

Инбредные мыши в моделировании эпилептиформных аудиогенных припадков для тестирования противосудорожных препаратов

Е.Ф.Шмидт

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва

Ключевые слова: инбредные мыши, аудиогенные припадки, биомодели.

Для тестирования противосудорожных препаратов возможно использование специально выведенной для этих целей линий/популяций крыс Крупинского-Молодкиной (КМ)[2,5]. Однако, правила доклинических испытаний новых лекарственных средств предусматривают проведение экспериментов на нескольких видах лабораторных животных [4]. Отдельные исследования по этой тематике предпринимались и ранее [1].

Цель работы заключалась в том, чтобы охарактеризовать инбредные линии мышей по чувствительности к резкому звуку, высокой интенсивности, выражающейся в эпилептиформных припадках, и рекомендовать оптимальную биомодель для тестирования противосудорожных препаратов на животных данного вида.

Материалы и методы. Исследования проводились на конвенциональных мышах 9-и инбредных линий из коллекционного фонда РАМН: BALB/cJLacY; B10.CW/Y; CC57BR/MvY;

CC57W/MvY; C57BL/6JY; DBA/1JLacY; DBA/2JY; I/StY и 101/HY. Животные были разделены на две возрастные группы: ювенальные (в возрасте 30-45 дней) и половозрелые (55-65 дней). В каждой группе было приблизительно равное количество самцов и самок (всего 248 мышей или 14 голов на точку).

Испытания выполнялись по классической методике Л.В. Крупинского: подопытных животных поочередно помещали в камеру размером 42х26х50см и включали электрический звонок, (интенсивность звука 110-112 децибел). Звонок выключали после наступления судорожного припадка, если же этого не происходило, звуковая экспозиция продолжалась в течение одной минуты. Животных подвергали действию звука трижды с интервалами в 48 часов, кроме тех случаев, когда они погибали при первом или втором испытании. Всего было проведено 689 испытаний.

Чувствительность мышей к эпилептогенному действию звука оценивали по следующим параметрам:

Чувствительность ювенальных мышей инбредных линий
к эпилептогенному действию звука высокой интенсивности

Таблица 1

Мыши линии	Частота (в %) от общего числа испытаний			Латентный период (в сек.) до начала	
	двигательного возбуждения	судорожных припадков	летальных исходов	двигательного возбуждения	судорожного припадка
DBA/1	78,3±8,8	65,2±10,2	43,5±10,6	5,22±0,50	38,53±3,27
DBA/2	57,5±7,9	50,0±8,0	15,0±5,7	3,83±0,43	35,40±3,82
BALB/c	63,2±6,7	26,3±5,9	0,0	5,14±0,53	23,73±5,37
101/H	48,1±7,0	21,2±5,7	17,3±5,3	8,00±0,58	48,64±1,48
I/St	33,3±10,5	19,0±8,8	4,8±4,8	4,57±0,48	52,67±4,33
CC57W	17,8±5,8	8,9±4,9	0,0	7,25±1,27	25,25±2,06
B10.CW	69,2±7,5	0,0	0,0	2,56±0,31	—
CC57BR	33,3±11,4	0,0	0,0	3,83±0,48	—
C57BL/6	9,3±4,0	0,0	0,0	1,60±0,60	—

рам: 1 – доля случаев двигательного возбуждения; 2 – доля судорожных припадков (ДСП) 3 – доля летальных исходов (ДЛИ) – в процентах от общего числа испытаний животных данной линии и данной возрастной группы. Определяли также латентный период (в секундах) до начала 4 – двигательного возбуждения ЛПДВ и 5 – судорожного припадка (ЛПСЦП). Так как половых различий в реакциях на экспериментальный раздражитель, за одним исключением, о котором будет сказано ниже, не наблюдалось, данные по самцам и самкам были объединены.

Достоверность различия рассчитывалась по критерию t-Стьюдента [3].

Результаты и обсуждение. Результаты испытаний животных ювенальной группы представлены в табл. 1.

Поскольку показатель 1 оказался недостаточным информативен, данные в таблице расположили на основании показателя 2, в порядке убывания доли ДСП. Частота их, как и следовало ожидать, она была наиболее высокой у мышей линий DBA/1 и DBA/2. Второе, третье и четвертое место занимали линии BALB/c, 101/H и I/St, судорожные припадки у которых возникали в два раза реже. На пятом месте оказались мыши CC57W, с ДСП примерно, в семь раз более низкой, чем у DBA/1 и DBA/2. У мышей остальных линий в этом возрасте припадки не развивались. Различия по этому показателю достоверны для линий DBA/2 и 101/H, ($td=2,9 \geq t_{st}=2,6$; $v=90$; $p=0,01$), но не между DBA/1 и DBA/2.

Показатель 3. На первом месте по ДЛИ находились мыши DBA/1, на втором 101/H, на третьем – DBA/2, на четвертом – I/St, причём у вторых и третьих ДЛИ была в 2-3 раза ниже, чем у первых, а у четвертых – в 8 раз ниже. По этому показателю мыши линии DBA/1 достоверно отличались как от 101/H, так и от DBA/2 ($td=2,2 \geq t_{st}=2,0$; $v=73$; $p=0,05$ и $td=2,4 \geq t_{st}=2,0$; $v=61$; $p=0,05$). У других

линий летальных исходов не наблюдалось.

Показатель 4. ЛПДВ был продолжительным у мышей 101/H; CC57W и коротким у всех остальных – например у DBA/2 и 101/H он различался при высшем уровне достоверности ($td=4,08 \geq t_{st}=3,7$; $v=29$; $p=0,001$). Интересно, что наиболее коротким он был как раз у тех линий, у которых судороги не развивались. Можно предположить, что активная двигательная реакция в ответ на звуковой раздражитель позволяет животным определённых генотипов успешно бороться со стрессом.

Показатель 5. Из шести линий, отвечавших на звук развитием судорожных припадков, длительный ЛПСЦП наблюдался у мышей 101/H и I/St, короткий – у всех остальных. Так различия между DBA/2 и 101/H – достоверны ($td=3,2 \geq t_{st}=2,8$; $v=29$; $p=0,01$).

Следует отметить, что в ювенальной группе для тех линий, в которых часть животных погибала во время припадков, обнаружена высокая отрицательная корреляция между ДСП и ЛПСЦ (коэф. корреляции $0,89 \pm 0,32$). В старшей возрастной группе такой закономерности не наблюдалось.

Данные, полученные при экспериментальном воздействии на половозрелых мышей, представлены в табл. 2.

Показатели 2 и 3. Мыши DBA/1, отличавшиеся в ювенальном возрасте самой высокой ДСП, достигнув возраста 55-65 дней, переставали реагировать на звук судорогами, соответственно у них отсутствовала связанная с ними летальность. У мышей DBA/2 в этом возрасте ДСП снизилась почти в четыре раза, а у 101/H – в шесть раз, тогда как у BALB/c ДСП снизилась всего на одну треть. Снижение частоты аудиогенных припадков у мышей DBA/2 и прекращение их у DBA/1 вполне объяснимо и связано с генетически обусловленной глухотой, которая развивается у этих животных по мере взросления [2]. К сожалению, данная особенность экспериментаторами не всегда учитывается, а рекомендации использовать мышей DBA/2 в качестве биомоделей

для тестирования противосудорожных препаратов можно прочесть в весьма авторитетных изданиях [4].

В настоящее время неясно, чем вызвано развитие судорожных припадков более, чем у 23 процентов половозрелых мышей B10.CW, тогда как у ювенальных животных они не возникали.

Половые различия по чувствительности к эпилептогенному действию звука высокой интенсивности выявлены только у взрослых мышей I/St. Половозрелые самки этой линии в возрасте 55-65 дней, были намного чувствительней к нему, чем самцы: различие по ДСП статистически достовер-

ка и после достижения половой зрелости изменяется незначительно.

4. Мыши I/St являются перспективными экспериментальными объектами для изучения влияния пола и половых гормонов на АЭР.

Автор выражает благодарность ведущему научному сотруднику Центра Р.А.Капаладзе за предоставленное для эксперимента оборудование.

Литература

1. Башкатова В.Г., Мелордум Б., Гампан А., Ванин А.Ф., Микоян В.Д., Раевский К. Уровень оксида

Чувствительность половозрелых мышей инбредных линий к эпилептогенному действию звука высокой интенсивности

Таблица 2

Мыши линии	Частота (в %) от общего числа испытаний			Латентный период (в сек.) до начала	
	двигательного возбуждения	судорожных припадков	летальных исходов	двигательного возбуждения	судорожного припадка
DBA/1	38,5± 7,9	0,0	0,0	3,60±0,79	—
DBA/2	22,2± 7,0	13,9± 5,9	0,0	4,50±0,50	42,80±1,02
BALB/c	54,9± 7,0	17,6± 5,4	0,0	5,86±0,74	35,11±6,81
101/H	18,9± 5,4	3,8± 2,7	1,9 ±1,9	7,50±0,96	51,50±3,50
самки I/St	72,7± 9,7	50,0±10,9	18,2 ±8,4	6,56±0,80	42,73±0,98
самцы I/St	50,0±13,9	14,3± 9,7	0,0	5,71±1,23	53,00±5,01
CC57W	29,2± 9,5	0,0	0,0	2,86±0,46	—
B10.CW	61,9±10,9	23,8 ± 2,5	4,8 ±4,8	8,31±1,02	44,80±6,12
CC57BR	10,3± 5,7	0,0	0,0	2,67±0,71	—
C57BL/6	0,0	0,0	0,0	—	—

но ($td=2,4 \geq t_{st}=2,0$; $v=34$; $p=0,05$), пятая часть взрослых самок погибала во время припадков, тогда как у самок летальных исходов не наблюдалось. При этом ЛПСР у самок был на 10 сек. короче.

Выводы. 1. Аудиогенная эпилептиформная реакция (АЭР) специфична для мышей каждой инбредной линии.

2. Для моделирования АЭР на линиях DBA/1 и DBA/2 можно брать только ювенальных животных, так как у взрослых мышей DBA/1 припадки не возникают, а у DBA/2 их частота резко сокращается.

3. Для тестирования противосудорожных препаратов в качестве биомоделей лучше всего подойдут мыши линии BALB/c, поскольку частота развития АЭР у молодых животных достаточно высо-

повышается в мозге мышей линии DBA/2J при аудиогенных судорогах: возможная роль метаболических глутаматных рецепторов. // *Нейрохимия*, 2001, 18, №4, с. 258-261.

2. Бландова З.К., Душкин В.А., Малащенко А.М., Шмидт Е.Ф. Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований. — М., Наука, 1983, с. 54-59.

3. Плохинский Н.А. Биометрия. — М., Издательство Московского университета, 1970, 367 с.

4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М., Медицина, 2005, 832с.

5. Федотова И.Б., Семюхина А.Ф. Аудиогенная эпилепсия и миоклонус в онтогенезе крыс КМ. // *Ж. высш. нерв. деят-сти*, 2002, 52, №2, с. 261-265.

Inbred mice in modelling of epileptiformes audiogenic seizures for testing anticonvulsants

E.F. Schmidt

Scientific Centre for Biological Medical Technologies of the RAMS, Moscow

Key words: inbred mice, audiogenic seizures, biomodels.

Studied age and sexual distinctions of audiogenic seizures at inbred mice. Age distinctions are found out at all 9 investigated strains, sexual - only at adult I/St. BALB/c is recommended as optimum biomodel for testing anticonvulsants on mice.