
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

НАРУШЕНИЯ ПОВЕДЕНИЯ У КРЫС С ФОКАЛЬНОЙ КОРТИКАЛЬНОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ, ПЕРЕНЕСШИХ ФЕБРИЛЬНЫЕ СУДОРОГИ

© 2025 г. О. Е. Зубарева¹ *, Д. С. Синяк¹, М. Р. Субханкулов¹,

Т. Ю. Постникова¹, А. В. Зайцев¹

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,

Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: zubarevaOE@mail.ru

Поступила в редакцию 25.11.2024 г.

После доработки 12.12.2024 г.

Принята к публикации 14.12.2024 г.

Нарушения развития коры головного мозга в раннем онтогенезе часто приводят к формированию фармакорезистентной эпилепсии и психических расстройств. Одним из таких нарушений является фокальная кортикальная дисплазия (ФКД), которую можно смоделировать у экспериментальных животных с помощью криогенного повреждения неокортекса в первые сутки после рождения. ФКД часто сопровождается развитием эпилепсии и поведенческих нарушений, таких как ухудшение обучения, памяти и социальной активности. Предполагается, что эти изменения могут быть более выраженными при комбинированном воздействии на мозг, например при сочетании ФКД с неонатальными фебрильными судорогами (ФС). Однако особенности поведенческих нарушений при такой сочетанной патологии остаются малоизученными. Целью настоящей работы было изучение поведенческих нарушений у взрослых крыс-самцов линии Вистар с ФКД, перенесших ФС. ФКД вызывали у крысят в первые сутки жизни (P0) путем локального замораживания соматосенсорной коры. На 10-й день жизни (P10) у крысят индуцировали ФС с помощью гипертермии (обдувания теплым воздухом) в течение 30 мин. В исследование включали только тех животных, у которых ФС длились не менее 15 мин. Контрольная группа состояла из ложнооперированных крысят, которых в возрасте P10 разлучали с матерью на 30 мин без нагревания. В возрасте 2–2.5 месяцев поведение животных оценивали с помощью тестов: “Открытое поле”, “Приподнятый крестообразный лабиринт”, “Социальный тест” и “Тест спонтанного чередования рукавов в Y-образном лабиринте”. Результаты показали, что сочетание ФКД и ФС в раннем возрасте приводит у взрослых животных к повышенной социальной активности, изменениям исследовательского поведения и уровня тревожности. Эти данные указывают на избирательное влияние сочетанной патологии на поведенческие функции, что может быть связано с реорганизацией нейронных сетей в мозге. Полученные результаты расширяют представления о последствиях комбинированного воздействия ФКД и ФС на формирование мозговых функций и подчеркивают важность дальнейшего изучения механизмов, лежащих в основе этих изменений. Это может иметь значение для разработки новых подходов к терапии пациентов с подобными нарушениями.

Ключевые слова: фокальная кортикальная дисплазия, фебрильные судороги, социальное поведение, исследовательская активность, эпилептогенез, гипертермия, двигательная активность

ВВЕДЕНИЕ

Пороки развития коры – это структурные аномалии, связанные с нарушением развития коры головного мозга в раннем онтогенезе. Они часто приводят к фармакорезистентной эпилепсии, неврологическим дефицитам, когнитивным нарушениям и психоэмоциональным расстройствам [1, 2], что делает их изучение крайне важным для разработки новых подходов к терапии. Кортикальные мальформации представляют собой гетерогенную группу нарушений, включая аномалии толщины коры (микро- и макроцефалия), складчатости (лиссэнцефалия, полимикрогирия) и расположения слоев (фокальная кортикальная дисплазия, ФКД) [3]. ФКД является одной из наиболее распространенных причин фармакорезистентной эпилепсии у детей и занимает второе-третье место по частоте у взрослых [4]. Помимо эпилепсии, ФКД ассоциирована с тяжелыми когнитивными нарушениями (память, внимание, мышление) [5–8], психоэмоциональными расстройствами [9] и изменениями социального поведения, включая расстройства аутистического спектра [10].

Для изучения механизмов, лежащих в основе этих нарушений, используются экспериментальные модели. Одной из таких моделей является криогенное поражение коры, которое вызывает воспроизводимые неокортикальные пороки развития, такие как полимикрогирия и фокальная гетеротопия [11, 12]. Однако моделирование ФКД само по себе не всегда приводит к развитию эпилепсии, поэтому, чтобы запустить эпилептогенез, необходимы дополнительные стрессовые воздействия [13]. Так, в рамках диатез-стресс модели развития эпилепсии [14] микрогирия может считаться структурным диатезом (предрасположенностью), так как повышает возбудимость нейронов и нарушает баланс между возбуждающими и тормозными процессами [15–18], что увеличивает риск развития эпилептогенеза на фоне стрессовых воздействий.

Показано, что выраженность эпилептиформных нарушений на ЭЭГ усиливается при сочетании ФКД с последующими индуцированными судорогами. Так, Colciaghi с соавт. показали, что введение конвульсанта пилокарпина крысам с кортикальной дисплазией вызывает развитие более тяжелых эпилептических нарушений (по данным ЭЭГ и поведенческим проявлениям) по сравнению с интактными животными [19]. Фебрильные судороги (ФС), индуцированные на фоне имеющейся ФКД, в дальнейшем чаще приводят к развитию эпилепсии (появлению спонтанных рецидивирующих судорог) у 86% экспериментальных животных [20, 21]. Сочетанная ФКД+ФС модель позволяет воспроизвести многие особенности, характерные для височной эпилепсии у детей, в том числе нарушения памяти [21].

Несмотря на значительный прогресс в изучении ФКД, особенности психоэмоционального, исследовательского и социального поведения при моделировании сочетанной патологии ФКД + ФС остаются малоизученными. Целью данной работы было изучение влияния сочетанной патологии ФКД и ФС на поведенческие функции, включая память, исследовательскую и социальную активность, а также уровень тревожности у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные животные, модели фокального поражения коры и фебрильных судорог

ФКД вызывали в течение первых 24 ч после рождения (P0) методом локальной заморозки, описанным Dvorák и Feit [12]. Новорожденных самцов анестезировали гипотермией, погружая их в мокрый лед ($\approx 0^\circ\text{C}$) на 4–5 мин до полного отсутствия движений и реакции на щипок хвоста. После этого скальпелем делали продольный разрез кожи (≈ 8 мм) в росто-каудальном направлении. Заморозку проводили с по-

мощью охлажденного до -60°C цилиндрического медного стержня диаметром 1 мм. Стержень прикладывали к поверхности черепа на 8 с над левой лобно-теменной корой, на 2 мм кзади от брегмы и на 3 мм латеральнее сагиттального шва. Для формирования более протяженной микроизвилины вызывали четыре замораживающих поражения на расстоянии ≈ 1 мм друг от друга. После процедуры разрез заклеивали хирургическим клеем, а крыс помещали на грелку под инфракрасный обогреватель до полного восстановления двигательной активности, после чего возвращали в домашние клетки. Контрольным животным проводили ложную операцию, включающую все хирургические процедуры, кроме заморозки, чтобы исключить влияние хирургического стресса.

В возрасте 10 дней (P10) у части крыс индуцировали ФС с помощью гипертермии, как описано ранее [22]. Крысят помещали на 30 мин в стеклянную камеру, где создавали поток теплого воздуха (46°C) с помощью нагревателя, расположенного на высоте 40 см. Температура тела крыс контролировалась и достигала $39\text{--}41^{\circ}\text{C}$, что приводило к развитию ФС длительностью не менее 15 мин. В исследование включали только тех животных, у которых ФС длились не менее 15 мин (оценка проводилась визуально). После процедуры крыс перемещали на прохладную поверхность для нормализации температуры тела и возвращали в домашние клетки. Контрольная группа состояла из крыс-однопометников, которых в возрасте P10 на 30 мин отсаживали от самки, но содержали при комнатной температуре.

Количество животных в группах составило: контроль (Ctrl) – 15, опыт (ФКД+ФС) – 12 крыс. Выбор количества животных был основан на предыдущих исследованиях, обеспечивающих достаточную статистическую мощность.

Тестирование поведения

Тестирование поведения контрольных и экспериментальных крыс проводили в возрасте 2.5–3 месяцев в батареях тестов. Все тесты выполняли в вечернее время (с 17 до 23 ч), когда крысы проявляют естественную высокую активность. Для минимизации стресса животных перед тестированием адаптировали к помещению и оборудованию. Результаты тестов анализировали с помощью компьютерных программ “Поле-крест” и “Field 4” (НИИ Экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия). Анализ этологических показателей проводил опытный экспериментатор, неосведомленный о групповой принадлежности конкретного животного.

Тест “Открытое поле” использовали для оценки исследовательской и двигательной активности, а также уровня тревожности. Экспериментальная площадка представляла собой круглое открытое поле диаметром 1 м, огороженное стенкой высотой 30 см. В полу установки находились 16 круглых отверстий диаметром 4 см и глубиной 3 см. Освещенность составляла 8 лк. Крысу помещали в центр поля и позволяли свободно исследовать его в течение 5 мин. После каждого животного установку очищали 15%-ным раствором этанола. Поведение фиксировали с помощью двух камер (вид сверху и сбоку). Видеозапись с верхней камеры использовали для анализа пройденной дистанции и времени пребывания в центральной зоне (показатель тревожности). Видеозапись с боковой камеры позволяла оценить локомоторную активность (время движения), исследовательскую активность (время обследования норок и стоек с упором) и уровень тревожности (время автогруминга).

Тест “Приподнятый крестообразный лабиринт” применяли для оценки уровня тревожности. Установка состояла из платформы с двумя закрытыми и двумя открытыми рукавами. Закрытые рукава были окружены стенками высотой 30 см и закрыты сверху непрозрачными крышками, а открытые рукава имели стенки высотой 0.5 см. Размер каждого рукава составлял 50×10 см, высота над полом – 40 см. Освещенность открытых рукавов была 24 лк, а закрытых – менее 1 лк. Крысу помещали в центр ла-

биринта, ориентируя головой на один из открытых рукавов, и позволяли исследовать установку в течение 5 мин. Поведение фиксировали с помощью видеокамеры, расположенной над установкой. Анализировали время пребывания в открытых и закрытых рукавах, относительное время в открытых рукавах (показатель тревожности), а также время выглядывания из закрытых рукавов (показатель исследовательского поведения).

Тест “Социальное взаимодействие” использовали для оценки социального поведения. В качестве экспериментальной установки применяли клетку из оргстекла размером 60×30 см и высотой 40 см. За сутки до теста крысу помещали в клетку для адаптации. Затем в клетку на 5 мин сажали незнакомого взрослого самца крысы линии Вистар. Поведение фиксировали с помощью видеокамеры. Анализировали коммуникативные паттерны (обнюхивание и груминг тела, хвоста и гениталий чужака), проявления агрессии (атаки, укусы, преследование) и защитные формы поведения (замирание, убежание).

Тест “Спонтанное чередование рукавов в Y-образном лабиринте” проводили для оценки пространственной рабочей памяти. Установка состояла из трех рукавов размером 50×10 см, расположенных под углом 60° друг к другу. Каждый рукав был окружен непрозрачными стенками высотой 40 см. Освещенность на полу рукавов составляла 4 лк. Крысу помещали в центр лабиринта и позволяли свободно перемещаться в течение 8 мин. Фиксировали последовательность посещения рукавов. Коэффициент альтернаций рассчитывали как количество правильных альтернаций (посещение трех разных рукавов без повторений, n_a) к общему количеству посещений (N), уменьшенному на 2:

$$\left(C_a = \frac{n_a}{N - 2} \right). \quad (1)$$

Коэффициент альтернаций служил показателем пространственной рабочей памяти, а количество посещений рукавов — показателем общей активности.

Тест “Исследование и распознавание новых объектов” проводили для анализа исследовательского поведения и оценки кратковременной памяти. Мерой памяти служила способность крыс различать знакомые и новые объекты. В эксперименте использовали две пары пластиковых игрушек, различающихся по цвету и форме. Игрушки были подобраны таким образом, чтобы крысы изначально не проявляли предпочтения (это было проверено на отдельной группе животных до начала основных экспериментов).

Экспериментальная установка представляла собой квадратный ящик из непрозрачного оргстекла размером 60×60 см и высотой 40 см. Игрушки крепили магнитами к полу коробки, располагая их по диагонали на расстоянии 20 см друг от друга. В течение трех дней подряд, предшествующих тесту, крыс помещали в установку без каких-либо предметов для адаптации к условиям эксперимента, снижения ориентировочного рефлекса и общего уровня стресса. Тест состоял из двух частей: обучения (Тест 1) и тестирования памяти (Тест 2).

Тест 1 (обучение). Крысу помещали в установку с двумя одинаковыми игрушками. Поведение животных записывали в течение 5 мин с помощью видеокамеры, расположенной над установкой. После каждого животного игрушки и коробку тщательно промывали 15%-ным раствором этанола. В Тесте 1 анализировали исследовательскую активность контрольных и экспериментальных животных, оценивая среднее число подходов к объектам и среднее время их обследования.

Тест 2 (тестирование памяти). Через час после обучения одну из игрушек заменяли на новую и пятиминутный тест повторяли. Новый объект случайным образом размещали в правой или левой позиции для разных крыс. После каждого животного коробку и предметы тщательно промывали.

Для анализа данных измеряли время взаимодействия с новым и знакомым объектами. Способность различать объекты оценивали с помощью двух показателей: (1) относительного времени обследования нового объекта:

$$t_R = \frac{t_n}{t_n + t_f} \quad (2)$$

и (2) индекса дискриминации:

$$I_D = \frac{t_n - t_f}{t_n + t_f}, \quad (3)$$

где t_n – время обследования нового объекта, а t_f – время обследования знакомого объекта.

Морфологические исследования

Для визуализации кортикальной деформации проводили окраску по Нисслю, как описано ранее [22]. Крыс глубоко анестезировали смесью Zoletil/Xylazine (Virbac, Франция) и перфузировали транскардиально сначала ледяным 0.01 М фосфатно-солевым буфером (PBS, pH = 7.4), а затем 4%-ным параформальдегидом (PFA) в 0.1 М фосфатном буфере (PB, pH = 7.4). Мозг извлекали и фиксировали в 4%-ном PFA при 4 °C в течение 24 ч, после чего криопротектировали в 30%-ном растворе сахарозы в PBS при 4 °C в течение 2–3 дней. Затем мозг замораживали в охлажденном (меньше –50 °C) изопентане (Sigma-Aldrich, США) и хранили при –80 °C до момента срезки.

Корональные срезы толщиной 20 мкм получали с помощью криостата Bright OTF5000 (Bright Instrument Co Ltd., Великобритания). Срезы готовили на уровне микроизвилины, монтировали на предметные стекла с адгезивным покрытием Super Frost Plus (Fisher Scientific, Великобритания) и высушивали в течение одного дня. Для окрашивания по Нисслю срезы обезжиривали в смеси этанола и хлороформа (1 : 1) в течение 1–3 ч, регидратировали в растворах этанола с уменьшающейся концентрацией и окрашивали 0.05%-ным раствором тионина (pH 4.5) в течение 5 мин. После дегидратации и очистки срезы заключали под покровные стекла с использованием VitroGel (Ergo Production, Россия).

Окрашенные срезы анализировали с помощью светового микроскопа Leica Microscope AF 7000 (Leica Microsystems, Германия) при увеличении $\times 50$ для оценки структуры коры и выявления микроизвилины.

Методы статистического анализа

Для статистического анализа использовали пакеты программ SPSS Statistics 23 (IBM, Армонк, Нью-Йорк, США) и GraphPad Prism версии 8.4.3 (GraphPad Software, Сан-Диего, Калифорния, США). Выбросы определяли с помощью квартильного метода. Нормальность распределения данных проверяли с использованием теста Колмогорова–Смирнова, а равенство дисперсий оценивали с помощью F-критерия Фишера. Для сравнения контрольной и экспериментальной групп в случае нормального распределения данных применяли t -тест Стьюдента для независимых групп с учетом равенства или неравенства дисперсий. Если распределение данных отклонялось от нормального, использовали U-тест Манна–Уитни. При анализе динамики обследования предметов в Тесте распознавания новых объектов применяли дисперсионный анализ с последующими апостериорными сравнениями с использованием парного t -теста с поправкой Бонферрони для множественных сравнений. Статистическую значимость устанавливали при уровне $p \leq 0.05$. Данные на графиках представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки либо медианы и интерквартильного размаха.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гистологический анализ

Гистологический анализ подтвердил успешное формирование микрогирии в соматосенсорной коре у крыс с ФКД + ФС. Микрогирия длиной около 8 мм характеризовалась трех-четырёхслойной корой, включая молекулярный слой, утолщенный слой II, рассекающую пластинку (соответствующую некротическим слоям IV, V и частично VI) и слой IV нейронов, соответствующий слою VI интактной коры (рис. 1).

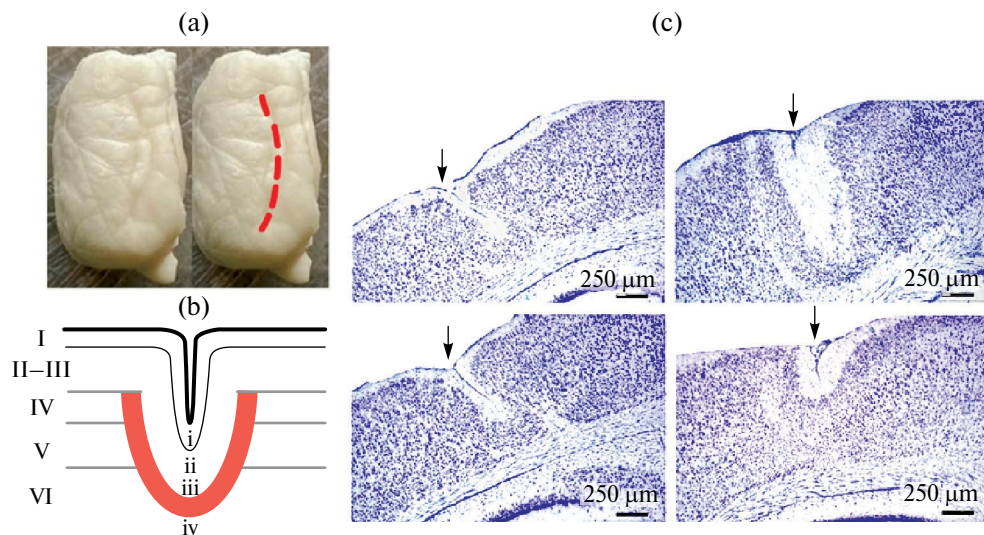


Рис. 1. Кортикальная мальформация, вызванная замораживанием. (а) – Репрезентативный пример мозга крысы (P21), получившей повреждение, вызванное замораживанием, в возрасте P0, в результате чего образовалась продольная микрогирия в левой сенсомоторной коре (пунктирная линия). (б) – Схематическое изображение микрогирии, вызванной замораживанием. (с) – Репрезентативный пример окрашенных по Нисслю корональных срезов через диспластическое поражение коры мозга крысы. На изображении хорошо видна сформированная четырехслойная микрогирия. Расположение очага замораживания указано черной стрелкой.

В отличие от некоторых предыдущих исследований [20, 21], в нашей работе мы не наблюдали спонтанных судорог у крыс с ФКД + ФС. Это может быть связано с особенностями модели или временными рамками эксперимента. Однако гистологические данные подтверждают, что очаговое замораживание привело к значительным структурным изменениям в коре, что делает модель пригодной для изучения поведенческих последствий ФКД + ФС.

Анализ поведения

Двигательная активность. Тестирование крыс в “Открытом поле” (рис. 2) выявило, что экспериментальные и контрольные животные не различаются по показателям двигательной активности: пройденной дистанции, скорости движения и времени локомоции (рис. 2а–д). В тесте “У-образный лабиринт” также не выявлено различий между контрольными и ФКД + ФС крысами по числу посещенных рукавов (рис. 2е).

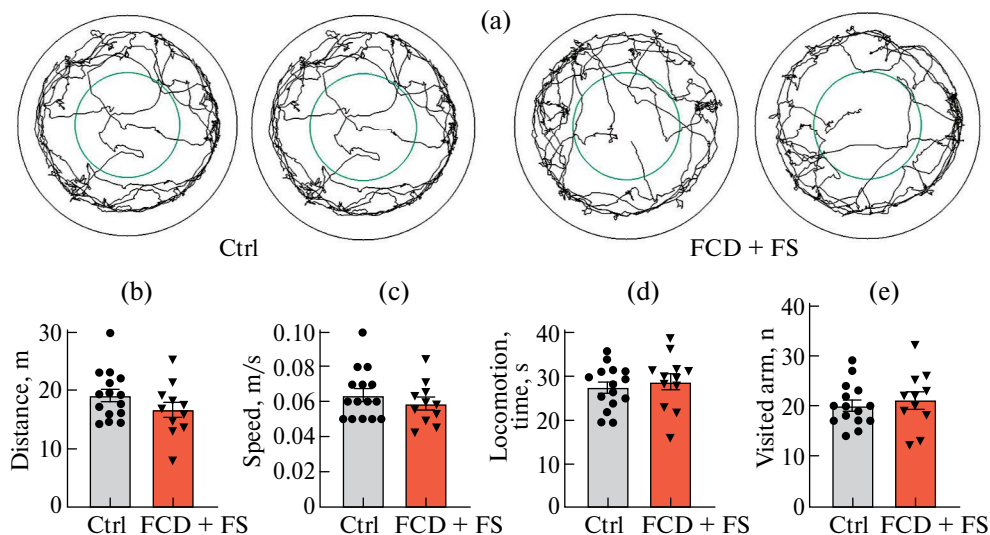


Рис. 2. Двигательная активность контрольных (Ctrl) и экспериментальных (FCD + FC) крыс. (a) – Треки в тесте “Открытое поле”. (b) – Дистанция, пройденная в тесте “Открытое поле”. (c) – Скорость передвижения в “Открытом поле”. (d) – Время локомоции в “Открытом поле”. (e) – Число обследованных рукавов в тесте “У-образный лабиринт”.

Исследовательское поведение. Об исследовательской активности животных судили по показателям обследования норок в тесте “Открытое поле” и по показателям обследования двух одинаковых объектов в тесте “Исследование и распознавание новых объектов” (Тест 1). По числу и времени обследования норок в “Открытом поле” достоверных различий между группами не выявлено (рис. 3а, б). При обследовании новых объектов (рис. 3с, d) экспериментальные крысы совершали больше подходов к новым объектам (рис. 3d, $t = 2.52$; $p = 0.02$), при этом среднее время обследования предметов в группах не различалось.

Уровень тревожности. Уровень тревожности экспериментальных и контрольных животных оценивали по абсолютному и относительному времени, проведенному в открытых и закрытых рукавах “Приподнятого крестообразного лабиринта” (рис. 4а, б),

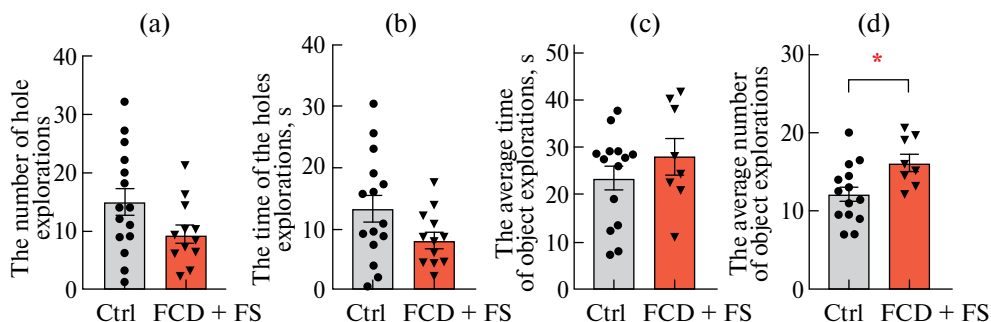


Рис. 3. Исследовательская активность контрольных (Ctrl) и экспериментальных (FCD + FC) крыс. (а, б) – Количество и время обследования норок в тесте “Открытое поле”. (с, d) – Среднее время и количество обследований одинаковых объектов в тесте “Исследование и распознавание новых объектов”. * – $p < 0.05$; t -тест Стьюдента.

а также по времени и числу эпизодов груминга в “Открытом поле” (рис. 4с, d). Мы не обнаружили межгрупповых различий в “Приподнятом крестообразном лабиринте”, однако в “Открытом поле” крысы группы ФКД + ФС были менее тревожны по числу эпизодов груминга (рис. 4d, $t = 2.71$; $p = 0.015$), время груминга у экспериментальных и контрольных крыс при этом не различалось.

Социальное поведение. Наибольшие межгрупповые различия выявлены по показателям социальной активности. Экспериментальные крысы отличались повышенной социальной активностью в тесте “Социальные взаимодействия” (рис. 5): у них увеличивалось общее время коммуникации, включающее обнюхивание и груминг тела, генитальной области и хвоста чужака (рис. 5а; $t = 2.18$; $p = 0.04$). В наибольшей степени эти различия были связаны с обнюхиванием и грумингом генитальной области (рис. 5b; $t = 4.61$; $p < 0.001$), что является наиболее уверенной и даже несколько агрессивной формой социальных взаимодействий. По времени собственно агрессивных паттернов наблюдалась схожая тенденция, но различия не достигали статистической значимости (рис. 5d; $U = 43.5$; $p = 0.09$).

Память. Контрольные и ФКД + ФС крысы не различались по показателям пространственной оперативной памяти в “У-образном лабиринте” (рис. 6а), а также по основным показателям памяти в тесте “Распознавание новых объектов”: относительному времени обследования новых объектов (рис. 6b) и индексу дискриминации новых и старых объектов (рис. 6с). При этом анализ исследовательской активности в Тесте 1 и Тесте 2 (обследование новых и знакомых предметов) выявил некоторые особенности у контрольных и экспериментальных крыс (дисперсионный анализ, фактор условий: $F = 11.91$; $p < 0.001$; взаимодействие фактора условий и фактора группы: $F = 3.15$; $p = 0.053$). Апостериорные сравнения (рис. 6d) показали, что контрольные крысы активно интересовались новым

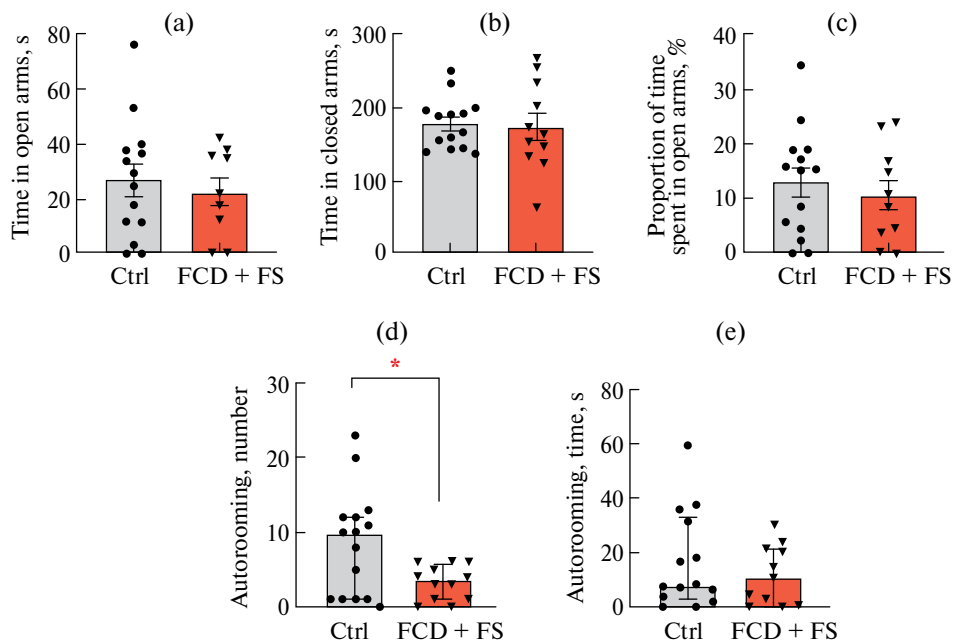


Рис. 4. Показатели уровня тревожности контрольных (Ctrl) и экспериментальных (FCD + FC) крыс. (a–с) – Абсолютное и относительное время, проведенное в открытых и закрытых рукавах в тесте “Приподнятый крестообразный лабиринт”. (d, e) – количество эпизодов и время груминга в тесте “Открытое поле”. * – $p < 0.05$; t -тест Стьюдента.

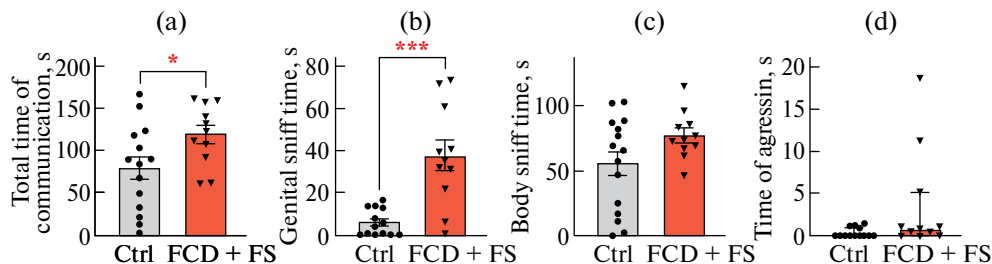


Рис. 5. Социальное поведение контрольных (Ctrl) и экспериментальных (FCD + FC) крыс в “Социальном тесте”. (a) – Общее время коммуникации. (b) – Обнюхивание генитальной области. (c) – Обнюхивание и груминг тела. (d) – Длительность агрессивного поведения. * – $p < 0.05$; *** – $p < 0.001$; t -тест Стьюдента.

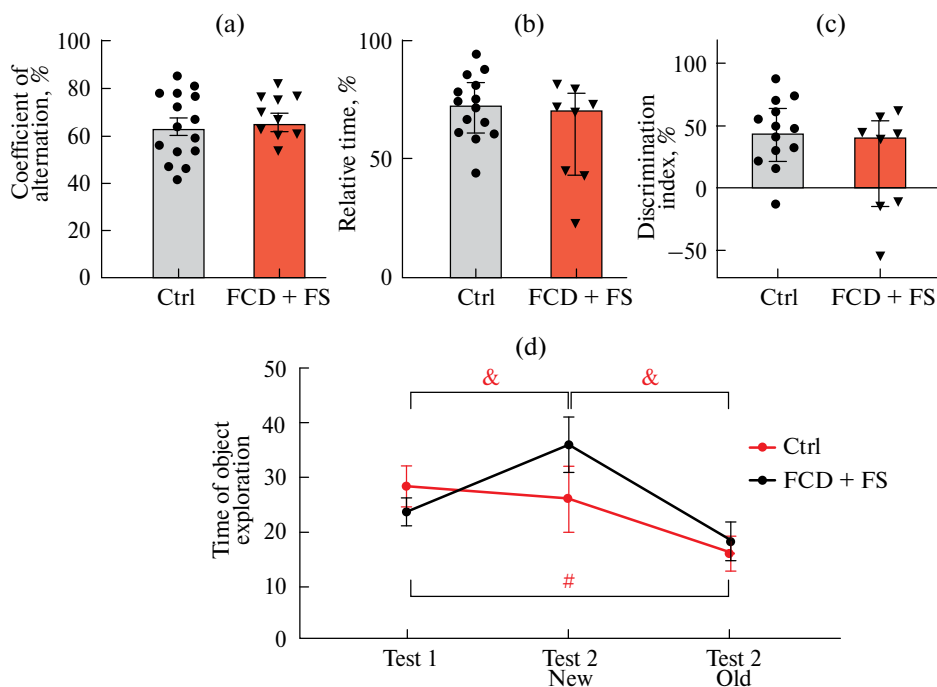


Рис. 6. Показатели памяти контрольных (Ctrl) и экспериментальных (FCD + FC) крыс в тесте “У-образный лабиринт” (a, b) и в тесте “Распознавание новых объектов” (c, d). Данные представлены как среднее и стандартная ошибка среднего (a, c, d) либо как медианы и интерквартильные размахи (b). & – Различия во времени обследования знакомых и новых предметов в контрольной группе; # – различия во времени обследования знакомых и новых предметов в экспериментальной группе; $p < 0.05$; парный t -тест с поправкой Бонферрони.

предметом, явно предпочитая его. У FCD + FC крыс такого выраженного интереса к новому объекту не наблюдалось, однако знакомый предмет во втором тесте они обследовали меньше, чем в первом тесте, что свидетельствует о его запоминании и различении.

Таким образом, проведенное исследование выявило, что крысы с ФКД и ФС отличаются от контрольной группы повышенной социальной активностью, пониженной тревожностью и незначительными изменениями в исследовательском поведении.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В проведенном исследовании мы обнаружили, что взрослые крысы с сочетанной патологией ФКД + ФС отличаются повышенной социальной активностью, а также изменениями в исследовательском поведении и уровне тревожности по сравнению с контрольной группой, хотя эти различия оказались относительно небольшими.

Известно, что неокортекс крыс играет ключевую роль в организации сложных форм поведения, таких как коммуникативная активность, непространственная память [23], исследовательское поведение и регуляция уровня тревожности [24–26]. Поэтому можно было ожидать, что у крыс с ФКД будут наблюдаться нарушения в этих видах поведения. Однако поведенческие изменения, особенно когнитивные нарушения, в данной модели ранее не изучались детально. Особенности поведения животных только с ФКД описаны в ограниченном числе исследований. Например, Rosen с соавт. наблюдали, что у мышей с микрогирией, вызванной замораживающим поражением неокортекса, нарушено обучение в лабиринте Лэшли III типа, пространственном лабиринте Морриса, задаче сопоставления с образцом и задаче обучения дискриминации [27]. Кроме того, у крыс с двусторонней микрогирией, также вызванной локальным замораживанием неокортекса, снижена скорость обработки информации в корковой части слухового анализатора (экспериментальные животные хуже различают быстро предъявляемые стимулы) [28]. Эти данные согласуются с клиническими наблюдениями: у детей с ФКД часто отмечаются умственная отсталость и когнитивные нарушения [29]. В частности, исследования Zhao с соавт. выявили дефицит рабочей памяти у детей с ФКД по сравнению со здоровыми испытуемыми [5].

Согласно клиническим наблюдениям, одной из возможных причин поведенческих нарушений при ФКД может быть наличие гипервозбудимой зоны в диспластической коре головного мозга, прилегающей к зоне поражения. Эта зона может распространяться на близлежащие структурно неповрежденные ткани [30], что приводит к функциональным расстройствам.

Другой причиной нарушения баланса возбуждающих и тормозных механизмов в мозге, связанной с воздействием неблагоприятных факторов в раннем возрасте, могут быть ФС [31, 32]. Экспериментальные ФС в раннем возрасте вызывают устойчивое увеличение функциональной активности глутаматергической системы гиппокампа [33]. Кроме того, у молодых крыс, перенесших ФС в неонатальном периоде, отмечается повышенный уровень глиоза и нейровоспаления в области СА2 гиппокампа и мозжечка [34]. Эти нарушения сопровождаются поведенческими изменениями, включая дефицит различных видов обучения и памяти [35–38], изменение уровня тревожности и развитие депрессивно-подобных нарушений [39, 40]. В тесте на социальное распознавание у крыс, перенесших ФС в неонатальном периоде, отсутствует предпочтение исследования нового чужака по сравнению со знакомым, что характерно для интактных животных [34].

Ранее опубликованные работы позволяли предположить, что сочетанная патология ФКД + ФС может приводить к еще более выраженному когнитивному дефициту. Так, сочетание ФКД и ФС приводит к уменьшению объема гиппокампа на стороне поражения, снижению плотности шипиков пирамидных гиппокампальных клеток и увеличению экспрессии генов GluN2A-субъединиц NMDA-рецепторов в гиппокампе, что указывает на реорганизацию нейронных сетей гиппокампа [41]. Ouardouz с соавт., регистрируя активность пирамидных клеток в области СА1 гиппокампа, обнаружили более выраженное увеличение возбудимости у крыс с сочетанной патологией ФКД + ФС по сравнению с животными, имеющими только фебрильные судороги или только дисплазию [20]. Также было показано, что вероятность развития эпилептических нарушений в такой двухударной модели выше у самцов, чем у самок [42], поэтому в данном исследовании мы работали только с самцами.

В данной работе впервые описаны особенности различных форм поведения у крыс с сочетанной патологией ФКД + ФС. Вопреки ожиданиям, нам не удалось выявить серьезных поведенческих нарушений у экспериментальных крыс. Основным отличием от контроля было повышение коммуникативной активности экспериментальных животных. При этом клинические наблюдения за пациентами только с ФКД выявляют противоположные нарушения поведения – у них чаще фиксируют расстройства аутистического спектра [10]. Ранее было показано, что у крыс с сочетанной патологией ФКД + ФС отмечается дефицит пространственной памяти в водном лабиринте Морриса по сравнению с наивными контрольными крысами [21], однако в нашем исследовании не было выявлено нарушений памяти в “У-образном лабиринте” и тесте распознавания новых объектов. Возможно, это связано с особенностями использованных нами тестов, и водный лабиринт Морриса оказывается более чувствительным для выявления сочетанной патологии ФКД + ФС.

Характер выявленных нами поведенческих изменений указывает на то, что в их основе могут лежать изменения активности дофаминергических нейронов коры, поскольку они вовлечены в регуляцию социального [43], исследовательского [44] поведения и уровня тревожности [45]. Кроме того, в очагах кортикальной дисплазии у некоторых пациентов с эпилепсией выявляется высокая плотность нейронов, иммунореактивных к тирозингидроксилазе [46]. Проверка этого предположения может стать задачей для последующих исследований.

Таким образом, полученные данные указывают на избирательное влияние сочетанной патологии на поведенческие функции, что может быть связано с реорганизацией нейронных сетей в мозге. Полученные результаты расширяют представления о последствиях комбинированного воздействия ФКД и ФС на формирование мозговых функций и подчеркивают важность дальнейшего изучения механизмов, лежащих в основе этих изменений. Это может иметь значение для разработки новых подходов к терапии пациентов с подобными нарушениями.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность Э.Р. Сабировой за помощь в подготовке гистологических срезов.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Т. Ю. П., О. Е. З. и А. В. З.), сбор данных (Д. С. С., М. Р. С.), обработка данных (Д. С. С., М. Р. С., О. Е. З.), написание и редактирование манускрипта (О. Е. З., Т. Ю. П., А. В. З.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-15-00293).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комитета по уходу и использованию животных Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (протокол № 1-9/2024 заседания № 1 Комиссии по биоэтике от 31.01.2024 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ho CSH, Dubeau F, Séguin R, Ducharme S* (2019) Prevalence of neuropsychiatric symptoms associated with malformations of cortical development. *Epilepsy and Behavior* 92: 306–310. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.01.011>
2. *Ma Q, Chen G, Li Y, Guo Z, Zhang X* (2024) The molecular genetics of PI3K/PTEN/AKT/mTOR pathway in the malformations of cortical development. *Genes Dis* 11: 101021. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.04.041>
3. *Desikan RS, Barkovich AJ* (2016) Malformations of cortical development. *Ann Neurol* 80: 797–810. <https://doi.org/10.1002/ana.24793>
4. *Crino PB* (2015) Focal cortical dysplasia. *Semin Neurol* 35: 201–208. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1552617>
5. *Zhao Y, Lin J, Qi X, Cao D, Zhu F, Chen L, Tan Z, Mo T, Zeng H* (2024) To explore the potential mechanisms of cognitive impairment in children with MRI-negative pharmacoresistant epilepsy due to focal cortical dysplasia: A pilot study from gray matter structure view. *Heliyon* 10: e26609. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26609>
6. *Choi SA, Kim KJ* (2019) The Surgical and Cognitive Outcomes of Focal Cortical Dysplasia. *J Korean Neurosurg Soc* 62: 321–327. <https://doi.org/10.3340/jkns.2019.0005>
7. *Allone C, Bonanno L, Lo Buono V, Corallo F, Palmeri R, Micchia K, Pollicino P, Bramanti A, Marino S* (2020) Neuropsychological assessment and clinical evaluation in temporal lobe epilepsy with associated cortical dysplasia. *J Clin Neurosci* 72: 146–150. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2019.12.041>
8. *Kimura N, Takahashi Y, Shigematsu H, Imai K, Ikeda H, Ootani H, Takayama R, Mogami Y, Kimura N, Baba K, Kondou S, Inoue Y* (2019) Risk factors of cognitive impairment in pediatric epilepsy patients with focal cortical dysplasia. *Brain Dev* 41: 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2018.07.014>
9. *Qiao L, Yu T, Ni D, Wang X, Xu C, Liu C, Zhang G, Li Y* (2017) Correlation between extreme fear and focal cortical dysplasia in anterior cingulate gyrus: Evidence from a surgical case of refractory epilepsy. *Clin Neurol Neurosurg* 163: 121–123. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2017.10.025>
10. *Fujimoto A, Enoki H, Niimi K, Nozaki T, Baba S, Shibamoto I, Otsuki Y, Oanishi T* (2021) Epilepsy in patients with focal cortical dysplasia may be associated with autism spectrum disorder. *Epilepsy and Behavior* 120: 107990. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.107990>
11. *Luhmann HJ* (2023) Malformations-related neocortical circuits in focal seizures. *Neurobiol Dis* 178: 106018. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106018>
12. *Dvorkák K, Feit J* (1977) Migration of neuroblasts through partial necrosis of the cerebral cortex in newborn rats-contribution to the problems of morphological development and developmental period of cerebral microgyria. *Histological and autoradiographical study. Acta Neuropathol* 38: 203–212. <https://doi.org/10.1007/BF00688066>
13. *Sanon NT, Desgent S, Carmant L* (2012) Atypical Febrile Seizures, Mesial Temporal Lobe Epilepsy, and Dual Pathology. *Epilepsy Res Treat* 2012: 1–9. <https://doi.org/10.1155/2012/342928>
14. *Bernard C* (2016) The Diathesis–Epilepsy Model: How Past Events Impact the Development of Epilepsy and Comorbidities. *Cold Spring Harb Perspect Med* 6: a022418. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022418>
15. *Jacobs KM, Gutnick MJ, Prince DA* (1996) Hyperexcitability in a Model of Cortical Maldevelopment. *Cerebr Cortex* 6: 514–523. <https://doi.org/10.1093/cercor/6.3.514>
16. *Luhmann HJ, Raabe K* (1996) Characterization of neuronal migration disorders in neocortical structures: I. Expression of epileptiform activity in an animal model. *Epilepsy Res* 26: 67–74. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(96\)00041-1](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(96)00041-1)
17. *Luhmann HJ, Raabe K, Qü M, Zilles K* (1998) Characterization of neuronal migration disorders in neocortical structures: Extracellular *in vitro* recordings. *Eur J Neurosci* 10: 3085–3094. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1998.00311.x>
18. *Malkin SL, Amakhin DV, Soboleva EB, Postnikova TY, Zaitsev AV* (2025) Synaptic Dysregulation Drives Hyperexcitability in Pyramidal Neurons Surrounding Freeze-Induced Neocortical Malformations in Rats. *Int J Mol Sci* 2025: 1423. <https://doi.org/10.3390/ijms26041423>

19. Colciaghi F, Finardi A, Frasca A, Balosso S, Nobili P, Carriero G, Locatelli D, Vezzani A, Battaglia G (2011) Status epilepticus-induced pathologic plasticity in a rat model of focal cortical dysplasia. *Brain* 134: 2828–2843.
<https://doi.org/10.1093/brain/awr045>
20. Ouardouz M, Lema P, Awad PN, Di Cristo G, Carmant L (2010) N-methyl-D-aspartate, hyperpolarization-activated cation current (Ih) and gamma-aminobutyric acid conductances govern the risk of epileptogenesis following febrile seizures in rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 31: 1252–1260.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07159.x>
21. Scantlebury MH, Gibbs SA, Foadjo B, Lema P, Psarropoulou C, Carmant L (2005) Febrile seizures in the predisposed brain: A new model of temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 58: 41–49.
<https://doi.org/10.1002/ana.20512>
22. Postnikova TY, Griflyuk AV, Amakhin DV, Kovalenko AA, Soboleva EB, Zubareva OE, Zaitsev AV (2021) Early Life Febrile Seizures Impair Hippocampal Synaptic Plasticity in Young Rats. *Int J Mol Sci* 22: 8218.
<https://doi.org/10.3390/ijms22158218>
23. Savage S, Kehr J, Olson L, Mattsson A (2011) Impaired social interaction and enhanced sensitivity to phencyclidine-induced deficits in novel object recognition in rats with cortical cholinergic denervation. *Neuroscience* 195: 60–69.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.08.027>
24. Singh M, Singh KP, Shukla S, Dikshit M (2015) Assessment of in-utero venlafaxine induced, ROS-mediated, apoptotic neurodegeneration in fetal neocortex and neurobehavioral sequelae in rat offspring. *Int J Development Neurosci* 40: 60–69.
<https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2014.10.007>
25. Prinzi C, Kostenko A, de Leo G, Gulino R, Leanza G, Caccamo A (2023) Selective Noradrenaline Depletion in the Neocortex and Hippocampus Induces Working Memory Deficits and Regional Occurrence of Pathological Proteins. *Biology (Basel)* 12: 1264.
<https://doi.org/10.3390/biology12091264>
26. Sapiurka M, Squire LR, Clark RE (2016) Distinct roles of hippocampus and medial prefrontal cortex in spatial and nonspatial memory. *Hippocampus* 26: 1515–1524.
<https://doi.org/10.1002/hipo.22652>
27. Rosen GD, Waters NS, Galaburda AM, Denenberg VH (1995) Behavioral consequences of neonatal injury of the neocortex. *Brain Res* 681: 177–189.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00312-E](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00312-E)
28. Clark MG, Rosen GD, Tallal P, Fitch RH (2000) Impaired processing of complex auditory stimuli in rats with induced cerebrocortical microgyria: An animal model of developmental language disabilities. *J Cogn Neurosci* 12: 828–839.
<https://doi.org/10.1162/089892900562435>
29. Bast T, Ramantani G, Seitz A, Rating D (2006) Focal cortical dysplasia: Prevalence, clinical presentation and epilepsy in children and adults. *Acta Neurol Scand* 113: 72–81.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2005.00555.x>
30. Mattia D, Olivier A, Avoli M (1995) Seizure-like discharges recorded in human dysplastic neocortex maintained in vitro. *Neurology* 45: 1391–1395.
<https://doi.org/10.1212/WNL.45.7.1391>
31. Yu YH, Lee K, Sin DS, Park K-H, Park D-K, Kim D-S (2017) Altered functional efficacy of hippocampal interneuron during epileptogenesis following febrile seizures. *Brain Res Bull* 131: 25–38.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.02.009>
32. Sloviter RS (1999) Status epilepticus-induced neuronal injury and network reorganization. *Epilepsia* 40: s34–s39.
<https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb00876.x>
33. Hoogland G, Rajmakers M, Clynen E, Bröne B, Rigo J-M, Swijsen A (2022) Experimental early-life febrile seizures cause a sustained increase in excitatory neurotransmission in newborn dentate granule cells. *Brain Behav* 12: e2505.
<https://doi.org/10.1002/brb3.2505>
34. Yu YH, Kim S-W, Im H, Lee YR, Kim GW, Ryu S, Park D-K, Kim D-S (2023) Febrile Seizure Causes Deficit in Social Novelty, Gliosis, and Proinflammatory Cytokine Response in the Hippocampal CA2 Region in Rats. *Cells* 12: 2446.
<https://doi.org/10.3390/cells12202446>
35. Kloc ML, Marchand DH, Holmes GL, Pressman RD, Barry JM (2022) Cognitive impairment following experimental febrile seizures is determined by sex and seizure duration. *Epilepsy & Behavior* 126: 108430.
<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.108430>

36. Sheppard E, Lalancette E, Thébault-Dagher F, Lafontaine M-P, Knoth IS, Gravel J, Lippé S (2021) Cognitive and behavioural development in children presenting with complex febrile seizures: At onset and school age. *Epilept Disord* 23: 325–336.
<https://doi.org/10.1684/epd.2021.1260>
37. Martinos MM, Yoong M, Patil S, Chin RFM, Neville BG, Scott RC, de Haan M (2012) Recognition memory is impaired in children after prolonged febrile seizures. *Brain* 135: 3153–3164.
<https://doi.org/10.1093/brain/aws213>
38. Griflyuk AV, Postnikova TY, Zaitsev AV (2024) Animal Models of Febrile Seizures: Limitations and Recent Advances in the Field. *Cells* 13: 1895.
<https://doi.org/10.3390/cells13221895>
39. Remonde CG, Gonzales EL, Adil KJ, Jeon SJ, Shin CY (2023) Augmented impulsive behavior in febrile seizure-induced mice. *Toxicol Res* 39: 37–51.
<https://doi.org/10.1007/s43188-022-00145-1>
40. Yu YH, Kim S-W, Im H, Song Y, Kim SJ, Lee YR, Kim GW, Hwang C, Park D-K, Kim D-S (2022) Febrile Seizures Cause Depression and Anxiogenic Behaviors in Rats. *Cells* 11: 3228.
<https://doi.org/10.3390/cells11203228>
41. Gibbs S, Chatopadhyaya B, Desgent S, Awad PN, Clerck-Lamallice O, Levesque M, Vianna RM, Rébillard RM, Delsemme AA, Hébert D, Tremblay L, Lepage M, Descarries L, Di Cristo G, Carmant L (2011) Long-term consequences of a prolonged febrile seizure in a dual pathology model. *Neurobiol Dis* 43: 312–321.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.02.013>
42. Desgent S, Duss S, Sanon NT, Lema P, Lévesque M, Hébert D, Rébillard R-M, Bibeau K, Brochu M, Carmant L (2012) Early-Life Stress Is Associated with Gender-Based Vulnerability to Epileptogenesis in Rat Pups. *PLoS One* 7: e42622.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042622>
43. Sotoyama H, Inaba H, Iwakura Y, Namba H, Takei N, Sasaoka T, Nawa H (2022) The dual role of dopamine in the modulation of information processing in the prefrontal cortex underlying social behavior. *FASEB J* 36: e22160.
<https://doi.org/10.1096/fj.202101637R>
44. Adinolfi A, Carbone C, Leo D, Gainetdinov RR, Laviola G, Adriani W (2018) Novelty-related behavior of young and adult dopamine transporter knockout rats: Implication for cognitive and emotional phenotypic patterns. *Genes Brain Behav* 17: e12463.
<https://doi.org/10.1111/gbb.12463>
45. Liu L, Zhang L, Wang T, Chen L (2019) Dopamine D1 receptor in the medial prefrontal cortex mediates anxiety-like behaviors induced by blocking glutamatergic activity of the ventral hippocampus in rats. *Brain Res* 1704: 59–67.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.09.024>
46. Trotter S, Evrard B, Biraben A, Chauvel P (1994) Altered patterns of catecholaminergic fibers in focal cortical dysplasia in two patients with partial seizures. *Epilepsy Res* 19: 161–179.
[https://doi.org/10.1016/0920-1211\(94\)90026-4](https://doi.org/10.1016/0920-1211(94)90026-4)

Behavioral Impairments in Rats with Focal Cortical Dysplasia Following Febrile Seizures

**O. E. Zubareva^a *, D. S. Sinyak^a, M. R. Subkhankulov^a, T. Yu. Postnikova^a,
and A. V. Zaitsev^a**

*^aSechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
Saint Petersburg, Russia*

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

Disruptions in cerebral cortex development during early ontogenesis often lead to pharmacoresistant epilepsy and mental disorders. One such disruption is focal cortical dysplasia (FCD), which can be modeled in experimental animals by inducing cryogenic injury to the neocortex on the first day after birth. FCD is frequently associated with the development of epilepsy and behavioral impairments, such as deficits in learning, memory, and social interaction. These effects may be more pronounced when the brain is exposed to additional challenges, such as the combination of FCD with neonatal febrile seizures (FS). However, the specific characteristics of behavioral impairments in this combined pathology remain poorly understood. This study aimed to investigate behavioral impairments in adult male Wistar rats with FCD who had experienced FS. FCD was induced in rat pups on the first day of life (P0) by localized freezing of the somatosensory cortex. On the 10th day of life (P10), FS were triggered in the rat pups through hyperthermia (exposure to warm air) for 30 minutes. Only animals with FS lasting at least 15 minutes were included in the study. The control group consisted of sham-operated rat pups that were separated from their mother for 30 minutes at P10 without exposure to heat. At 2–2.5 months of age, the animals' behavior was evaluated using the following tests: Open Field, Elevated Plus Maze, Social Interaction Test, and Spontaneous Alternation Test in the Y-Maze. The results revealed that the combination of FCD and FS in early life led to increased social activity and alterations in exploratory behavior and anxiety levels in adult rats. These findings suggest that the combined pathology selectively affects behavioral functions, potentially due to the reorganization of neural networks in the brain. The study expands our understanding of the consequences of FCD and FS on brain function development and highlights the need for further research into the mechanisms underlying these changes. This work may contribute to the development of new therapeutic strategies for patients with similar conditions.

Keywords: focal cortical dysplasia, febrile seizures, social behavior, exploratory activity, epileptogenesis, hyperthermia, locomotor activity