

УДК 57.084.1

^{1,2}Ахмадиев П. А., ¹Ласточкин А. А., ¹Тазетдинов А. М.,
¹Тахирова З. Р., ¹Хисматуллина З. Р.

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ЛИНИИ DAT-НЕТ

¹Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Российская Федерация

²Башкирский институт физической культуры (филиал) ФГБОУ ВО «Уральский государственный университет физической культуры», Уфа, Российская Федерация

Аннотация. Целью работы является изучение баррел-кортекса крыс линии DAT-НЕТ.

Методика работы заключается в цитоархитектоническом и морфометрическом анализе соматосенсорной коры головного мозга крыс линии DAT-НЕТ.

Объектом исследования послужили крысы линии DAT-НЕТ в количестве 6 животных и, в качестве контрольной группы — крысы линии Wistar в количестве 10 животных.

Основные результаты работы показали, что в баррел-кортексе животных опытной группы можно выделить те же слои, что и у контрольной группы, клеточный состав которых, при выбранной методике, представляется качественно одинаковым. Существуют количественные различия в плотности распределения нейронов и нейроглии, нейроглиальном соотношении. Во всех слоях баррел-кортекса ядра нейронов крыс линии DAT-НЕТ имеют меньший размер и более низкое ядерно-цитоплазматическое отношение. Во всех слоях, кроме 6-го, у трансгенных животных размер тела нейронов ниже, чем в контрольной группе. Нейроглиальный индекс выше в опытной группе во всех слоях, кроме 2/3 — здесь различий не обнаружено. Различия в плотности распределения нейронов являются статистически значимыми лишь в слое 4 — здесь у крыс линии DAT-НЕТ она ниже, чем у контрольной группы. Во всех слоях, кроме 2/3, плотность распределения глиоцитов выше в опытной группе. При этом в слоях 4 и 6 количество глии на единицу площади выше в целом, как свободной, так и сателлитной, в слое 5 — лишь сателлитной.

Ключевые слова: соматосенсорная кора головного мозга, трансгенные животные, дофаминергическая система, транспортер дофамина DAT.

^{1,2}Akhmadiev P. A., ¹Lastochkin A. A., ¹Tazetdinov A. M.,
¹Takhirova Z. R., ¹Khismatullina Z. R.

THE STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE SOMATOSENSORY CEREBRAL CORTEX IN DAT-HET RATS

¹Ufa University of science and technology, Ufa, Russian Federation

²Bashkir Institute of physical culture, Ufa, Russian Federation

Abstract. The aim of the work is to study the barrel cortex of DAT-HET rats.

The methodology of the work consists of cytoarchitectonic and morphometric analysis of the somatosensory cerebral cortex of DAT-HET rats. The object of the study was

DAT-HET rats in the amount of 6 animals and, as a control group, Wistar rats in the amount of 10 animals.

The main results of the work showed that in the barrel cortex of animals in the experimental group, the same layers can be identified as in the control group, the cellular composition of which, with the chosen method, appears to be qualitatively the same. There are quantitative differences in the distribution density of neurons and neuroglia and the neuroglial ratio. In all layers of the barrel cortex, the nuclei of DAT-HET rat neurons are smaller in size and have a lower nuclear-cytoplasmic ratio. In all layers except 6, the neuronal body size in transgenic animals is lower than in the control group. The neuroglial index was higher in the experimental group in all layers except 2/3 — no differences were found here. Differences in the distribution density of neurons are statistically significant only in layer 4 — here in DAT-HET rats it is lower than in the control group. In all layers, except 2/3, the distribution density of gliocytes is higher in the experimental group. Moreover, in layers 4 and 6 the number of glia per unit area is generally higher, both free and satellite, while in layer 5 it is only satellite.

Keywords: somatosensory area of a cerebral cortex, transgenic animals, dopaminergic system, dopamine transporter DAT.

ВВЕДЕНИЕ

Дофамин — нейротрансмиттер, имеющий большое значение в нормальном функционировании человеческого организма. Это говорит о важности данного медиатора, в частности, в существовании патологий, связанных с нарушением дофаминовой передачи. Так, одной из структур, вовлеченной в данный процесс, является транспортер дофамина DAT, непосредственной функцией которого является осуществление обратного захвата дофамина [1]. Наличие вышеуказанного транспортера связывают с экспрессией гена SLC6A3, с нарушениями структуры которого, согласно результатам различных исследований, ассоциирован ряд патологических состояний. Сюда можно отнести аддиктивные расстройства, аутизм, биполярное расстройство, болезнь Паркинсона, синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) [2], а также ассоциированный с SLC6A3 синдром дефицита дофаминового транспортера [3].

Выявлению особенностей влияния нарушений в гене SLC6A3 на функционирование организма может способствовать задействование в научных исследованиях модельных объектов, таких как крысы линии DAT-KO и DAT-HET. Эти линии были получены в результате нокаута гена SLC6A3. Представители первой из вышеупомянутых линий являются гомозиготами по нокаутному гену, а представители второй, соответственно — гетерозиготами [4].

Несмотря на то что различия между носителями гена дикого типа, гетеро- и гомозиготами являются количественными, в ряде случаев наблюдались и качественно иные реакции в определенных условиях [5, 6]. Данные обстоятельства делают актуальными всесторонние исследования крыс линии DAT-HET, в частности, интерес представляет соматосенсорная кора головного мозга, а именно — баррел-кортекс. Баррел-кортекс — участок соматосенсорной коры крыс и мышей, репрезентирующий вибриссы — усы, играющие важную роль в процессах считывания тактильной информации. Четвертый слой баррел-кортекса имеет структурные образования, именуемые баррелами (англ. barrel — бочка), каждый

из которых репрезентирует определенный ус на морде грызуна. Такая упорядоченность позволяет использовать баррел-кортекс в качестве модели для изучения процессов обработки информации корой головного мозга, включая механизмы нейропластичности [7].

Целью настоящей работы явилось изучение баррел-кортекса крыс линии DAT-НЕТ. Для достижения цели был поставлен ряд задач, а именно:

- 1) изучить цитоархитектонику соматосенсорной коры головного мозга крыс линии DAT-НЕТ;
- 2) провести морфометрический анализ нейронов соматосенсорной коры мозга крыс;
- 3) определить плотность распределения нейронов и глиоцитов в слоях соматосенсорной коры мозга крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на крысах линии DAT-НЕТ ($n = 6$) и Wistar (контрольная группа, $n = 10$). Вес крыс составлял 300 ± 25 г. Животные содержались в виварии ФГБОУ ВО УУНИТ (Уфа) в условиях естественного освещения при свободном доступе к еде и питью. Животные наркотизировались при помощи инъекционного внутрибрюшинного введения хлоралгидрата, затем производилась декапитация с последующим извлечением головного мозга.

После извлечения головной мозг помещался в забуференный формалин по Лилли. Изготовление гистологических препаратов включало в себя промывку в проточной воде, обезвоживание, уплотнение, заливку в парафин, приготовление срезов на микротоме. После наклеивания срезов на стекло производилась окраска крезильовым фиолетовым и заключение срезов в канадский бальзам.

Посредством использования светового микроскопа, электронного окуляра и программы Levenhuk Lite производился цитоархитектонический анализ соматосенсорной коры, вычисление площади отдельно взятых нейронов и их ядер, плотность распределения нейронов и глиоцитов, рассчитывался нейроглиальный индекс.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи программы STATISTICA 12.0 (Statsoft, USA). Проверка на нормальность распределения производилась при помощи критерия Шапиро-Уилка и, в целях повышения точности анализа, графическим методом при помощи построения Q-Q графика. Поскольку выборки подчинялись закону нормального распределения, в дальнейшем для проверки гипотез использовался t-критерий Стьюдента для независимых выборок, различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В соматосенсорной коре обеих групп животных было идентифицировано 6 слоев: 1-й — молекулярный, 2-й — наружный зернистый, 3-й — наружный пирамидный, 4-й — внутренний зернистый, 5-й — внутренний пирамидный, 6-й — слой веретеновидных нейронов, при этом между слоями 2 и 3 отсутствует четкая граница. В слоях 2–6 в обеих группах присутствуют глиоциты — как свободные, так и сателлитные, пирамидные и ассоциативные нейроны.

По результатам математической обработки данных может быть заключено, что во всех исследуемых слоях выбранной области соматосенсорной коры нейроны крыс линии DAT-НЕТ имеют статистически значимо меньший размер ядер, чем у животных контрольной группы. Относительно такого параметра, как площадь нейрона, вышеуказанное наблюдение характерно для всех слоев коры, кроме 6-го: здесь разница в размерах практически отсутствует. Ядерно-цитоплазматическое отношение нейронов баррел-кортекса крыс линии DAT-НЕТ во всех исследуемых слоях является более низким, чем в той же структуре у крыс линии Wistar. Морфометрические показатели приведены в *табл. 1*.

Нейроглиальный индекс баррел-кортекса соматосенсорной коры крыс линии DAT-НЕТ значимо выше во всех слоях, кроме 2/3. Стоит отметить, что различия по данному параметру являются не только количественными, но и качественными: в то время как у крыс линии DAT-НЕТ наиболее преобладающими клетками являются глиоциты, в контрольной группе выше относительное число нейронов. В четвертом слое глиоциты расположены более плотно у трансгенных животных, однако количество нейронов на единицу площади статистически значимо ниже. В то же самое время в слоях 5 и 6, по-видимому, высокий нейроглиальный индекс возникает лишь как следствие преобладания клеток глии, поскольку в данных слоях отсутствуют статистически значимые различия в плотности распределения нейронов. Показатели плотностей распределения нейронов и глиоцитов, а также нейроглиальный индекс приведены в *табл. 2*.

Таблица 1

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙРОНОВ РАЗЛИЧНЫХ СЛОЕВ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ЛИНИЙ DAT-НЕТ И WISTAR

Слой	Площадь ядра нейрона, мкм ²		Общая площадь нейрона, мкм ²		Ядерно-цитоплазматическое отношение	
	DAT-НЕТ	Wistar	DAT-НЕТ	Wistar	DAT-НЕТ	Wistar
2/3	13,08±0,63*	20,42±1,44	37,40±1,98*	49,25±3,21	0,55±0,03*	0,72±0,06
4	15,79±1,08*	22,19±1,38	40,61±2,78*	49,87±2,60	0,64±0,03*	0,83±0,06
5	28,92±2,02*	40,07±2,66	120,28±4,76*	95,75±5,96	0,58±0,03*	0,78±0,07
6	16,68±1,11*	23,47±1,52	47,78±3,73	48,48±2,25	0,60±0,05*	0,96±0,08

* — статистически значимые различия между группами животных ($p \leq 0,05$). Данные приведены в виде среднего и среднего квадратического отклонения.

По результатам измерения плотности распределения глии с учетом того, являлась ли она свободной или сателлитной, также были сделаны некоторые наблюдения. Как и в случае с общей плотностью распределения глиоцитов, в слое 2/3 не выявлено различий между группами. В слоях 4 и 6 у крыс опытной группы выше плотность распределения как свободной, так и сателлитной глии.

Таблица 2

**МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙРОНОВ РАЗЛИЧНЫХ
СЛОЕВ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ЛИНИЙ
DAT-НЕТ И WISTAR**

Слой	Нейроглиальный индекс		Плотность распределения нейронов, п/0,01 клеток/мм ²		Плотность распределения глии, п/0,01 клеток/мм ²	
	DAT НЕТ	Wistar	DAT НЕТ	Wistar	DAT НЕТ	Wistar
2/3	0,56±0,04	0,46±0,05	29,40±1,46	28,00±1,47	16,08±0,96	12,92±1,29
4	1,24±0,09*	0,72±0,55	29,40±2,13*	36,70±2,60	35,4±2,78*	26,28±2,52
5	1,42±0,13	0,88±0,10	19,50±1,65*	20,71±2,15	26,50±2,19*	18,00±1,66
6	1,27±0,18	0,84±0,10	26,00±2,35*	23,22±2,50	30,60±2,48*	18,06±1,60

* — статистически значимые различия между группами животных ($p \leq 0,05$). Данные приведены в виде среднего и среднего квадратического отклонения.

Стоит отметить, что, несмотря на различия в количестве во всех слоях, только в 4-м слое свободная и сателлитная глия количественно иначе соотносятся друг с другом. В то время как в контрольной группе в данном слое количество свободной и сателлитной глии примерно одинаково, в группе животных DAT-НЕТ количество свободной глии приблизительно в два раза превосходит количество сателлитной глии. В контексте данной части исследования можно также заключить, что в 5-м слое у крыс линии DAT-НЕТ выше количество сателлитных нейроглиоцитов. Учитывая отсутствие различий в плотности распределения нейронов и свободной глии, следует говорить о том, что нейроглиальный индекс здесь выше именно вследствие большего количества сателлитной глии. Значения плотностей распределения свободных и сателлитных глиоцитов в различных слоях баррел-кортекса приведены в *табл. 3*.

Таким образом, существуют количественные различия в плотности распределения нейронов и нейроглии, нейроглиальном соотношении. Во всех слоях баррел-кортекса ядра нейронов крыс линии DAT-НЕТ имеют меньший размер и более низкое ядерно-цитоплазматическое отношение. Во всех слоях, кроме 6-го, у трансгенных животных размер тела нейронов значимо ниже, чем в контрольной группе. Нейроглиальный индекс выше в опытной группе во всех слоях, кроме 2/3 — здесь различий не обнаружено. Различия в плотности распределения нейронов являются статистически значимыми лишь в слое 4 — здесь у крыс линии DAT-НЕТ она ниже, чем у контрольной группы. Во всех слоях, кроме 2/3, плотность распределения глиоцитов выше в опытной группе. При этом в слоях 4 и 6 количество глии на единицу площади выше в целом, как свободной, так и сателлитной, в слое 5 — лишь сателлитной.

Исходя из сделанных наблюдений, можно сделать вывод: структурная организация соматосенсорной коры головного мозга крыс линии DAT-НЕТ имеет ряд отличий от таковой у крыс контрольной группы, что является предпосылкой для дальнейших исследований соматосенсорной коры в контексте дофаминовой передачи.

Таблица 3

**ЗНАЧЕНИЯ ПЛОТНОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНЫХ
И САТЕЛЛИТНЫХ ГЛИОЦИТОВ В РАЗЛИЧНЫХ СЛОЯХ
БАРЕЛ-КОРТЕКСА КРЫС ЛИНИЙ DAT-НЕТ И WISTAR**

Слой	Свободная нейроглия		Сателлитная нейроглия	
	DAT-НЕТ	Wistar	DAT-НЕТ	Wistar
2/3	$\diamond 9,67 \pm 0,95$	$\diamond 8,04 \pm 0,68$	$6,42 \pm 0,69$	$4,88 \pm 0,87$
4	$*\diamond 22,2 \pm 2,48$	$10,25 \pm 1,49$	$*13,2 \pm 1,38$	$9,00 \pm 1,18$
5	$\diamond 15,8 \pm 1,12$	$\diamond 12,56 \pm 1,32$	$*10,7 \pm 1,54$	$5,44 \pm 0,58$
6	$\diamond *22,00 \pm 2,53$	$\diamond 14,06 \pm 1,42$	$*8,6 \pm 1,21$	$4,00 \pm 0,62$

\diamond — статистически значимые различия между различными типами глиоцитов в той же группе.

* — статистически значимые различия в количестве конкретного типа глиоцитов между группами животных. Во всех случаях различия считались значимыми при $p \leq 0,05$.

Данные приведены в виде среднего и среднего квадратического отклонения

Работа выполнена при поддержке государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (код научной темы FZWU-2023-0002), мегагранта Правительства Республики Башкортостан (договор № 1 от 02.12.2022).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Jaber M., Jones S., Giros B., Caron M. G.* The dopamine transporter: a crucial component regulating dopamine transmission. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society.* 1997; 12(5):629–633.
2. *Reith M. E., Kortagere S., Wiers C. E., Sun H., et al.* The dopamine transporter gene SLC6A3: multidisease risks. *Molecular psychiatry.* 2022; 27(2):1031–1046.
3. *Spaull R., Kurian M. A.* SLC6A3-related dopamine transporter deficiency syndrome / In: *GeneReviews.* University of Washington, Seattle, 2017.
4. *Гайнетдинов А. Р., Фесенко З. С., Хисматуллина З. Р.* Поведенческие изменения у крыс-гетерозигот по нокауту гена дофаминавого транспортера *dat* // *Биомедицина.* 2020. № 1. С. 82–88.
5. *Adinolfi A., Zelli S., Leo D., Carbone C., Mus L., et al.* Behavioral characterization of DAT-KO rats and evidence of asocial-like phenotypes in DAT-HET rats: The potential involvement of norepinephrine system. *Behavioural brain research.* 2019; 359:516–527.
6. *Belov D., Fesenko Z., Efimov A., Lakstygala A., Efimova E.* Different sensitivity to anesthesia according to ECoG data in dopamine transporter knockout and heterozygous rats. *Neuroscience Letters.* 2022; 788:136839–136839.
7. *Staiger J. F., Petersen C. C. H.* Neuronal circuits in barrel cortex for whisker sensory perception. *Physiological reviews.* 2021; 101(1):353–415.