

УДК: 57.024

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.418

КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ ПАРАМЕТРАМИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ И ПРОСТРАНСТВЕННОГО ОБУЧЕНИЯ У КРЫС С РАЗЛИЧИЯМИ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Ахмадиев П.А. ^{*1} – преп. каф. физиологии и спортивной медицины (ORCID 0000-0002-6716-1058); Ласточкин А.А. ² – студент бакалавриата каф. биологии и экологии (ORCID 0009-0002-3040-5781); Тазетдинов А.М. ² – канд. биол. наук, ст. преп. каф. генетики и фундаментальной медицины (ORCID 0000-0002-5825-4295); Тахирова З.Р. ² – канд. биол. наук, доц. каф. генетики и фундаментальной медицины (ORCID 0000-0003-3609-1971); Хисматуллина З.Р. ² – д-р биол. наук, проф. каф. биологии и экологии (ORCID 0000-0002-3209-5265); Хуснутдинова Э.К. ^{2,3} – д-р биол. наук, проф., зав. каф. генетики и фундаментальной медицины (ORCID 0000-0003-2987-3334)

¹ Башкирский университет физической культуры (филал) ФГБОУ ВО
«Уральский государственный университет физической культуры»

² ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»

³ Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук

*pavelakhmadiev@yandex.ru

Ключевые слова: трансгенные животные, дофамин, транспортер дофамина, крысы DAT-HET, соматосенсорная кора

Key word: transgenic animals, dopamine, dopamine transporter, DAT-HET rats, somatosensory cortex

Финансирование: исследование поддержано мегагрантом Правительства РБ (Договор №1 от 02.12.2022), государственным заданием Министерства науки и высшего образования РФ № 075-03-2024-123/1 (соглашение от 15.02.2024).

Поступила: 22.09.2024

Принята к публикации: 02.12.2024

Опубликована онлайн: 16.12.2024

РЕФЕРАТ



Результаты одного из недавних исследований биоэлектрической активности соматосенсорной коры головного мозга крыс говорят в пользу вовлеченности данной структуры в процессы пространственного ориентирования. Авторами было показано, что характер биоэлектрической активности может изменяться в зависимости от точки пространства, в которой находится животное. При этом неисследованным оставался участок первичной соматосенсорной коры, который содержит репрезентации вибрисс – Баррел-кортекс. Ранее нами проводились исследования способности крыс к пространственному обучению, у некоторых из этих животных затем изучалась структурная организация головного мозга. Таким образом, целью настоящей работы является поиск возможных корреляций между параметрами,

характеризующими поведение крыс при пространственном обучении, и данными, полученными при гистоморфологических исследованиях соматосенсорной коры головного мозга этих крыс. Объектом исследования служат данные, полученные в результате тестирования в восьмирукавном радиальном лабиринте и при морфометрических исследованиях соматосенсорной коры головного мозга крыс линий Wistar и DAT-HET. Исходя из результатов анализа, нами было сделано предположение, что успешность в пространственном обучении прямо связана с количеством нейронов в слое 4. В слое 5 такая роль отводится, прежде всего, глии. Различия между группами животных здесь количественные. Качественные различия наблюдались в отношении слоев 2/3 и 6. Так, для крыс линии Wistar характерны прямые корреляции поведенческих показателей с количеством нейронов в первом из вышеуказанных слоев, а в слое 6 - с плотностью распределения глии. В то же время, у крыс линии DAT-HET такие корреляции отсутствуют.

ВВЕДЕНИЕ/INTRODUCTION

Среди участков коры головного мозга человека и других млекопитающих выделяют соматосенсорную область, отвечающую, главным образом, за проприоцепцию, ноцицепцию и тактильную чувствительность. Первичная соматосенсорная кора крыс содержит участок, являющийся репрезентацией их усов – вибрисс, – играющих важную роль в восприятии окружающей среды. В литературе для обозначения данной структуры используется термин «Баррел-кортекс». Существуют данные [3], говорящие в пользу того, что соматосенсорная кора, помимо прочего, вовлечена в процессы пространственного ориентирования – было показано, что характер биоэлектрической активности может изменяться в зависимости от точки пространства, в которой находится грызун. Однако при этом авторы отмечают, что электроды, посредством которых проводилась регистрация сигнала, находились вне баррел-кортекса.

Открытие вовлеченности соматосенсорной коры в процессы, связанные с ориентированием в пространстве, побудило нас сопоставить друг с другом уже имеющиеся в нашем распоряжении данные, полученные в ходе ранее проведенных нами исследований. Так, помимо прочего, нами изучался процесс пространственного обучения грызунов в восьмирукавном радиальном лабиринте. Мозг некоторых животных из этого числа, после выведения их из эксперимента, служил, в свою очередь, объектом исследования структурной организации соматосенсорной коры. Корреляционный ана-

лиз между морфометрическими показателями и параметрами, характеризующими поведение животных в лабиринте, мог бы стать отправной точкой для других, более узконаправленных экспериментов в той области.

В вышеупомянутых нами экспериментах изучались особенности крыс линии DAT-HET. Эти животные являются гетерозиготными носителями искусственной делеции в гене SLC6A3 [1]. Продуктом данного гена является транспортер дофамина, который, в свою очередь, осуществляет обратный захват одноименного нейромедиатора в пресинаптическое окончание [2]. Наличие данных, полученных в ходе исследования крыс линии DAT-HET, также может способствовать лучшему пониманию возможной роли дофамина в навигационной системе соматосенсорной коры.

Несмотря на то, что в соматосенсорной области коры головного мозга крыс цитоархитектонически различают шесть слоев, необходимо помнить о ряде особенностей. Во-первых, не существует четкой границы между слоями 2 и 3 [4], поэтому их часто рассматривают как один слой 2/3. Однако с точки зрения функции здесь можно выделить три зоны, неразличимые морфологически. Подобным образом слой 5 подразделяется на слои 5А и 5Б, а слой 6 – на слои 6А и 6Б. При этом существуют предположения, что и внутри этих «подслоев» существует некоторая функциональная гетерогенность [5]. Поэтому, основываясь на анализе гистологических срезов, окрашенных с использованием выбранной методики, не представ-

ляется корректной интерпретация результатов в контексте функционального значения каждого из отдельно взятых слоев. Скорее, речь идет о первоначальной, грубой оценке, которая может быть ориентиром для последующих работ.

Таким образом, целью данного исследования является изучение возможных взаимосвязей между структурной организацией баррел-кортекса крыс и их поведением в восьмирукавном радиальном лабиринте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования служат данные крыс линий Wistar (n=9) и DAT-NET (n=6), полученные в результате тестирования в восьмирукавном радиальном лабиринте и при морфометрических исследованиях соматосенсорной коры головного мозга этих животных.

Тестирование в восьмирукавном радиальном лабиринте длилось 15 дней. 3 из них отводилось на привыкание животного к устройству. В последующие 12 дней реализовывался протокол, состоящий из четырех последовательных стадий: 1) помещение крысы в центральную часть установки приблизительно на 30 секунд, все двери при этом закрыты; 2) предоставление доступа в 4 рукава, имеющие пищевое подкрепление; 3) помещение в центральную часть устройства, все рукава при этом заблокированы. Длительность задержки – 1,5 минуты; 4) предоставление доступа ко всем восьми рукавам, при этом пищевое подкрепление имеют только те, что являлись заблокированными на этапе тренировки.

Регистрировалось количество входов в рукава, на основании которого рассчитывался балл (БП):

$$БП = \frac{n_{пр} - n_{ош}}{n_{пр} + n_{ош}}$$

где $n_{пр}$ – количество «правильных» входов в рукава, $n_{ош}$ – количество «ошибочных» входов.

Животные наркотизировались при помощи инъекционного внутривенного введения хлоралгидрата, затем производилась декапитация с последующим

извлечением головного мозга.

Для извлечения мозга череп предварительно освобождался от мягких тканей. Затем бранша ножницы вводилась в большое затылочное отверстие, и делался надрез для раздробления затылочной кости. После вышеуказанных процедур при использовании хирургического и анатомического пинцетов удалялись небольшие фрагменты покровных костей черепа. Затем мозг отделялся с базальной поверхности путем отсечения элементов оболочек мозга. Также с помощью скальпеля рассекались I-VIII пары черепно-мозговых нервов. После извлечения головного мозга помещался в забуференный формалин по Лилли.

Следующим этапом явилось изготовление гистологических препаратов, включающее в себя промывку в проточной воде, обезвоживание, уплотнение, заливку в парафин, приготовление срезов на микротоме. После наклеивания срезов на стекло производилась окраска крезильным фиолетовым и заключение срезов в канадский бальзам.

Посредством использования светового микроскопа, электронного окуляра и программы LevenhukLite производился анализ плотности распределения нейронов и глиоцитов на площади 0,01 мм². При подсчете клеток нами не ставилась цель дифференцировать различные типы нейронов и глиоцитов, однако, исходя из особенностей локализации, можно говорить об отсутствии эпендимоцитов в выборке. Нейроглиальный индекс рассчитывался как количественное отношение плотности распределения клеток глии к таковой нейронов.

Анализ данных проводился с помощью программы Statistica 12 (StatSoft, USA). Для исследования взаимосвязи между морфометрическими и поведенческими параметрами нами рассчитывался коэффициент корреляции Пирсона. Результат считался статистически значимым при $p \leq 0,05$. В качестве основных анализируемых параметров, характеризующих поведение грызунов в восьмирукавном радиальном лабиринте, нами бы-

ли рассчитаны индексы. В тех случаях, когда крыса совершает лишь один ошибочный вход в рукав, БП принимает значение «0,6». Так, нами было вычислено отношение всех экспериментальных сессий, при которых БП равнялся 0,6 и выше, к общему количеству сессий. Этот индекс мы обозначили как $БП_{0,6+}$. Аналогичным образом были рассчитаны индексы $БП_{0,3+}$ и $БП_{отр}$. Первый представляет собой отношение всех сессий, в которые было сделано не более 2 ошибок, к общему количеству сессий, второй – количество сессий, в которые были получены отрицательные значения. Помимо индексов, с данными, полученными на каждом из участков гистологического среза площадью $0,01 \text{ мм}^2$, был соотнесен БП, рассчитанный для каждой из крыс, и отражающий поведение животного в каждый конкретный день. Однако непостоянное наличие корреляций и разная их направленность вносит немалый субъективный компонент в интерпретацию результатов и делает данный тип анализа, скорее, вспомогательным.

РЕЗУЛЬТАТЫ/RESULTS

В слое 2/3 у крыс линии Wistar существует умеренная положительная корреляция плотности распределения нейронов с индексами $БП_{0,6+}$ и $БП_{0,3+}$. У крыс линии DAT-HET отсутствует корреляция значений данного параметра как с индексами, так и с баллами памяти в каждый из дней эксперимента.

У крыс линии DAT-HET существует умеренная прямая корреляция между количеством нейронов в слое №4 и индексами $БП_{0,6+}$ и $БП_{0,3+}$. У крыс линии Wistar корреляция вышеуказанных индексов с нейронами данного слоя отсутствует, однако их количество имеет обратную умеренную корреляцию с $БП_{отр}$, как и у трансгенных животных. Поэтому по параметру «Плотность распределения нейронов» между группами прослеживается определенное сходство.

Нейроглиальный индекс в слое №4 у DAT-HET отрицательно коррелирует с $БП_{0,6+}$ и $БП_{0,3+}$, а с $БП_{отр}$ – положительно. У крыс линии Wistar, напротив, была выяв-

лена умеренная положительная корреляция значений нейроглиального индекса с $БП_{0,3+}$, и корреляция плотности распределения глии с $БП_{0,6+}$ и $БП_{0,3+}$, в первом случае – умеренная, во втором – сильная.

Разница в количестве нейронов на единицу площади в этом слое, в сравнении с другими, является наиболее выраженной ($29,40 \pm 2,13$ у DAT-HET и $36,70 \pm 2,60$ у Wistar). Отсюда может быть сделано предположение о том, что нейроглиальный индекс отражает выраженность глиоза, подкрепляя гипотезу о значении данного слоя, а именно количества нейронов здесь, в процессах пространственного обучения.

В слое №5 не было обнаружено никаких корреляций с индексами среди крыс линии Wistar, хотя при анализе по дням наблюдалась умеренная положительная корреляция в 5 случаях с плотностью распределения сателлитной глии. Все эти дни приходились на вторую неделю, т.е. на поздний этап эксперимента. У крыс DAT-HET присутствует умеренная положительная взаимосвязь плотности распределения глии с $БП_{0,6+}$ и $БП_{0,3+}$, таким же образом данный параметр коррелирует с БП в восьми из двенадцати дней эксперимента.

Таким образом, для слоя 5 в обеих группах не было выявлено корреляций между количеством нейронов и индексами, отражающими успешность пространственного обучения. При этом, в той или иной степени, у крыс обеих линий существует взаимосвязь с количеством глии, что позволяет предположить наличие количественных, но не качественных различий.

В слое 6 не было обнаружено корреляций для крыс линии DAT-HET. У крыс линии Wistar была выявлена умеренная положительная корреляция плотности распределения нейронов с индексами $БП_{0,6+}$ и $БП_{0,3+}$, сателлитной глии – с индексом $БП_{0,6+}$, глии в целом – с $БП_{0,3+}$.

Если рассматривать исследуемую область соматосенсорной коры в целом, то можно обратить внимание на то, что для каждой из групп животных в слоях 4 и 5

характерны одни и те же тенденции, различия здесь будут, скорее, количественными. В то же самое время, различия в слоях 2/3 и 6 с большей вероятностью можно назвать качественными. Так, опираясь на данные наших предыдущих исследований, в первом из вышеупомянутых отсутствуют статистически значимые различия в распределении нейронов глии, нейроглиального индекса между группами, при этом характер корреляций различен.

ВЫВОДЫ/CONCLUSIONS

Обнаружено достаточно большое количество корреляций между морфометрическими параметрами и показателями, характеризующими пространственное обучение крыс в восьмирукавном радиальном лабиринте.

Сделано предположение, что успешность в пространственном обучении прямо связана с количеством нейронов в слое 4. В слое 5 такая роль отводится, прежде всего, глии. В случае с этими слоями, различия между линиями крыс, скорее, количественные.

Слои 2/3 и 6 могут быть вовлечены в процессы пространственного обучения по-разному в зависимости от линии животных. Так, для крыс линии Wistar характерны прямые корреляции поведенческих показателей с количеством нейронов в первом из вышеуказанных слоев, а в слое 6 - с плотностью распределения глии. В то же время, у крыс линии DAT-HET такие корреляции отсутствуют.

CORRELATIONS BETWEEN STRUCTURAL ORGANIZATION PARAMETERS OF THE SOMATOSENSORY CORTEX AND SPATIAL LEARNING CAPABILITIES IN RATS RESPECTING DOPAMINERGIC TRANSMISSION DIFFERENCES

Akhmadiev P.A. ^{*1} – lecturer, Department of Physiology and Sports Medicine (ORCID 0000-0002-6716-1058); **Lastochkin A.A.** ² – undergraduate student, Department of Biology and Ecology (ORCID 0009-0002-3040-5781); **Tazetdinov A.M.** ¹ – PhD, senior lecturer, Department of Genetics and Fundamental Medicine (ORCID 0000-

0002-5825-4295); **Takhirova Z.R.** ¹ – PhD, associate professor, Department of Genetics and Fundamental Medicine (ORCID 0000-0003-3609-1971); **Khismatullina Z.R.** ² – Grand PhD, professor of the Department of Biology and Ecology (ORCID 0000-0002-3209-5265); **Khusnutdinova E.K.** ^{2,3} – Grand PhD, professor, head of the Department of Genetics and Fundamental Medicine (ORCID 0000-0003-2987-3334)

¹Bashkir Institute of Physical Education (branch) of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Ural State University of Physical Education”

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Ufa University of Science and Technology”

³Institute of Biochemistry and Genetics – a separate structural division of the Federal State Budgetary Scientific Institution Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa

Funding: the research was supported by a mega-grant from the Government of the Republic of Belarus (Agreement No. 1 dated 02.12.2022), state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation No. 075-03-2024-123/1 (agreement dated 15.02.2024).

*pavelakhmadiev@yandex.ru

ABSTRACT

The results of a recent study of the bioelectrical activity of the somatosensory cortex of the rat brain indicate the involvement of this structure in spatial orientation processes. The authors showed that the nature of the bioelectrical activity can change depending on the point in space where the animal is located. At the same time, the area of the primary somatosensory cortex, which contains the representations of the whiskers - the barrel cortex - remained unexplored. Previously, we conducted studies of the ability of rats to spatial learning, and then studied the structural organization of the brain in some of these animals. Thus, the goal of this work is to search for possible correlations between

the parameters characterizing the behavior of rats during spatial learning and the data obtained in histomorphological studies of the somatosensory cortex of these rats. The object of the study is the data obtained as a result of testing in an eight-arm radial maze and in morphometric studies of the somatosensory cortex of the Wistar and DAT-HET rats. Based on the results of the analysis, we made the assumption that success in spatial learning is directly related to the number of neurons in layer 4. In layer 5, this role is assigned primarily to glia. The differences between the groups of animals here are quantitative. Qualitative differences were observed in relation to layers 2/3 and 6. Thus, Wistar rats are characterized by direct correlations of behavioral indicators with the number of neurons in the first of the above layers, and in layer 6 - with the density of glia distribution. At the same time, such correlations are absent in DAT-HET rats

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гайнетдинов, А. Р. Поведенческие изменения у крыс-гетерозигот по нокауту гена дофаминавого транспортера *dat* / А. Р. Гайнетдинов, З. С. Фесенко, З. Р. Хисматуллина // Биомедицина. – 2020. – № 1. С. 82–88. – DOI 10.33647/2074-5982-16-1-82-88. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42577533>
2. Jaber, M. Jones S., Giros B., Caron M. G. The dopamine transporter: a crucial component regulating dopamine transmission / M. Jaber, S. Jones, B. Giros, M. G. Caron // *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. – 1997 – Т. 12 – №5 – С. 629-633. – DOI 10.1002/mds.870120502. Режим доступа: <https://movementdisorders.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mds.870120502>
3. Long, X. Zhang S. J. A novel somatosensory spatial navigation system outside the hippocampal formation/ X. Long, S. J. Zhang // *Cell research*. – 2021 – Т. 31 – №6 – С. 649-663. – DOI 10.1038/s41422-020-00448-8. Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s41422-020-00448-8>
4. Paxinos, G. (ed.) *The rat nervous system* / G. Paxinos. – Кембридж: издательство «Academic press», 2004. – 1052 с. Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/book/9780125476386/the-rat-nervous-system>
5. Staiger, J.F. Neuronal circuits in barrel cortex for whisker sensory perception / J.F. Staiger, C. C. H. Petersen // *Physiological reviews*. – 2021 – Т. 101 – №1. – С. 353-415. DOI 10.1152/physrev.00019.2019. Режим доступа: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physrev.00019.2019>

REFERENCES

1. Gainetdinov, A.R. Povedencheskie izmeneniya u kryss-geterozigot po nokautu gena dofaminovogo transportera *dat* / A.R. Gainetdinov, Z.S. Fesenko, Z.R. Khismatullina // *Biomeditsina*. 2020:1:82–88. – DOI 10.33647/2074-5982-16-1-82-88 URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42577533> (In Russ.)
2. Jaber, M. Jones S., Giros B., Caron M. G. The dopamine transporter: a crucial component regulating dopamine transmission / M. Jaber, S. Jones, B. Giros, M. G. Caron // *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. 1997:12(5):629–633. – DOI 10.1002/mds.870120502 URL: <https://movementdisorders.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mds.870120502>
3. Long, X. Zhang S. J. A novel somatosensory spatial navigation system outside the hippocampal formation/ X. Long, S. J. Zhang // *Cell research*. – 2021:31(6):649–663. – DOI 10.1038/s41422-020-00448-8. URL: <https://www.nature.com/articles/s41422-020-00448-8>
4. Paxinos, G. (ed.) *The rat nervous system* / G. Paxinos. – Cambridge: publishing house «Academic press», 2004:1052. URL: <https://www.sciencedirect.com/book/9780125476386/the-rat-nervous-system>
5. Staiger, J.F. Neuronal circuits in barrel cortex for whisker sensory perception / J.F. Staiger, C. C. H. Petersen // *Physiological reviews*. 2021:101(1):353–415.