

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МИНДАЛЕВИДНОГО КОМПЛЕКСА МОЗГА КРЫС, ПРОЯВЛЯЮЩИХ РАЗНЫЕ СТРАТЕГИИ ПОВЕДЕНИЯ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННЫМ ИЗМЕНЕНИЕМ ЭКСПРЕССИИ ИЗОФОРМ D-2 РЕЦЕПТОРА

Ахмадеев А.В.

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет Минобрнауки РФ», Уфа, Россия (450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32) e-mail: mpha@ufanet.ru

Целью работы явился анализ структурно-количественных характеристик миндалевидного комплекса мозга (МК) и содержания в нем дофамина (ДА) у крыс с генотипами A₁/A₁ и A₂/A₂ по локусу Taq 1 A DRD₂. Морфометрический анализ МК выявил, что его площадь не различается у крыс с генотипами A₁/A₁ и A₂/A₂, но обнаружил высоко значимое увеличение удельной площади базолатеральной группировки структур МК и большую относительную массу головного мозга у крыс с генотипом A₂/A₂. Хроматографический анализ ткани МК показал: а) в МК крыс с генотипом A₁/A₁ содержится больше дофамина по сравнению с крысами, имеющими генотип A₂/A₂; б) у крыс с генотипом A₂/A₂ нет различий в содержании дофамина между кортикомедиальной и базолатеральной группировками при наличии таковой у крыс с генотипом A₁/A₁, что может обуславливать изменение взаимосвязей между этими группировками.

Ключевые слова: Миндалевидный комплекс мозга, локус Taq 1 A DRD₂, изоформы дофамина рецептора второго типа, дофамин

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ORGANIZATION OF AMYGDALA IN RATS, SHOWING DIFFERENT STRATEGIES OF BEHAVIOR WHICH ASSOCIATED WITH GENETICALLY CAUSED CHANGES IN THE EXPRESSION OF ISOFORMS OF RECEPTOR D2

Akhmadeev A.V.

Bashkir State University, Ufa, Russia (450076, Ufa, Zaki Validi st. 32) e-mail: mpha@ufanet.ru

The aim of this work was the analysis of structural and quantitative characteristics of Amygdala and content of dopamine in rats with genotypes A₁/A₁ and A₂/A₂ on the locus Taq 1 A DRD₂. Morphometric analysis of Amygdala showed that its area do not differ in rats with genotypes A₁/A₁ and A₂/A₂, but reveal a highly significant increase of specific area of basolateral group of structures of Amygdala and major index of the relative weight of brain in rats with genotype A₂/A₂. Chromatographic analysis of Amygdala's tissue showed that in the Amygdala of rats with genotype A₁/A₁ contains more dopamine compared with rats with genotype A₂/A₂. Also revealed that rats with genotype A₂/A₂ has no differences in the content of dopamine between corticomедial and basolateral groups while in rats with genotype A₁/A₁ such differences are present. This can lead to the changing relationship between these groups.

Keywords: Amygdala, locus Taq 1 DRD₂, isoforms of dopamine receptor D2, dopamine

В ранее проведенных исследованиях [4] было показано, что крысы линии WAG/Rij с генотипом A₁/A₁ по локусу Taq 1 A гена рецептора дофамина второго типа (DRD₂), предопределяющим снижение экспрессии короткой изоформы этого рецептора [9], демонстрируют активную стратегию ориентировочно-исследовательского поведения, в то время как крысы – носители генотипа A₂/A₂ по тому же локусу DRD₂ – пассивную. Выявившиеся различия в поведении указанных двух групп крыс указали на необходимость анализа структурно-количественных характеристик миндалевидного комплекса (МК) как ведущего центра мозга в организации поведенческих реакций животных.

Известно, что поведенческий акт любой сложности начинается со стадии афферентного синтеза [1], в осуществлении которого принимает участие МК, являющийся полисенсорным центром. Афферентный синтез заключается в том, что возбуждение в ЦНС, вызванное внешним стимулом, действует не изолированно, а непременно вступает во взаимодействие с другими афферентными возбуждениями, которые формируются в головном мозгу сигналами, приходящими по другим сенсорным каналам. И только в результате синтеза этих афферентных возбуждений создаются условия для осуществления определенного целенаправленного поведения. Какое будет осуществляться поведение, зависит от того, какие процессы разовьются во время афферентного синтеза.

Исследование поведенческих реакций у животных позволяет получить общие сведения о механизмах реализации поступившей в организм животного информации, но эти сведения нуждаются в морфо - функциональном анализе основных блоков функциональной системы поведения, ибо «путь от гена к психологическому признаку лежит через морфо - функциональный уровень, т.к. в геноме человека закодирован не интеллект в столько-то баллов, а такие морфо - функциональные особенности организма, которые вместе со средовыми влияниями и создают все разнообразие интеллектов, темпераментов» [5].

Сведения литературы о морфо-функциональных коррелятах основных блоков функциональной системы поведения по П.К.Анохину [1] хорошо характеризуют аппарат афферентного синтеза, и крайне недостаточны относительно организации процессов афферентного синтеза [3]. Между тем, основной структурой мозга, осуществляющей афферентный синтез, является миндалевидный комплекс (МК).

Целью работы явился анализ структурно-количественных характеристик МК мозга и содержания в нем дофамина (ДА) у крыс с разными генотипами по локусу Taq 1 A *DRD2*.

Материал и методы исследования. Исследования проведены на двух группах половозрелых гомозиготных крысах линии WAG/Rij с генотипами A₁/A₁ и A₂/A₂ по локусу Taq 1A гена *DRD2* с массой тела 250-320 г. Всех использованных в работе половозрелых крыс содержали в стандартных условиях вивария, характеризующихся постоянством комнатной температуры (20⁰-22⁰)С и уровнем влажности. Пищу и питьё животные получали *ad libitum*, продолжительность светового дня составляла 12-14 часов. Все процедуры с животными выполняли с соблюдением международных правил и норм (European Communities Council Directives, 1986).

Цитоархитектонические и цитологические характеристики структур МК изучали на серии фронтальных парафиновых срезов мозга толщиной 20 мкм, которые окрашивали по методу Ниссля. Морфометрические исследования МК выполнены с использованием цитоархитектонических препаратов. Препараты изучали с помощью тринокулярного

светового микроскопа серии MC-300 (Австрия), пользуясь объективом 10. Микрофото получали с использованием цифрового фотоаппарата Nikon CoolPix 4500. Полученные изображения экспортировали в компьютер, и анализировали с помощью программы Jimage1 1.38 (USA). Для определения относительной массы мозга крыс линии WAG/Rij, имеющих различия генотипа по изучаемому локусу, использованы данные, полученные при измерениях массы тела и мозга 224 крыс [112 крыс (равное количество самцов и самок) в каждой группе].

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определяли содержание ДА в МК, забирая материал для исследования от 3-4 крыс, умерщвленных передозировкой эфирного наркоза. Образцы, взятые из правого и левого полушария у крыс, взвешивали (в среднем, вес навески был 25-30 мг) и анализировали в одной пробе. Очищенные супернатанты анализировали на хроматографе (Аквилон, Россия) со спектрофотометрическим детектором (UVV-104 М) в ЦКП БашГУ.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0. Сравнение вариационных рядов осуществляли с помощью параметрического критерия Стьюдента и непараметрического критерия U- критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. Изучение цитоархитектоники МК крыс линии WAG/Rij с генотипами A_1/A_1 и A_2/A_2 по локусу $Taq\ 1A\ DRD_2$ и сопоставление ее с крысами линии Вистар показало, что общий план строения (топографии структур, ход волокнистых трактов, разделяющих его группировки – кортикомедиальную и базолатеральную) не различается. Выявляются все, присущие МК, ядерные, палеокортикальные и межуточные формации.

Результаты структурно-количественного анализа МК приведены в табл. 1. Они отражают суммарную в обоих полушариях удельную площадь структур.

Таблица 1

Удельная площадь МК и ее группировок у крыс с генотипами A_1/A_1 и A_2/A_2 (М+m, проценты)

Генотип	A_1/A_1		A_2/A_2	
МК	20,47±0,85		19,86±0,51	
Отделы	кортико - медиальный	базо - латеральный	кортико - медиальный	базо - латеральный
МК	15,85±1,83	18,81±0,81	16,32±1,87	21,98±0,48***

Примечание: *** $p < 0,001$ при сравнении базо-латеральной группировки у крыс с разными генотипами

Приведенные в табл. 1 данные удельных площадей показывают, что площадь МК не различается у крыс с разными генотипами. Удельные площади кортикомедиальных группировок меньше значений удельных площадей базолатеральных группировок, как у крыс с генотипом A_1/A_1 , так и у крыс с генотипом A_2/A_2 . Сравнение удельных площадей кортикомедиальной и базолатеральной группировки у крыс с разными генотипами показывает, что существуют высоко значимые различия по величине базолатеральной группировки, которая больше у крыс с генотипом A_2/A_2 .

Не связана ли большая площадь базолатеральной группировки у крыс с генотипом A_2/A_2 с большей массой мозга? Для ответа на этот вопрос мы провели анализ величин массы тела и головного мозга, а также рассчитали относительную массу мозга (ОММ – масса мозга в мг разделена на массу тела г) у двух изучаемых нами групп крыс. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Показатели массы тела, головного мозга и относительной массы мозга у крыс с генотипами A_1/A_1 и A_2/A_2

Показатели	Масса тела (г)		Масса мозга (мг)		Относительная масса мозга (ОММ)	
	A_1/A_1	A_2/A_2	A_1/A_1	A_2/A_2	A_1/A_1	A_2/A_2
Общая популяция	286,20	262,56	1787,39	1905,70	6,28	7,50
M+m	$\pm 3,05$	$\pm 4,93$	$\pm 17,14$	$\pm 14,46$	$\pm 0,05$	$\pm 0,13$
T, p	5,04, $p < 0,001$		6,03, $p < 0,001$		9,07, $p > 0,001$	

Эти данные показали, что масса тела крыс с генотипом A_1/A_1 значимо больше при $p < 0,001$, в то время, как масса головного мозга и ОММ больше у крыс с генотипом A_2/A_2 ($p < 0,001$). Это обстоятельство указывает на то, что большая удельная площадь базолатеральной группировки у крыс с генотипом A_2/A_2 связана с большей относительной массой мозга у этих крыс.

Результаты анализа содержания ДА в МК показали, что:

1. В МК крыс с генотипом A_1/A_1 содержится практически вдвое больше (на 75%, $p < 0,05$) ДА по сравнению с крысами, имеющими генотип A_2/A_2 . Это подтвердило мнение нейрофизиологов о том, что ДА причастен к активному типу поведения [8].
2. У крыс с генотипом A_1/A_1 существуют значимые различия по содержанию дофамина в кортикомедиальной и базолатеральной группировках структур МК, в то время, как у крыс с генотипом A_2/A_2 содержание дофамина снижено и различий в его содержании в группировках структур МК у этих крыс не выявляется; это может отражать изменение взаимосвязей между этими группировками.

Известно, что кортикомедиальная группировка представляет собой филогенетически древнюю часть МК, и представляет субстрат палеоамигдалы [2], в то время, как базолатеральная формируется в историческом развитии организмов позднее, и может быть обозначена как неоамигдала. Между указанными группировками существуют тесные функциональные связи, при этом кортикомедиальная оказывает стимулирующее на базолатеральную, а базолатеральная, наоборот, ингибирующее влияние на кортикомедиальную группировку структур МК [6,7]. Поскольку дофаминергическая система способна оказывать модулирующее влияние на глутамат- и ГАМК – ергические системы, которые широко представлены в МК, наличие различий в содержании ДА или отсутствие, несомненно, скажется на взаимоотношениях указанных отделов МК, что проявится и в поведении. Возможно, изменение функциональных связей кортикомедиальной и базолатеральной группировки представляет один из факторов, определяющих формирование различий в поведении изучаемых нами двух групп крыс.

Выводы:

1. Морфометрический анализ МК выявил, что его площадь не различается у крыс линии WAG/Rij с генотипами A_1/A_1 и A_2/A_2 , но обнаружил высоко значимое увеличение удельной площади базолатеральной группировки структур МК и большую относительную массу головного мозга у крыс с генотипом A_2/A_2 .

2. Хроматографический анализ ткани МК и его группировок показал:

а) в МК крыс с генотипом A_1/A_1 содержится больше дофамина по сравнению с крысами, имеющими генотип A_2/A_2 ;

б) у крыс с генотипом A_2/A_2 нет различий в содержании дофамина между кортикомедиальной и базолатеральной группировками при наличии таковой у крыс с генотипом A_1/A_1 , что может обуславливать изменение взаимосвязей между этими группировками;

в) сравнение содержания дофамина в базолатеральной группировке у крыс с разными генотипами выявило, что у крыс с генотипом A_2/A_2 его содержание значимо меньше, чем у крыс с генотипом A_1/A_1 .

Работа выполнена при финансовой поддержке базовой части Госзадания Минобрнауки РФ, тема № 301-14.

Список литературы

1. Анохин П.К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса. М.: Медицина, 1968. – 547 с.

- 2.Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б. Древняя амигдала: цитоархитектоника, организация и цитологические характеристики нейронов. // Морфология. - 2004. - Т. 126. № 5. - С. 15-19.
- 3.Григорьян Г.А. Проблема подкрепления. От целостного поведения к нейрохимическим основам и развитию психопатологий. // Журнал ВНД. - 2005. - Т.58. № 6. - С.747-761.
- 4.Леушкина Н.Ф., Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б. Полиморфизм гена D2-рецептора и катехоламины в регуляции ориентировочно-исследовательского поведения крыс. // Успехи современного естествознания. – 2011 - №9. - С. 8-10.
- 5.Равич-Щербо И.В., Марютина Т.М., Григоренко Е.Л. Психогенетика. М.: Аспект Пресс. - 1999. - 447 с.
- 6.Чепурнов С.А., Чепурнова Н.Е. Миндалевидный комплекс мозга. М.: Изд-во МГУ. - 1981. - 298 с.
- 7.Чепурнов С.А., Чепурнова Н.Е. Нейропептиды и миндалина. М.: Изд-во МГУ. - 1985. - 128 с.
8. Шаляпина В.Г. Основы нейроэндокринологии. СПб.: Элби, 2005. - 156 с.
- 9.Zhang Y., Bertolino A., Fazio L. et al. Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory. // Journal The Proceedings of the National Academy of Sciences USA. - 2007. - V.104, №51. - P.20552-20557

Рецензенты:

Хисматуллина З.Р., д.б.н., профессор, зав.кафедрой физиологии человека и зоологии Башгосуниверситета, г.Уфа

Башкатов С.А., д.б.н., профессор, профессор кафедры генетики и фундаментальной медицины Башгосуниверситета, г.Уфа.