

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ  
СТАТЬИ

РЕГИОНАЛЬНАЯ СПЕЦИФИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПРОДУКЦИИ мРНК  
ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ  
МОДЕЛИ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

© 2019 г. А. А. Коваленко<sup>1</sup>, С. В. Калеменив<sup>1</sup>, А. П. Шварц<sup>1</sup>,  
А. В. Дёмина<sup>1</sup>, О. Е. Зубарева<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: zubarevaoe@mail.ru

Поступила в редакцию 24.03.2019 г.

После доработки 06.04.2019 г.

Принята к публикации 06.04.2019 г.

Височная эпилепсия — одна из наиболее распространенных и тяжелых форм эпилепсии у людей, сложно поддающаяся терапии и приводящая к развитию коморбидных нервно-психических нарушений, поэтому поиск новых терапевтических мишеней для ее предотвращения и лечения является актуальной задачей. В настоящее время обсуждается роль нейровоспаления в эпилептогенезе, однако конкретные механизмы его участия в этом процессе полностью не выяснены. Поэтому целью данного исследования явился анализ изменений экспрессии генов двух провоспалительных цитокинов — интерлейкина-1 $\beta$  (*Il1b*) и фактора некроза опухоли  $\alpha$  (*Tnfa*) в различных структурах мозга в латентную фазу (период эпилептогенеза) литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии. Эпилептический статус вызывали у 7–8-недельных самцов крыс Вистар введением хлорида лития и пилокарпина. Экспрессию генов цитокинов анализировали отдельно в двух экспериментальных подгруппах животных с легкими краткосрочными судорогами и тяжелыми длительными судорогами. Разделение на подгруппы было обусловлено тем, что в хроническую фазу этой модели спонтанные рецидивирующие судороги развиваются преимущественно у крыс, имевших тяжелые судороги после введения пилокарпина. Анализ продукции мРНК *Il1b* и *Tnfa* был произведен методом ОТ-ПЦР в реальном времени в дорзальном и вентральном гиппокампе, височной, энторинальной и медиальной префронтальной коре через 7 дней после введения пилокарпина. При сравнении с контрольной группой выявлено увеличение экспрессии гена *Il1b*, но не *Tnfa* в дорзальном гиппокампе только у животных, имевших длительные тяжелые судороги. Эти данные указывают, что *Il1b* с высокой вероятностью вовлечен в эпилептогенез. Таким образом, результаты нашего исследования позволяют предположить, что рецепторы к интерлейкину-1 могут быть потенциально важной терапевтической мишенью для предотвращения эпилептогенеза.

**Ключевые слова:** литий-пилокарпиновая модель височной эпилепсии, интерлейкин-1 $\beta$ , фактор некроза опухоли  $\alpha$ , гиппокамп, височная кора, энторинальная кора, медиальная префронтальная кора

DOI: 10.1134/S0869813919060037

Височная эпилепсия — одна из наиболее распространенных и тяжелых форм эпилепсии у людей, приводящая к расстройствам двигательной, психо-эмоцио-

нальной сферы, когнитивным нарушениям [1, 2] и даже летальным исходам [3]. Несмотря на многочисленные исследования патогенеза данного заболевания, до 30% случаев височной эпилепсии являются фармакорезистентными [4]. Это делает чрезвычайно актуальным поиск новых средств лечения. Согласно общепризнанным представлениям в основе формирования ВЭ лежит нарушение баланса между тормозной (ГАМК-ергической) и возбуждающей (глутаматергической) нейромедиаторными системами различных отделов мозга [5]. Такой, ориентированный на нейроны, подход оставляет без внимания возможное участие в эпилептогенезе глиальных клеток и связанного с ними нейровоспаления [6, 7]. Клинические исследования выявили, что нейровоспаление характерно для эпилепсии различной этиологии [8]. Медиаторы воспаления, в первую очередь, провоспалительные цитокины – интерлейкин-1 $\beta$  и фактор некроза опухоли  $\alpha$ , связываясь со своими рецепторами на мембранах нейронов, могут непосредственно влиять на их возбудимость [9–12]. Усиление экспрессии генов провоспалительных цитокинов показано в пентилентетразоловой [13] и пилокарпиновой [14] моделях эпилепсии в клетках гиппокампа и неокортекса, однако в височной и энторинальной коре – зонах мозга, играющих важную роль в патогенезе эпилепсии и коморбидных нарушений поведения, подобные исследования не проводились. Это ограничивало понимание участия провоспалительных цитокинов в эпилептогенезе.

В данной работе проведен анализ продукции мРНК генов интерлейкина-1 $\beta$  (*Il1b*) и фактора некроза опухоли  $\alpha$  (*Tnfa*) в клетках структур мозга, вовлеченных в патогенез височной эпилепсии (медиальной префронтальной коры, дорзального и вентрального отделов гиппокампа, височной и энторинальной коры) у крыс, перенесших литий-пилокарпиновые судороги. Данная экспериментальная модель была выбрана в связи с тем, что она позволяет достаточно точно воспроизводить патофизиологические, биохимические и гистопатологические особенности, характерные для человеческой височной эпилепсии, такие как формирование спонтанных рецидивирующих судорог, реорганизацию нейронных сетей гиппокампа и парагиппокампальной области и другие [15]. Введение пилокарпина приводит к запуску долговременных процессов эпилептизации мозга. Изменения развиваются в три этапа: непосредственно после инъекций пилокарпина у экспериментальных животных развивается острый эпилептический статус, затем начинается латентный период длительностью до нескольких недель, в течение которого судороги не проявляются, далее развивается хронический период, для которого характерны спонтанные рецидивирующие судороги [15]. В данной работе оценка экспрессии провоспалительных цитокинов проведена в латентную фазу модели, что позволяло исследовать их возможную роль в развитии патологических процессов на начальных этапах эпилептизации мозга.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Литий-пилокарпиновая модель височной эпилепсии*

Исследование выполнено в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями биоэтического комитета ИЭФБ РАН. Эпилептический статус индуцировали у самцов крыс линии Вистар в возрасте 7–8 нед. За сутки до внутрибрюшинного введения пилокарпина (Sigma-Aldrich, 30 мг/кг) крысам вводили хлорид лития (Sigma-Aldrich, 127 мг/кг). Для предотвращения чрезмерной активации периферических мускариновых рецепторов за 1 ч до введения пилокарпина крысам вводили метилскополамин (Sigma-Aldrich, 1 мг/кг). Контрольным животным вводили только хлорид лития. Крыс рассаживали в индивидуальные клетки и проводили видеорегистрацию судорог. Дальнейший анализ тяжести судорог был проведен по шкале R.J. Racine [16]: 0 баллов – отсутствие судорог, 1 балл – лицевой миоклонус

(жует), 2 – миоклонус головы (покачивания головой), 3 балла – судороги передней половины тела, 4 балла – подъем на задние лапы (поза кланяющегося монаха), 5 баллов – к предыдущему добавляются множественные падения на бок, 6 баллов – дикий бег, 7 баллов – тонико-клонические судороги.

Тяжесть и длительность судорог у разных животных различалась. Было сформировано две подгруппы: в первую вошли крысы с краткосрочными (длительностью менее 1.5 ч) и легкими (до 4-х баллов) судорогами, вторую группу составили животные с длительными (более 2.5 ч) и тяжелыми (4 и более баллов) судорогами. Выделение этих подгрупп было обусловлено тем, что эксперименты, проведенные ранее [15, 17], показали, что в хроническую фазу литий-пилокарпиновой модели, выраженные спонтанные рецидивирующие судороги развиваются преимущественно у крыс, имевших после введения пилокарпина длительные и тяжелые судороги. Крысы с легкими краткосрочными судорогами были использованы в качестве активного контроля. Они получали те же препараты, что и основная экспериментальная группа, но имели низкий риск развития эпилепсии.

*Определение экспрессии генов провоспалительных цитокинов методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в реальном времени*

Забор образцов мозга был произведен в латентную фазу литий-пилокарпиновой модели, через 7 сут после введения пилокарпина. Животных декапитировали, мозг выделяли целиком, немедленно замораживали и хранили до выделения исследуемых областей при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  не более двух месяцев. Медиальную префронтальную, височную и энторинальную области коры, дорзальную и вентральную области гиппокампа [18] выделяли на срезах, производимых на микротоме-криостате согласно атласу мозга [19]. Тотальную РНК из клеток мозга выделяли с помощью реагента Extract RNA (ЗАО Евроген, Россия) в соответствии с рекомендуемым протоколом. Обратную транскрипцию проводили с использованием олиго dT-праймеров (ДНК-Синтез, Россия) и MMLV-обратной транскриптазы (Promega, США).

Определение уровня мРНК *Il1b*, *Tnfa*, а также генов домашнего хозяйства пептидил-пролил-изомеразы А (*Ppia*) и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (*Gapdh*) проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Праймеры и зонды (табл. 1) были синтезированы ООО “ДНК-Синтез” (Россия). Для определения *Ppia* и *Gapdh* была использована технология TaqMan, для выявления *Il1b* и *Tnfa* – технология SYBR Green. Соответственно при проведении ПЦР использовали TaqM-полимеразу (ООО “Алкор Био”, Россия), либо готовую смесь для ПЦР qPCR mix-HS SYBR (ЗАО Евроген, Россия). ПЦР в реальном времени проводили на амплификаторе C1000 Touch™ Thermal Cycler с детектирующей системой CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Анализ каждой пробы проводили в двух параллелях. Для контроля реакции использовали образцы РНК, к которым при проведении обратной транскрипции не добавляли ревертазу, а также пробы, содержащие ПЦР-реакционную смесь без добавления матрицы. При проведении ПЦР с использованием SYBR Green дополнительно анализировали кривые плавления для проверки специфичности реакции. Относительную продукцию мРНК рассчитывали по методу  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  [20], относительно среднего геометрического порогового цикла (Ct) для двух референсных генов: *Ppia* и *Gapdh*. В качестве контрольного значения использовали усредненные значения контрольной группы.

*Статистическая обработка данных*

Статистическую обработку производили в программе SPSS Statistic 22. Проверку нормальности распределения проводили с помощью критерия Шапиро–Уилка. В

**Таблица 1.** Последовательности праймеров и зондов для полимеразной цепной реакции

Ген и его номер в генетическом банке данных (GeneBank)	Праймеры и зонды	Ссылки
<i>Ppia</i> NM_017101	Прямой праймер AGGATTTCATGTGCCAGGGTG Обратный праймер CTCAGTCTTGGCAGTGCAGA Зонд CACGCCATAATGGCACTGGTGGCA	[21]
<i>Gapdh</i> NM_017008	Прямой праймер TGCACCACCAACTGCTTAG Обратный праймер GGATGCAGGGATGATGTTT Зонд ATCACGCCACAGCTTTCCAGAGGG	[22]
<i>Il1b</i> NM_031512	Прямой праймер CACCTCTCAAGCAGAGCACAG Обратный праймер GGGTTCCATGGTGAAGTCAAC	[23]
<i>Tnfa</i> NM_012675	Прямой праймер CCAGGTTCTCTTCAAGGGACAA Обратный праймер CTCCTGGTATGAAATGGCAAATC	[23]

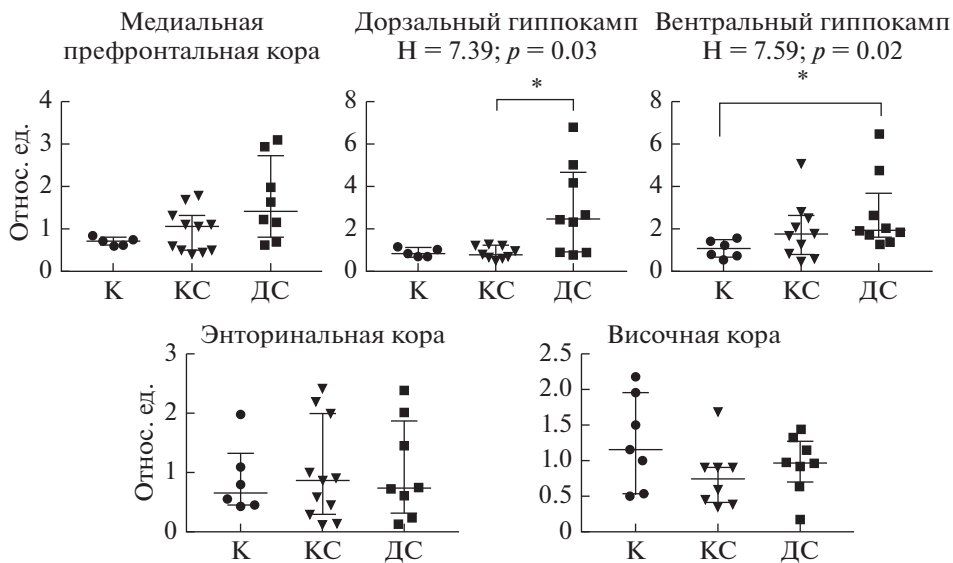
связи с ненормальным распределением показателей в некоторых группах для дальнейшей статистической обработки были использованы непараметрические критерии: Н-критерий Крускала–Уоллиса для сравнения 3-х групп и U-критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони в качестве апостериорного теста для попарного сравнения экспериментальных и контрольных животных. Различия считали достоверными при  $p \leq 0.05$ . Данные на графиках представлены в виде медианы и квартилей.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

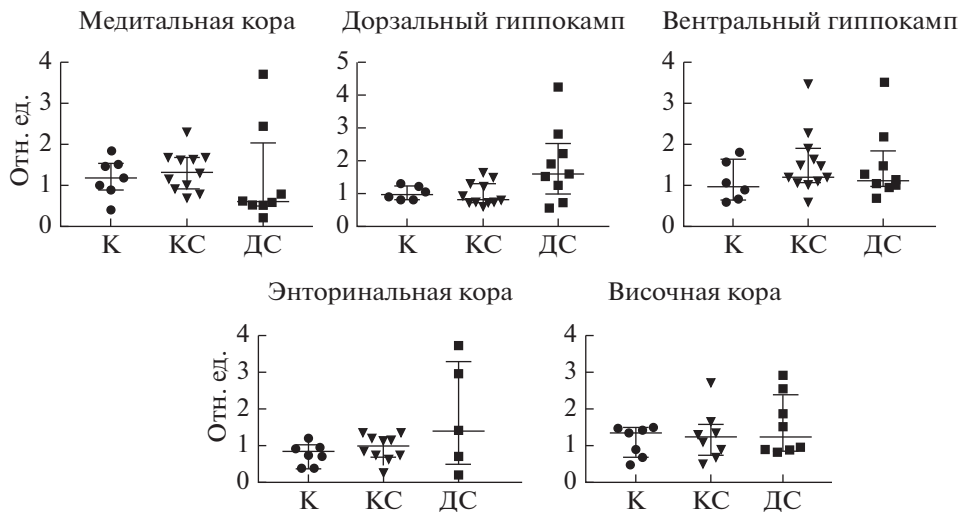
Анализ продукции мРНК провоспалительных цитокинов в клетках мозга выявил изменение продукции мРНК *Il1b* (рис. 1) в клетках гиппокампа через 7 сут после пилокарпин-индуцированного эпилептического статуса. У животных, имевших длительные, но не краткосрочные судороги, экспрессия *Il1b* усиливалась в дорзальном ( $H = 7.4$ ;  $p = 0.03$ ) и вентральном ( $H = 7.6$ ;  $p = 0.02$ ) гиппокампе. При попарном сравнении групп крысы с длительными судорогами достоверно отличались по уровню мРНК *Il1b* от контроля в вентральном гиппокампе ( $U = 4.0$ ;  $p < 0.01$ ) и от крыс с краткосрочными судорогами в дорзальном гиппокампе ( $U = 13$ ;  $p < 0.05$ ). Сходная тенденция наблюдалась в медиальной префронтальной коре, однако различия между группами не достигали статистической значимости ( $H = 5.5$ ;  $p = 0.06$ ). В височной и энторинальной коре различий между опытными и контрольными животными в экспрессии гена *Il1b* не выявлено.

Ни в одной из исследованных структур мозга не обнаружено изменений экспрессии гена *Tnfa* после эпилептического статуса (рис. 2).

Таким образом, в период эпилептогенеза в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии у экспериментальных животных отмечается усиление продукция мРНК *Il1b*, но не *Tnfa*. Эти изменения имеют региональную специфику: они наиболее выражены в гиппокампе, но не заметны в височной и энторинальной коре.



**Рис. 1.** Относительная экспрессия гена интерлейкина-1β в клетках структур мозга контрольных крыс (К) и экспериментальных животных, имевших краткосрочные (КС) и длительные (ДС) судороги. Приведены значения Н-критерия Крускала–Уоллиса и соответствующий уровень значимости при обнаружении достоверных различий между группами. \* – достоверные различия между группами по U-критерию Манна–Уитни ( $p < 0.05$ ).



**Рис. 2.** Относительная экспрессия гена фактора некроза опухоли α в клетках структур мозга контрольных крыс (К) и экспериментальных животных, имевших краткосрочные (КС) и длительные (ДС) судороги.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Усиление продукции провоспалительных цитокинов в клетках мозга в литий-пилокарпиновой модели ранее было показано на уровне мРНК и белка в нескольких работах [14, 24, 25]. Однако исследования, в основном, проводились в неокортексе

и гиппокампе. При этом малоизученным оставался характер развития воспалительных процессов в височной и энторинальной коре — зонах мозга, играющих важную роль в эпилептогенезе и коморбидных нарушениях поведения [26, 27]. Нами показано, что через 7 дней после пилокарпин-индуцированного эпилептического статуса наиболее выраженные усиления продукции мРНК *Il1b* отмечаются в гиппокампе, как в дорзальном, так и вентральном его отделах, при этом существенных изменений в височной и энторинальной коре не наблюдается. Известно, что гистопатологические и патофизиологические изменения, происходящие в гиппокампе, такие как астроглиозис, гибель нейронов, прорастание мшистых волокон, перестройка структуры и функции мембранных рецепторов нейронов, нарушение баланса возбуждательных и тормозных процессов, играют ключевую роль в эпилептогенезе [28]. Провоспалительные цитокины вовлечены в регуляцию многих из этих процессов. Повышение уровня интерлейкина-1 $\beta$  может приводить к астроглиозису [29], усилению возбудимости нейронов, эксайтотоксичности [30], гибели нейронов [31]. Интерлейкин-1 $\beta$  способен усиливать развивающиеся судороги, его проконвульсивное действие опосредуется фосфорилированием GluN2B-субъединицы NMDA рецептора посредством киназ семейства Src [32].

Коморбидные нервно-психические нарушения, характерные для височной эпилепсии, также могут быть связаны с усилением продукции интерлейкина-1 $\beta$  клетками гиппокампа. Это было показано А.М. Mazaratic с соавт. [33], которые выявили, что двухнедельное двухстороннее внутригиппокампальное введение антагониста рецептора интерлейкина-1 нивелирует депрессивноподобные нарушения поведения в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии.

Усиление экспрессии гена *Il1b* в клетках гиппокампа экспериментальных крыс в нашем исследовании было более выражено по сравнению с геном *Tnfa*. Аналогичные результаты были получены в первые дни после введения пилокарпина G.M. Arisi с соавт. [14], хотя другие исследователи [24] выявляли повышение уровня фактора некроза опухоли  $\alpha$  в гиппокампе и коре мозга животных, которым вводили пилокарпин. Возможно, различия в полученных результатах связаны с использованием другого объекта — мышей, а не крыс, а также с более поздними сроками тестирования — 14 дней после пилокарпин-индуцированного эпилептического статуса.

Нами выявлено, что усиление продукции мРНК *Il1b* отмечается только у крыс, имевших долговременные, но не краткосрочные судороги. Поскольку ранее была показана связь длительности и тяжести судорог, возникающих непосредственно после введения пилокарпина, с вероятностью развития в дальнейшем спонтанных рецидивирующих судорог [15, 17], можно предполагать, что выявленные изменения могут быть одним из патофизиологических механизмов эпилептизации мозга.

В целом полученные результаты указывают на перспективность исследования нейропротекторных свойств антагониста рецепторов интерлейкина-1 и блокаторов его синтеза (например, интерлейкина 10) в экспериментальных моделях эпилепсии.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-00-00408 КОМФИ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Leeman-Markowski B.A., Schachter S.C. Treatment of cognitive deficits in epilepsy. *Neurol. Clin.* 34(1): 183–204. 2016.
2. Swinkels W.A.M., Kuyk J., van Dyck R., Spinhoven P. Psychiatric comorbidity in epilepsy. *Epilepsy Behav.* 7(1): 37–50. 2005.
3. Andrade-Machado R., Ochoa-Urrea M., Garcia-Espinosa A., Benjumea-Cuartas V., Santos-Santos A. Suicidal risk, affective dysphoric disorders, and quality-of-life perception in patients with focal refractory epilepsy. *Epilepsy Behav.* 45: 254–260. 2015.

4. Brodie M.J., Barry S.J.E., Bamagous G.A., Norrie J.D., Kwan P. Patterns of treatment response in newly diagnosed epilepsy. *Neurology*. 78(20): 1548–1554. 2012.
5. Lasoň W., Chlebicka M., Rejda K. Research advances in basic mechanisms of seizures and antiepileptic drug action. *Pharmacol. Reports*. 65(4): 787–801. 2013.
6. Koh S. Role of neuroinflammation in evolution of childhood epilepsy. *J. Child. Neurol.* 33(1): 64–72. 2018.
7. van Vliet E.A., Aronica E., Vezzani A., Ravizza T. Review: Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarker candidates in epilepsy: emerging evidence from preclinical and clinical studies. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 44(1): 91–111. 2018.
8. Aronica E., Crino P.B. Inflammation in epilepsy: Clinical observations. *Epilepsia*. 52(3): 26–32. 2011.
9. Iori V., Frigerio F., Vezzani A. Modulation of neuronal excitability by immune mediators in epilepsy. *Curr. Opin. Pharmacol.* 26: 118–123. 2016.
10. Rana A., Musto A.E. The role of inflammation in the development of epilepsy. *J. Neuroinflammation*. 15(1): 1–12. 2018.
11. Vezzani A., French J., Bartfai T., Baram T.Z. The role of inflammation in epilepsy. *Nat. Rev. Neurol.* 7(1): 31–40. 2011.
12. Vezzani A., Viviani B. Neuromodulatory properties of inflammatory cytokines and their impact on neuronal excitability. *Neuropharmacology*. 96: 70–82. 2015.
13. Sitges M., Gómez C.D., Aldana B.I. Sertraline reduces IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  mRNA expression and overcomes their rise induced by seizures in the rat hippocampus. *PLoS One*. 9(11): e111665. 2014.
14. Arisi G.M., Foresti M.L., Katki K., Shapiro L.A. Increased CCL2, CCL3, CCL5, and IL-1 $\beta$  cytokine concentration in piriform cortex, hippocampus, and neocortex after pilocarpine-induced seizures. *J. Neuroinflammation*. 12(1): 1–7. 2015.
15. Curia G., Longo D., Biagini G., Jones R.S.G., Avoli M. The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci. Methods*. 172(2): 143–157. 2008.
16. Racine R.J. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 32(3): 281–294. 1972.
17. Brandt C., Töllner K., Klee R., Bröer S., Löscher W. Effective termination of status epilepticus by rational polypharmacy in the lithium-pilocarpine model in rats: Window of opportunity to prevent epilepsy and prediction of epilepsy by biomarkers. *Neurobiol. Dis.* 75: 78–90. 2015.
18. Zubareva O.E., Kovalenko A.A., Kalemenev S.V., Schwarz A.P., Karyakin V.B., Zaitsev A.V. Alterations in mRNA expression of glutamate receptor subunits and excitatory amino acid transporters following pilocarpine-induced seizures in rats. *Neurosci. Lett.* 686: 94–100. 2018.
19. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier. 2007.
20. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. 25(4): 402–408. 2001.
21. Malkin S.L., Amakhin D.V., Veniaminova E.A., Kim K.K., Zubareva O.E., Magazanik L.G., Zaitsev A.V. Changes of AMPA receptor properties in the neocortex and hippocampus following pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Neuroscience*. 327: 146–155. 2016.
22. Lin W., Burks C.A., Hansen D.R., Kinnamon S.C., Gilbertson T.A. Taste receptor cells express pH-sensitive leak K<sup>+</sup> channels. *J. Neurophysiol.* 92(5): 2909–2919. 2004.
23. Rioja I., Bush K.A., Buckton J.B., Dickson M.C., Life P.F. Joint cytokine quantification in two rodent arthritis models: kinetics of expression, correlation of mRNA and protein levels and response to prednisolone treatment. *Clin. Exp. Immunol.* 137(1): 65–73. 2004.
24. Oliveira C.V. de, Grigoletto J., Canzian J.M., Duarte M.M., Duarte T., Furian A.F., Oliveira M.S. Effect of atorvastatin on behavioral alterations and neuroinflammation during epileptogenesis. *Epilepsy Behav.* 78: 109–117. 2018.
25. Yang H.L., Qiao L.N., Tan L.H., Yang J.J., Chen Z., Zhang Y.C., Yang Y.S. Effects of transcutaneous electrostimulation of auricular points on behavior and hippocampal IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  expression in temporal lobe epilepsy rats. *Zhen Ci Yan Jiu*. 41(4): 283–290. 2016.
26. Schwarcz R., Witter M.P. Memory impairment in temporal lobe epilepsy: The role of entorhinal lesions. *Epilepsy Res.* 50(1–2): 161–177. 2002.
27. Vismar M.S., Forcelli P.A., Skopin M.D., Gale K., Koubeissi M.Z. The piriform, perirhinal, and entorhinal cortex in seizure generation. *Front. Neural Circuits*. 9: 27. 2015.
28. Sendrowski K., Sobaniec W. Hippocampus, hippocampal sclerosis and epilepsy. *Pharmacol. Reports*. 65(3): 555–565. 2013.
29. Sofroniew M.V. Astroglial cells. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7(2): a020420. 2014.
30. Rijkers K., Majoie H.J., Hoogland G., Kenis G., De Baets M., Vles J.S. The role of interleukin-1 in seizures and epilepsy: A critical review. *Exp. Neurol.* 216(2): 258–271. 2009.
31. Rizzi M., Perego C., Aliprandi M., Richichi C., Ravizza T., Colella D., Vehl'sko'va J., Moshe S.L., Simoni M.G. De, Vezzani A. Glia activation and cytokine increase in rat hippocampus by kainic acid-induced status epilepticus during postnatal development. *Neurobiol. Dis.* 14(3): 494–503. 2003.

32. Balosso S., Maroso M., Sanchez-Alavez M., Ravizza T., Frasca A., Bartfai T., Vezzani A. A novel non-transcriptional pathway mediates the proconvulsive effects of interleukin-1 $\beta$ . *Brain*. 131(12): 3256–3265. 2008.
33. Mazarati A.M., Pineda E., Shin D., Tio D., Taylor A.N., Sankar R. Comorbidity between epilepsy and depression: Role of hippocampal interleukin-1 $\beta$ . *Neurobiol. Dis.* 37(2): 461–467. 2010.

### Regional Specificity of Changes in the mRNA Expression of the Proinflammatory Cytokines in the Lithium-Pilocarpine Model of Temporal Lobe Epilepsy

A. A. Kovalenko<sup>a</sup>, S. V. Kalemenev<sup>a</sup>, A. P. Schwarz<sup>a</sup>,  
A. V. Dyomina<sup>a</sup>, O. E. Zubareva<sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup>*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,  
Saint Petersburg, Russia*

\*e-mail: zubarevaeo@mail.ru

**Abstract**—Temporal lobe epilepsy (TLE) is one of the most common and severe forms of epilepsy in humans; it is difficult to treat and is leading to the development of comorbid neuropsychiatric disorders. The possible role of glia and the associated neuroinflammation in the pathogenesis of this disease is currently under intensive investigation. The aim of the study was to analyze changes in the expression of pro-inflammatory cytokines genes interleukin-1 $\beta$  (*Il1b*) and tumor necrosis factor  $\alpha$  (*Tnfa*) in various brain areas during the latent phase of the lithium-pilocarpine model of TLE. Status epilepticus was induced by injecting lithium chloride and pilocarpine hydrochloride to 7–8-week-old male Wistar rats. Control animals were injected with saline instead of pilocarpine. Experimental groups consisted of animals with short mild seizures and prolong severe convulsions based on the fact that spontaneous recurrent seizures in the chronic phase develop predominantly in rats that had severe long-term seizures after pilocarpine administration. Analysis of *Il1b* and *Tnfa* mRNA expression was performed by quantitative RT-PCR in the dorsal and ventral hippocampus, temporal, entorhinal and medial prefrontal cortex 7 days after the administration of pilocarpine. The mRNA expression of *Il1b* but not *Tnfa* has been shown to be upregulated in the hippocampus of animals with prolonged severe seizures. No changes were observed in the temporal and entorhinal cortex. These data indicate that *Il1b* is very likely to be involved in epileptogenesis. Thus, the results of our study suggest that interleukin-1 receptors may be a potential therapeutic target for the prevention of epileptogenesis.

**Keywords:** lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy, interleukin-1 $\beta$ , tumor necrosis factor  $\alpha$ , hippocampus, temporal cortex, entorhinal cortex, medial prefrontal cortex

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Коваленко А.А., Калемениев С.В., Шварц А.П., Дёмина А.В., Зубарева О.Е. Региональная специфика изменений продукции мРНК провоспалительных цитокинов в литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 105(6): 716–723.

DOI: 10.1134/S0869813919060037

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Kovalenko A.A., Kalemenev S.V., Schwarz A.P., Dyomina A.V., Zubareva O.E. Regional Specificity of Changes in the mRNA Expression of the Proinflammatory Cytokines in the Lithium-Pilocarpine Model of Temporal Lobe Epilepsy. *Russian Journal of Physiology*. 105(6): 716–723.

DOI: 10.1134/S0869813919060037