина был показан в прилежащем ядре, дорзальном стриатуме, а также меньший уровень D2-рецепторов дофамина выявлен в моторной и соматосенсорной областях коры больших полушарий, дорзальном стриатуме, гиппокампе [41]. В другом исследовании у крыс WAG/Rij 6-месячного возраста в гипоталамусе не выявлено достоверных отличий уровня дофамина и ДОФУК по сравнению с крысами Вистар, однако показано статистически достоверно меньшее значение катабolicеского коэффициента. В других структурах мозга (префронтальная кора, прилежащее ядро, стриатум) у этих животных также выявлено меньшее значение уровня дофамина, однако его уровень отличался в зависимости от возраста животных (36 дней, 3 и 6 мес.) [43]. Поэтому в настоящем исследовании нам было важно определить уровень дофамина и его метаболита у исследованных нами крыс.

У крыс KM и WAG/Rij, несмотря на разные уровни дофамина в гипоталамусе, результаты ПЦР и иммуногистохимии свидетельствуют о более высоком уровне экспрессии гена, кодирующего препро-орексин, так и уровня его белка орксина-А. У крыс KM повышенный уровень орксина не сопровождался изменением уровня мРНК рецепторов орксина, что, по-видимому, указывает на то, что мишенями орксинов при аудиогенной эпилепсии структуры гипоталамуса являются в меньшей степени, чем другие отделы мозга, куда приходят проекции орксинергических нейронов, возможно структуры, вовлеченные в эпилептогенез. У крыс WAG/Rij в гипоталамусе нами выявлен статистически достоверно повышенный уровень мРНК OX2R и лишь тенденция к увеличению мРНК OX1R, что, по-видимому, свидетельствует об активном участии орксинов в регуляции структур гипоталамуса при данной патологии. При этом в префронтальной коре у крыс WAG/Rij в отличие от гипоталамуса, напротив, выявлен меньший уровень мРНК препро-орксина и OX2R, а результаты, полученные другими авторами [43], демонстрируют уменьшение уровня дофамина в этой структуре мозга.

Известно, что дофамин может оказывать прямое влияние на орксинергические нейроны гипоталамуса: D1- и D2-рецепторы дофамина выявлены непосредственно в телах орксин-иммунопозитивных нейронов [18]. Однако следует отметить, что характер действия дофамина на орксинергические нейроны определяется способностью дофаминовых рецепторов образовывать D1/D2 гетеродимерные комплексы [18]. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что активация орксинергической системы гипоталамуса наблюдается при изменении биосинтеза дофамина независимо от его увеличения или снижения.

Интересно отметить тот факт, что одной из общепризнанных функций орксинов является их участие в регуляции цикла бодрствование–сон [48, 49]. Ранее было показано, что структура цикла бодрствование–сон как у крыс KM [50], так и крыс WAG/Rij [51] существенно не отличается от таковой у крыс Вистар. Таким образом, повышение уровня орксина у этих животных может быть связано с другими функциями этого белка в мозге.

Экспрессия рецепторов орексинов выявлена в структурах мозга, вовлеченных в инициацию и распространение эпилептиформной активности [10, 52]. Так, увеличение количества орексин-иммунопозитивных нейронов показано при эпилепсии [53], что дало основание предполагать участие орексинов в эпилептогенезе. В связи с этим появились исследования, демонстрирующие применение антагонистов орексиновых рецепторов в качестве терапевтических и противосудорожных препаратов [54–57]. Уменьшение судорог показано после введения антагонистов орексиновых рецепторов в гиппокамп [58].

Гипоталамус — важнейший отдел мозга, вовлеченный в регуляцию адаптивных реакций организма. Различные формы эпилепсии являются неврологическими расстройствами, развитие которых может быть следствием энергетического кризиса в нейронах мозга и развития в них гипометаболизма [59–61]. Поскольку орексины вовлечены в регуляцию энергетического баланса, то их активация при эпилепсии различного генезиса может рассматриваться и как механизм компенсации, направленный на поддержание энергетического баланса в нейронах.

Изменение метаболических процессов в нейронах мозга, повреждение их структур, их дегенерация и гибель отмечается после эпилептических припадков, в частности в пилокарпиновой модели эпилепсии [53, 62, 63]. В то же время высказывается гипотеза, предполагающая, что наблюдавшаяся при височной эпилепсии реорганизация слоев гиппокампа является результатом дифференцировки популяции новых пирамидных клеток, а не ремоделированием зрелых нейронов [64]. В контексте этой гипотезы орексины могут являться непосредственными участниками развития эпилепсии, поскольку известна их роль в нейрогенезе клеток гиппокампа [65–67]. Однако нейрохимические и молекулярные основы участия орексинов в патогенезе различных форм эпилепсии не изучены. В связи с этим представленные нами данные об увеличении уровня орексина в гипоталамусе при аудиогенной и абсансной эпилепсии может свидетельствовать о его роли в адаптивных реакциях организма при данных патологиях.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено с использованием оборудования центра коллективного пользования Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН в рамках государственного задания № 075-0152-22-00.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея исследования и дизайн эксперимента (И.Ю.М., З.Р.Х., И.В.Р.), проведение экспериментов и сбор материала для исследования (И.Ю.М., А.Л.М., Е.В.М., С.И.В., З.Р.Х.), обработка результатов (И.Ю.М., Е.В.М., С.И.В.), написание и редактирование текста (И.В.Р.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Saper CB, Lowell BB* (2014) The hypothalamus. *Curr Biol* 24 (23): R1111–R1116. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.023>
2. *Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG* (2000) Central nervous system control and food intake. *Nature* 404(6778): 661–671. <https://doi.org/10.1038/35007534>
3. *Cakir I, Nillni EA* (2019) Endoplasmic reticulum stress, the hypothalamus, and energy balance. *Trends Endocrinol Metabolism* 30(3): 163–176. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.01.002>

4. *de Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao X-B, Foye PE, Danielson P E, Fukuhara C, Battenberg ELF, Gautvik V, Bartlett FS, Frankel WN, Van Den Pol AN, Bloom FE, Gautvik KM, Sutcliffe JG* (1998) The hypocretins: Hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(1): 322–327.
<https://doi.org/10.1073/pnas.95.1.322>
5. *Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M* (1998) Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 92(4): 573–585.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80949-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80949-6)
6. *Rodgers RJ, Halford JC, Nunes de Souza RL, Canto de Souza AL, Piper DC, Arch JR, Blundel JE* (2001) Dose-response effects of orexin-A on food intake and the behavioural satiety sequence in rats. *Regul Pept* 96(1–2): 71–84.
[https://doi.org/10.1016/S0167-0115\(00\)00203-2](https://doi.org/10.1016/S0167-0115(00)00203-2)
7. *Zhu Y, Miwa Y, Yamanaka A, Yada T, Shibahara M, Abe Y, Sakurai T, Goto K* (2003) Orexin receptor type-1 couples exclusively to pertussis toxin-insensitive G-proteins, while orexin receptor type-2 couples to both pertussis toxin-sensitive and -insensitive G-proteins. *J Pharmacol Sci* 92(3): 259–266.
<https://doi.org/10.1254/jphs.92.259>
8. *Karteris E, Machado RJ, Chen J, Zervou S, Hillhouse EW, Randevara HS* (2005) Food deprivation differentially modulates orexin receptor expression and signalling in the rat hypothalamus and adrenal cortex. *J Physiol Endocrinol Metab* 288(6): E1089–E1100.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00351.2004>
9. *Kukkonen JP, Leonard CS* (2014) Orexin/hypocretin receptor signalling cascades. *Br J Pharmacol* 171(2): 314–331.
<https://doi.org/10.1111/bph.12324>
10. *Sakurai T* (2005) Roles of orexin/hypocretin in regulation of sleep/wakefulness and energy homeostasis. *Sleep Med Rev* 9(4): 231–241.
<https://doi.org/10.1016/j.smrv.2004.07.007>
11. *Li J, Hu Z, de Lecea L* (2014) The hypocretins/orexins: integrators of multiple physiological functions. *Br J Pharmacol* 171(2): 332–350.
<https://doi.org/10.1111/bph.12415>
12. *Lin L, Faraco J, Li R, Kadotani H, Rogers W, Lin X, Qiu X, de Jong PJ, Nishino S, Mignot ES* (1999) The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell* 98(3): 365–376.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81965-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81965-0)
13. *Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, Richardson JA, Williams SC, Xiong Y, Kisanuki Y, Fitch TE, Nakazato M, Hammer RE, Saper CB, Yanagisawa M* (1999) Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 98(4): 437–451.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81973-x](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81973-x)
14. *Waleh NS, Apte-Deshpande A, Terao A, Ding J, Kilduff TS* (2001) Modulation of the promoter region of prepro-hypocretin by alpha-interferon. *Gene* 262(1–2): 123–128.
[https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(00\)00544-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(00)00544-8)
15. *Hara J, Yanagisawa M, Sakurai T* (2005) Difference in obesity phenotype between orexin-knockout mice and orexin neuron-deficient mice with same genetic background and environmental conditions. *Neurosci Lett* 380(3): 239–242.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.01.046>
16. *Tanaka S, Takizawa N, Honda Y, Koike T, Oe S, Toyoda H, Kodama T, Yamada H* (2016) Hypocretin/orexin loss changes the hypothalamic immune response. *Brain Behav Immun* 57: 58–67.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.06.009>
17. *Peyron C, Tighe D, van den Pol A, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS* (1998) Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *Neuroscience* 18(23): 9996–10015.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-23-09996.1998>
18. *Morina IYu, Mikhrina AL, Romanova IV* (2019) An Immunohistochemical Study of the Pathways of the influence of dopamine on orexinergic neurons in the perifornical area of the hypothalamus. *Neurosci Behav Physiol* 49 (9): 1100–1105.
<https://doi.org/10.1007/s11055-019-00846-5>
19. *Bozzi Y, Borrelli E* (2013) The role of dopamine signaling in epileptogenesis. *Front Cell Neurosci* 7: 157.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00157>

20. *Akyuz E, Polat AK, Eroglu E, Kullu I, Angelopoulou E, Paudel YN* (2020) Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: An updated review. *Life Sci* 265: 118826. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118826>
21. *Juliá-Palacios N, Molina-Anguita C, Sigatulina Bondarenko M, Cortès-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. *Dev Med Child Neurol* 64(7): 915–923. <https://doi.org/10.1111/dmcn.15140>
22. *Семиохина АФ, Федотова ИБ, Поletaева ИИ* (2006) Крысы линии Крушинского–Молодкиной: исследования аудиогенной эпилепсии, сосудистой патологии и поведения. *Журн высш нерв деятелън* 56 (3): 298–316. 2006. [*Semiokhina AF, Fedotova IB, Poletaeva II* Rats of Krushinsky–Molodkina strain: studies of audiogenic epilepsy, vascular pathology, and behavior. *Zh Vyssh Nerv Deyat* 56 (3): 298–316. (In Russ)].
23. *Крушинский Л* (1959) Генетические исследования по экспериментальной патофизиологии высшей нервной деятельности. *Бюлл Московск общ-ва испытателей природы Отдел биол* 64: 105–117. [*Krushinsky LV* (1959) The genetic studies of experimental pathophysiology in higher nervous activity. *Bull Mosc Soc Natur Testers Biol Sect* 64: 105–117. (In Russ)].
24. *Poletaeva II, Surina NM, Kostina ZA, Perepelkina OV, Fedotova IB* (2017) The Krushinsky–Molodkina rat strain: The study of audiogenic epilepsy for 65years. *Epilepsy Behav* 71 (Pt B): 130–141. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.04.072>
25. *Vataev SI* (2019) Специфические особенности крыс линии Крушинского–Молодкиной как генетической модели генерализованных судорожных припадков. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 105 (6):667–679. [*Vataev SI* (2019) Specific features of the Krushinsky–Molodkina rats as a genetic model of generalized seizures. *Russ J Physiol* 105 (6): 667–679. (In Russ)]. <https://doi.org/10.1134/S0869813919060104>
26. *Faingold CL* (2012) Brainstem Networks: Reticulo-Cortical Synchronization in Generalized Convulsive Seizures. In: *Jasper’s Basic Mechanisms of the Epilepsies. Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, Olsen RW, Delgado-Escueta AV*(eds) 4th edition. Bethesda (MD): Natl Center Biotechnol Informat (US).
27. *Vataev SI, Mal’gina NA, Oganesyana GA* (2016) Effects of stimulation of the inferior colliculi in Krushinsky–Molodkina rats. *Neurosci Behav Physiol* 46 (1): 51–56. <https://doi.org/10.1007/s11055-015-0197-2>
28. *van Luijteleaer EL, Coenen AM* (1986) Two types of electrocortical paroxysms in an in-bred strain of rats. *Neurosci Lett* 70(3): 393–397. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(86\)90586-0](https://doi.org/10.1016/0304-3940(86)90586-0)
29. *Meeren H, van Luijteleaer G, Lopes da Silva F, Coenen A* (2005) Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch Neurol* 62 (2): 371–376. <https://doi.org/10.1001/archneur.62.3.371>
30. *Meeren HK, Pijn JP, van Luijteleaer EL, Coenen AM, Lopes da Silva FH* (2002) Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci* 22(4): 1480–1495. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-04-01480.2002>
31. *Blumenfeld H* (2005) Cellular and network mechanisms of spike-wave seizures. *Epilepsia* 46 Suppl 9: 21–33. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.00311.x>
32. *Midzianovskaia IS, Kuznetsova GD, Coenen AML, Spiridonov AM, van Luijteleaer ELJM* (2001) Electrophysiological and pharmacological characteristics of two types of spike-wave rats. *Brain Res* 911: 62–70. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(01\)02705-6](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(01)02705-6)
33. *Midzianovskaya IS, Kuznetsova GD, Vinogradova LV, Shatskova AB, Coenen AM, van Luijteleaer G* (2004) Mixed forms of epilepsy in a subpopulation of WAG/Rij rats. *Epilepsy Behav* 5(5): 655–661. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2004.06.021>
34. *Bowser DN, Wagner DA, Czajkowski C, Cromer BA, Parker MW, Wallace RH., Harkin LA, Mully JC, Marini C, Berkovic SF, Williams DA, Jones MV, Petrou S* (2002) Altered kinetics and benzodiazepine sensitivity of a GABA_A receptor subunit mutation [γ 2(R43Q)] found in human epilepsy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(23): 15170–15175. <https://doi.org/10.1073/pnas.212320199>
35. *Kang J, Macdonald RL* (2004) The GABA_A receptor γ 2 subunit R43Q mutation linked to childhood absence epilepsy and febrile seizures causes retention of α 1 β 2 α 2S receptors in the endoplasmic reticulum. *J Neurosci* 24(40): 8672–8677. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2717-04.2004>

36. Van Luijtelaaar G, Sitnikova E (2006) Global and focal aspects of absence epilepsy: the contribution of genetic models. *Neurosci Biobehav Rev* 30(7): 983–1003.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.03.002>
37. Жулин ВВ, Плещачева МГ (1991) Связывание ГАМК и диазепама в головном мозге крыс линии Крушинского–Молодкиной. *Нейрохимия* 10 (1–2): 10–17. [Joulin VV, Ple-skacheva MG (1991) GABA and diazepam binding in rats of Krushinsky–Molodkina strain. *Neurochimia* 10 (1–2): 10–17. (In Russ)].
38. Bashkatova VG, Kudrin VS, Malikova LA, Kosacheva ES, Fedotova IB, Semiokhina AF, Rayevsky KS (1995) Transmitter amino acids, lipid peroxidation and antioxidant defence mechanisms in the brain of rats with audiogenic epilepsy. *J Neurochem* 65: 191–198.
39. Косачева ЕС, Кудрин ВС, Федотова ИБ, Семиохина АФ, Раевский КС (1998) Влияние карбамазепина на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс с аудиогенной эпилепсией. *Эксперим клинич фармакол* 61(3): 25–27. [Kosacheva ES, Kudrin VS, Fedotova IB, Semiokhina AF, Raevskii KS (1998) The effect of carbamazepine on the content of monoamines and their metabolites in the brain structures of rats with audiogenic epilepsy. *Eks klin farmakol* 61(3): 25–27. (In Russ)].
40. de Bruin NM, van Luijtelaaar EL, Cools AR, Ellenbroek BA (2001) Dopamine characteristics in rat genotypes with distinct susceptibility to epileptic activity: apomorphine induced stereotyped gnawing and novelty/amphetamine induced locomotor stimulation. *Behav Pharmacol* 12(6–7): 517–525.
<https://doi.org/10.1097/00008877-200111000-00013>
41. Birioukova LM, Midzyanovskaya IS, Lensu S, Tuomisto L, van Luijtelaaar G (2005) Distribution of D1-like and D2-like dopamine receptors in the brain of genetic epileptic WAG/Rij rats. *Epilepsy Res* 63(2–3): 89–96.
<https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2004.12.001>
42. Malikova LA, Fedotova IB, Narkevich VB, Klodt PM, Kudrin VS, Poletaeva II, Raevskii KS (2008) Effects of the novel anticonvulsant levetiracetam on the content of monoamines and their main metabolites in the brain structures of rats of the Krushinskii–Molodkina strain. *Neurochem J* 2(4): 289–292.
<https://doi.org/10.1134/S1819712408040090>
43. Sarkisova KYu, Kulikov MA, Kudrin VS, Midzyanovskaya IS, Birioukova LM (2014) Age-related changes in behavior, in monoamines and their metabolites content, and in density of D1 and D2 dopamine receptors in the brain structures of WAG/Rij rats with depression-like pathology. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im IP Pavlova* 64(6): 668–685.
<https://doi.org/10.7868/S0044467714060094>
44. Paxinos GT, Watson Ch (1998) The rat brain in stereotaxic coordinates. (Fourth Edition). Acad Press. San Diego, California, USA. Int Standard Book Number: 0-12-547617-5 CD-ROM.
45. Krasnova IN, Bychkov ER, Liudyno VI, Zubareva OE, Dambinova SA (2000) Intracerebroventricular administration of substance P increases dopamine content in the brain of 6-hydrodopamine lesioned rats. *Neuroscience* 95(1): 113–117.
[https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(99\)00400-5](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(99)00400-5)
46. Morina IYu, Stankova EP, Romanova IV (2020) Effects of Prenatal Stress on the Formation of the Orexinergic System of the Hypothalamus in Rats. *Neurosci Behav Physiol* 50(5): 607–617.
<https://doi.org/10.1007/s11055-020-00942-x>
47. Romanova IV, Derkach KV, Mikhrina AL, Sukhov IB, Mikhailova EV, Shpakov AO (2018) The leptin, dopamine and serotonin receptors in hypothalamic POMC-neurons in normal and obese rodents. *Neurochem Res* 43(4): 821–837.
<https://doi.org/10.1007/s11064-018-2485-z>
48. Lin L, Faraco J, Li R, Kadotani H, Rogers W, Lin X, Qiu X, de Jong PJ, Nishino S, Mignot ES (1999) The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell* 98(3): 365–376.
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81965-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81965-0)
49. Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, Richardson JA, Williams SC, Xiong Y, Kisanuki Y, Fitch TE, Nakazato M, Hammer RE, Saper CB, Yanagisawa M (1999) Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 98(4): 437–451.
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81973-x](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81973-x)
50. Vataev SI, Oganessian GA (2011) The organization of sleep in Krushinskii–Molodkina rats after sleep deprivation and audiogenic convulsive seizures of different intensities. *Neurosci Behav Physiol* 41(7): 687–695.
<https://doi.org/10.1007/s11055-011-9473-y>
51. Sitnikova E (2021) Sleep disturbances in rats with genetic pre-disposition to spike-wave epilepsy (WAG/Rij) *Front Neurol* 12:766566.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2021.766566>

52. Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, Elmquist JK (2001) Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J Comp Neurol* 435(1): 6–25. <https://doi.org/10.1002/cne.1190>
53. Roundtree HM, Simeone TA, Johnson C, Matthews SA, Samson KK, Simeone KA (2016) Orexin receptor antagonism improves sleep and reduces seizures in Kcna1-null Mice. *Sleep* 39(2): 357–368. <https://doi.org/10.5665/sleep.5444>
54. Kortunay S, Erken HA, Erken G, Genç O, Sahiner M, Turgut S, Turgut G (2012) Orexins increase penicillin-induced epileptic activity. *Peptides* 34(2): 419–422. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.02.013>
55. Xu TR, Yang Y, Ward R, Gao L, Liu Y (2013) Orexin receptors: multi-functional therapeutic targets for sleeping disorders, eating disorders, drug addiction, cancers and other physiological disorders. *Cell Signal* 25(12): 2413–2423. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.07.025>
56. Ng MC (2017) Orexin and Epilepsy: Potential Role of REM Sleep. *Sleep* 40(3). <https://doi.org/10.1093/sleep/zsw061>
57. Wang C, Wang Q, Ji B, Pan Y, Xu C, Cheng B, Bai B, Chen J (2018) The orexin/receptor system: molecular mechanism and therapeutic potential for neurological diseases. *Front Mol Neurosci* 11: eA 220. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00220>
58. Goudarzi E, Salmani ME, Lashkarbolouki T, Goudarzi I (2015) Hippocampal orexin receptors inactivation reduces PTZ induced seizures of male rats. *Pharmacol Biochem Behav* 130: 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.01.006>
59. Blass JP (2001) Brain metabolism and brain disease: is metabolic deficiency the proximate cause of Alzheimer dementia? *J Neurosci Res* 66(5): 851–856. <https://doi.org/10.1002/jnr.10087>
60. Zilberter M, Ivanov A, Ziyatdinova S, Mukhtarov M, Malkov A, Alpar A, Tortoriello G, Botting CH, Fulop L, Osypov AA, Pitkanen A, Tanila H, Harkany T, Zilberter Y (2013) Dietary energy substrates reverse early neuronal hyperactivity in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 125(1): 157–171. <https://doi.org/10.1111/jnc.12127>
61. Bascuñana P, García-García L, Javela J, de la Rosa RF, Shiha AA, Kelly J, Delgado M, Pozo MÁ (2019) PET neuroimaging reveals serotonergic and metabolic dysfunctions in the hippocampal electrical kindling model of epileptogenesis. *Neuroscience* 409:101–110. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.04.028>
62. Fernandes MJ, Dube C, Boyet S, Marescaux C, Nehlig A (1999) Correlation between hypermetabolism and neuronal damage during status epilepticus induced by lithium and pilocarpine in immature and adult rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 19(2): 195–209. <https://doi.org/10.1097/00004647-199902000-00011>
63. Covolan L, Mello LE (2000) Temporal profile of neuronal injury following pilocarpine or kainic acid-induced status epilepticus. *Epilepsy Res* 39(2): 133–152. [https://doi.org/10.1016/s0920-1211\(99\)00119-9](https://doi.org/10.1016/s0920-1211(99)00119-9)
64. Parent JM, Yu TW, Leibowitz RT, Geschwind DH, Sloviter RS, Lowenstein DH (1997) Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *J Neurosci* 17(10): 3727–3738. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-10-03727.1997>
65. Ito N, Yabe T, Gamo Y, Nagai T, Oikawa T, Yamada H, Hanawa T (2008) I.c.v. administration of orexin-A induces an antidepressive-like effect through hippocampal cell proliferation. *J Neurosci* 157(4):720–732. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.09.042>
66. Bjornstrom K, Turina D, Strid T, Sundqvist T, Eintrei C (2014) Orexin A inhibits propofol-induced neurite retraction by a phospholipase D/protein kinase C?-dependent mechanism in neurons. *PLoS One* 9(5): e97129. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097129>
67. Bakos J, Zatkova M, Bacova Z, Ostatnikova D (2016) The role of hypothalamic neuropeptides in neurogenesis and neuritogenesis. *Neural Plasticity* 2016: 3276383. <https://doi.org/10.1155/2016/3276383>

Analysis of the Orexinergic System of the Hypothalamus in Rats with Various Forms of Genetically Due to Epilepsy

**I. Yu. Morina^a, A. L. Mikhrina^a, E. V. Mikhailova^a, S. I. Vataev^a,
Z. R. Hismatullina^b, and I. V. Romanova^{a,*}**

^a*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

^b*Bashkir State University, Ufa, Russia*

**e-mail: irinaromanova@mail.ru*

The hypothalamus was studied in mature males of two lines of rats with a genetic predisposition to various forms of epileptic activity was carried out: the Krushinsky-Molodkina (KM) with audiogenic convulsive activity and the WAG/Rij with absence epilepsy. The PCR results demonstrated an increased level of D1 and D2 mRNA of dopamine receptors in KM rats; in WAG/Rij rats no differences in the expression level of D1-receptors were found, but a significantly lower level of D2-receptor mRNA was shown compared to Wistar rats. In KM and WAG/Rij rats a higher level of prepro-orexin mRNA and orexin-A protein was found in the perifornical area neurons. In KM rats no differences were found in the level of orexin receptors expression and in WAG/Rij rats, the level of OX2R mRNA was higher than in Wistar rats. The data obtained are discussed in connection with the participation of the brain orexinergic system in the regulation of the dopaminergic system and the energy balance of the body during epileptic activity, as well as the likely function of orexins as adaptation factors in pathological conditions.

Keywords: hypothalamus, orexin, orexin receptors, dopamine, dopamine receptors, audiogenic and absence epilepsy