

DOI: 10.7868/S2658655X26050059
УДК 616.853

Экспериментальная статья

Влияние аудиогенного киндлинга на центральное звено гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы крыс линии Крушинского–Молодкиной

**Е.Л. Горбачева^{1,2}, Е.В. Черниговская¹, А.А. Куликов¹, В.Т. Бахтеева¹,
С.Д. Николаева¹, Л.С. Никитина^{1,*}**

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Российская Федерация*

²*German Center for Neurodegenerative Diseases, Bonn, Germany*

**E-mail: lubasun@gmail.com*

Аннотация. Эпилепсия и стресс тесно взаимосвязаны. Эпилепсия является фактором, провоцирующим хронический стресс, а с другой стороны, стресс является частым триггером эпилептического припадка. Развитие височной эпилепсии часто приводит к нарушениям гормонального баланса, в частности к нарушениям в работе гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы (ГГАКС), отвечающей за стрессорный ответ организма на внешнее воздействие. Изменения в уровне гормонов могут определять тяжесть заболевания, способствуя изменению функциональной активности отделов мозга, участвующих в развитии эпилептической активности. Целью настоящей работы было исследование механизмов регуляции центрального звена ГГАКС при моделировании с помощью аудиогенного киндлинга у крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ) состояния, сходного с височной эпилепсией человека. Для этого крыс подвергали ежедневной аудиогенной стимуляции в течение 24 дней. Материал для анализа молекулярных механизмов регуляции кортиколиберинергических нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса и кортикотропозитов передней доли гипофиза брали через сутки после последнего судорожного припадка, что позволило охарактеризовать долгосрочные нарушения в их регуляции, вызванные эпилептиформной активностью. Мы не выявили отклонений в продукции кортиколиберина, в экспрессии глюкокортикоидных рецепторов, а также в плотности ГАМК- и глутаматергической иннервации паравентрикулярного ядра, что свидетельствует об устойчивости центрального звена ГГАКС к аудиогенному киндлингу. Снижение содержания гамма- и дельта-субъединиц ГАМК(A)-рецепторов в паравентрикулярном ядре, а также уменьшение содержания кортиколиберина и GAD67 в наружной зоне срединного возвышения указывают на снижение чувствительности нейронов паравентрикулярного ядра к ГАМКергической регуляции и на торможение секреции кортиколиберина в порталный кровоток. Низкий уровень секреции кортиколиберина в порталный кровоток приводит к снижению CREB-опосредованного

синтеза адренокортикотропного гормона в аденогипофизе. Таким образом, повышенная секреция кортикостерона в кровь, показанная нами ранее, по-видимому, определяется повышенной чувствительностью клеток коры надпочечников к адренокортикотропному гормону, а не активностью центрального звена ГГАКС.

Ключевые слова: гипоталамус, гипофиз, кортиколиберин, проопиомеланокортин, адренокортикотропный гормон, эпилепсия, вторичный эпилептогенез

Финансирование. Исследование финансировалось за счет средств бюджета Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН в рамках государственного задания № 075–00264–26–00.

Соблюдение этических стандартов. Все экспериментальные процедуры проводились в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета по защите животных, используемых в экспериментах для научных целей, и были одобрены Комиссией по биоэтике Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (протокол № 3-5/2024 заседания № 3 от 28.03.2024 г.).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов в публикацию. ГЕЛ – планирование экспериментов, изготовление и иммуногистохимическое окрашивание срезов, написание статьи; ЧЕВ – обсуждение результатов, интерпретация данных, редактирование текста; КАА – работа с животными, редактирование текста; БВТ – статистическая обработка результатов, редактирование текста; НСД – подготовка проб, проведение вестерн-блот-анализа, редактирование текста; НЛС – постановка задачи, планирование экспериментов, написание статьи.

Благодарности. Часть работы была выполнена на оборудовании ЦКП Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (441590).

Ссылка для цитирования: Горбачева Е.Л., Черниговская Е.В., Куликов А.А., Бахтеева В.Т., Николаева С.Д., Никитина Л.С. Влияние аудиогенного киндлинга на центральное звено гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы крыс линии Крушинского–Молодкиной. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова / Russian Journal of Physiology*. 2026. Т. 112. № 5. С. 1210–1233. <https://doi.org/10.7868/S2658655X26050059>

Effect of Audiogenic Kindling on the Central Component of Hypothalamic–Pituitary–Adrenal Axis in Krushinsky–Molodkina Rats

E.L. Harbachova^{1,2}, E.V. Chernigovskaya¹, A.A. Kulikov¹, V.T. Bakhteeva¹,
S.D. Nikolaeva¹, L.S. Nikitina^{1,*}

¹*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry
of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation*

²*German Center for Neurodegenerative Diseases, Bonn, Germany*

*E-mail: lubasun@gmail.com

Abstract. Epilepsy and stress are closely interrelated, with epilepsy contributing to chronic stress and stress often triggering epileptic seizures. Temporal lobe epilepsy is frequently associated with hormonal imbalance, particularly with dysfunction of the hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis, which governs the stress response. Hormonal alterations may influence modulate disease severity by affecting the functional state of brain regions involved in epileptogenesis. The aim of this study was to investigate the mechanisms regulating the central component of the HPA axis using an audiogenic kindling in Krushinsky–Molodkina rats, which reproduces a condition similar to human temporal lobe epilepsy. Daily audiogenic stimulation was applied for 24 days. Tissue samples from the hypothalamus and anterior pituitary were collected 24 hours post-seizure to assess long-term molecular alterations in CRH neurons of the paraventricular nucleus and anterior pituitary corticotrophs induced by the kindling protocol. No alterations were observed in CRH production, glucocorticoid receptor expression, or GABAergic and glutamatergic innervation density within the PVN, indicating the stability of the central HPA axis to audiogenic kindling. A decrease in the levels of the gamma and delta subunits of GABAA receptors in the PVN, along with decreased CRH and glutamate decarboxylase 67 (GAD67) content in the external zone of the median eminence, indicate diminished GABAergic control of PVN neurons and a suppression of CRH release into the portal circulation. Reduced CRH secretion into the portal circulation leads to decreased CREB-mediated synthesis of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in the anterior pituitary. Thus, the elevated corticosterone secretion into the bloodstream observed in our earlier work is likely due to increased sensitivity of adrenal cortical cells to ACTH, rather than to enhanced activity of the central HPA axis.

Keywords: hypothalamus, pituitary, CRH, POMC, ACTH, secondary epilepsy, epileptogenesis

Funding. The research was funded by the budget of the I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences within the framework of state assignment No. 075–00264–26–00.

Ethics declarations. All experimental procedures were conducted in accordance with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes and were approved by the Bioethics Commission of the I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences (Protocol No. 3-5/2024 of Meeting No. 3, dated 28.03.2024).

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Authors contribution. HEL – experimental planning, preparation and immunohistochemical staining of sections, article writing; ChEV – discussion of results, data interpretation, text editing; KAA – work with animals, text editing; BVT – statistical analysis of results, text editing; NSD – sample preparation, performing Western blot analysis, text editing; NLS – formulation of the problem, experimental planning, article writing.

Acknowledgements. Part of the work was performed using the equipment of the Core Facilities Center of the I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences (441590).

For Citation: Harbachova E.L., Chernigovskaya E.V., Kulikov A.A., Bakhteeva V.T., Nikolaeva S.D., Nikitina L.S. Effect of audiogenic kindling on the central component of hypothalamic–pituitary–adrenal axis in Krushinsky–Molodkina rats. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova / Russian Journal of Physiology*. 2026;112(5):1210–1233. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S2658655X26050059>

ВВЕДЕНИЕ

Эпилепсия является одним из распространенных неврологических заболеваний и включает в себя неоднородную группу синдромов, характерной чертой большинства из которых является развитие спонтанных повторяющихся судорожных приступов [1]. Среди всех форм эпилепсии наибольший интерес представляет височная парциальная эпилепсия, поскольку в этой группе чаще всего встречаются фармакорезистентные формы [2, 3].

Эпилепсия и стресс находятся в тесной взаимосвязи. Сама по себе эпилепсия является фактором, провоцирующим хронический стресс, как из-за реализации самих припадков, так и из-за тревожности, связанной со сложностью сохранения привычного образа жизни [4]. С другой стороны, стресс является частым триггером эпилептического припадков и фактором, его усугубляющим [5–7]. Показана повышенная частота рецидивов эпилепсий в ситуациях, связанных с высоким уровнем стрессов у населения во время войн или чрезвычайных ситуаций [8–10].

Нарушение баланса возбуждающих и тормозных нейромедиаторных механизмов в мозге, с одной стороны, является причиной развития эпилептиформных припадков [11, 12], а с другой, может способствовать развитию нейроэндокринных расстройств [13]. И хотя гормональные отклонения чаще всего не являются первопричиной эпилепсии, изменения в уровне гормонов могут определять тяжесть заболевания, способствуя изменению функциональной активности отделов мозга, участвующих в развитии эпилептической активности [13]. Вместе с тем отмечено, что эпилептиформные припадки способны оказывать влияние на нейроэндокринный статус [13]. Одним из таких расстройств гормонального баланса при эпилепсии

являются нарушения в работе гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАКС), отвечающей за стрессорный ответ организма на внешнее воздействие. У пациентов больных эпилепсией наблюдаются повышенный уровень кортизола в крови [14–16], в том числе и в интериктальный период [17–19].

ГГАКС является многоуровневой системой, регулируемой на уровне синтеза и секреции кортиколиберина и вазопрессина нейронами мелкоклеточной части паравентрикулярного ядра (ПВЯ), последующей активации этими нейрогормонами синтеза и секреции адренкортикотропного гормона (АСТН) кортикотропцитами аденогипофиза, которые в свою очередь стимулируют синтез и секрецию в кровь глюкокортикоидных гормонов клетками коры надпочечников [20]. Повышение концентрации глюкокортикоидов в крови приводит к торможению синтеза и секреции кортиколиберина и АСТН по механизму обратной связи, обеспечивая затухание стресс-реакции. Механизмы, лежащие в основе повышения синтеза кортикостерона/кортизола при эпилепсии, до сих пор остаются невыясненными, и крайне мало данных, касающихся нарушений центральных механизмов регуляции активности кортикотропцитов аденогипофиза и коры надпочечников.

Адекватной моделью для исследований механизмов нарушений регуляции гормонального баланса при височной эпилепсии являются грызуны, демонстрирующие аудиогенную рефлекторную эпилепсию [21, 22]. Крысы линии Крушинского–Молодкиной (КМ) позволяют воспроизводить эпилептиформные припадки без хирургических операций на головном мозге и фармакологических вмешательств. Многократное повторение аудиогенного судорожного припадка приводит к распространению эпилептиформной активности преимущественного стволового генеза на отделы переднего мозга (аудиогенный киндлинг) [23, 24], сопровождается возникновением спонтанных припадков в части случаев (данные не опубликованы) и гибелью некоторых животных. Аудиогенный киндлинг позволяет реализовать механизм развития височной эпилепсии – вторичный эпилептогенез [25].

В исследованиях, проведенных на крысах, генетически предрасположенных к аудиогенной рефлекторной эпилепсии, было показано, что звуковая стимуляция судорожного припадка, в том числе у крыс линии КМ, вызывает паттерн изменений активности ГГАКС, очень похожий на наблюдаемый при стрессе, в котором за немедленной секрецией гормонов гипоталамуса следует активация синтеза и секреции гормонов гипофиза, приводящие к продолжительному усилению синтеза и секреции кортикостерона клетками коры надпочечников [26, 27]. Ранее нами было показано, что после многократных ежедневных аудиогенных судорожных припадков, когда гиппокамп уже полностью вовлечен в реализацию судорожной активности и крысы линии КМ демонстрируют миоклонические лимбические судороги [24], развивается гипертрофия надпочечников и концентрация кортикостерона значительно нарастает [28]. Хроническое и устойчивое повышение уровня кортикостерона в крови, сопровождающее аудиогенный киндлинг уже после первого предъявления звукового стимула [28, 29], позволяет предположить участие ГГАКС в реализации структурно-функциональных перестроек мозга, приводящих к его эпилептизации. Исследование влияния аудиогенного киндлинга на состояние центрального звена ГГАКС и экспрессию глюкокортикоидных рецепторов (GR) в нейронах ПВЯ ранее не проводилось. Целью данного исследования было оценить влияние многократных аудиогенных судорожных припадков, приводящих к аудиогенному киндлингу и формированию состояния, аналогичного височной эпилепсии у человека, на статус центрального звена ГГАКС и экспрессию GR в нейронах ПВЯ.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

В экспериментах были задействованы взрослые (4–4,5 месяца) самцы крыс инбредной линии КМ. Изначально эти животные были получены нами в Московском государственном университете (биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности). С 2017 г. линия крыс поддерживается путем близкородственного скрещивания в виварии Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН.

Животных содержали группами по 4–5 особей в клетке в стандартных условиях (20 ± 2 °С, цикл день/ночь 12/12 ч) со свободным доступом к еде и воде.

Экспериментальные группы

Для исследования многократных судорожных стимуляций на центральное звено ГГКС животных подвергали аудиогенному киндлингу – ежедневным однократным стимуляциям аудиогенных судорог в течение 24 дней (группа «Kindl 24+1», $n = 9$). Каждое животное помещали в тестовую камеру для адаптации (5 мин) и затем подвергали действию акустического стимула (100 дБ, 10 кГц), который генерировали с помощью компьютерной программы NCH Tone Generator (© NCH Software, Австралия). Звук выключали как только крыса начинала демонстрировать припадок. Если в течение 1 мин стимуляции у животного не возникало судорог, его исключали из эксперимента. Первоначально аудиогенные припадки включали в себя стадии латентного периода, дикого бега, клонических и тонических судорог, за которыми следовала постиктальная катаlepsия. После повторных звуковых стимуляций у животных появлялась дополнительная стадия судорожного припадка, посттонический (лимбический) клонус, что свидетельствовало о распространении эпилептиформной активности в структуры переднего мозга [30]. В качестве контроля использовали «наивных» крыс КМ, которых не подвергали стимуляциям судорог (группа «naïve», $n = 9$).

Животных группы «Kindl 24+1» выводили из эксперимента на следующий день после последней судорожной стимуляции. Животных контрольной группы выводили из эксперимента одновременно с животными группы «Kindl 24+1». Крыс наркотизировали смесью Телазола (40 мг/кг, Zoetis) и Ксиланита (10 мг/кг, NITA-FARM). Далее 5 крыс из каждой экспериментальной группы декапитировали, каждый мозг извлекали вместе с гипофизом и фиксировали в 4%-ном параформальдегиде на фосфатном буфере (мМ: 137 NaCl, 2,7 KCl, 10 Na₂HPO₄, 1,76 KH₂PO₄, pH 7,4) при 4 °С в течение 7 дней, после чего инкубировали в 20%-ном растворе сахарозы на фосфатном буфере (4 °С, 3 дня) для криопротекции, замораживали и хранили при –80 °С. Из каждого замороженного мозга при помощи криостата Leica (Leica Microsystems GmbH) изготавливали серии чередующихся фронтальных срезов толщиной 8 мкм, которые помещали на предметные стекла с адгезионным покрытием (СУТОТЕСТ, # 0313-7171-16).

Остальных животных также декапитировали и извлекали гипофизы, которые гомогенизировали в лизисном буфере (20 мМ Tris pH 7,5, 1% Triton-X100, 100 мМ NaCl, 1 мМ EDTA, 1 мМ EGTA), содержащем ингибиторы протеаз (Sigma-Aldrich, #P8340) и ингибиторы фосфатаз (Roche, #04 906 837 001). Нерастворимые материалы удаляли центрифугированием (12 000 g, 15 мин, при комнатной температуре). Общее содержание белка в образцах определяли методом Лоури. В качестве

стандарта использовали бычий сывороточный альбумин. Супернатант смешивали в соотношении 2 : 1 с 3-кратным загрузочным буфером (0,2 М Трис-НСl, рН 6,7, 6%-ный додецилсульфат натрия, 15%-ный глицерин, 0,003%-ный бромфеноловый синий и 10%-ный β -меркаптоэтанол), инкубировали 10 мин при 96 °С и использовали для дальнейшего вестерн-блот-анализа.

Иммуногистохимический анализ

Анализ белков интереса проводили при помощи стандартного биотин-стрептавидинового протокола. После стандартных предварительных процедур срезы инкубировали в течение ночи при комнатной температуре в растворе первичных антител против глюкокортикоидных рецепторов (GR; 1 : 100, Cell Signaling Technology, #12041), кортиколиберина (CRH; 1 : 1000, Peninsula Laboratories, #Т-4037), везикулярного транспортера глутамата 2 (VGLUT2; 1 : 500, Millipore, #MAB5504), глутаматдекарбоксилазы 67 (GAD67; 1 : 1000, Millipore, #MAB5406), субъединиц ГАМК(А)-рецепторов гамма2 (1 : 200, Antibodies-online, #ABIN3181676) и дельта (1 : 150, Novus Biologicals, #NB300-200). После этого срезы отмывали в фосфатном буфере и инкубировали в растворе вторичных биотинилированных антител Goat anti-rabbit IgG (1 : 500, Vector Laboratories, #BA-1000) или Goat Anti-Mouse IgG (1 : 500, Vector Laboratories, #BA-9200), а затем – в растворе стрептавидин-пероксидазы (1 : 500, Supelco, #S2438) в течение часа при комнатной температуре. Визуализацию пероксидазной реакции проводили в фосфатном буфере, содержащем 3,3'-диаминобензидин (0,05%, Sigma-Aldrich, #D5637) и пероксид водорода (0,01%). После этого срезы заключали под покровные стекла в монтирующую среду «Витрогель» (ООО «БиоВитрум», #НМ-VI-A500).

Двойное иммуномечение фосфорилированного cAMP response element-binding protein (CREB) (phospho(Ser133)-CREB) и проопиомеланокортина (ПОМС)/адренотропного гормона (АСТН) в клетках передней доли гипофиза проводили последовательно с применением биотин-стрептавидинового протокола, описанного выше. Сначала phospho(Ser133)-CREB выявляли с помощью первичных антител Millipore #05-807 (1 : 600) и 3,3'-диаминобензидина, а затем ПОМС/АСТН выявляли с помощью первичных антител Millipore # AB902 (1 : 16000) и VECTOR SG Peroxidase Substrate Kit SK-0047.

Для каждой процедуры иммуногистохимического анализа делали негативный контроль (тот же протокол без применения первичных антител), который не выявил неспецифического мечения.

Анализ срезов проводили при помощи микроскопа Zeiss Axio Imager A1 (Carl Zeiss Microscopy GmbH) и программы ImageJ (version 6.0). Экспрессию кортиколиберина, гамма 2- и дельта-субъединиц ГАМК(А)-рецепторов в ПВЯ, а также VGLUT2, GAD67 и кортиколиберина в срединном возвышении гипоталамуса оценивали как оптическую плотность иммунопозитивного вещества. Оптическая плотность фона оценивалась на том же срезе в неиммунореактивной ткани мозга. Экспрессию GR в ПВЯ оценивали как число иммунопозитивных клеток (на фотографии среза). Для оценки колокализации phospho(Ser133)-CREB и ПОМС/АСТН в клетках передней доли гипофиза проводили подсчёт клеток с двойным мечением (на фотографию среза).

Вестерн-блот-анализ

Для электрофореза в гель загружали равные количества образцов (10 мкг белка на линию). Белки разделяли в 10%-ном полиакриламидном геле, а затем переносили на нитроцеллюлозную мембрану (BioRad, #1620112) и проводили выявление перенесенных белковых фракций путем окрашивания в растворе Ponceau S (Millipore, #1.14275). Затем мембраны промывали в буферном растворе Трис с добавлением Tween (TBST: 0,1% Tween 20, 20 mM Трис, 137 mM NaCl; pH 7,4) и блокировали в TBST, содержащем 5% обезжиренного молока, в течение 1 ч при комнатной температуре. После этого мембраны инкубировали в растворе первичных антител против POMC/ACTH (1 : 20000, Millipore, # AB902) или актина (1 : 1000, Abcam, #ab3280) в течение ночи при 4 °С. Мембраны промывали в буфере TBST, а затем инкубировали в растворе вторичных антител, конъюгированных с пероксидазой хрена, Anti-rabbit IgG (1 : 10000, Sigma-Aldrich, #A0545) или Anti-Mouse IgG (1 : 40000, Sigma-Aldrich, #A9044) в течение 1 ч при комнатной температуре. Специфические белковые полосы визуализировали с помощью хемилюминесцентной реакции пероксидазы с субстратом Clarity™ Western ECL Substrate (#1705060, Bio-Rad) с использованием ChemiDoc MP Imaging System (#12003154, Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, США).

Денситометрический анализ содержания POMC и ACTH проводили с помощью программы ImageJ (версия 6.0). Сигнал белка интереса нормировали на сигнал актина.

Статистический анализ

Все данные, полученные с помощью иммуногистохимического анализа и вестерн-блот-анализа, обрабатывались статистически с помощью непараметрического U-теста Манна–Уитни с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 7. Результаты представлены как медиана ± интерквартильный размах. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

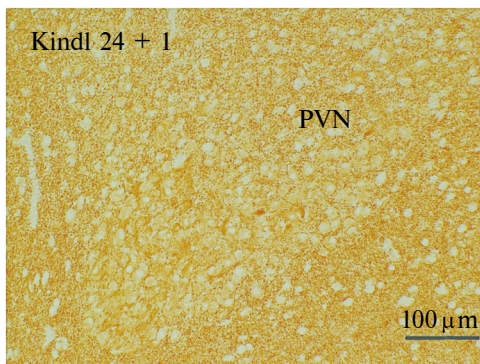
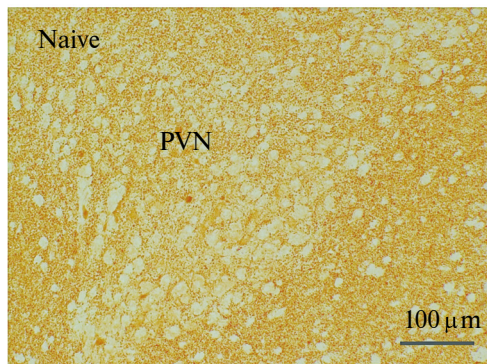
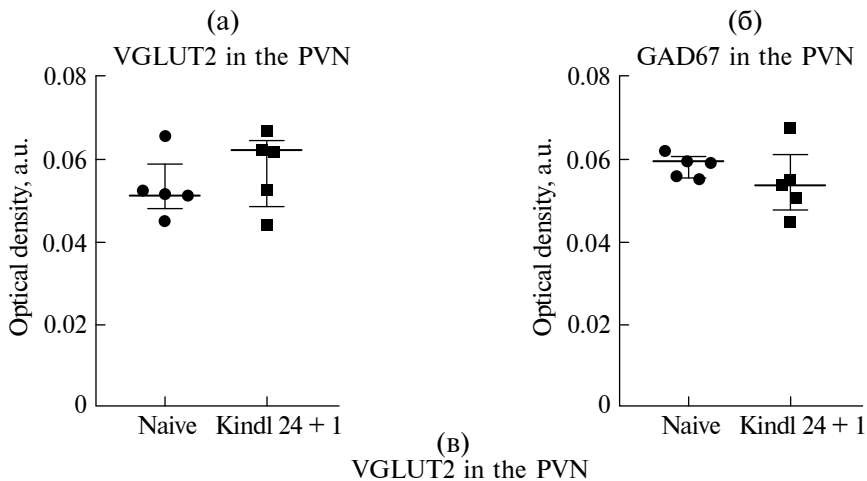
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Известно, что нарушение работы мозга при эпилепсии связано с нарушением баланса тормозных и возбуждающих нейромедиаторов. Мы проанализировали содержание маркеров ГАМК и глутаматергической иннервации мелкоклеточной области ПВЯ гипоталамуса.

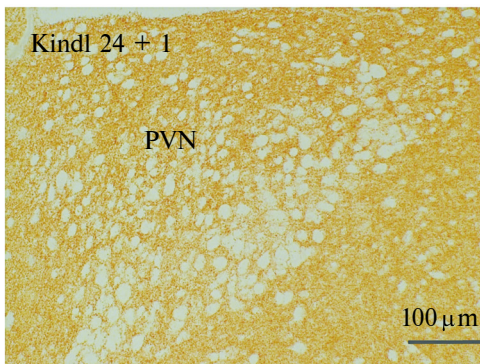
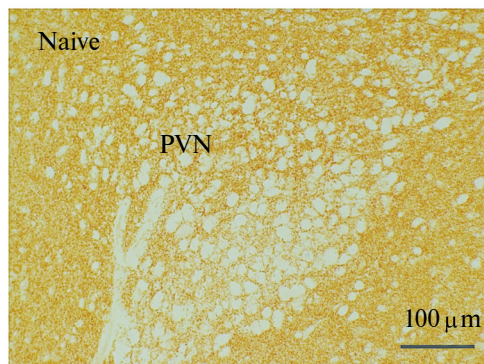
Выявление VGLUT2 позволяет визуализировать глутаматергическую иннервацию кортиколиберинергических нейронов [31]. GAD 67 является ключевым ферментом синтеза ГАМК [32] и часто используется для визуализации плотности ГАМКергической иннервации структур мозга [33]. Через сутки после серии из 24 аудиогенных судорожных припадков мы не выявили различий в оптической плотности GAD67 и VGLUT2 иммунореактивного вещества в ПВЯ (рис. 1), это указывает на то, что аудиогенный киндлинг не влияет на плотность ГАМК- и глутаматергической иннервации ПВЯ крыс линии КМ.

Снижение оптической плотности дельта- и гамма 2-субъединиц ГАМК(A)-рецепторов иммунореактивного вещества в ПВЯ гипоталамуса крыс КМ, взятых через сутки после 24-го аудиогенного судорожного припадков, свидетельствует о снижении чувствительности нейронов к ГАМКергической регуляции (рис. 2).

Ранее был показан повышенный уровень кортикостерона в крови у крыс КМ через сутки после 24-дневного аудиогенного киндлинга [28]. За эффекты повышенной концентрации кортикостерона в крови отвечают низкоаффинные рецепторы к глюкокортикоидам. Мы оценили количество нейронов мелкоклеточной зоны



(г) GAD67 in the PVN



ПВЯ, содержащих GR-иммунопозитивное вещество в ядрах. Различий между интактными крысами КМ и крысами через сутки после завершения 24-дневного аудиогенного киндлинга не было обнаружено, что указывает на отсутствие различий в активности GR-опосредованного торможения несмотря на повышенный уровень кортикостерона в крови (рис. 3а, б).

Для оценки влияния многократных судорожных припадков на активность синтеза кортиколиберина нейронами ПВЯ гипоталамуса мы сравнили содержание кортиколиберин-иммунореактивного вещества в мелкоклеточной области ПВЯ у интактных крыс КМ и крыс КМ, взятых через сутки после 24-го аудиогенного судорожного припадка. Анализ содержания кортиколиберин-иммунопозитивного вещества в ПВЯ не выявил различий в оптической плотности между интактными крысами КМ и крысами, взятыми через 24 ч после завершения аудиогенного киндлинга, что свидетельствует об отсутствии изменений в экспрессии кортиколиберина (рис. 3в, г).

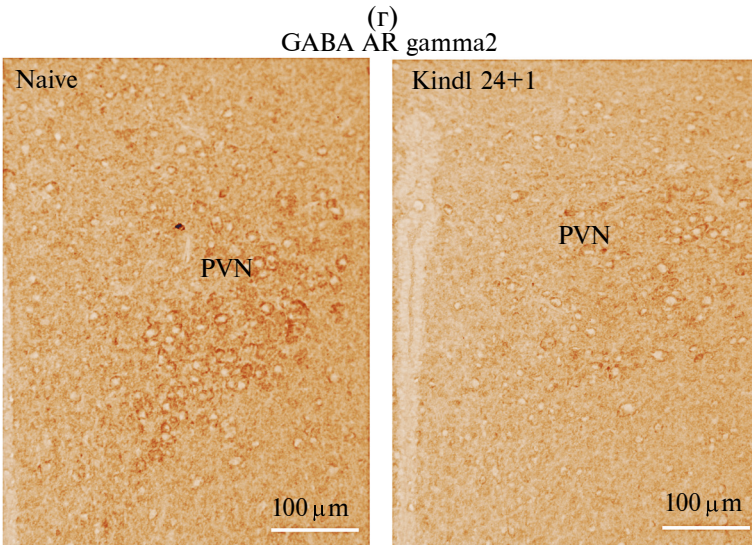
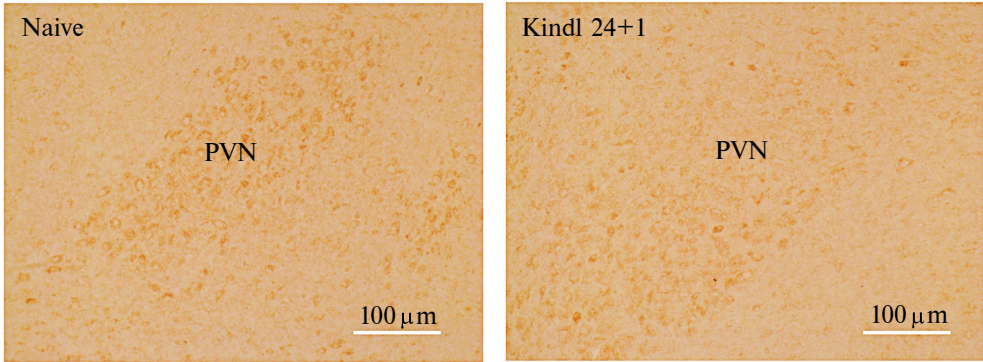
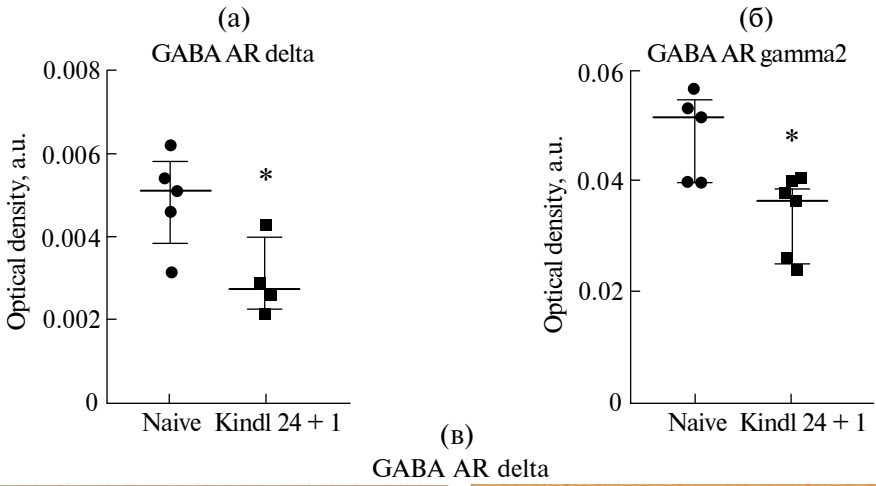
Нейрогемальный отдел

Кортиколиберин из мелкоклеточной части ПВЯ транспортируется в наружную зону срединного возвышения, где он через порталный кровоток поступает в аденогипофиз и связывается с рецепторами на мембране кортикотропов аденогипофиза, активируя синтез и секрецию АСТН [20]. Мы оценили содержание кортиколиберин-иммунопозитивного вещества в наружной зоне срединного возвышения и показали, что через 24 ч после завершения аудиогенного киндлинга оптическая плотность кортиколиберин-иммунопозитивного вещества в наружной зоне срединного возвышения снизилась, это свидетельствует об истощении запасов кортиколиберина в нейронах [34], и может приводить к снижению секреции кортиколиберина в порталный кровоток (рис. 4а, б).

Мы сравнили содержание маркеров ГАМК и глутаматергической иннервации в наружной зоне срединного возвышения интактных крыс КМ и крыс КМ через 24 ч после 24-го аудиогенного судорожного припадка. Мы не выявили различий в оптической плотности VGLUT2 иммунореактивного вещества в наружной зоне

Рис. 1. Влияние аудиогенного киндлинга на содержание везикулярного транспортера глутамата 2 (VGLUT2) (а) и глутаматдекарбоксилазы 67 (GAD67) (б) в паравентрикулярном ядре (PVN) гипоталамуса у крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ). Иммуногистохимический анализ показал, что после 24-дневного аудиогенного киндлинга (Kindl 24+1) содержание VGLUT2 (а) и GAD67 (б) в мелкоклеточной части PVN крыс КМ не отличалось от контрольных животных (Naive). На графиках представлена оптическая плотность иммунопозитивного вещества в относительных единицах (arbitrary units, a.u.). Данные представлены в виде медианы \pm интерквартильный размах. (в), (г) – репрезентативные микрофотографии VGLUT2 (в) и GAD67 (г) в PVN «наивных» крыс КМ и крыс КМ после 24-дневного аудиогенного киндлинга. Масштабная линейка: 100 мкм

Fig. 1. The effect of audiogenic kindling on the content of vesicular glutamate transporter 2 (VGLUT2) and glutamate decarboxylase 67 (GAD67) in the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) of Krushinsky–Molodkina (KM) rats. (a), (b) – immunohistochemical analysis showed that after 24-day audiogenic kindling (Kindl 24+1), VGLUT2 (a) and GAD67 (b) content in the parvocellular PVN of KM rats did not differ from those in control animals (Naive). The plots show optical density of the immunopositive substance in arbitrary units (a.u.). Data are presented as median \pm interquartile range. (v), (r) – Representative micrographs of VGLUT2 (v) and GAD67 (r) in the PVN of naïve and kindled KM rats. Scale bars: 100 μ m



срединного возвышения, это указывает на то, что аудиогенный киндлинг не влияет на плотность глутаматергической иннервации наружной зоны срединного возвышения (рис. 4в, г). Анализ содержания GAD 67-иммунопозитивного вещества показал снижение его оптической плотности в наружной зоне срединного возвышения через 24 ч после завершения аудиогенного киндлинга (рис. 4д, е). Показано, что ГАМК в наружной зоне срединного возвышения оказывает возбуждающее действие на секреторную активность кортиколиберинергических нейронов ПВЯ [35]. Снижение плотности возбуждающей ГАМКергической иннервации наружной зоны срединного возвышения хорошо согласуется со снижением секреции кортиколиберина в кровь через 24 ч после завершения аудиогенного киндлинга.

Аденогипофиз

Кортиколиберин, поступающий через порталный кровоток в аденогипофиз, связывается с рецепторами на кортикотропоцитах и активирует синтез РОМС/АСТН за счет активации PKA/CREB сигнального пути. Мы показали снижение количества РОМС/АСТН клеток, демонстрирующих ядерную локализацию фосфо-CREB-иммунопозитивного вещества у крыс после аудиогенного киндлинга, что указывает на снижение активности протеинкиназа А(PKA)/CREB сигнального пути регуляции транскрипции РОМС/АСТН (рис. 5а, б). Уровень синтеза РОМС/АСТН мы оценили с помощью иммуноблоттинга по содержанию РОМС/АСТН в пробах, содержащих аденогипофиз. Было показано снижение как РОМС, так и АСТН (рис. 5в, г, д), что хорошо согласуется со снижением содержания фосфо-CREB в кортикотропоцитах аденогипофиза и снижением АСТН в крови крыс КМ, показанном нами ранее [28].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Целью настоящей работы было охарактеризовать влияние многократных аудиогенных судорожных припадков на функциональное состояние центрального звена ГГАС у крыс линии КМ.

Рис. 2. Аудиогенный киндлинг снижает содержание субъединиц ГАМК(А)-рецепторов + (GABA AR) в паравентрикулярном ядре (PVN) гипоталамуса у крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ). Иммуногистохимический анализ показал достоверное снижение иммунореактивности дельта- (а) и гамма 2- (б) субъединиц ГАМК(А)-рецепторов в мелкоклеточной части PVN крыс КМ после 24-дневного аудиогенного киндлинга (Kindl 24+1) по сравнению с контрольными животными (Naive). На графиках представлена оптическая плотность иммунопозитивного вещества в относительных единицах (arbitrary units, a.u.). Данные представлены в виде медианы \pm интерквартильный размах. * – $p < 0,05$. (в), (г) – репрезентативные микрофотографии дельта- (в) и гамма 2- (г) субъединиц ГАМК (А)-рецепторов в PVN «наивных» крыс КМ и крыс КМ после 24-дневного аудиогенного киндлинга. Масштабная линейка: 100 мкм

Fig. 2. Audiogenic kindling decreases the content of GABA(A)-receptor (GABA AR) subunits in the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) of Krushinsky–Molodkina (KM) rats. (a), (b) – immunohistochemical analysis detected a significant decrease in delta (a) and gamma 2 (b) subunits of GABA AR in the parvocellular PVN of KM rats after 24-day audiogenic kindling (Kindl 24+1) when compared with control (Naive). The plots show optical density of the immunopositive substance in arbitrary units (a.u.). Data are presented as median \pm interquartile range. * – $p < 0.05$. (v), (r) – representative micrographs of delta (v) and gamma 2 (r) subunits of GABA AR in the PVN of naïve and kindled KM rats. Scale bars: 100 μ m

В представленном исследовании нас интересовало, как влияет хроническая эпилепсия на активность центрального звена ГТАКС, поэтому мы использовали модель аудиогенного киндлинга у крыс линии КМ. Стрессорный ответ, так же, как и эпилептиформная активность, имеет острую и хроническую фазы. В острой фазе

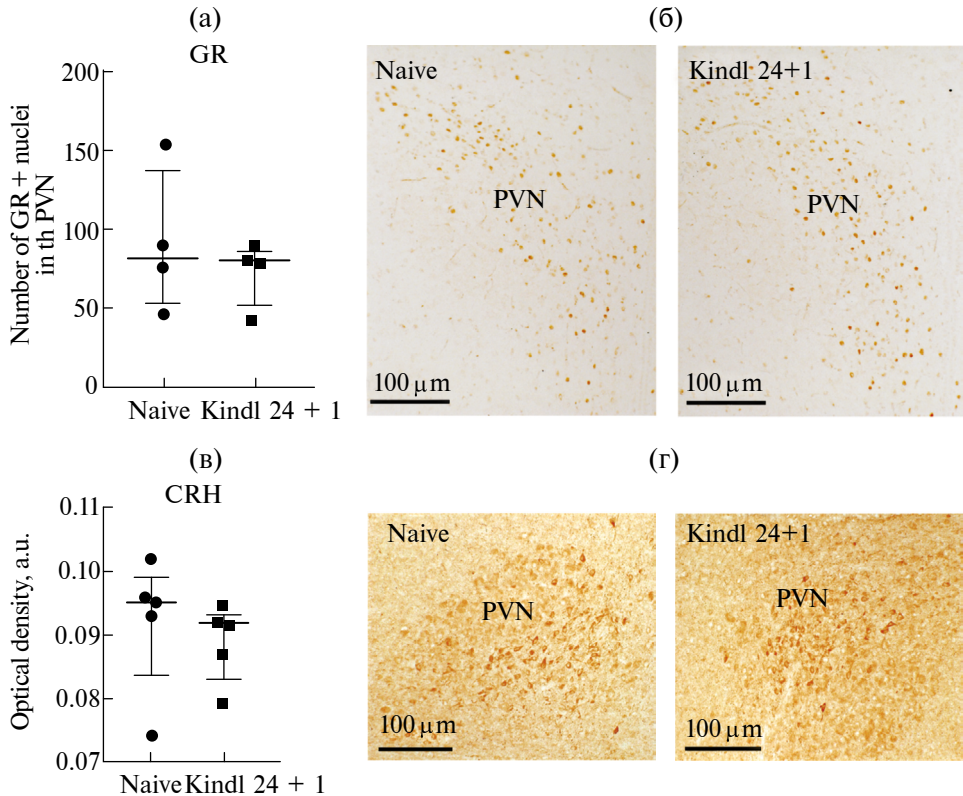


Рис. 3. Влияние аудиогенного киндлинга на содержание глюкокортикоидных рецепторов (GR) и кортиколиберина (CRH) в паравентрикулярном ядре (PVN) гипоталамуса у крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ). Иммуногистохимический анализ не выявил достоверных изменений в содержании GR (а) и CRH (в) в мелкоклеточной части PVN крыс КМ после 24-дневного аудиогенного киндлинга (Kindl 24+1) по сравнению с контролем (Naive). На графике (а) представлено количество GR-позитивных клеточных ядер (на срез), на графике (в) — оптическая плотность CRH-иммунопозитивного вещества в относительных единицах (arbitrary units, a.u.). Данные представлены в виде медианы \pm интерквартильный размах. (б), (г) — репрезентативные микрофотографии GR (б) и CRH (г) в PVN «наивных» крыс КМ и крыс КМ после 24-дневного аудиогенного киндлинга. Масштабная линейка: 100 мкм

Fig. 3. The effect of audiogenic kindling on the content of glucocorticoid receptors (GR) and corticotropin-releasing hormone (CRH) in the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) of Krushinsky–Molodkina (KM) rats. Immunohistochemical analysis showed no alterations in the GR (a) and CRH (в) content in the parvocellular PVN of KM rats after 24-day audiogenic kindling (Kindl 24+1) when compared with control (Naive). The plot (a) demonstrates the numbers of GR-positive cell nuclei (per section), the plot (в) shows optical density of the immunopositive substance in arbitrary units (a.u.). Data are presented as median \pm interquartile range. (б), (г) — representative micrographs of GR (б) and CRH (г) in the PVN of naïve and kindled KM rats. Scale bars: 100 μ m

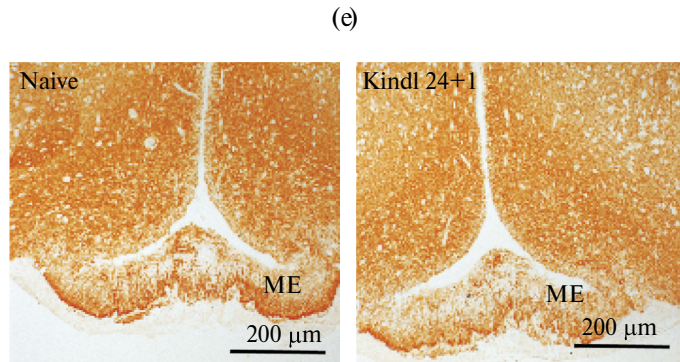
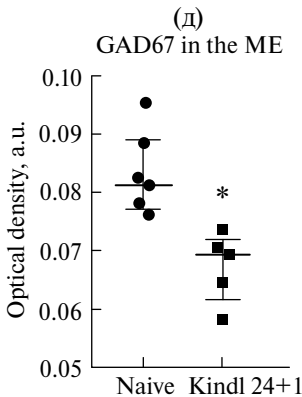
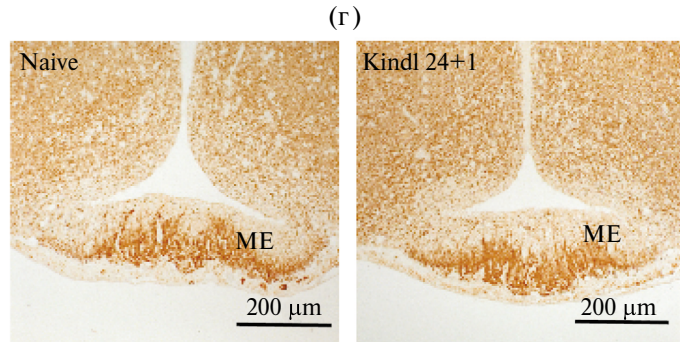
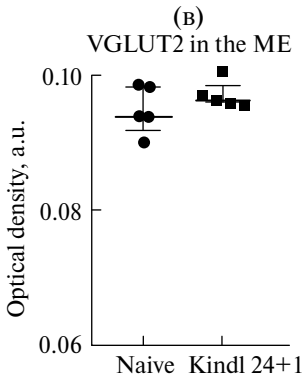
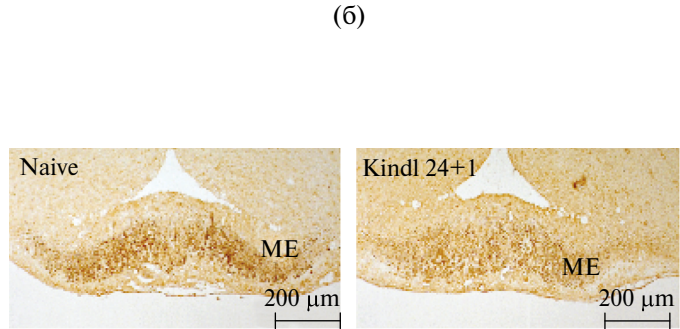
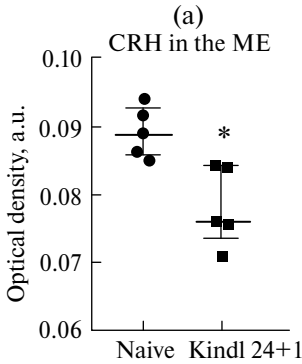
эпилептиформной активности при однократной аудиогенной стимуляции, вызывающей судорожный припадок у крыс КМ, наблюдается немедленное повышение секреции гормона гипофиза АСТН, сопровождающееся значительным усилением продукции кортикостерона клетками коры надпочечников [29]. При этом мы показали, что у крыс линии Вистар, являющейся материнской для крыс линии КМ, звуковая стимуляция, провоцирующая генерализованный судорожный припадок у крыс линии КМ, не только не вызывает судорожный припадок, но и не приводит к значительным изменениям в уровне АСТН и кортикостерона в крови [29]. Таким образом, хотя и очевидно, что модель звуковой стимуляции эпилептиформных судорожных припадков должна быть неразрывно связана с акустическим стрессом, активация ГГКС, по-видимому, является специфичным для аудиогенного судорожного припадка ответом мозга крыс линии КМ, вызванным генерализованной судорожной активностью.

Поскольку нас интересовали хронические изменения в мозге, отвечающие за реакцию центрального звена ГГКС на хроническую судорожную активность, мы исследовали изменения в активности центральных звеньев ГГКС через 24 ч после длительного аудиогенного киндлинга.

Активация центрального звена ГГКС является многоэтапным процессом, приводящим к повышению содержания глюкокортикоидов в крови [20]. Глюкокортикоиды регулируют активность нейронов мозга за счет связывания с высокоафинными минералокортикоидными и низкоафинными GR, широко представленными в различных структурах мозга [36]. В том числе глюкокортикоиды регулируют активность самой ГГКС за счет механизма отрицательной обратной связи, который основан на связывании избытка кортикостерона с низкоафинными рецепторами к глюкокортикоидным гормонам GR [37]. Высокий уровень экспрессии этих рецепторов наблюдается в ПВЯ гипоталамуса и в кортикотропocyтах аденогипофиза. GR-опосредованное ингибирование – достаточно сложный процесс, осуществляющийся в разные временные периоды за счет разных механизмов. Наиболее активно GR-опосредованное ингибирование происходит в течение минут после стресса, и, по-видимому, осуществляется за счет негеномных механизмов. Затем следует развёртывание геномных механизмов GR-опосредованной регуляции [20, 38], которое приводит к отставленному во времени хроническому изменению активности компонентов ГГКС. Задачей данной работы было исследование изменений в активности ГГКС через сутки после последнего аудиогенного судорожного припадка, поэтому нас в большей степени интересовало влияние многократных аудиогенных судорожных припадков на реализацию именно геномных эффектов GR. Мы не выявили изменений в транслокации GR в ядра нейронов ПВЯ, это свидетельствует о том, что, несмотря на многократно возросшую концентрацию кортикостерона в крови [28], аудиогенный киндлинг не влияет на чувствительность нейронов ПВЯ к высоким концентрациям глюкокортикоидов через сутки после 24 аудиогенных судорожных припадков.

Другим способом регуляции активности центрального звена ГГКС является нейромедиаторный. Основными нейромедиаторами, обеспечивающими базальную и стресс-индуцированную активность кортиколиберинергических нейронов ПВЯ, являются норадреналин, глутамат, ГАМК, серотонин, дофамин, ацетилхолин и гистамин [39]. В данном исследовании мы сфокусировались на наиболее хорошо изученных в контексте эпилепсии глутамате и ГАМК. За глутаматергическую возбуждающую иннервацию ПВЯ отвечают в основном структуры ствола мозга [40]

и отделы переднего мозга [41]. За ГАМКергическую иннервацию ПВЯ отвечают в основном ГАМКергические нейроны перивентрикулярной зоны гипоталамуса [42], которые в покое оказывают тормозное воздействие на кортиколиберинергические нейроны ПВЯ за счет активации ГАМК(A)-рецепторов [42, 43]. В условиях стресса ГАМК может оказывать возбуждающее действие на терминалы кортиколиберинергических нейронов в наружной зоне срединного возвышения, потенцируя секрецию кортиколиберина в порталный кровоток [35]. Разные эффекты ГАМК связаны с нарушением градиента Cl^- из-за различий в представленности



транспортёров хлора в нейронах — в телах клеток преимущественно экспрессируются калий-хлоридный котранспортер 2 (KCC2), а в терминалях натрий-калий-хлоридный котранспортер 1 (NKCC1) [35]. Уровень экспрессии рецепторов к ГАМК в различных компартаментах нейронов также является важным фактором, определяющим эффективность нейротрансмиссии. В последние годы появились данные, что синтез и секреция кортиколиберина в кортиколиберинергических нейронах ПВЯ могут регулироваться независимо [35, 44]. Поэтому биохимические маркеры разных типов регуляции мы оцениваем независимо — в области ПВЯ, где находятся тела кортиколиберинергических нейронов, и в наружной зоне срединного возвышения, где располагаются их аксоны и происходит секреция кортиколиберина в портальный кровоток.

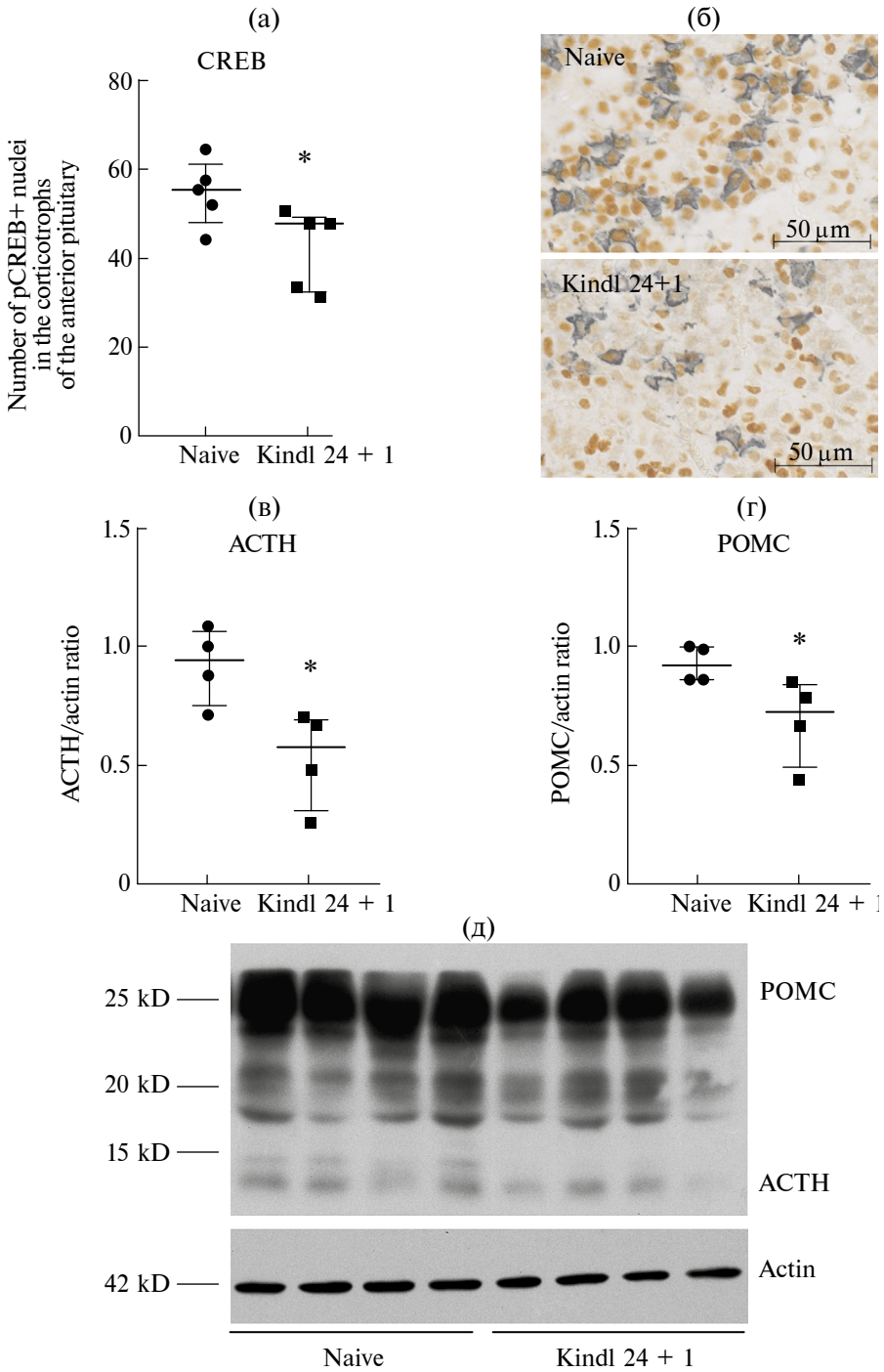
Многочисленные аудиогенные судорожные припадки не повлияли на плотность ГАМК и глутаматергической иннервации нейронов ПВЯ. Неудивительно, что мы не выявили изменений и в уровне биосинтеза кортиколиберина — содержание кортиколиберина в нейронах ПВЯ через сутки после 24 аудиогенных судорожных припадков не отличалось от контроля. Однако через сутки после 24 припадков наблюдалось снижение содержания дельта- и гамма 2-субъединиц ГАМК(A)-рецепторов, что является показателем снижения чувствительности нейронов ПВЯ к тормозной ГАМКергической регуляции [45]. В совокупности полученные данные свидетельствуют о том, что в отличие от хронического стресса, аудиогенный киндлинг не оказывает долгосрочного влияния на GR-опосредованный механизм обратной связи, а также ГАМК- и глутаматергическую иннервацию ПВЯ. В целом можно сказать, что после завершения 24 аудиогенных судорожных припадков, функциональная активность нейронов ПВЯ гипоталамуса не отличалась от контроля, за исключением снижения чувствительности нейронов ПВЯ к ГАМКергической регуляции.

Высокая устойчивость гипоталамуса к эпилептизации также была отмечена в модели электрического киндлинга [46]. Отсутствие значительных изменений в активности центрального звена ГАКС в разных моделях эпилепсии, вероятно, связано с важной гомеостатической ролью гипоталамуса.

Мы проанализировали влияние многочисленных аудиогенных судорожных припадков у крыс КМ на интенсивность выведения нейрогормона кортиколиберина

Рис. 4. Иммуногистохимический анализ кортиколиберина (CRH), везикулярного транспортера глутамата 2 (VGLUT2) и глутаматдекарбоксилазы 67 (GAD67) в срединном возвышении (МЕ) гипоталамуса у крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ) после аудиогенного киндлинга. Результаты показали, что 24-дневный аудиогенный киндлинг вызывает достоверное снижение уровня CRH (а) и GAD67 (д), однако не оказывает влияния на VGLUT2 (в) в наружной зоне МЕ у крыс КМ (Kindl 24+) по сравнению с контролем (Naive). На графиках представлена оптическая плотность иммунопозитивного вещества в относительных единицах (arbitrary units, a.u.). Данные представлены в виде медианы \pm интерквартильный размах. * — $p < 0,05$. (б), (г), (е) — репрезентативные микрофотографии CRH (б), VGLUT2 (г) и GAD67 (е) в МЕ наивных крыс КМ и крыс КМ после 24-дневного аудиогенного киндлинга. Масштабная линейка: 200 мкм

Fig 4. Immunohistochemical analysis of corticotropin-releasing hormone (CRH), vesicular glutamate transporter 2 (VGLUT2) and glutamate decarboxylase 67 (GAD67) in the hypothalamic median eminence (ME) of Krushinsky–Molodkina (KM) rats exposed to audiogenic kindling. The results showed that 24-day audiogenic kindling induced a significant reduction in the CRH (a) and GAD67 (d), but had no effect on VGLUT2 (b) in the ME external layer of KM rats when compared with control (Naive). The plots show optical density of the immunopositive substance in arbitrary units (a.u.). Data are presented as median \pm interquartile range. * — $p < 0.05$. (b), (g), (e) — representative micrographs of CRH (b), VGLUT2 (g), and GAD67 (e) in the ME of naïve and kindled KM rats. Scale bars: 200 μ m



из аксонов нейронов ПВЯ в порталный кровоток. Через сутки после завершения серии многократных аудиогенных судорожных припадков мы не выявили изменений содержания VGLUT2 в наружной зоне срединного возвышения, что указывает на независимость секреции кортиколиберина от глутаматергической регуляции. За ГАМКергическую иннервацию наружной зоны срединного возвышения отвечают AGRP (Agouti-related peptide) нейроны аркуатного ядра [47]. Мы наблюдали снижение содержания GAD67 в наружной зоне срединного возвышения, что указывает на снижение плотности ГАМКергической иннервации терминалей кортиколиберинергических нейронов. Показано, что в отличие от ПВЯ, где ГАМК оказывает классическое тормозное влияние на кортиколиберинергические нейроны, в терминалях, локализованных в наружной зоне срединного возвышения, ГАМК может стимулировать секрецию кортиколиберина в порталный кровоток [35]. Это связано с преобладанием транспортера хлора НКСС1 в терминалях кортиколиберинергических нейронов и соответственно с повышенной внутриклеточной концентрацией Cl^- , которая приводит к снижению чувствительности постсинаптической мембраны к тормозному действию ГАМК [35]. Очевидно, показанное снижение содержания кортиколиберин-иммунопозитивного вещества в наружной зоне срединного возвышения в сочетании с уменьшением ГАМКергической возбуждающей иннервации указывает на низкий уровень секреции кортиколиберина в порталный кровоток и подтверждается снижением концентрации АСТН в крови [28].

Регуляция активности кортикотропцитов аденогипофиза также зависит от многих факторов. За инициацию синтеза и/или секреции отвечают преимущественно кортиколиберин и вазопрессин, а за торможение — глюкокортикоиды [47, 48].

Рис. 5. Влияние аудиогенного киндлинга на активность транскрипционного фактора CREB и содержание проопиомеланокортина (ПОМС) и аденокортикотропного гормона (АСТН) в аденогипофизе наивных крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ). (а) — иммуногистохимический анализ выявил снижение локализации активного фосфорилированного CREB (phospho(Ser133)-CREB) в ядрах ПОМС/АСТН-позитивных кортикотропцитов аденогипофиза у крыс КМ после 24-дневного аудиогенного киндлинга (Kindl 24+1) по сравнению с контролем (Naive). На графике представлены количества клеток, иммунопозитивных к phospho(Ser133)-CREB и ПОМС/АСТН (на срез). (б) — репрезентативные микрофотографии иммуноочерчения phospho(Ser133)-CREB (коричневый) и ПОМС/АСТН (синий) в аденогипофизе «наивных» крыс КМ и крыс КМ после 24-дневного аудиогенного киндлинга. Масштабная линейка: 50 мкм. (в), (г) — вестерн-блот-анализ также выявил достоверное снижение уровня АСТН (в) и ПОМС (г) в аденогипофизе под влиянием многократных судорожных стимуляций. (д) — репрезентативные иммуноблоты ПОМС/АСТН и актина в аденогипофизе наивных крыс КМ и крыс КМ после 24-дневного аудиогенного киндлинга. Данные представлены в виде медианы \pm интерквартильный размах. * — $p < 0,05$

Fig. 5. The effect of audiogenic kindling on the activity of the transcription factor CREB and the levels of proopiomelanocortin (POMC) and adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in the anterior pituitary of Krushinsky–Molodkina (KM) rats. (a) — immunohistochemical assay showed a decreased localization of the active phosphorylated CREB (phospho(Ser133)-CREB) in the nuclei of POMC/ACTH-positive anterior pituitary corticotrophs of KM rats after 24-day audiogenic kindling (Kindl 24+1) when compared with control rats (Naive). The plot shows the numbers of phospho(Ser133)-CREB and POMC/ACTH double-positive cells (per section). (b) — representative micrographs of phospho(Ser133)-CREB (brown) and POMC/ACTH (blue) in the anterior pituitary of naïve and kindled KM rats. Scale bars: 50 μ m. (v), (r) — western blot analysis also detected a decrease in the levels of ACTH (v) and POMC (r) in the anterior pituitary after multiple seizure stimulations. (d) — representative immunoblots of POMC/ACTH and actin in the anterior pituitary of naïve and kindled KM rats. Data are presented as median \pm interquartile range. * — $p < 0.05$

Кортиколиберин, секретированный в наружной зоне срединного возвышения через порталный кровоток, транспортируется в переднюю долю гипофиза, где связывается с рецепторами к кортиколиберину 1-го типа. Активация рецептора кортиколиберина стимулирует транскрипцию POMC за счет (сAMP)/PKA/CREB-сигнального пути [49, 50]. Мы показали, что через 24 ч после многократных аудиогенных судорожных припадков снижается содержание фосфо-CREB в кортикотропоцитах аденогипофиза, это приводит к снижению содержания POMC/АСТН в аденогипофизе, а также к снижению концентрации АСТН в крови [28], что указывает на PKA опосредованное снижение синтеза POMC и снижение интенсивности секреции АСТН.

Таким образом, многократные аудиогенные судорожные припадки не влияют на активность синтеза кортиколиберина нейронами ПВЯ гипоталамуса, что свидетельствует об устойчивости гипоталамуса к аудиогенному киндлингу и хорошо согласуется с результатами классических экспериментов с электрической стимуляцией гипоталамуса [46]. Снижение содержания кортиколиберина в наружной зоне срединного возвышения отражает низкий уровень секреции кортиколиберина в порталный кровоток, что приводит к уменьшению синтеза АСТН в аденогипофизе и его секреции в кровь. Таким образом, повышенная секреция кортикостерона в кровь, по-видимому, определяется повышенной чувствительностью клеток коры надпочечников к АСТН, а не активностью центрального звена ГПАКС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Fisher R.S., Acevedo C., Arzimanoglou A. et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014. Vol. 55. No. 4. Pp. 475–482. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>
2. Kalilani L., Sun X., Pelgrims B., Noack-Rink M., Villanueva V. The epidemiology of drug-resistant epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. No. 12. Pp. 2179–2193. <https://doi.org/10.1111/epi.14596>
3. Ioannou P., Foster D.L., Sander J.W. et al. The burden of epilepsy and unmet need in people with focal seizures. *Brain Behav*. 2022. Vol. 12. No. 9. e2589. <https://doi.org/10.1002/brb3.2589>
4. Catalan-Aguilar J., Gonzalez-Bono E., Cano-Lopez I. Perceived stress in adults with epilepsy: a systematic review. *Neurosci. Biobehav. Rev*. 2025. Vol. 170. 106065. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2025.106065>
5. Maguire J., Salpekar J.A. Stress, seizures, and hypothalamic–pituitary–adrenal axis targets for the treatment of epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2013. Vol. 26. No. 3. Pp. 352–362. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.09.040>
6. Galtrey C.M., Mula M., Cock H.R. Stress and epilepsy: fact or fiction, and what can we do about it? *Pract. Neurol*. 2016. Vol. 16. No. 4. Pp. 270–278. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2015-001337>
7. Lai C-W., Trimble M.R. Stress and epilepsy. *J. Epilepsy*. 1997. Vol. 10. No. 4. Pp. 177–186. [https://doi.org/10.1016/S0896-6974\(97\)00017-0](https://doi.org/10.1016/S0896-6974(97)00017-0)
8. Klein P., van Passel L. Effect of stress related to the 9/11/2001 terror attack on seizures in patients with epilepsy. *Neurology*. 2005. Vol. 64. No. 10. Pp. 1815–1816. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000162026.52300.3C>

9. Shibahara I., Osawa S., Kon H. et al. Increase in the number of patients with seizures following the Great East-Japan Earthquake. *Epilepsia*. 2013. Vol. 54. No. 4. Pp. e49–e52. <https://doi.org/10.1111/epi.12070>
10. Kobayashi S., Endo W., Inui T. et al. The lack of antiepileptic drugs and worsening of seizures among physically handicapped patients with epilepsy during the Great East Japan Earthquake. *Brain Dev*. 2016. Vol. 38. No. 7. Pp. 623–627. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2016.01.005>
11. Holmes G.L. Role of glutamate and GABA in the pathophysiology of epilepsy. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev*. 1995. Vol. 1. No. 3. Pp. 208–219.
12. Bradford H.F., Peterson D. Current views of the pathobiochemistry of epilepsy. *Mol. Aspects Med*. 1987. Vol. 9. No. 2. Pp. 119–172. [https://doi.org/10.1016/0098-2997\(87\)90022-7](https://doi.org/10.1016/0098-2997(87)90022-7)
13. Clynen E., Swijsen A., Raijmakers M. et al. Neuropeptides as targets for the development of anticonvulsant drugs. *Mol. Neurobiol*. 2014. Vol. 50. No. 2. Pp. 626–646. <https://doi.org/10.1007/s12035-014-8669-x>
14. Abbott R.J., Browning M.C., Davidson D.L. Serum prolactin and cortisol concentrations after grand mal seizures. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 1980. Vol. 43. No. 2. Pp. 163–167. <https://doi.org/10.1136/jnnp.43.2.163>
15. Culebras A., Miller M., Bertram L. et al. Differential response of growth hormone, cortisol, and prolactin to seizures and to stress. *Epilepsia*. 1987. Vol. 28. No. 5. Pp. 564–570. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1987.tb03689.x>
16. Galimberti C.A., Magri F., Copello F. et al. Seizure frequency and cortisol and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) levels in women with epilepsy receiving antiepileptic drug treatment. *Epilepsia*. 2005. Vol. 46. No. 4. Pp. 517–523. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.59704.x>
17. Zobel A., Wellmer J., Schulze-Rauschenbach S. et al. Impairment of inhibitory control of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in epilepsy. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci*. 2004. Vol. 254. No. 5. Pp. 303–311. <https://doi.org/10.1007/s00406-004-0499-9>
18. Gallagher B.B., Murvin A., Flanigin H.F. et al. Pituitary and adrenal function in epileptic patients. *Epilepsia*. 1984. Vol. 25. No. 6. Pp. 683–689. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1984.tb03477.x>
19. Gallagher B.B. Endocrine abnormalities in human temporal lobe epilepsy. *Yale J. Biol. Med*. 1987. Vol. 60. No. 2. Pp. 93–97.
20. Herman J.P., McKlveen J.M., Ghosal S. et al. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. *Compr. Physiol*. 2016. Vol. 6. No. 2. Pp. 603–621. <https://doi.org/10.1002/cphy.c150015>
21. Vinogradova L.V., Grinenko O.A. Ictal electrographic pattern of focal subcortical seizures induced by sound in rats. *Brain Res*. 2016. Vol. 1635. Pp. 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.01.027>
22. Italiano D., Ferlazzo E., Gasparini S. et al. Generalized versus partial reflex seizures: a review. *Seizure*. 2014. Vol. 23. No. 7. Pp. 512–520. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2014.03.014>

23. Garcia-Cairasco N. A critical review on the participation of inferior colliculus in acoustic-motor and acoustic-limbic networks involved in the expression of acute and kindled audiogenic seizures. *Hear. Res.* 2002. Vol. 168. No. 1–2. Pp. 208–222. [https://doi.org/10.1016/s0378-5955\(02\)00371-4](https://doi.org/10.1016/s0378-5955(02)00371-4)
24. Kulikov A.A., Naumova A.A., Dorofeeva N.A. et al. Dynamics of neurodegeneration in the hippocampus of Krushinsky–Molodkina rats correlates with the progression of limbic seizures. *Epilepsy Behav.* 2022. Vol. 134. 108846. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2022.108846>
25. Vinogradova L.V. Audiogenic kindling and secondary subcortico-cortical epileptogenesis: behavioral correlates and electrographic features. *Epilepsy Behav.* 2017. Vol. 71. Pt B. Pp. 142–153. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.06.014>
26. Nikitina M.M., Romanova L.G. Blood corticosterone level in Krushinskii–Molodkina and Wistar rats after short exposure to acoustic stimulation. *Bull. Exp. Biol. Med.* 1981. Vol. 92. No. 5. Pp. 1510–1511. <https://doi.org/10.1007/BF00829885>
27. Umeoka E.H., Garcia S.B., Antunes-Rodrigues J. et al. Functional characterization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain. *Brain Res.* 2011. Vol. 1381. Pp. 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.01.042>
28. Harbachova E.L., Chernigovskaya E.V., Glazova M.V. et al. Audiogenic kindling activates expression of vasopressin in the hypothalamus of Krushinsky–Molodkina rats genetically prone to reflex epilepsy. *J. Neuroendocrinol.* 2020. Vol. 32. No. 4. e12846. <https://doi.org/10.1111/jne.12846>
29. Gorbacheva E.L., Kulikov A.A., Chernigovskaya E.V. et al. Characteristics of the functional state of the hypothalamo-hypophyseal-adrenocortical system in Krushinskii–Molodkina rats. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2020. Vol. 50. No. 4. Pp. 459–467. <https://doi.org/10.1007/s11055-020-00921-2>
30. Kulikov A.A., Dorofeeva N.A., Naumova A.A. et al. Impaired postnatal development of the hippocampus of Krushinsky–Molodkina rats genetically prone to audiogenic seizures. *Epilepsy Behav.* 2020. Vol. 113. 107526. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107526>
31. Wittmann G., Lechan R.M., Liposits Z. et al. Glutamatergic innervation of corticotropin-releasing hormone- and thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. *Brain Res.* 2005. Vol. 1039. No. 1–2. Pp. 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.01.090>
32. Kanaani J., Kolibachuk J., Martinez H. et al. Two distinct mechanisms target GAD67 to vesicular pathways and presynaptic clusters. *J. Cell Biol.* 2010. Vol. 190. No. 5. Pp. 911–925. <https://doi.org/10.1083/jcb.200912101>
33. Chattopadhyaya B., Di Cristo G., Wu C.Z. et al. GAD67-mediated GABA synthesis and signaling regulate inhibitory synaptic innervation in the visual cortex. *Neuron.* 2007. Vol. 54. No. 6. Pp. 889–903. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.05.015>
34. Aguilera G., Liu Y. The molecular physiology of CRH neurons. *Front. Neuroendocrinol.* 2012. Vol. 33. No. 1. Pp. 67–84. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2011.08.002>

35. Kakizawa K., Watanabe M., Mutoh H. et al. A novel GABA-mediated corticotropin-releasing hormone secretory mechanism in the median eminence. *Sci. Adv.* 2016. Vol. 2. No. 8. e1501723. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501723>
36. Herman J.P., Patel P.D., Akil H. et al. Localization and regulation of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor messenger RNAs in the hippocampal formation of the rat. *Mol. Endocrinol.* 1989. Vol. 3. No. 11. Pp. 1886–1894. <https://doi.org/10.1210/mend-3-11-1886>
37. Keller-Wood M. Hypothalamic-pituitary–adrenal axis-feedback control. *Compr. Physiol.* 2015. Vol. 5. No. 3. Pp. 1161–1182. <https://doi.org/10.1002/cphy.c140065>
38. Joëls M. Stress, the hippocampus, and epilepsy. *Epilepsia.* 2009. Vol. 50. No. 4. Pp. 586–597. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01902.x>
39. Herman J.P., Tasker J.G. Paraventricular hypothalamic mechanisms of chronic stress adaptation. *Front. Endocrinol.* 2016. Vol. 7. 137. <https://doi.org/10.3389/fendo.2016.00137>
40. Ziegler D.R., Edwards M.R., Ulrich-Lai Y.M. et al. Brainstem origins of glutamatergic innervation of the rat hypothalamic paraventricular nucleus. *J. Comp. Neurol.* 2012. Vol. 520. No. 11. Pp. 2369–2394. <https://doi.org/10.1002/cne.23043>
41. Ulrich-Lai Y.M., Jones K.R., Ziegler D.R. et al. Forebrain origins of glutamatergic innervation to the rat paraventricular nucleus of the hypothalamus: differential inputs to the anterior versus posterior subregions. *J. Comp. Neurol.* 2011. Vol. 519. No. 7. Pp. 1301–1319. <https://doi.org/10.1002/cne.22571>
42. Cullinan W.E., Ziegler D.R., Herman J.P. Functional role of local GABAergic influences on the HPA axis. *Brain Struct. Funct.* 2008. Vol. 213. No. 1–2. Pp. 63–72. <https://doi.org/10.1007/s00429-008-0192-2>
43. Melon L.C., Maguire J. GABAergic regulation of the HPA and HPG axes and the impact of stress on reproductive function. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2016. Vol. 160. Pp. 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.11.019>
44. Power E.M., Ganeshan D., Paul J. et al. Direct modulation of CRH nerve terminal function by noradrenaline and corticosterone. *J. Neurosci.* 2025. Vol. 45. No. 3. e1092242024. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1092-24.2024>
45. Farrant M., Nusser Z. Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABA(A) receptors. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005. Vol. 6. No. 3. Pp. 215–229. <https://doi.org/10.1038/nrn1625>
46. Cullen N., Goddard G.V. Kindling in the hypothalamus and transfer to the ipsilateral amygdala. *Behav. Biol.* 1975. Vol. 15. No. 2. Pp. 119–131. [https://doi.org/10.1016/s0091-6773\(75\)91459-5](https://doi.org/10.1016/s0091-6773(75)91459-5)
47. Fernandes A.C.A., de Oliveira F.P., Fernandez G. et al. Arcuate AgRP, but not POMC neurons, modulate paraventricular CRF synthesis and release in response to fasting. *Cell Biosci.* 2022. Vol. 12. No. 1. 118. <https://doi.org/10.1186/s13578-022-00853-z>
48. Harno E., Gali Ramamoorthy T., Coll A.P., White A. POMC: the physiological power of hormone processing. *Physiol. Rev.* 2018. Vol. 98. No. 4. Pp. 2381–2430. <https://doi.org/10.1152/physrev.00024.2017>

49. Boutillier A.L., Gaiddon C., Lorang D. et al. Transcriptional activation of the proopiomelanocortin gene by cyclic AMP-responsive element binding protein. *Pituitary*. 1998. Vol. 1. No. 1. Pp. 33–43. <https://doi.org/10.1023/a:1009966808106>
50. Reisine T., Rougon G., Barbet J., Affolter H.U. Corticotropin-releasing factor-induced adrenocorticotropin hormone release and synthesis is blocked by incorporation of the inhibitor of cyclic AMP-dependent protein kinase into anterior pituitary tumor cells by liposomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1985. Vol. 82. No. 23. Pp. 8261–8265. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.23.8261>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Горбачёва Евгения Леонидовна – канд. биол. наук; мл. науч. сотр., ИЭФБ РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация; Postdoctoral Researcher, German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Bonn, Germany
E-mail: jengorbacheva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9639-4849>

Черниговская Елена Валерьевна – д-р биол. наук; вед. науч. сотр., ИЭФБ РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: chern755@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1041-5619>

Куликов Алексей Андреевич – канд. биол. наук; науч. сотр., ИЭФБ РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: alekskulikova95@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-1385-6903>

Бахтеева Вера Талгатовна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр., ИЭФБ РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: vera_bach@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6926-7748>

Николаева Светлана Дмитриевна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр., ИЭФБ РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: sveta.nikolaeva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-1019-7188>

Никитина Любовь Сергеевна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр., ИЭФБ РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: lubasun@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-3386-4422>

Поступила в редакцию 28.11.2025
После доработки 09.12.2025
Принята к публикации 15.01.2026

ABOUT THE AUTHORS

Harbachova, Evgeniya L. – Cand. Sc. (Biology); Research Assistant, IEPHB RAS,
St. Petersburg, Russian Federation; Postdoctoral Researcher, German Center for
Neurodegenerative Diseases (DZNE), Bonn, Germany
E-mail: jengorbacheva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9639-4849>

Chernigovskaya, Elena V. – Ph.D. (Biology); Head Scientist Researcher, IEPHB RAS,
St. Petersburg, Russian Federation
E-mail: chern755@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1041-5619>

Kulikov, Aleksey A. – Cand. Sc. (Biology); Research Officer, IEPHB RAS,
St. Petersburg, Russian Federation
E-mail: alekskulikovaa95@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-1385-6903>

Bakhteeva, Vera T. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, IEPHB RAS,
St. Petersburg, Russian Federation
E-mail: vera_bach@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6926-7748>

Nikolaeva, Svetlana D. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, IEPHB RAS,
St. Petersburg, Russian Federation
E-mail: sveta.nikolaeva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-1019-7188>

Nikitina, Lyubov S. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, IEPHB RAS,
St. Petersburg, Russian Federation
E-mail: lubasun@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-3386-4422>

Received November 28, 2025
Revised December 09, 2025
Accepted January 15, 2026