ИССЛЕДОВАНИЕ СУТОЧНОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И ОБМЕНА БЕЛКА NAP-22, МАЖОРНОГО СУБСТРАТА ПРОТЕИНКИНАЗЫ С, НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ СИНДРОМА ДЕФИЦИТА ВНИМАНИЯ С ГИПЕРАКТИВНОСТЬЮ У ДЕТЕЙ

© Крайнова Юлия Сергеевна, Иванова Галина Тажимовна

Институт физиологии имени И.П. Павлова. 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.6, E-mail: yulkakray@yandex.ru

Ключевые слова: гиперактивность; двигательная активность; экспериментальная модель.

Ведение. Синдром дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ) — это хроническое неврологическо-поведенческое расстройство развития, которое проявляется с раннего детского возраста и выражается в нарушениях концентрации внимания и проявлении гиперактивности (встречается примерно у 5% детского населения), у взрослых может перерасти в снижение интеллекта и трудности с восприятием информации. Оно широко распространено во всём мире, но в настоящее время нет общепринятых и эффективных способов диагностики и лечения этого синдрома. В настоящее время исследуются физиологические механизмы патогенеза этого синдрома на экспериментальных моделях. Основной экспериментальной моделью СДВГ, являются крысы со спонтанной гипертензией (линии SHR), в первую очередь для изучения явлений гиперактивности и возможных нарушений молекулярных механизмов в ЦНС. Данные отклонения могут быть связанны с нарушениями обмена кальция в клетке у таких животных и вызванными ими изменения обмена такого белка, как NAP-22 — мажорного субстрата протеинкиназы-С (ПКС). Мы обнаружили, что в раннем постнатальном онтогенезе содержание этого белка в различных структурах головного мозга, в частности в коре и гиппокампе, у крыс линии SHR отличается от крыс линии WKY. Это указывает на изменение кальций-зависимых каскадов передачи внутриклеточного сигнала, важным звеном которых является ПКС.

Методика. Регистрация двигательной активности и определение содержания белков — мажорных субстратов ПКС. Исследование было проведено на 6 взрослых самцах линии SHR массой 200–250 граммов и на 6 взрослых самцах линии WKY такой же массы (в качестве контроля) в возрасте 12–14-ти недель. В опыт брали животных с артериальным давлением не ниже 170 мм рт. ст. для крыс линии SHR, и не выше 125 мм рт. ст. для крыс линии WKY. Оценка уровня двигательной активности осуществлялась с помощью специально разработанного биотелеметрического комплекса (БТК), состоящего из двух камер. В каждую камеру помещалось четыре клетки, содержащих по одному животному. В процессе опыта поддерживалась постоянная температура 20° С, длительность светового дня составляла 12 часов (с 10:00 до 22:00). Двигательная активность крыс регистрировалась методом телеметрии с использованием оптических датчиков барьерного Т-типа (приёмник луча расположен отдельно от излучателя). Число пересечений луча суммировалось по 5-минутным интервалам, затем данные были усреднены по интервалам в 1 час и обработаны статистически в соответствии с t-критерием Стьюдента с уровнем значимости меньше 0,005. Было проведено две серии опытов, каждая из которых длилась трое суток. Каждая серия опытов включала в себя регистрацию двигательной активности у двух пар испытуемых животных (две крысы линии SRH и две — WKY). Для выявления содержания белка NAP-22 в образцах теменной коры мозговой ткани использовался метод электрофореза с последующим иммуноблоттингом. Сравнительная оценка содержания белка осуществлялась посредством анализа данных иммуноблоттинга, оцифрованных с помощью программы ScanDens.

Результаты и обсуждение. Значения среднего количества движений крыс линии SHR по сравнению с линией WKY были больше в световую фазу в 3,5 раза, в темновую фазу в 1,7 раза, и выше в целом за сутки в 2 раза. По критерию Стьюдента крысы SHR, как в световую, так и в темновую фазы были существенно более подвижны, чем крысы линии WKY ($p<0,001$), но при этом значимость межлинейных различий по данным, усреднённым за отдельные часы наблюдения, была несколько

ниже в световую фазу. Оценка двигательной активности крыс линий SHR и WKY показала, что крысы линии SHR в световую фазу в среднем намного более подвижны, чем крысы линии WKY ($p<0,001$). В темновую фазу результаты менее наглядны, но тенденция более высокой активности для крыс линии SHR сохранялась и при усреднении общего числа движений крыс обеих линий за сутки ($p<0,001$). Крысы со спонтанной гипертензией меньше спят, особенно в дневное время, и значительно больше двигаются суммарно за сутки.

Параллельно с двигательной активностью крыс линий SHR и WKY мы исследовали содержание в мозговой ткани белка, субстрата ПКС, такого как NAP-22. Крысы линии SHR демонстрируют явные отличия от крыс линии WKY по уровню обмена этого белка. Содержание NAP-22 у крыс линии SHR выше, чем у крыс линии WKY, как в теменной коре, так и в гиппокампе.

Заключение. Полученные результаты подтверждают наличие особенностей суточной ритмики двигательной активности у крыс линии SHR по сравнению с линией WKY. Выявленные характеристики позволят оценить роль различных механизмов, в частности адренергических, в наблюдаемых двигательных, поведенческих и когнитивных изменениях у крыс линии SHR. Нами разработан новый количественный подход, позволяющий оценить уровень двигательной активности (показателя гиперактивности) крыс. Это позволяет количественно оценить вклад тех или иных физиологических механизмов в развитии у них гиперактивности — одного из симптомов СДВГ, заболевания, моделью которого они являются, и возможную роль белка NAP-22, основного субстрата ПКС.

Белок NAP-22 активно участвует в процессах нейропластичности и изменения в его нейроном обмене могут свидетельствовать о нарушениях этих процессов, что может вызывать, характерные для СДВГ поведенческие реакции. Данный белок не является исключительно нейроспецифичным, поэтому можно рассуждать о связи выявленных молекулярных закономерностей именно с генерализованной патологией, что и имеет место у крыс линии SHR — генетически детерминированные нарушения обмена кальция в клетках, общее повышение артериального давления, а также такие симптомы СДВГ, как гиперактивность, импульсивность, сложности с обучением. Полученные нами данные дополняют характеристику крыс линии SHR, используемых в качестве модели СДВГ, по динамике распределения двигательной активности. Их можно трактовать как характеристику животных с генетически детерминированными нарушениями метаболизма кальция и катехоламинов в клетках.

Благодаря таким исследованиям можно разработать механизмы профилактики развития СДВГ и определить молекулярные методы для ранней диагностики (в том числе пренатальной и ранней постнатальной) этого заболевания.