

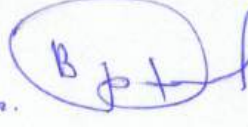
В печать

На правах рукописи

Председатель диссертационного  
совета 68.1.005.01



28.04.2026г.

 В.А. Баринов

КОЗЛОВ

Александр Александрович

КОРРЕКЦИЯ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ И АПОПТОЗА С ПОМОЩЬЮ МИНОЛЕКСИНА  
НА МОДЕЛИ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ  
У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства»

**Научный руководитель:** **Бажанова Елена Давыдовна**  
Доктор биологических наук

**Официальные оппоненты:** **Ленская Карина Владимировна**  
доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (ФГБОУ ВО «СПбГУ»), заведующий кафедрой фармации

**Ордян Наталья Эдуардовна**  
доктор биологических наук, главный научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт физиологии имени И.П. Павлова РАН» (ФГБУН ИФ РАН), заведующий лабораторией нейроэндокринологии


**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» (ФГБНУ «ИЭМ»)

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г. в 11:00 часов на заседании диссертационного совета 68.1.005.01, созданном на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства» (192029, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д. 1)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке и на сайте (<http://www.toxicology.ru>) Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства»

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета 68.1.005.01  
доктор медицинских наук,  
профессор

 **Луковникова Любовь Владимировна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** По статистике, судорожные припадки так или иначе затронули до 10% населения мира. Для подавляющего большинства людей это был сопутствующий эпизодический синдром какого-либо заболевания, но в 1-2% случаев они обозначили собой начало эпилепсии. Это хроническое неврологическое заболевание, для которого характерны повторяющиеся спонтанные припадки, от них страдает более 51 миллионов человек, или до 1% населения мира, и ежегодно регистрируется более 4.9 миллионов новых случаев. Эпилепсия представляет собой одно из наиболее распространённых и серьёзных заболеваний головного мозга, приводящее к ухудшению качества жизни, инвалидности и смерти [Boulenouar M. et al., 2023]. Каждый год 1 из 1000 пациентов с эпилепсией становится жертвой внезапной смерти. В целом, люди с эпилепсией погибают преждевременной смертью в три раза чаще среднего, а их качество жизни снижено. Так, у 30 до 40% детей с эпилепсией наблюдается нарушения когнитивных функций и интеллекта. Наличие эпилепсии само по себе может привести к психосоциальным проблемам, таким как депрессия и тревожность. Сопутствующие психиатрические заболевания в 10 раз чаще поражают людей с эпилепсией, чем популяцию в целом. Кроме того, зачастую больные подвергаются стигматизации в обществе [Janson M. et al., 2021].

Распространённость эпилепсии, вероятно, будет расти, поскольку всё больше людей выживают после серьёзных черепно-мозговых травм, инсультов, энцефалитов и менингитов, при тяжёлых наследственных заболеваниях, а также есть определённый прогресс в лечении опухолей головного мозга. В отсутствии таких достижений современной медицины как новые антибиотики, противопаразитарные и противовирусные препараты, лучевая и химиотерапия, многие пациенты не прожили бы достаточно долго, чтобы у них развилась эпилепсия [Falco-Walter J., 2020].

**Степень разработанности темы.** За последние 40 лет разработано более 20 противосудорожных препаратов для лечения эпилептических припадков, но эффективность фармакотерапии практически не изменилась, в каждом третьем случае не удаётся точно установить причину развития эпилепсии и подобрать адекватное лечение. И с каждым новым назначенным препаратом вероятность избавиться от приступов для пациента падает.

Тем не менее, надежды на преодоление резистентности по-прежнему связаны с фармакологической терапией. Например, ценобамаат, препарат с двойным механизмом модуляции токов натриевых каналов и рецепторов ГАМК-А, уменьшает частоту приступов лучше многих противоэпилептических препаратов, а фенфлурамин, препарат, действующий на серотонин, резко снижает частоту судорожных приступов при синдроме Драве, в случае которого эпилепсия считается резистентной [Klein P. et al., 2024]. Но это не меняет главного – большинство доступных или разрабатываемых лекарств направлены на подавление возбудимости в ЦНС и купирование судорог, при этом они не воздействуют на вызывающие её механизмы эпилепсии [Wang G. et al., 2021]. Нейровоспаление и эпилепсия – разные патологии, но они настолько тесно связаны, что активация одного приводит к развитию другого. Различные противовоспалительные препараты могут быть перепрофилированы для лечения эпилепсии и в доклинических исследованиях уже показали положительный эффект у модельных животных [Sanz P. et al., 2024].

Рассмотренный в данной работе препарат минолексин показал многообещающие результаты в экспериментальной неврологии, что было связано с его высокой липофильностью, став безопасным и эффективным дополнением к антипсихотическим препаратам [Singh S. et al., 2021]. Он оказывает положительный эффект при ишемическом инсульте и травмах [Zhao K. et al., 2023], рассеянном склерозе [Chauhan P. et al., 2021] и боковом амиотрофическом склерозе [Gordon P.H. et al., 2007], болезнях Паркинсона [Cankaya S. et al., 2019] и Хантингтона [Thomas M. et al., 2004], а также других. Его применение в этой области обусловлено главным образом двумя неантибиотическими эффектами: противовоспалительным и антиапоптотическим.

Всё это говорит о необходимости разработки противоэпилептических препаратов с новыми механизмами действия, воздействующих на ключевые точки патогенеза, в том числе

нейровоспалительные и проапоптотические каскады. Однако перед внедрением такого препарата необходимо получить глубокие знания об основных затронутых воспалительных путях, мишенях и молекулярных механизмах.

**Цель и задачи исследования.** Цель работы – экспериментальное обоснование коррекции минолексином нейровоспаления и апоптоза при фармакорезистентной эпилепсии у крыс линии Крушинского-Молодкиной.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Оценить уровни апоптоза и экспрессию апоптоз-ассоциированных белков: p53, Bcl-2, каспазы-3 и -8 в височной области и гиппокампе крыс Крушинского-Молодкиной при аудиогенном киндлинге и введении минолексина.
2. Оценить уровень глиоза при аудиогенном киндлинге и введении минолексина.
3. Изучить развитие нейровоспаления при киндлинге и введении минолексина (экспрессия маркеров нейровоспаления FAS, FADD, TNF- $\alpha$ , TRADD, Nf-kB).
4. Провести комплексный анализ воздействия минолексина на развитие нейровоспаления и апоптоза при экспериментальной эпилепсии у крыс линии Крушинского-Молодкиной.

**Научная новизна работы.** Впервые исследовано изменение уровня апоптоза при длительном аудиогенном киндлинге в височной области и гиппокампе крыс Крушинского-Молодкиной, выявлено повышение гибели клеток во всех изученных областях мозга крыс. Выявлен основной путь активации апоптоза при экспериментальной эпилепсии – p53-опосредуемый каскад. Показана ведущая роль p53 в патогенезе эпилепсии у исследуемых животных. Показано, что антиапоптотический белок Bcl-2 не играет значимой роли в эпилептогенезе при киндлинге у крыс данной линии. Впервые исследовано влияние миноциклина на клеточную гибель и нейровоспаление в височной области и гиппокампе крыс при экспериментальной эпилепсии (длительный аудиогенный киндлинг). Выявлено позитивное действие миноциклина при киндлинге (снижение экспрессии проапоптотического белка p53 в височной области и гиппокампе в группе крыс, подвергшихся киндлингу и получавших миноциклин). Показано отсутствие ведущей роли каспазы-3 и -8 в патогенезе эпилепсии у крыс линии Крушинского-Молодкиной и преобладание каспазозависимых путей апоптоза. Впервые исследовано развитие нейровоспаления, глиоза и активации астроцитов при длительном аудиогенном киндлинге в височной области и гиппокампе крыс Крушинского-Молодкиной, и возможность коррекции этих изменений с помощью миноциклина.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Полученные в ходе исследования данные расширяют представление о роли нейровоспаления и аберрантной гибели клеток путём апоптоза как о фундаментальных механизмах, лежащих в основе эпилептогенеза и субстрата для формирования лекарственной устойчивости. Все имеющиеся на сегодняшний день гипотезы о природе фармакорезистентности не полны, но сходятся на процессах апоптоза и нейровоспаления. Выявление таких фундаментальных молекулярных механизмов может помочь разработать эффективные методы лечения эпилепсии, в том числе считающейся фармакорезистентной в настоящее время. Для модуляции путей воспаления и апоптоза необходимы другие лекарственные препараты. Вместо разработки новых для этой цели могут быть использованы старые, уже проверенные, выпускающиеся и используемые в клинической практике, либо вытесненные более современными препаратами, изначально созданные для лечения совсем других заболеваний, такие, как соединения тетрациклинового ряда, включая миноциклин. Результаты данного исследования позволят установить влияние миноциклина на нейровоспаление и сопутствующий апоптоз нейронов и глии при эпилепсии, выяснить механизмы его действия и предложить исследуемые вещества как базу для создания новых препаратов, эффективных для терапии эпилепсии, в том числе считающейся фармакорезистентной.

**Методология и методы исследования.** Методология включала: поиск и анализ научной информации для постановки задачи и целей; выбор экспериментальной модели; методик исследования; планирование и постановка экспериментов; описание,

статистическую обработку и анализ полученных результатов.

Методологические подходы: экспериментальное моделирование фармакорезистентной эпилепсии у крыс линии Крушинского-Молодкиной, проведение патоморфологических и биохимических исследований, оценка влияния аудиогенного киндлинга и введения миноциклина на уровень апоптоза в головном мозге крыс и экспрессию маркеров нейровоспаления. Экспериментальные исследования проведены в соответствии с нормативной документацией: ГОСТ 33044-2014 от 01.08.2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики (OECD Guide 1:1998 Principles of good laboratory practice (Принципы надлежащей лабораторной практики))», ГОСТ 33215-2014 от 01.07.2016 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур, рекомендациями № 33 от 14.11.2023 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических исследований», Постановление главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4 об утверждении санитарных правил и норм СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

**Положения, выносимые на защиту:**

1. При аудиогенном киндлинге уровни апоптоза в височной доле и гиппокампе крыс Крушинского-Молодкиной повышаются. Миноциклин демонстрирует выраженный антиапоптотический эффект. Выявлены изменения экспрессии апоптоз-ассоциированных белков при киндлинге. Антиапоптотический нейропротективный эффект миноциклина обусловлен в основном супрессией проапоптотического белка p53. Выявлено тканеспецифичное действие миноциклина на экспрессию каспазы-3 и каспазы-8.

2. Не обнаружено влияния киндлинга и миноциклина на экспрессию GFAP в височной области и гиппокампе.

3. Выявлены тканеспецифические изменения экспрессии маркеров нейровоспаления при киндлинге (FAS, FADD). При введении миноциклина показано уменьшение экспрессии TNF- $\alpha$  и NF- $\kappa$ B, возросшей при киндлинге, в изученных отделах мозга.

4. Комплексный анализ воздействия миноциклина на нейровоспаление и апоптоз на модели крыс Крушинского-Молодкиной подтвердил его антиапоптотические и противовоспалительные эффекты, обусловленные в основном подавлением экспрессии белка p53, TNF- $\alpha$  и фактора транскрипции NF- $\kappa$ B, во всех исследуемых отделах головного мозга.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность исследования подтверждается достаточным количеством использованных лабораторных животных (крыс линии Крушинского-Молодкиной) самцов и самок в количестве 30 голов и полученных экспериментальных данных, использованием современного оборудования и адекватных методов исследования, включая статистическую обработку полученных результатов.

Диссертационное исследование выполнено в рамках выполнения плановой научно-исследовательской работы (НИР) Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России), ныне Федеральное государственное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ НКЦ им. С.Н. Голикова ФМБА России) по теме: «Участие нейровоспаления в патогенезе эпилепсии и исследование возможности его фармакологической коррекции» шифр «Нейровоспаление» (2022-2025 гг.).

Результаты исследования представлены в виде устных и стендовых докладов на XXII Всероссийской научно-практической конференции «Поленовские чтения» (Санкт-Петербург, 2023); XXIV съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023); Всероссийском конгрессе «Неотложные состояния в неврологии: современные методы диагностики и лечения», посвящённая 100-летию со дня рожд. Г.А. Акимова (Санкт-Петербург, 2023); II Всероссийской научно-практической конференции студентов, магистрантов, аспирантов «Современные достижения молодых ученых в биологии, медицине и ветеринарии» (Онлайн-конференция, Астрахань 2023); Всероссийской научно-

практической конференции «Развитие науки и технологий в современной России» (Москва, 2024); VII Всероссийской научно-практической конференции (Пенза, 2024); два доклада на Всероссийской научно-практической конференции, посвящённой 100-летию со дня рождения акад. Берёзова Т.Т. «Биохимия человека 2024» (Москва, 2024); Всероссийском конгрессе «Нейронауки: интеграция теории и практики» (Санкт-Петербург, 2024); IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные исследования висцеральных систем в биологии и медицине» (Астрахань, 2024).

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 7 в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

**Личный вклад соискателя.** Все экспериментальные результаты, приведенные в диссертационной работе, получены лично автором или при его непосредственном участии. Автор проводил статистическую обработку полученных данных, осуществлял их анализ и обобщение, принимал участие в подготовке публикаций по материалам работы.

**Структура и объем диссертационной работы.** Диссертация изложена на 155 страницах и состоит из введения, главы 1 – эпилепсия, нейровоспаление, апоптоз (обзор литературы), главы 2 – материалы и методы исследования, главы 3 – результаты исследования и их обсуждение, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и списка использованной литературы, который включает 249 источников. Работа проиллюстрирована 38 рисунками и 11 таблицами.

### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Во введении представлено обоснование актуальности и степени разработанности темы исследования, сформулированы цель и задачи, научная новизна работы, её теоретическая и практическая значимости, даны сведения о материалах и методах исследования, определены основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, публикации и личный вклад автора, а также дана структура диссертации.

В первой главе диссертации даны определения эпилепсии, лекарственной устойчивости, изложены современные гипотезы её развития, связанные с нейровоспалением и нарушениями апоптоза. Также в главе 1 представлены основные маркеры нейровоспаления и апоптоза и их роль в патогенезе эпилепсии. В качестве метода поиска новых лекарственных препаратов представлено перепрофилирование уже существующих, таких как соединения тетрациклинового ряда, показавшие хорошие результаты в экспериментальной неврологии, в частности миноциклина.

Во второй главе представлены материалы и методы исследования, включая экспериментальную модель.

Третья глава посвящена оценке параметров эпилептиморфных припадков у крыс линии Крушинского-Молодкиной, определению уровней апоптоза и экспрессии исследуемых маркеров в различных отделах головного мозга животных в норме, при киндлинге и применении миноциклина, выпускаемого под торговой маркой минолексин.

Представлены заключение, выводы и практические рекомендации.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В качестве экспериментальной модели эпилепсии нами были использованы самцы и самки крыс инбредной линии Крушинского-Молодкиной с наследственной аудиогенной эпилепсией в возрасте 11 месяцев и массой тела 250 грамм, которые содержались в виварии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук» (ИЭФБ РАН) в стандартных условиях. Для эксперимента были отобраны крысы, которые стабильно реагировали на стимуляцию звуком с частотой 9-10 kHz и мощностью 50 dB развёрнутым тонико-клоническим припадком. В соответствии с целями и задачами эксперимента животные были разделены на 6 групп Контроль, Киндлинг и Киндлинг минолексин для самцов и самок соответственно. Исследуемым веществом выступал миноциклин, выпускаемый под торговой маркой Минолексин® АО «АВВА РУС», (ул. Крылатские Холмы, 30, корп.9, Москва, 121614), капсулы 50 мг. Инъекции физраствора или минолексина

в терапевтической дозе 45 мг/кг, растворённого в физрастворе, проводились внутрибрюшинно по окончании каждой звуковой стимуляции (9 kHz, 50 dB) в течение 14 дней.

Звуковая стимуляция проводилась до начала фазы «дикого бега», либо 1 минуту, а затем прекращалась, если у крысы не наблюдался судорожный припадок. Во время эксперимента проводилась видеофиксация времени латентного периода и особенностей припадка. Судороги оценивали по модифицированной шкале Racine, их тяжесть у всех животных всех групп составляла 6 баллов. Далее был сделан перерыв продолжительностью 7 дней и проведена некропсия с использованием препарата «Золетил», перфузия физраствором с помощью перистальтического насоса 7554-90, Cole Parmer Masterflex, декапитация на ручной гильотине AE1601, Open science и извлечение головного мозга.

Мозг разделяли на две половины в сагиттальной плоскости. Правую половину мозга фиксировали в 4% параформальдегиде на фосфатном буфере для последующей заморозки и иммуногистохимического и TUNEL анализа. Из левой половины иссекали дорсальный гиппокамп, кору и белое вещество височной области для вестерн-блотта (Western blotting). Стандартные срезы замороженных препаратов головного мозга толщиной 10 мкм были изготовлены на полуавтоматическом криотоме Leica CM 1520 и помещены на предметные стёкла (BioVitrum).

**Методика изучения уровня апоптоза.** Для оценки уровня апоптоза использовался метод TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling).

**Методика изучения экспрессии маркеров апоптоза и нейровоспаления.** Для оценки уровней экспрессии маркеров нейровоспаления и апоптоза использовались иммуногистохимический метод (p53, Bcl-2, GFAP) и вестерн-блоттинг (каспазы-3 и -8, FAS, FADD, TNF- $\alpha$ , TRADD, NF- $\kappa$ B).

**Методы статистической обработки.** Статистическую обработку данных проводили в программе GraphPad Prism 8.0.1 и Microsoft Excel 2008. Обработка включала в себя определение размеров выборки, типа данных, проверку нормальности распределения. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk test) для малых выборок. В случае нормального распределения сравнение нескольких независимых выборок, представленных массивами количественных данных, проводилось параметрическим методом – дисперсионным анализом ANOVA, в остальных случаях сравнение производилось непараметрическим методом – критерием Красела-Уоллиса (Kruskal-Wallis test или one-way ANOVA on ranks). Для апостериорных сравнений – дополнительного выявления значимых различий между группами (post-hoc тесты) был использован критерий Тьюки (Tukey's range test) в случае нормального распределения и Данна (Dunn test) в случае ненормального, соответственно. Для поиска корреляций между числом припадков и длительностью латентного периода использовался коэффициент корреляции Спирмена. Значимыми считали отличия при  $p < 0,05$  и ниже.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Изменения уровня апоптоза (TUNEL) экспрессии маркеров апоптоза p53 и Bcl-2 (ИГХ) в головном мозге крыс Крушинского-Молодкиной в эксперименте

Уровень апоптоза невысок у крыс контрольной группы, получавших растворитель физраствор без воздействия киндлинга, в височной доле и в гиппокампе (рис. 1). У животных, подвергавшихся многократному киндлингу и получавших только инъекции физраствора, наблюдалось усиление апоптотической гибели нейронов и глиальных клеток во всех исследуемых областях мозга по сравнению с контрольной группой (рис. 1, 2).

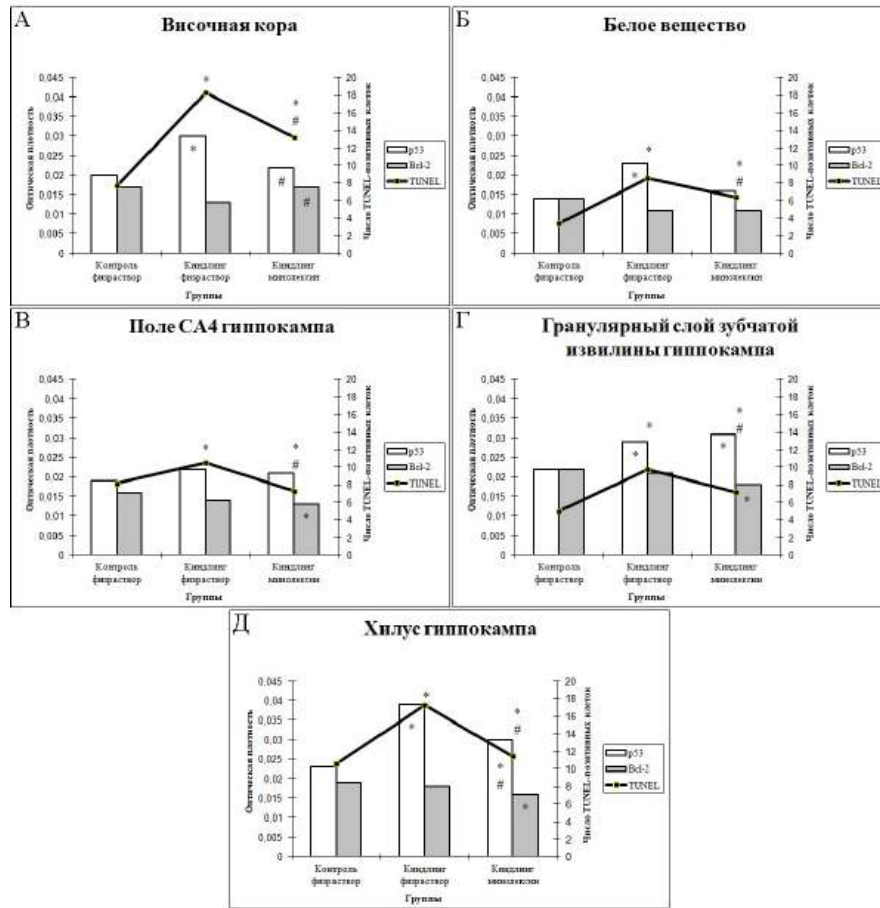


Рисунок 1 – Изменения уровня апоптоза и экспрессии маркеров апоптоза p53 и Bcl-2 в исследуемых отделах головного мозга крыс Крушинского-Молодкиной (А – в коре височной доли, Б – в подлежащем белом веществе, В – в поле СА4 гиппокампа, Г – в гранулярном слое зубчатой извилины гиппокампа, Д – в хилусе гиппокампа). # – достоверные различия от группы Контроль физраствор. \* – достоверные различия от группы Киндлинг физраствор

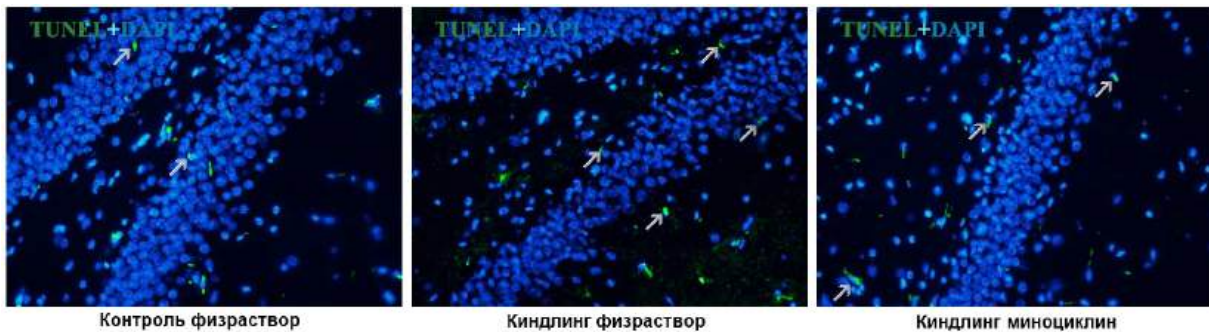


Рисунок 2 – Микрофото (TUNEL, клеточные ядра окрашены синим (DAPI)). Гранулярный слой зубчатой извилины гиппокампа крыс при киндлинге и введении минолексина. Подвергшиеся апоптозу клетки обозначены стрелками. Увеличение x200.

Повторяющиеся эпилептические припадки вызывают гибель клеток головного мозга, последствия которого необратимы из-за ограниченной способности нейронов к пролиферации.

При введении минолексина во всех исследуемых областях головного мозга крыс отмечено статистически значимое снижение числа TUNEL-позитивных клеток по сравнению с животными, не получавшими минолексина: височная кора ( $p = <0,0001$ ,  $F = 15,39$ ),

подлежащее белое вещество ( $p = 0,0002$ ,  $F = 12,86$ ), поле СА4 гиппокампа ( $p = 0,0306$ ,  $F = 4,171$ ), гранулярный слой зубчатой извилины гиппокампа ( $p < 0,0001$ ,  $F = 24,1$ ), хилус ( $p = 0,0001$ ,  $F = 14,86$ ).

Следовательно, введение минолексина снижает апоптотическую гибель клеток, оказывая благоприятный эффект при эпилепсии.

Другими авторами показано, что в нервной системе минолексин противодействует апоптозу на крысиных моделях повреждения головного мозга [He J. et al., 2021] и внутримозгового кровоизлияния, где после его инъекций количество TUNEL-позитивных клеток значительно уменьшилось на 1, 3 и 7 дни, при этом экспрессия Bcl-1, LC3BII/I и каспазы-3, -8 также снижались [Wu Z. et al., 2016]. Миноциклин предотвращает апоптоз нейронов, вызванный радиацией у крыс в гиппокампе [Zhang L. et al., 2017].

Таким образом, показаны антиапоптотические свойства минолексина при экспериментальной эпилепсии на модели крыс линии Крушинского-Молодкиной. Препарат значительно снизил уровни апоптоза во всех исследуемых отделах головного мозга крыс.

### Изменения экспрессии p53

В височной коре животных, подвергшихся киндлингу и получавших физраствор, наблюдается статистически значимый рост ( $p = 0,0003$ ,  $F = 11,65$ ) экспрессии p53 по сравнению с контролем, соотносящийся с повышением уровня апоптоза в данной области. При введении минолексина уровни p53 возвращаются к контрольным значениям, достоверно отличаясь от уровня p53 в группе Киндлинг физраствор так же, как и уровень апоптоза, что свидетельствует о терапевтическом эффекте исследуемого вещества. Это подтверждается апостериорными сравнениями: Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,0013$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,9995$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,0007$ .



Рисунок 3 – p53-иммунореактивный материал, обозначенный стрелками, в височной коре крыс при киндлинге и введении минолексина. Увеличение  $\times 200$ .

Аналогичные изменения синтеза проапоптотического белка p53 наблюдаются в подлежащем белом веществе, так же, как и уровни апоптоза клеток. Так, после киндлинга также можно отметить значимое ( $p = 0,0001$ ,  $F = 13,38$ ) усиление экспрессии p53, и снижение синтеза данного белка в получавшей миноциклин группе крыс до уровня контрольной группы, что видно по результатам апостериорных сравнений: Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,0002$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,6533$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,0010$ .

В поле СА4 гиппокампа статистически значимых различий содержания p53 у всех групп выявлено не было ( $p = 0,5865$   $F = 0,5462$ ).

В гранулярном слое зубчатой извилины экспрессия p53 в экспериментальных группах статистически достоверно отличается от контроля в сторону повышения ( $p = 0,0271$ ,  $F = 4,307$ ), при этом положительного эффекта от введения минолексина не прослеживается: Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,0307$ . Однако уровень апоптоза в поле СА4 и в гранулярном слое зубчатой извилины, как и в других изученных областях мозга, значительно повышается при киндлинге и снижается в группе крыс, подвергшихся киндлингу и получавших минолексин.

В хилусе гиппокампа у животных из группы Киндлинг физраствор наблюдается усиление экспрессии p53, свидетельствующее об активации данного апоптотического пути. При введении минолексина наблюдается снижение синтеза данного проапоптотического белка. У животных, получавших минолексин, уровни p53 и апоптоза соответственно, достоверно ниже, по сравнению с группой крыс Киндлинг физраствор ( $p = 0,0009$ ,  $F = 9,881$ ): Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,0006$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,1951$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,0305$ .

Противовоспалительное и антиапоптотическое действие миноциклина (минолексина) на головной мозг показано в ряде экспериментов других авторов, в их числе с черепно-мозговой травмой и субарахноидальным кровоизлиянием у самцов крыс линии Sprague-Dawley. Введение миноциклина внутривентрикулярно через 1 час после травмы ослабляло отёк головного мозга и защищало его от воспаления, индуцированного NLRP3-инфламмасомой, которая контролирует созревание и высвобождение провоспалительных цитокинов, особенно интерлейкина-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), и p53-ассоциированного апоптоза. Нужно отметить, что лечение миноциклином в данном случае подавляло экспрессию белка p53 [Li J. et al., 2016].

Лечение миноциклином уменьшило нейровоспаление у мышей и снизило уровень ацетил-p53 в тканях их мозга через активацию белка сиртуина 1 (SIRT1) из семейства гистондеацетилаз класса III (HDAC), который является одним из регуляторов энергетического и метаболического гомеостаза, в том числе модуляции p53 и подавлении активации микроглии. Дефицит SIRT1 наблюдается при ряде неврологических заболеваний, особенно нейродегенеративных и возрастных [Wu L-H. et al., 2020]. Миноциклин также снизил экспрессию p53 при моделировании болезни Паркинсона на линии клеток PC12 обработкой нейротоксином 6-гидроксидофамином, который поражает дофаминергические нейроны. Здесь он проявил себя как мощный антиоксидант [Jiang B-P. et al., 2014]. Миноциклин также частично устранил неврологические расстройства у рыбок данио-рерио, вызванные билирубином при моделировании неонатальной желтухи, в том числе за счёт снижения активности p53 [Xiong G. et al., 2024].

Таким образом, фактор транскрипции p53 и опосредованный им путь апоптоза имеют важное значение у крыс линии Крушинского-Молодкиной после аудиогенных судорог во всех исследуемых отделах головного мозга, кроме поля CA4 гиппокампа. Миноциклин эффективно подавляет апоптоз, идущий по этому механизму.

#### Изменения экспрессии Bcl-2

В коре височной доли не наблюдается статистически достоверных различий в экспрессии Bcl-2 при киндлинге по сравнению с контрольной группой и при лечении минолексинем по сравнению с группой Киндлинг физраствор ( $p = 0,0698$ ,  $KW = 5,324$ ). В белом веществе статистически достоверных изменений между всеми тремя группами тоже не обнаружено ( $p = 0,1799$ ,  $F = 1,856$ ).

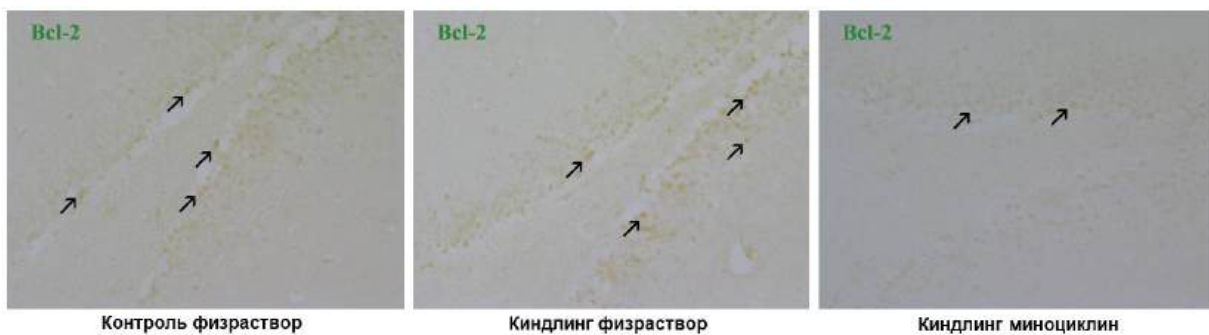


Рисунок 4 – Bcl-2-иммунореактивный материал, обозначенный стрелками, в гранулярном слое зубчатой извилины гиппокампа крыс при киндлинге и введении минолексина. Увеличение  $\times 200$ .

В исследованных областях гиппокампа наблюдается значимое снижение экспрессии Bcl-2 в группе Киндлинг минолексин по сравнению с контрольной группой. Для поля СА4 ( $p = 0,0399$ ,  $KW = 6,444$ ), тест Данна (Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,4105$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,0354$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p > 0,9999$ ). Для гранулярного слоя зубчатой извилины ( $p = 0,0364$ ,  $F = 3,895$ ) (Тест Тьюки: Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,3237$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,0283$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,4702$ ). И для хилуса соответственно: ( $p = 0,0392$ ,  $F = 3,743$ ).

В нашем эксперименте Bcl-2 не играет существенной роли в снижении уровня апоптоза при введении минолексина в подлежащем белом веществе височной доли и в гиппокампе. Однако, в коре височной доли снижение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 может являться одной из причин активации клеточной гибели при длительном киндлинге, а повышение синтеза Bcl-2 при введении минолексина на фоне киндлинга может предохранять клетки от апоптоза.

Влияние препаратов тетрациклинового ряда на экспрессию Bcl-2 изучено достаточно слабо не только в головном мозге, но и других органах. Но в большинстве немногочисленных случаев миноциклин повышал уровни этого белка. При моделировании нейровоспаления у мышей с использованием липополисахарида миноциклин защитил нейроны гиппокампа и когнитивные способности животных, снизив экспрессию BAX и одновременно повысив Bcl-2. Здесь точкой его приложения выступил NOD-подобный рецепторный белок-3 (NLRP3), играющий важную роль при заболеваниях ЦНС [Zhan F. et al., 2024]. Эксперимент с крысами линии Вистар с переключением яичников, возникающей из-за этого ишемией и апоптозом показал, что у получавших лечение миноциклином животных повышался уровень экспрессии Bcl-2 [Roshanaee M.K. et al., 2022]. В другом эксперименте с крысами Вистар с моделированием глаукомы и перерезки оптического нерва миноциклин также повышал экспрессию антиапоптотического гена bcl-2 и снижал экспрессию проапоптотического bax через 4 часа после трансекции, проявив себя как нейропротектор [Levkovitch-Verbin H. et al., 2014].

В отличие от p53, антиапоптотический белок Bcl-2 значимой роли при аудиогенных судорогах у данных крыс не играет. Его уровни не меняются при киндлинге и несколько снижаются под действием минолексина в гиппокампе.

#### **Изменения экспрессии каспазы-3 и -8**

В височной коре ( $p = 0,4723$ ,  $F = 0,7776$ ), а также гиппокампе ( $p = 0,4858$ ,  $F = 0,7474$ ) изменений экспрессии каспазы-8 не выявлено.

В подлежащем белом веществе её экспрессия при введении минолексина достоверно снижалась, и здесь обнаружены различия как с контрольной группой, так и с животными, подвергавшимися многократному киндлингу и получавшими только физраствор ( $p = 0,0031$ ,  $KW = 11,56$ ): Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p > 0,9999$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,0216$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,0050$ .

Сходная картина была показана для каспазы-3. В височной коре головного мозга крыс статистически значимых изменений уровня экспрессии каспазы-3 не зафиксировано, хотя есть тенденция к его повышению при киндлинге и некоторому снижению при введении минолексина ( $p = 0,3266$ ,  $F = 0,7296$ ).

В подлежащем белом веществе зафиксировано статистически значимое снижение экспрессии каспазы-3 при киндлинге независимо от того, получали ли крысы минолексин, по сравнению с контрольной группой ( $p = 0,0123$ ,  $F = 5,457$ ): Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,0231$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,0257$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,9987$ .

В гиппокампе значимых изменений уровня экспрессии каспазы-3 не выявлено ( $p = 0,479$ ,  $F = 0,7624$ ) вне зависимости от наличия или отсутствия многократных эпилептических припадков и введения минолексина.

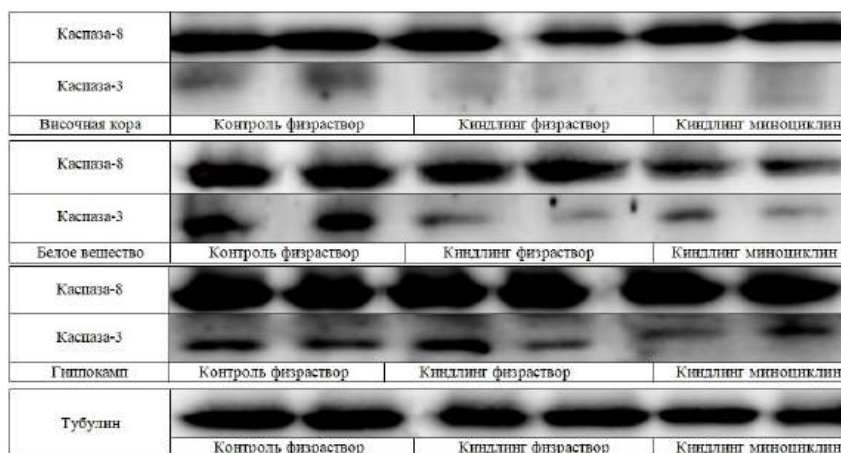


Рисунок 5 – Репрезентативные вестерн-блоты анализа содержания каспазы-8 и каспазы-3 в височной коре, подлежащем белом веществе крыс, и гиппокампе крыс. # – достоверные различия от группы Контроль физраствор. \* – достоверные различия от группы Киндлинг физраствор.

Выявлено тканеспецифичное воздействие минолексина на экспрессию каспазы-8 и каспазы-3. В подлежащем белом веществе минолексин оказывает супрессирующее действие на экспрессию каспаз, а в височной коре и гиппокампе исследуемый препарат на их экспрессию не влияет. Исходя из этого, можно предположить, что в исследуемых отделах мозга апоптоз опосредуется различными механизмами, в том числе каспазозависимыми, либо экспрессия данных каспаз у крыс линии Крушинского-Молодкиной изначально повышена.

Таким образом, наши данные в целом совпадают с работами других авторов, согласно которым минолексин может снижать экспрессию каспазы-3, что было показано в ряде экспериментов, в том числе и в нашем, но только в подлежащем белом веществе височной доли, где имеет место каспазозависимый путь апоптоза. В случае височной коры и гиппокампа, где не обнаружено повышения экспрессии каспаз, минолексин не приводит, соответственно, к их снижению ниже базового уровня.

В другом эксперименте с повреждением сетчатки глаз крыс светом наблюдался каспазозависимый путь апоптоза, и активность каспазы-3 в повреждённой ткани увеличивалась, а при профилактическом введении миноциклина (30 и 45 мг/кг) и после лечения (45 мг/кг) исследуемые показатели были ниже, чем у непролеченных животных, меньше были и повреждения фоторецепторов [Chang C-J. et al., 2005]. В случае с генетической моделью болезни Гентингтона у мышей после ишемии миноциклин ингибировал каспазу-1 и каспазу-3, задерживая прогрессирование симптомов [Chen M. et al., 2000]. С помощью миноциклина удалось заблокировать активацию каспазы-3, защитив волосковые клетки внутреннего уха крыс линии Sprague–Dawley от токсического воздействия антибиотика гентамицина [Wei X. et al., 2005].

Хотя миноциклин может снижать экспрессию каспаз, и в нашем эксперименте продемонстрировал это свойство в случае с каспазой-8 в белом веществе, другие полученные результаты позволяют предположить, что в головном мозге крыс линии Крушинского-Молодкиной задействованы в основном каспазозависимые механизмы апоптоза.

#### Изменения экспрессии GFAP

В таблице 1 представлены результаты измерения уровня экспрессии GFAP. В височной коре животных, подвергшихся киндлингу и получавших физраствор, наблюдается статистически значимый ( $p = 0,0002$ ,  $F = 13,05$ ) рост экспрессии GFAP (увеличение количества астроцитов) по сравнению с контролем, соотносящийся с повышением уровня апоптоза в данной области. Таким образом, у крыс линии Крушинского-Молодкиной при длительном аудиогенном киндлинге развивается типичный для эпилепсии астроглиоз. При введении минолексина также наблюдается развитие глиоза, статистически значимых

изменений по сравнению с группой Киндлинг физраствор не выявлено. Апостериорные сравнения подтверждают это: Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,0006$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,0022$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,6793$ .

Таблица 1 – Средняя оптическая плотность GFAP-иммунореактивного материала в исследуемых отделах головного мозга крыс в формате Median (25% Percentile - 75% Percentile).

Области мозга	Контроль физраствор	Киндлинг физраствор	Киндлинг минолексин
Височная кора	0,20 (0,18-0,21)	0,25 (0,23-0,27)#	0,23 (0,22-0,26)#
Белое вещество	0,25 (0,23-0,27)	0,27 (0,26-0,30)#	0,28 (0,27-0,30)#
Гранулярный слой зубчатой извилины гиппокампа	0,20 (0,16-0,21)	0,22 (0,21-0,24)	0,23 (0,22-0,24)
Поле СА4 гиппокампа	0,28 (0,26-0,29)	0,27 (0,25-0,29)#	0,28 (0,26-0,29)#
Хилус гиппокампа	0,27 (0,24-0,28)	0,25 (0,23-0,30)	0,26 (0,26-0,29)
Примечание: # – достоверные различия от группы Контроль физраствор; * – достоверные различия от группы Киндлинг физраствор.			

Аналогичные изменения наблюдаются и в подлежащем белом веществе. Экспрессия GFAP усиливается в группах животных, получавших физраствор либо минолексин, и подвергшихся киндлингу, и статистически значимо отличается от контрольной группы, получавшей физраствор ( $p = 0,0058$ ,  $F = 6,563$ ). Таким образом, введение минолексина эффекта на активацию астроцитов не оказало: Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,0005$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,0011$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,6471$ .

В поле СА4 гиппокампа статистически значимых различий в экспрессии GFAP у всех трёх групп крыс выявлено не было ( $p = 0,9113$ ,  $F = 0,09334$ ): Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,9845$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,9621$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,9079$ .

В гранулярном слое зубчатой извилины экспрессия GFAP достоверно возростала после киндлинга ( $p = 0,0034$ ,  $F = 7,565$ ), но введение минолексина при киндлинге не оказывало эффекта на уровень глиоза: Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,0307$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,0033$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,8436$ .

В хилусе гиппокампа уровни экспрессии GFAP остались неизменными, какие бы манипуляции с животными ни проводились, будь то киндлинг с введением физраствора или препарата. Различий в уровне глиоза в этой области мозга не выявлено ( $p = 0,9113$ ,  $F = 0,09334$ ): Контроль физраствор и Киндлинг физраствор  $p = 0,9845$ , Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,9621$ , Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик  $p = 0,9079$ .

Подобные результаты могут быть объяснены изначально высокой активацией астроцитов и уровнем реактивного астроглиоза, связанными с генетическими особенностями данной линии крыс.

В ходе наших экспериментов было выявлено повышение экспрессии GFAP в височной коре, подлежащем белом веществе и гранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа, что согласуется с данными о повышении уровня апоптоза в этих областях, так как активированные астроциты производят провоспалительные и проапоптотические молекулы. В поле СА4 хилусе и гиппокампа на уровень экспрессии GFAP не влияли никакие манипуляции с животными. Во всех рассмотренных областях головного мозга крыс линии Крушинского-Молодкиной введение минолексина не оказывало действия на экспрессию GFAP, а, следовательно, активацию астроцитов и формирование глиоза. Сопоставление

наших результатов с данными литературы осложнено тем, что исследований о влиянии минолексина на экспрессию GFAP и астроцитарный глиоз имеется не так много, так как основной его мишенью здесь является микроглия. Но, согласно им, миноциклин может снижать экспрессию GFAP [Hou Y. et al., 2016, Qaid E.Y.A. et al., 2024].

Минолексин может снижать уровень глиоза и экспрессию GFAP, но в нашем эксперименте его экспрессия и, соответственно, уровни глиоза в исследуемых областях не повышались при киндлинге. Миноциклин не снизил экспрессию GFAP. Возможно, расхождение результатов с имеющимися литературными данными обусловлено особенностями модели.

### Изменения экспрессии FAS

В таблице 2 представлены значения оптической плотности FAS-иммунореактивного материала. В височной коре головного мозга крыс обнаружены статистически значимые различия между группами ( $p = 0,0308$ ;  $F = 5,249$ ). При киндлинге экспрессия FAS значимо повышается по сравнению с контрольной группой ( $p = 0,0386$ ), что говорит о повышении экспрессии FAS при экспериментальной эпилепсии. При введении минолексина наблюдается тенденция к снижению экспрессии FAS, но она не носит статистически значимый характер ( $p = 0,941$ ) при уровне значимости  $p = 0,05$  (рисунок 18А и Г).

Таблица 2 – Средняя оптическая плотность FAS-иммунореактивного материала в исследуемых отделах головного мозга крыс в формате Median (25% Percentile - 75% Percentile).

Области мозга	Контроль физраствор	Киндлинг физраствор	Киндлинг минолексин
Височная кора	0,84 (0,53-1,3)	2,1 (1,3-2,8) #	0,96 (0,77-1,4)
Белое вещество	0,45 (0,27-0,53)	0,51 (0,28-0,82)	0,77 (0,42-1,2)
Гиппокамп	0,54 (0,42-0,68)	0,78 (0,59-1,1)	1,4 (1,1-1,5) *#
Примечание: # – достоверные различия от группы Контроль физраствор; * – достоверные различия от группы Киндлинг физраствор.			

В подлежащем белом веществе головного мозга статистически значимых различий между тремя группами не выявлено ( $p = 0,2311$ ;  $F = 1,731$ ).

В гиппокампе статистически значимые различия между группами выявлены ( $p = 0,0026$ ;  $F = 12,36$ ). При введении минолексина экспрессия FAS значимо повышается как по сравнению с группой Контроль физраствор ( $p = 0,0021$ ) и Киндлинг физраствор. Таким образом, разные отделы головного мозга крыс линии Крушинского-Молодкиной демонстрируют разную реакцию как на киндлинг, так и на введение минолексина. Реакция на его введение наблюдается в наиболее чувствительных к эпилепсии зонах височной коры и гиппокампа, но не белого вещества.

Наши данные, хотя и не полностью согласуются с имеющимися, но непротиворечивы в рамках исследуемой модели, о чём говорит ограниченная роль каспаз в апоптозе у данных крыс.

Экспрессия Fas наблюдается в гиппокампе и в норме. На примере его активируемой оптогенетически формы (optoFAS) показано, что здесь Fas в незрелых нейронах зубчатой извилины запускает активацию мишени рапамицина млекопитающих (mTOR) и последующую секрецию нейротрофического фактора мозга. Повторная активация этого пути приводит к пролиферации нейральных стволовых клеток и временному увеличению пространственной рабочей памяти у мышей. Таким образом, в норме Fas выступает как регулятор нейрогенеза и памяти у взрослых млекопитающих. Также признана ключевая роль Fas в выживании нейральных стволовых клеток и их дифференцировке. В нашем эксперименте вероятность активации Fas в гиппокампе при эпилепсии не находит подтверждения, и, возможно, это связано с генетическими особенностями данных крыс и изначальной активацией пути FAS–FADD, отражающей особенности aberrантного

нейрогенеза. К тому же ингибирование FAS не всегда может быть полезно. В других экспериментах с мышами с дефицитом Fas или нокаутом его гена наблюдалось как улучшение, так и ухудшение когнитивных функций. Несмотря на хорошо известную повышенную экспрессию Fas при расстройствах мозга, пока нет цельного понимания, как, почему и в каких случаях работает сигналинг Fas и как он влияет на фенотип. Однако при большинстве заболеваний мозга отмечена сверхэкспрессия, а не дефицит Fas [Kim S. et al., 2020], возможно, это справедливо для крыс линии Крушинского-Молодкиной. В доступной нам литературе не обнаружено исследований по влиянию минолексина на FAS-опосредованный внешнерецепторный путь при эпилепсии.

В экспериментах с травмой спинного мозга самцы крыс Sprague Dawley получали инъекции минолексина. У них наблюдалось заметное снижение уровня экспрессии FASL, но не FASR, по сравнению с контрольной группой, получавшей только травму и растворитель [Zhang G. et al., 2019]. При изучении влияние миноциклина на фульминантный гепатит у мышей линии C57BL/6J, вызванный внутрибрюшинной инъекцией активирующего антитела анти-Fas Jo2, предварительная обработка и лечение животных миноциклином улучшили выживаемость за счёт предотвращения высвобождения цитохрома C и блокирования активации каспазы ниже по пути апоптоза, без воздействия на сам FAS [Chu H-C. et al., 2005], что сходно с нашими результатами, где миноциклин оказывал антиапоптотический эффект во всех исследованных областях мозга, без заметного влияния на FAS.

Анализ экспрессии FAS показал, что у крыс линии Крушинского-Молодкиной имел место различный ответ на киндлинг и введение минолексина в зависимости от области головного мозга. Такое задействование различных механизмов апоптоза может отчасти объяснить лекарственную устойчивость при эпилепсии. При введении минолексина наблюдалось снижение уровня FAS.

#### **Изменения экспрессии FADD**

Значения оптической плотности FADD-иммунореактивного материала представлены в таблице 3. В височной коре наибольшая экспрессия FADD наблюдается в группе Контроль физраствор и статистически значимо ( $p = 0,0239$ ;  $F = 5,813$ ) снижается в обеих группах животных, подвергавшихся киндлингу  $p = 0,0319$  и  $p = 0,0488$  соответственно. Выраженного эффекта действия минолексина не выявлено.

В подлежащем белом веществе статистически значимых различий между тремя группами не выявлено при уровне значимости  $p = 0,05$  ( $p = 0,1411$ ;  $F = 2,454$ ), но наблюдается тенденция к снижению экспрессии FADD под действием минолексина.

Таблица 3 – Средняя оптическая плотность FADD-иммунореактивного материала в исследуемых отделах головного мозга крыс в формате Median (25% Percentile - 75% Percentile).

Области мозга	Контроль физраствор	Киндлинг физраствор	Киндлинг минолексин
Височная кора	1,4 (0,89-1,8)	0,63 (0,46-0,81)#	0,75 (0,42-0,92)#
Белое вещество	0,94 (0,61-1,5)	0,99 (0,69-2,1)	0,49 (0,25-0,58)
Гиппокамп	0,65 (0,44-0,86)	1,0 (0,96-1,5)	0,64 (0,47-1,1)
Примечания: # – достоверные различия от группы Контроль физраствор; * – достоверные различия от группы Киндлинг физраствор.			

Также различий не выявлено в гиппокампе ( $p = 0,0741$ ; Kruskal-Wallis statistic = 5,115) при сохранении тех же тенденций.

Информации о влиянии миноциклина на экспрессию FADD имеется крайне мало, и она не касается центральной нервной системы и эпилепсии. Нам удалось найти лишь одно исследование, проводившееся *ex vivo*. Введение миноциклина привело к супрессии апоптоза в клеточной линии NT22, заражённой вирусом Чандипура из семейства Rhabdoviridae, который вызывает гибель нейронов путём индукции окислительного стресса. При введении

миноциклина уровни цитоплазматического Ca<sup>2+</sup>, ROS, фосфорилирования p38, которые обычно приводят к апоптозу через путь FasL-FADD, снижаются. Уменьшение экспрессии FADD и расщепленной каспазы-8 в тканях мозга заражённых мышей после лечения миноциклином указывает на способность препарата ингибировать внешнерецепторный путь апоптоза [Verma A.K. et al. 2018].

Но это может быть неприменимо к головному мозгу крыс линии Крушинского-Молодкиной в частности и эпилепсии, в общем, из-за разных патологических механизмов и объектов исследования.

В нашем эксперименте влияние миноциклина на экспрессию FADD обнаружено не было.

#### **Изменения экспрессии TNF- $\alpha$**

В таблице 4 представлена средняя оптическая плотность TNF- $\alpha$ -иммунореактивного материала в исследуемых отделах головного мозга крыс в формате Median (25% Percentile - 75% Percentile).

Таблица 4 – Средняя оптическая плотность TNF- $\alpha$ -иммунореактивного материала в исследуемых отделах головного мозга крыс.

Области мозга	Контроль физраствор	Киндлинг физраствор	Киндлинг минолексин
Височная кора	0,32 (0,19-0,53)	0,80 (0,66-0,86)#	0,44 (0,22-0,56)*
Белое вещество	0,30 (0,23-0,73)	1,0 (0,76-1,3)#	0,50 (0,37-0,60)*
Гиппокамп	0,33 (0,17-0,83)	0,29 (0,17-0,65)#	0,23 (0,19-0,43)*
Примечание: # – достоверные различия от группы Контроль физраствор; * – достоверные различия от группы Киндлинг физраствор.			

Во всех трёх исследуемых отделах отмечались статистически достоверные различия между группами. Уровни TNF- $\alpha$  возрастали при киндлинге и снижались практически до исходных под действием минолексина, что согласуется с литературными данными. Для височной коры получены следующие данные: ( $p = 0,0105$ ;  $F = 7,897$ ), различия между группами Контроль физраствор и Киндлинг физраствор достоверны при  $p = 0,0132$ , а Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик при  $p = 0,0273$ . Значимых различий между группами Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик не выявлено при  $p = 0,8856$ . Для подлежащего белого вещества (закономерности сходны: ( $p = 0,0129$ ;  $F = 7,334$ ), различия между группами Контроль физраствор и Киндлинг физраствор достоверны при  $p = 0,0165$ , а Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик при  $p = 0,0316$ . Значимых различий между группами Контроль физраствор vs. Киндлинг антибиотик не выявлено при  $p = 0,908$ . В гиппокампе статистически значимые различия также обнаружены: ( $p = 0,0058$ ;  $F = 9,623$ ), различия между группами Контроль физраствор и Киндлинг физраствор достоверны при  $p = 0,009$ , а Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик при  $p = 0,0126$ . Значимых различий между группами Контроль физраствор vs. Киндлинг антибиотик не выявлено при  $p = 0,9732$ .

Нами полностью подтверждены данные о том, что миноциклин может снижать выработку TNF- $\alpha$  в мозге, пересекая гематоэнцефалический барьер. В эксперименте по лечению миноциклином липополисахарид-индуцированного нейровоспаления у взрослых крыс линии Sprague Dawley, вестерн-блоттинг и иммуногистохимия показали способность миноциклина значительно и дозозависимо (50 мг/кг действовали эффективнее, чем 25 мг/кг) снижать экспрессию как NF- $\kappa$ B, так и TNF- $\alpha$ , а также TLR-4 и COX-2, что говорит о его эффективности и множестве мишеней [Qaid E.Y.A. et al., 2025].

В другом эксперименте с длительной остановкой сердца у крыс, которая вызывает гибель нейронов, а также пролиферацию и активацию микроглии, которые лишь частично смягчаются гипотермией, миноциклин снизил концентрации TNF- $\alpha$  в мозге примерно на 50%, но не вернул к нормальным значениям. У контрольных животных изменения уровня

TNF- $\alpha$  ни в одной области мозга (мозжечок, кора, гиппокамп и полосатое тело) не было обнаружено. TNF- $\alpha$  локализовался в нейронах, а не в микроглии. Таким образом, воздействие на путь TNF- $\alpha$  может быть одним из механизмов его нейропротективного действия [Drabek T. et al., 2014].

Потенциал миноциклина и его взаимодействие с микроглией и астроцитами изучался при болезни Альцгеймера. Миноциклин вводили мышам J20 APP-tg в течение трех месяцев, либо в молодом возрасте, либо после отложения A $\beta$  через 5–7 месяцев. При введении более молодым мышам наблюдалось незначительное увеличение отложения A $\beta$  в гиппокампе, однако когнитивные способности улучшились. Введение миноциклина уже после отложения A $\beta$  подавляло активацию микроглии, не влияя на уровни A $\beta$  или когнитивные функции.

В другом исследовании на мышах линии APP/PS1 в возрасте 11 недель, лечение миноциклином повышало выживаемость клеток в гранулярной зоне зубчатой извилины или даже стимулировало нейрогенез в гиппокампе, но на уровень бета-амилоида он влияния не оказал [Plantone D. Et al., 2023].

Таким образом, уровни экспрессии TNF- $\alpha$  возрастают в эпилептическом мозге, а миноциклин, обладая противовоспалительными свойствами, приводит к их снижению.

#### **Изменения экспрессии TRADD**

В таблице 5 представлена средняя оптическая плотность TRADD-иммунореактивного материала в исследуемых отделах головного мозга крыс в формате Median (25% Percentile - 75% Percentile).

Таблица 5 – Средняя оптическая плотность TRADD-иммунореактивного материала в исследуемых отделах головного мозга крыс.

Области мозга	Контроль физраствор	Киндлинг физраствор	Киндлинг минолексин
Височная кора	0,61 (0,23-0,70)	0,46 (0,41-0,77)	0,45 (0,21-0,78)
Белое вещество	0,50 (0,37-0,71)	0,65 (0,48-0,91)	0,50 (0,30-0,72)
Гиппокамп	0,60 (0,48-0,90)	0,48 (0,28-0,73)	0,54 (0,37-0,80)
Примечания: # – достоверные различия от группы Контроль физраствор; * – достоверные различия от группы Киндлинг физраствор.			

Во всех трёх исследуемых отделах головного мозга крыс на уровни TRADD не оказали статистически обнаруживаемого эффекта как киндлинг, так и введение минолексина, что также согласуется с немногочисленными литературными данными.

Статистически значимые различия между группами не выявлены для височной коры ( $p = 0,7398$ ;  $F = 0,3117$ ), подлежащего белого вещества ( $p = 0,4583$ ;  $F = 0,852$ ) и гиппокампа ( $p = 0,6418$ ;  $F = 0,4661$ ).

Несмотря на такие результаты, ингибирование TRADD потенциально может оказаться полезным для лечения заболеваний нервной системы, в том числе, нейродегенеративных. Но этот потенциал ещё предстоит раскрыть. Пока же такие исследования немногочисленны. Например, его ингибирование ICCB-19 или Apt-1 блокирует апоптоз и восстанавливает клеточный гомеостаз, активируя аутофагию в клетках с накопленным мутантным тау-белком,  $\alpha$ -синуклеином или хантингтином. Лечение Apt-1 восстановило протеостаз и предотвратило гибель клеток в мышинной модели протеинопатии, вызванной мутантным тау-белком [Xu D. et al., 2020].

Роль белков-посредников, таких как TRADD и FADD, в эпилептогенезе изучена недостаточно. Результаты нашего исследования показали, что ни киндлинг, ни введение минолексина значительного влияния на экспрессию TRADD не оказали.

#### **Изменения экспрессии NF- $\kappa$ B**

В таблице 6 представлена средняя оптическая плотность NF- $\kappa$ B-иммунореактивного материала в исследуемых отделах головного мозга крыс в формате Median (25% Percentile -

75% Percentile).

Таблица 6 – Средняя оптическая плотность NF-κB-иммунореактивного материала в исследуемых отделах головного мозга крыс.

Области мозга	Контроль физраствор	Киндлинг физраствор	Киндлинг минолексин
Височная кора	0,58 (0,30-0,82)	1,0 (0,78-1,3)#	0,54 (0,38-0,61)*
Белое вещество	0,24 (0,18-0,50)	1,0 (0,64-1,2)#	0,47 (0,37-0,50)*
Гиппокамп	0,60 (0,50-0,73)	0,94 (0,67-1,2)#	0,40 (0,29-0,50)*
Примечания: # – достоверные различия от группы Контроль физраствор; * – достоверные различия от группы Киндлинг физраствор.			

Обнаруженные в результате эксперимента закономерности совпадают с таковыми для TNF-α, что согласуется с данными литературы о том, что минолексин может вмешиваться в оба пути, а эпилептический припадок приводит к повышению уровня общего NF-κB.

В височной коре наблюдались статистически значимые различия между группами. Для височной коры ( $p = 0,0196$ ;  $F = 6,282$ ): различия между группами Контроль физраствор vs. Киндлинг физраствор достоверны при  $p = 0,0439$ , Киндлинг физраствор vs. Киндлинг антибиотик при  $p = 0,0252$ , а Контроль физраствор и Киндлинг антибиотик не различались  $p = 0,9324$ .

Для подлежащего белого вещества (рисунки 22Б и Д) ( $p = 0,0055$ ;  $F = 9,819$ ) различия между группами Контроль физраствор и Киндлинг физраствор достоверны при  $p = 0,0057$ , а Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик при  $p = 0,0232$ . Значимых различий между группами Контроль физраствор vs. Киндлинг антибиотик не выявлено при  $p = 0,6339$ .

Для гиппокампа ( $p = 0,009$ ;  $F = 8,32$ ) различия между группами Контроль физраствор и Киндлинг физраствор достоверны при  $p = 0,0073$ , а Киндлинг физраствор и Киндлинг антибиотик при  $p = 0,0232$ . Значимых различий между группами Контроль физраствор vs. Киндлинг антибиотик не выявлено при  $p = 0,2918$ .

Можно предположить, что снижение экспрессии NF-κB при эпилепсии оказывает позитивный эффект, это подтверждается рядом экспериментов на животных. Так, в гиппокампе крыс с эпилепсией, вызванной хлоридом лития-пилокарпином, помимо обычной активации NF-κB, было отмечено снижение экспрессии miR-494. Повышение уровня miR-494 подавляло экспрессию RIPK1, уменьшая повреждение нейронов, усиливая пролиферацию и подавляя апоптоз посредством инактивации сигнального пути NF-κB [Qi Y. et al., 2020]. В модели эпилепсии у крыс, вызванной пилокарпином, было выявлено снижение экспрессии miR-322-5p, что сопровождалось повышением уровня провоспалительных цитокинов, экспрессии NF-κB и снижением уровня γ-аминомасляной кислоты (GABA). Ингибирование оси TLR4/TRAF6/NF-κB с помощью miR-322-5p уменьшило воспаление и апоптоз нейронов гиппокампа у трёхнедельных самцов крыс линии Sprague-Dawley с эпилептическим статусом, вызванным пилокарпином [Zhou Q. Et al., 2022].

Результаты нашего эксперимента показали, что в эпилептическом мозге экспрессия NF-κB повышается из-за повторяющихся приступов, и снижается при введении миноциклина. Таким образом, изучение развития иммунного ответа после введения лекарственной формы рекомбинантного гуманизированного антитела hC34 показало, что препарат в дозах, многократно превышающих предполагаемую терапевтическую дозу для человека, не оказывает негативного воздействия на развитие гуморального и клеточного иммунного ответа, а также не подавляет фагоцитарную функцию фагоцитов, что говорит об отсутствии у него иммунотоксического действия в использованных экспериментальных моделях.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Итоги работы.** В рамках диссертационной работы проведено экспериментальное моделирование эпилепсии у крыс линии Крушинского-Молодкиной с изучением механизмов патогенеза нейровоспаления и возможностей коррекции усиливающегося апоптоза с помощью минолексина. На основании полученных результатов можно заключить, что при аудиогенном киндлинге в головном мозге крыс линии Крушинского-Молодкиной происходят изменения, сходные с таковыми у пациентов с лекарственно-устойчивой эпилепсией. Снижение или повышение экспрессии тех же генов, а также сходные мутации наблюдаются как у линий грызунов, склонных к аудиогенным судорогам, так и у пациентов с эпилепсией любой этиологии. Данная модель подходит для изучения эпилепсии, лежащих в её основе механизмов и поиска новых лекарств.

В доступной научной литературе нам не удалось найти данные о применении препарата тетрациклинового ряда миноциклина (в нашем эксперименте использован препарат, выпускаемый под торговой маркой «Минолексин») для терапии эпилепсии у крыс линии Крушинского-Молодкиной, что обуславливает научную новизну данной работы. Однако имеются данные об его применении на других моделях эпилептогенеза у грызунов и при других нейродегенеративных заболеваниях ЦНС, как острых, так и хронических.

Нами было показано, что миноциклин не обладает противосудорожной активностью и не способен предотвратить приступ, так как на протяжении эксперимента все животные проявляли обычную для них реакцию на звуковой раздражитель. Однако было отмечено сокращение времени латентного периода, по сравнению с не получавшими препарат животными с 1 по 14 день.

Во всех исследуемых областях мозга киндлинг вызвал рост числа TUNEL-позитивных клеток, а применение миноциклина снизило. Таким образом, миноциклин в большинстве случаев, в том числе и в нашей модели экспериментальной эпилепсии, проявляет антиапоптотический и противовоспалительный эффект, которые в ЦНС являются частью другого эффекта – нейропротективного.

Выявлено увеличение экспрессии фактора транскрипции p53 – основного маркера клеточного стресса и апоптоза во всех отделах, кроме поля СА4 гиппокампа. Введение миноциклина снижало уровни p53, что приводило к снижению уровня апоптоза (уменьшение числа TUNEL-позитивных клеток). В гранулярном слое зубчатой извилины гиппокампа экспрессия p53 при киндлинге также возрастала, но не снижалась под действием миноциклина, а в поле СА4 она не изменялась, но миноциклин снижал апоптоз во всех исследуемых областях мозга. Следовательно, он воздействует не только на p53-зависимый путь.

Дальнейшие анализы выявили также дифференцированную реакцию отделов мозга на киндлинг и введение миноциклина.

В нашем исследовании в височной коре и подлежащем белом веществе различий в экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 во всех трёх группах животных не обнаружено. Киндлинг также не повышал экспрессию этого белка в гиппокампе, но миноциклин её снижал. На первый взгляд это не совпадает с представлениями, согласно которым уровни Bcl-2 повышаются при эпилепсии, но может быть объяснено тем, что при эпилепсии внешний путь апоптоза предшествует внутреннему, возможно, митохондриальный каскад не успевает включиться в височной области, либо тем, что митохондриальный путь апоптоза здесь не задействован. При этом, как отмечено выше, миноциклин проявил антиапоптотический эффект во всех рассмотренных областях мозга крыс.

Показано, что киндлинг влияет на экспрессию каспаз лишь в белом веществе, но не в коре и гиппокампе, но можно предположить, что уровни экспрессии каспаз-3 и -8 у крыс линии Крушинского-Молодкиной конститутивно высоки. Несмотря на то, что, согласно имеющимся данным, миноциклин способен снижать экспрессию каспаз, в нашем эксперименте он показал ограниченный эффект, снизив их экспрессию лишь в белом веществе. Тем не менее, это не говорит об отсутствии антиапоптотического эффекта у миноциклина.

При исследовании системы Fas/FasL/FADD наблюдалось увеличение экспрессии FAS в группе Киндлинг-физраствор в височной коре и тенденция к её снижению при введении миноциклина. В гиппокампе введение миноциклина, напротив, вызвало увеличение экспрессии FAS по сравнению с другими группами. В менее чувствительном к эпилепсии подлежащем белом веществе изменений не наблюдалось. Киндлинг, независимо от применения миноциклина, снижал концентрацию белка-посредника FADD в височной коре, что может отражать сборку индуцирующей смерть сигнального комплекса DISK и активацию внешнего пути апоптоза. В белом веществе и гиппокампе концентрации FADD значимо не изменялись.

Таким образом, полученные нами результаты показывают изменение активации каскада Fas-FADD при экспериментальной эпилепсии на данной модели, отличающееся от вариантов инициации этого каскада при изучении на других моделях.

Уровни TNF- $\alpha$  повышались при аудиогенном киндлинге и снижались до статистически не различимых с контролем под действием миноциклина. Повышенные уровни TNF- $\alpha$  связаны с различными заболеваниями, включая аутоиммунные и нейродегенеративные. В нашем эксперименте это нашло веские подтверждения: уровни TNF- $\alpha$  во всех исследуемых областях головного мозга крыс линии Крушинского-Молодкиной повышались при киндлинге, и, очевидно, что он играл в патогенезе эпилепсии отрицательную роль, что косвенно подтверждается наличием у крыс астроглиоза и других признаков нейровоспаления. Применение миноциклина снижало его экспрессию. При этом, вероятно, мишенью выступала активированная микроглия, но не астроциты, так как на астроглиоз минолексин влияния в данном случае не оказал. При том, что апоптоз также опосредуется путём, связанным с TNF- $\alpha$ , он же ответственен за развитие нейровоспаления. Этот путь в нашем случае может вносить основной вклад в патогенез эпилепсии и нейродегенерацию именно за счёт запуска нейровоспаления, а не апоптоза. Активация микроглии и её роль у крыс линии Крушинского-Молодкиной, а также терапевтическая ценность миноциклина в этом случае требуют дальнейшего изучения.

Белок-посредник TRADD задействован во множестве путей, итог которых может варьировать от апоптоза до выживания клетки. Также он связан с активацией NF- $\kappa$ B с такой же двойственной ролью. Обе этих молекулы рассмотрены нами в контексте патогенеза эпилепсии у крыс линии Крушинского-Молодкиной и возможности её коррекции миноциклином. В нашем эксперименте миноциклин не оказал заметного влияния на экспрессию TRADD, не было найдено аналогичных работ, способных подтвердить или опровергнуть наш результат, но исследования по данной тематике продолжаются. Уровни экспрессии NF- $\kappa$ B подчинялись тоже же закономерности, что и у TNF- $\alpha$ , что не удивительно, ведь эти два вещества и их пути тесно связаны. В нашем эксперименте его экспрессия возрастала при киндлинге во всех изученных областях головного мозга и снижалась под действием миноциклина. Ингибирование пути NF- $\kappa$ B также неплохо показало себя при заболеваниях ЦНС, и этот механизм действия выявлен у ряда нейропротекторов.

Таким образом, нами показаны нейропротективные – антиапоптотические и противовоспалительные эффекты миноциклина на модели аудиогенной эпилепсии у крыс линии Крушинского-Молодкиной. Выявлено два основных механизма его действия: нейропротективный – снижение экспрессии p53, что уменьшает потерю нейронов, и противовоспалительный – воздействие на ось TNF- $\alpha$ -NF- $\kappa$ B, которые могут играть противоречивую роль в эпилептогенезе, но в данном случае их снижение уменьшало воспаление.

Преодоление лекарственной устойчивости при эпилепсии – сложная и комплексная задача, требующая лекарственных препаратов с новыми мишенями и механизмами действия на более общие процессы, чем изменение соотношений тормозных и возбуждающих нейромедиаторов. К таким процессам относятся аберрантная гибель нейронов и нейровоспаление, наблюдаемые при всех формах эпилепсии и множестве других патологий ЦНС. Воздействие на такие базовые механизмы имеет большой терапевтический потенциал и представляется перспективным дополнением к существующим методам лечения.

**Перспективы дальнейшей разработки темы.** Полученные в данном исследовании результаты могут быть использованы для дальнейшего изучения патогенеза фармакорезистентной эпилепсии, роли апоптоза и нейровоспаления в формировании резистентности, а также возможностей их коррекции различными соединениями, в том числе миноциклином, который может стать добавкой к классическим противосудорожным препаратам и их комбинациям. Раскрыты механизмы апоптоза и работы провоспалительных цитокиновых каскадов с молекулами-посредниками при аудиогенных судорогах у крыс линии Крушинского-Молодкиной неполны и требуют дальнейшего изучения. Так, было показано, что у них при эпилепсии имеет место FAS- и каспазозависимый апоптоз, механизм которого, например, участие апоптоз-индуцирующего фактора AIF, предстоит раскрыть. В более подробном изучении нуждается глиальный компонент, астроциты и активированная микроглия, каскад TNF- $\alpha$  с двумя его основными рецепторами, а также сигнальный путь NF- $\kappa$ B с выявлением продуцирующих его клеток и различных форм, от которых зависит его эффект. Также необходимо изучение других провоспалительных цитокинов в контексте влияния миноциклина на их экспрессию при аудиогенном киндлинге.

Целесообразно дальнейшее изучение механизмов действия миноциклина в целях расширения показаний его применения как антиапоптотического и нейропротективного препарата при широком спектре заболеваний ЦНС. Также необходимо изучение роли микроглии, продукции ей провоспалительных и связанных с апоптозом молекул и влияния на неё миноциклина.

### ВЫВОДЫ

1. При аудиогенном киндлинге уровни апоптоза в височной доле и гиппокампе крыс Крушинского-Молодкиной повышаются. Минолексин демонстрирует антиапоптотический нейропротективный эффект во всех изученных областях головного мозга: височной коре, подлежащем белом веществе, гранулярном слое зубчатой извилины, хилусе, поле CA4 гиппокампа. Антиапоптотический эффект минолексина обусловлен в основном супрессией проапоптотического белка p53, уровни которого повышаются при киндлинге в исследуемых областях головного мозга крыс. Выявлена дифференцированная реакция различных отделов мозга крыс на киндлинг и введение минолексина. Значимой роли Bcl-2 в гиппокампе не выявлено, в височной коре его экспрессия при киндлинге снижается. Выявлено тканеспецифичное супрессирующее воздействие минолексина на экспрессию каспазы-3 и -8.

2. Уровень экспрессии GFAP был высоким и не различался у крыс контрольной и опытных групп. Введение минолексина влияния не оказывало.

3. Минолексин может действовать на цитокины и связанные с ними молекулы. При киндлинге рост уровня FAS отмечался только в височной коре, для FADD там же отмечалось его снижение. При введении минолексина экспрессия FAS и FADD снижается в височной коре, но не в белом веществе и гиппокампе, уменьшается экспрессия TNF- $\alpha$  и NF- $\kappa$ B, возросших при киндлинге, в изученных отделах мозга. На экспрессию TRADD киндлинг и минолексин выраженных эффектов не оказывают.

4. Комплексный анализ воздействия минолексина на развитие нейровоспаления и апоптоза при экспериментальной эпилепсии на модели крыс Крушинского-Молодкиной подтвердил его антиапоптотические и противовоспалительные эффекты, обусловленные в основном подавлением экспрессии проапоптотического белка p53, фактора некроза опухолей TNF- $\alpha$  и фактора транскрипции NF- $\kappa$ B во всех исследуемых отделах головного мозга. Показана эффективность применения минолексина.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Аудиогенный киндлинг у крыс линии Крушинского-Молодкиной может быть использован для фундаментальных и прикладных исследований эпилептогенеза и механизмов формирования лекарственной устойчивости, а также исследования фармакологической коррекции нейровоспаления и апоптоза.

2. Препарат тетрациклинового ряда миноциклин может быть использован для купирования последствий эпилептических припадков как дополнение к стандартным схемам лечения эпилепсии.

3. Необходимо продолжение исследования механизмов нейровоспаления и апоптоза при фармакорезистентной эпилепсии в различных зонах головного мозга.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Bazhanova E.D., **A.A. Kozlov**, A.V. Litovchenko. Mechanisms of Drug Resistance in the Pathogenesis of Epilepsy: Role of Neuroinflammation. A Literature Review. *Brain Sci.* 2021, 11 (663): 1–13. <https://doi.org/10.3390/brainsci11050663> (WOS, Scopus).

2. Бажанова Е.Д., **Козлов А.А.** Механизмы апоптоза при фармакорезистентной эпилепсии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2022, 122 (5): 43–50. <https://doi.org/10.17116/jnevro202212205143> (Scopus).

3. Мелехова А.С., Гайкова О.Н., **Козлов А.А.**, Бажанова Е.Д. Оценка эффективности фармакотерапии крыс в условиях экспериментального судорожного синдрома, вызванного обратимым ингибитором ацетилхолинэстеразы (фенилкарбаматом). Патоморфологическое и морфометрическое исследование головного мозга. *MEDLINE.RU, Т. 24, Фармакология, 04.09.2023, 1308.*

4. Бажанова Е.Д., **Козлов А.А.**, Соколова Ю.О. Этиопатогенетические механизмы эпилепсии и сравнительная характеристика экспериментальных моделей аудиогенной эпилепсии. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния.* 2023, 15 (4): 372–383. <https://doi.org/10.17749/2077-8333/epi.par.con.2023.161>. (Scopus).

5. Гайкова О.Н., **Козлов А.А.**, Катрецкая Г.Г., Мельникова М.В., Мелехова А.С., Бондаренко А.А., Соколова Ю.О., Бажанова Е.Д. Морфологические характеристики токсического поражения головного мозга. *Медицина экстремальных ситуаций.* 2024, 2 (26): 13-19. <https://doi.org/10.47183/mes.2024.025>. (Scopus).

6. Bazhanova E.D., **Kozlov A.A.** Role of Apoptosis-Related Proteins P53 and Bcl-2 in the Pathogenesis of Nervous System Diseases. *ISSN 0022-0930, J. of Evolutionary Biochemistry and Physiology,* 2024, 60 (4): 1475–1489. <https://doi.org/10.1134/S0022093024040173> (WOS).

7. Bazhanova E.D., **Kozlov A.A.**, Sokolova Yu.O., Suponin A.A., Demidova E.O. Changes in the Expression of Apoptosis-Associated Proteins in the Temporal Cortex and Hippocampus of Rats during LongTerm Kindling and Their Correction with Minolexin, DOI: 10.1134/S002209302405020X *J. of Evolutionary Biochemistry and Physiology.* 2024, 60 (5): 1892–1908. (WOS).

### Статьи и тезисы, опубликованные в других изданиях

1. Бажанова Е.Д., **Козлов А.А.**, Тёплый Д.Л. Свободнорадикальный гомеостаз и апоптоз нейронов и глии головного мозга при фармакорезистентной эпилепсии. IV Всероссийской научной конференции с международным участием «СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ, АНТИОКСИДАНТЫ И СТАРЕНИЕ», посвящённая 90-летию проф. Д.Л. Тёплого. Астрахань, 11–12.11.2021, 26-29.

2. Мелехова А.С., Гайкова О.Н., **Козлов А.А.**, Бажанова Е.Д. Морфометрическая оценка головного мозга крыс и эффективности фармакотерапии в условиях экспериментального судорожного синдрома, вызванного обратимым ингибитором ацетилхолинэстеразы (фенилкарбаматом). Научно-практич. конф., посвящённая 75-летию создания системы ФМБА «Обеспечение химической безопасности России – достижения и перспективы», Санкт-Петербург, 28.10.2022.

3. Бажанова Е.Д., **Козлов А.А.**, Соколова Ю.О., Яковлева И.И., Демидова Е.О., Ивлев А.П., Куликов А.А. Влияние минолексина на апоптоз в височной доле и гиппокампе у крыс линии Крушинского-Молодкиной с аудиогенной эпилепсией. Всероссийский конгресс «Неотложные состояния в неврологии: современные методы диагностики и лечения», посвящ. 100-летию со дня рожд. Г.А. Акимова, СПб, 17-18.11.2023.

4. **Козлов А.А.**, Соколова Ю.О., Демидова Е.О., Бажанова Е.Д. Оценка уровня p53 и апоптоза в гиппокампе крыс крушинского-Молодкиной при введении минолексина в условиях киндинга. Современная российская наука: актуальные вопросы, достижения и инновации: сборник статей VII Всероссийской научно-практической конференции. Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение». 2024. 184 с. ISBN 978-5-00236-263-9.

5. Гайкова О.Н., **Козлов А.А.**, Катрецькая Г.Г., Мельникова М.В., Мелехова А.С., Соколова Ю.О., Бажанова Е.Д. Морфологические изменения головного мозга при токсическом поражении. XX научно-практич. конф. «Биомедицина и биомоделирование», 22-23.05.2024, Москва.

6. Бажанова Е.Д., **Козлов А.А.**, Соколова Ю.О., Демидова Е.О., Яковлева И.И., Клименко Д.И. Динамика экспрессии p53 и уровня апоптоза в височной доле крыс Крушинского-Молодкиной при введении минолексина. Развитие науки и технологий в современной России (шифр - ВКРН). Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции. Москва, 2024. С. 127-131.

7. Соколова Ю.О., Бажанова Е.Д., **Козлов А.А.**, Демидова Е.О., Яковлева И.И., Клименко Д.И. Воздействие Минолексина на уровень апоптоза и экспрессию апоптоз-ассоциированных белков у крыс Крушинского-Молодкиной. Биохимия человека. Материалы всероссийской конференции с международным участием. Москва, 2024. С. 76.

#### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ANOVA	– (analysis of variance) дисперсионный анализ
Bcl-2	– 2B Cell Lymphoma/Leukaemia
CA 1-4	– поле гиппокампа (Cornu Ammonis area 1-4)
ADDF	– Fas-ассоциированный белок с доменом смерти (Fas-associated protein with death domain)
FAS (CD95)	– апоптозный антиген 1, кластер дифференцировки 95, рецептор смерти
GFAP	– глиальный фибриллярный кислый белок (glial fibrillary acidic protein)
NF-κB	– транскрипционный ядерный фактор «каппа-би» (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)
TNF-α	– фактор некроза опухолей (Tumour Necrosis Factor)
p53	– фактор транскрипции и супрессор опухолей
TRADD	– tumor necrosis factor receptor type 1-associated DEATH domain protein
TUNEL	– terminal dUTP Nick End-Labeling
ГЭБ	– гематоэнцефалический барьер
ДИ	– доверительный интервал
в/б	– внутрибрюшинное введение
ЦНС	– центральная нервная система