

УДК 611.813.14.018: 599.323.4

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ АУДИОГЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КРЫС С АБСАНСНОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ

Леушкина Н.Ф., Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б.

*Кафедра морфологии и физиологии человека и животных
Башкирского государственного университета, Уфа*

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

В работе на созданных молекулярно-генетических моделях выявлена ассоциация генотипа A_2/A_2 локуса TAG 1A гена рецептора дофамина второго типа крыс с повышенной аудиогенной чувствительностью и увеличением удельной площади базолатеральной группировки миндалевидного комплекса по сравнению с крысами A_1/A_1 .

Эпилепсия является одним из наиболее распространенных неврологических заболеваний, имеет сложный полигенный характер и осложнена тем, что 30% пациентов резистентны к фармакотерапии. В настоящее время известен очень небольшой список генов, единичные мутации которых приводят к эпилепсии [18]. Много неясного в этиологии и патогенезе этого заболевания. Поэтому понимание биологических механизмов патогенеза и фармакорезистентности эпилепсии является актуальной задачей биологической психиатрии, невозможной без использования экспериментальных моделей [8]. В отношении эпилепсии эта задача облегчается тем фактом, что патогенетические механизмы эпилепсии сходны как у человека, так и животных [9].

Крысы линии WAG/Rij являются инбредной линией с генетически детерминированной абсансной эпилепсией. Согласно новой гипотезе абсансная эпилепсия является кортико-таламическим типом эпилепсии [6]. Ранее было показано, что у 30% взрослых крыс линии WAG/Rij аудиогенная стимуляция вызывает конвульсивные судороги. Так как крысы линии WAG/Rij выявляют устойчивую спонтанную пик-волновую активность, то аудиогенная субпопуляция этих крыс – хорошая модель для исследования смешанной формы эпилепсии, которая является тяжелой клинической проблемой для лекарственной терапии [7].

Впервые с помощью метода ПЦР изучен полиморфизм рестрикционного локуса TAG1A гена рецептора дофамина D_2 и варьирующих тандемных повторов гена переносчика дофамина [5]. В ранее проведенных исследованиях была показана ассоциация гена DRD_2 с особенностями ЭЭГ и гематологическими показателями двух указанных субпопуляций крыс линии WAG/Rij [2]. Целенаправленное скрещивание гомозиготных крыс этой линии позволило получить на кафедре морфологии и физиологии человека Башкирского государственного университета две субпопуляции крыс линии WAG/Rij.

Целью данной работы являлось выявление различий в аудиогенной чувствительности гомозиготных крыс линии WAG/Rij с генотипами A_1/A_1 и A_2/A_2 по локусу TAG 1A гена дофамина рецептора второго типа (далее обозначены как $A1A1$ и $A2A2$) и изучение планиметрических характеристик миндалевидного комплекса мозга (МК) у указанных групп крыс.

Всех использованных в работе половозрелых крыс (в возрасте шести месяцев, всего 200) содержали в стандартных условиях вивария, характеризующихся постоянством комнатной температуры (20^0-22^0)C и уровнем влажности. Еду и питье животные получали ad libitum. Аудиогенную чувствительность крыс определяли в специальной камере (60x60x60см) по методике [17], используя «звон ключей»

(«keys ringing»). Звуковой сигнал имел диапазон 13-85 kHz (максимум спектра 20-40 kHz) и среднюю интенсивность 50-60 dB с величиной пиков до 80-90 дБ. Стимульный раздражитель включал в себя ультразвуковую часть и был более эффективным для вызова большого судорожного припадка, чем звук звонка или гудка [17]. Он предъявлялся в течение 1,5 минут. Ответ на стимул оценивали по четырех - бальной шкале, следуя определенным объективным показателям реакции животного [10]. Общее количество крыс, подвергнутых тестированию на чувствительность к звуку, составляет 190 особей. Планиметрические исследования МК выполнены на 10 крысах – самцах половозрелого возраста. Головной мозг фиксировали в 10% кислом формалине, заливали в формалин, готовили фронтальные срезы. Структурно-количественные характеристики структур МК изучены на высокоинформативных срезах [4]. Фронтальные срезы толщиной 20 мкм были окрашены по методу Ниссля, изучены под микроскопом и использованы для приготовления фотографий с помощью цифровой камеры. Полученные изображения были введены в компьютер и с помощью программы JimageJ v.1.38x проведены измерения удельной площади структур МК, полученные результаты обработаны с помощью программы «Statistica 5,5».

Процент животных группы A1A1, проявивших чувствительность к аудиогенной стимуляции формированием большого судорожного припадка в выборке из десяти поколений (общее количество – 78), составил 16 процентов. Среди крыс, группы A2A2, процент отреагировавших на звуковой стимул судорожным припадком оказался равным 80.

Судороги, развивающиеся при действии сильного звука у лабораторных мышей и крыс, рассматриваются как модель эпилепсии человека и интенсивно исследуются в плане оценки роли генотипа в генезе этого явления [3].

При проведении планиметрических исследований измеряли абсолютные площади левого и правого полушария мозга, МК в левом и правом полушарии и его структур – дорсомедиального ядра и заднего кортикального ядра (входящих в состав его кортико-медиальной группировки) и комплекса латерального и базолатерального ядер (базолатеральная группа структур). Вычисляли удельные площади МК и его структур в полушариях мозга. Использовали критерий ϕ (фи) для обеспечения нормального распределения в получаемых вариационных рядах. Сравнение вариационных рядов проводили с помощью пакета программ «Statistica 5.5».

Полученные результаты показали, что при сравнении удельных площадей исследованных структур МК у крыс A1A1 и A2A2, определяются значимые различия в удельной площади дорсомедиального ядра и комплекса ядер базолатеральной группы. Удельная площадь дорсомедиального ядра у крыс A1A1 различается в правом и левом полушарии мозга, т.е. имеет явление асимметрии. Между группами крыс A1A1 и A2A2 различий по удельной площади этого ядра не выявлено.

Между двумя группами крыс (A1A1 и A2A2) обнаружены значимые различия в величине удельной площади комплекса базолатеральных ядер, удельная площадь, как в правом и левом полушариях больше у крыс A2A2. Результаты сравнения величины удельных площадей по этой структуре МК приведены в таблице.

Таблица 1. Результаты статистического сравнения удельных площадей базолатерального комплекса миндалевидного комплекса мозга у двух субпопуляций крыс (группы A1A1 и A2A2).

Полушарие, генотип	Левое A ₁ /A ₁	T, p	Левое A ₂ /A ₂	Правое A ₁ /A ₁	T, p	Правое A ₂ /A ₂
Уд.площадь ϕ	0,839 ±0,021	t=3,44, p=0,004	0,934 ±0,011	0,851 ±0,025	t=2,98, p=0,014	0,943 ±0,009

Итак, планиметрическое исследование структур МК - одного из ключевых блоков функциональной системы поведения, отвечающей за афферентный синтез, у крыс двух субпопуляций позволило выявить особенности в его структурной организации, вероятно, отражающие изменения в нейромедиаторной системе (и прежде всего, в дофаминэргической трансмиссии) мозга.

Результаты планиметрического исследования структур МК показали, что удельная площадь базолатеральной группировки у крыс А2А2 значимо больше как в правом ($p=0,014$), так и в левом ($p=0,004$) полушариях по сравнению с крысами А1А1.

Анализ связей латерального ядра МК [1] свидетельствует, что информация от латерального ядра широко иррадирует в интегративные центры мозга, включающие в себя как высшие висцеральные ядра (гипоталамус), так и подкорковые и корковые формации всех рангов (палеокортекс, архикортекс и неокортекс). Особо следует отметить, что эти связи идут в заднюю группу ядер таламуса [19,21], к которым относится и каудальный сектор ретикулярного ядра, связанный с обеспечением деятельности статоакустического анализатора. Исследованы и пути, идущие от слуховой коры. Показано, что пути от первичной слуховой коры следуют через внутреннюю капсулу, далее через хвостатое ядро и скорлупу; и пересекают ретикулярное ядро. При этом некоторые из них дают на его территории коллатерали, разветвляясь на территории его слухового сектора [23,24]. Также показано, что пути от кортикального слухового поля в медиальное коленчатое тело давали коллатерали аксонов в ретикулярное ядро таламуса [11].

Эфференты базолатерального ядра следуют к различным отделам промежуточного мозга, включая и медиальное коленчатое тело, имеющее прямое отношение к слуховыми путями [14,22]. Последнее, возможно, объясняет полисенсорные ответы и полимодальные реакции, получаемые с нейронов МК. По мнению [18], связи базолатерального ядра со структурами стриального комплекса являются дофаминэргическими и

формируют часть общей дофаминэргической системы, в состав которой входят черное вещество и вентральная тегментальная область. Этим обеспечиваются тесные связи базолатерального ядра с nigrostriальной системой, с гиппокампальной формацией [13] и с формациями новой коры (фронтальной, агранулярной инсулярной, височной) [12,15]. Каудальные две трети ядра проецируются к передней поясной коре передняя одна треть — к моторной и префронтальной коре [20,25]. Эти сведения отражают широкие связи ядер базолатерального комплекса с центрами слухового анализатора, а также формациями новой и старой коры, что позволяет предполагать, что увеличение удельной площади базолатерального комплекса ядер МК у аудиогенных животных может отражать особенности нейронных сетей, участвующих в восприятии звуков и передаче этой информации в высшие отделы мозга.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Акмаев И.Г., Калимуллина Л.Б. Миндалевидный комплекс мозга: функциональная морфология и нейроэндокринология. М.: Наука, 1993. 272 с.
2. Ахмадеев А.В., Бикбаев А.Ф., Баязитова Л.И. и др. // Медицинская генетика, 2005, №4, с.150.
3. Зорина З.А., Полетаева И.И., Резникова Ж.В. Основы этологии и генетики поведения. М.: Высшая школа, 2002. 383 с.
4. Калимуллина Л.Б., Калкаманов Х.А. Архив анат., 1990, № 8, с.82.
5. Калимуллина Л.Б., Ахмадеев А.В., Бикбаев А.Ф. и др. // Медицинская генетика, 2005, №5, с.198.
6. Меерен Х.К.М., ван Луителаар Е.Л.Дж., да Сильва Ф.Х.Лопес и др. // Успехи физиол. наук. 2004. - Т.35, №1, С.3.
7. Мидзяновская И.С., Кузнецова Г.Д., Туомисто Л. и др. // Нейрохимия, 2004, т.21, № 4, с.264.
8. Нуца Н.А., Калуев А.В. // Нейронауки, 2008, №3, с.23-30.
9. Погодаев К.И. Эпилептология и патохимия мозга. - М.: Медицина, 1986. - 288 с.

10. Саркисова К. Ю., Куликов М. А., Шацкова А. Б. // Ж-л. ВНД, 2005, том 55, №2, с. 253.
11. Hazama M., Kimura A., Donishi T. et al. //Neuroscience, 2004, Vol. 124, № 3, p. 655.
12. Ishikawa A., Nakamura S. //J.Neurosci., 2003, Vol.23, N 31, P.9987.
13. Krettek J., Price J. //Brain Res. 1974. Vol. 71, N 1. P. 150.
14. Krettek J. E., Price J. L. //J. Comp. Neurol. 1977a. Vol. 171, N 2. P. 157.
15. Krettek J. E., Price J. L. // J. Comp. Neurol, 1977b. Vol. 172, N 4. P. 687.
16. Krettek J. E., Price J. L. //J. Comp. Neurol 1978. Vol. 178, N 2. P. 225.
17. Kuznetsova G. D., Coenen A.M.L., van Luijtelaa E.L.M. Mixed forms of epilewpsy in a sub-population of WAG/Rij rats. In: The WagRij rat model of absence epilep-
sy: The Nijmegen – Moscow research. 2000, Nijmegen, NICI, 141 p.
18. Malley J.C.,Scheffer I.E., Harkin L.A. et al.// Hum.Mol. Genet., 2005, V.14, Spec.N2.,p.R243.
19. Masco D., Carrer H. F. // Physiol. Behav. 1980. Vol. 24, N 6. P. 1073.
20. McDonald A. J. // J. Comp. Neurol. 1987. Vol. 262, N 1. P. 46.
21. Nitecka L., Amerski L., Panek-Mikula J.et al.//Acta morphol. esp. 1979. Vol. 39, N. 6. P. 585.
22. Ottersen O. P., Ben-Ari Y. //J. Comp. Neurol. 1979. Vol. 187, N 2, P. 401.
23. Roger M., Arnault P. //J. Comp. Neurol., 1989, v. 287, № 3, p. 339.
24. Rouiller E.M., Welker E. //Hear. Res., 1991, v. 56, № 1-2, p. 179.
25. Sripanidkulchai K., Sripandkulchai B., Wyss // J. Physiol. Rev. 1984. Vol. 229, № 3. P. 419.

MOLECULO-GENETIC AND STRUCRURAL BASIS AUDIOGENIC SENSITIVENESS OF RATS WITH ABSENCE EPILEPSY

Leushkina N.F., Akhmadeev A.V., Kalimullina L.B.

Bashkir State University, Ufa

In this work, on established moleculo-genetic models was revealed association of genotype A_2/A_2 locus TAG 1A of gene receptor of dopamine in second type of rats with increased audiogenic sensitiveness and expansion of specific square of basolateral grouping of Amygdala in compare with A_1/A_1 rats.