



**Институт эволюционной физиологии и биохимии  
им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия**

**ИЭФБ РАН**



**www.iephb.ru**

# **ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ITPR2 В РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЯХ ЭПИЛЕПСИИ**

Работа выполнена на базе лаборатории Молекулярных механизмов нейронных взаимодействий ИЭФБ РАН

**Авторы:** Захарова М.В., Коваленко А.А., Шварц А.П., Дёмина А.В., Зубарева О.Е., Зайцев А.В.

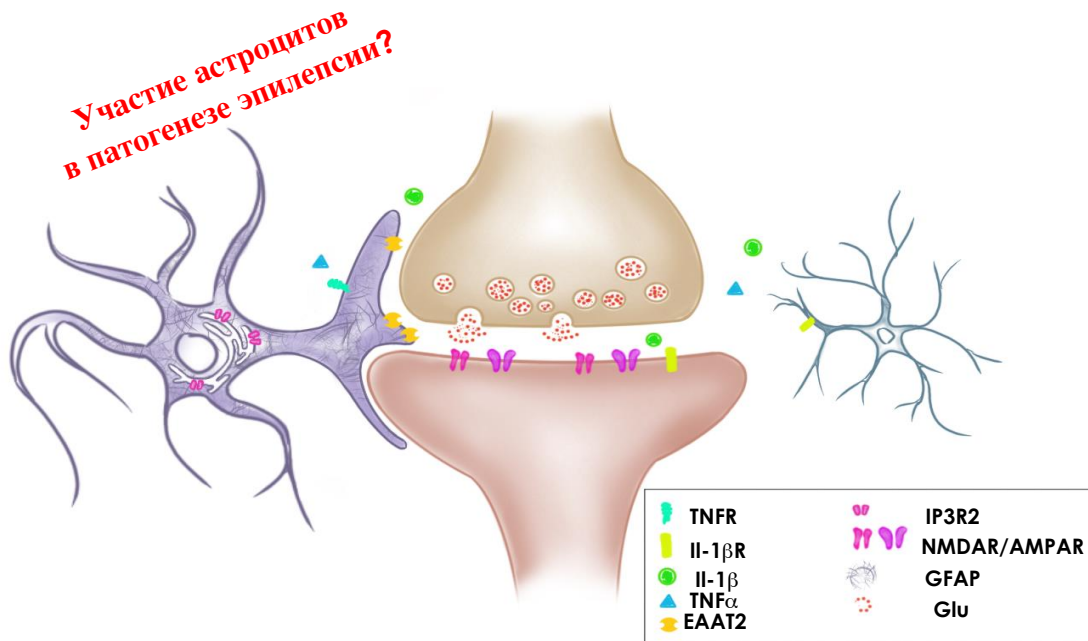
**Санкт-Петербург,  
2020**

# Эпилепсия

До 30 % больных эпилепсией страдают фармакорезистентными формами заболевания



Актуален поиск новых мишеней для лечения судорожных состояний



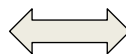
В последние годы активно обсуждается возможная роль глия-нейрональных взаимодействий в патогенезе эпилепсии и формировании постсудорожных неврологических нарушений.

# Предполагаемый механизм вовлеченности IP3R2 в эпилептогенез

Эпилепсия



*Усиление передачи  
астроцитарных  
сигналов  $Ca^{2+}$  [1]*

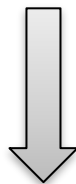


*Изменение экспрессии инозитол-1,4,5  
трифосфатных рецепторов второго  
типа (IP3R2), отвечающего за выброс  
 $Ca^{2+}$  в астроцитах*

*Типы инозитол-1,4,5 трифосфатных рецепторов*



IP3R1 (*Itpr1*)



IP3R2 (*Itpr2*)



IP3R3 (*Itpr3*)

**Необходимый компонент  
кальциевого сигналинга в  
астроцитах**

# Цель исследования:

Изучение изменений экспрессии гена *Itpr2* в мозге крыс в модели фебрильных судорог (ФС), в пенталентетразоловой модели острого эпилептического статуса (ПТЗ) и в литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии (Li-ПК).

## Общая схема экспериментов

Моделирование судорожного состояния у крыс:

Фебрильные судороги

Пентилентетразоловая  
модель

Литий-пилокарпиновая  
модель



Извлечение мозга для анализа  
Выделение тотальной РНК и белка из структур мозга



Анализ экспрессии гена *Itpr2* на уровне мРНК методом ОТ-ПЦР в реальном времени

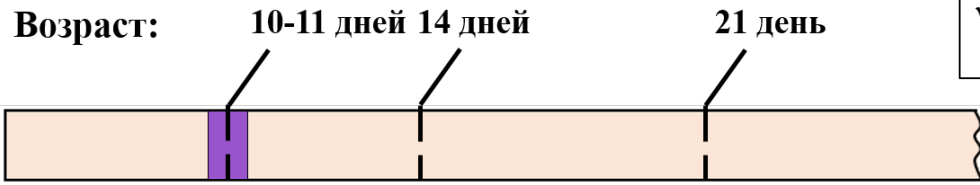
# Задача исследования 1

Изучить динамику экспрессии гена астроцитарного белка *Itp1r2* на уровне мРНК в клетках дорзального и вентрального гиппокампа в модели фебрильных судорог

# Схема эксперимента фебрильных судорог

## Экспериментальные группы:

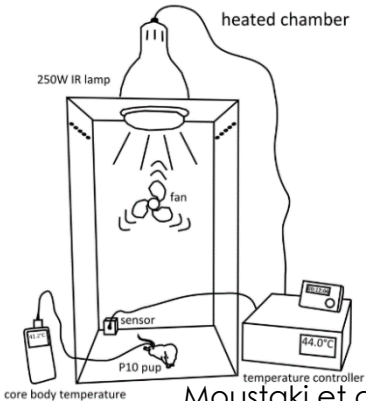
- ✓ Интактные, n=6
- ✓ Контроль, n=8
- ✓ Крысята с фебрильными судорогами (ФС), n=8



Индукция судорог

Забор образцов мозга

Анализ экспрессии гена *Itpr2* на уровне мРНК



Moustaki et al., 2019

## Протокол индукций судорог

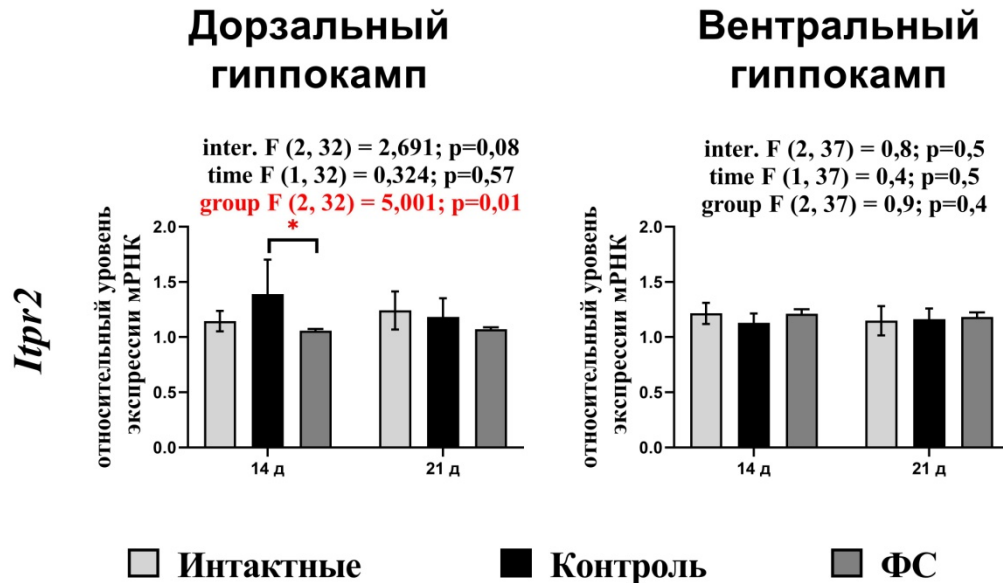
Поток горячего воздуха (45-46 °C)

Контроль ректальной температуры (не выше 42 °C) каждые 2 минуты

Фебрильные судороги, 30 минут

Извлечение из установки и охлаждение

# Изменения экспрессии гена *Itpr2* в модели фебрильных судорог



F - результаты двухфакторного дисперсионного анализа. \* -  $p < 0,05$ , достоверные отличия между группами.

**Вывод 1.** В модели фебрильных судорог более заметные изменения выявляются в дорзальном гиппокампе, они выражаются в снижении экспрессии гена *Itpr2* через 3 дня после судорог.



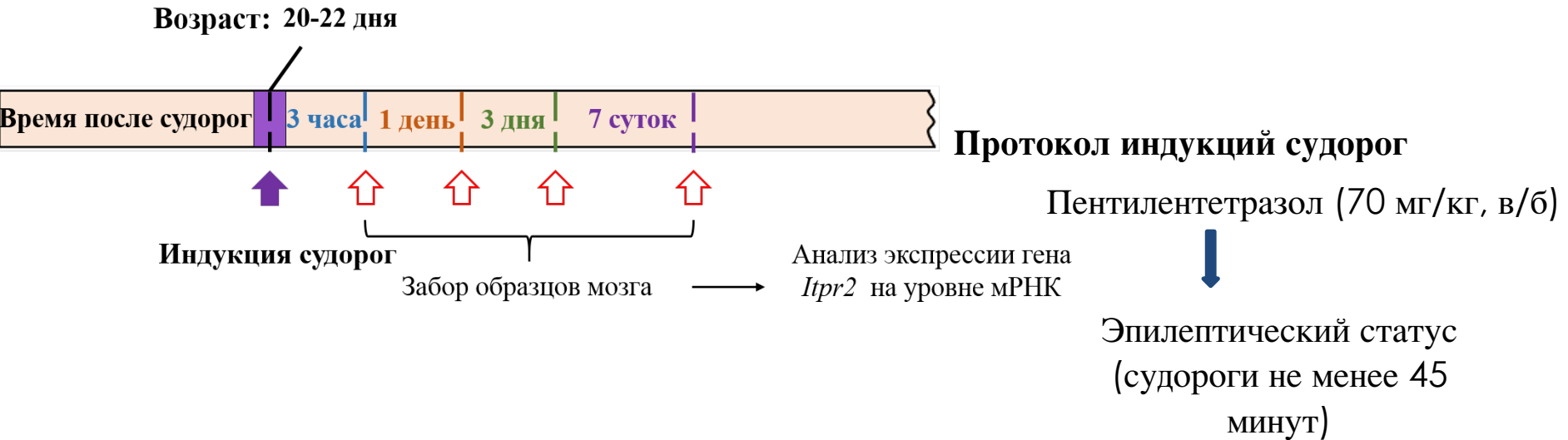
## Задача исследования 2

Изучить динамику экспрессии гена *Itpr2* на уровне мРНК в клетках дорзального и вентрального гиппокампа в пентилентетразоловой модели острого эпилептического статуса

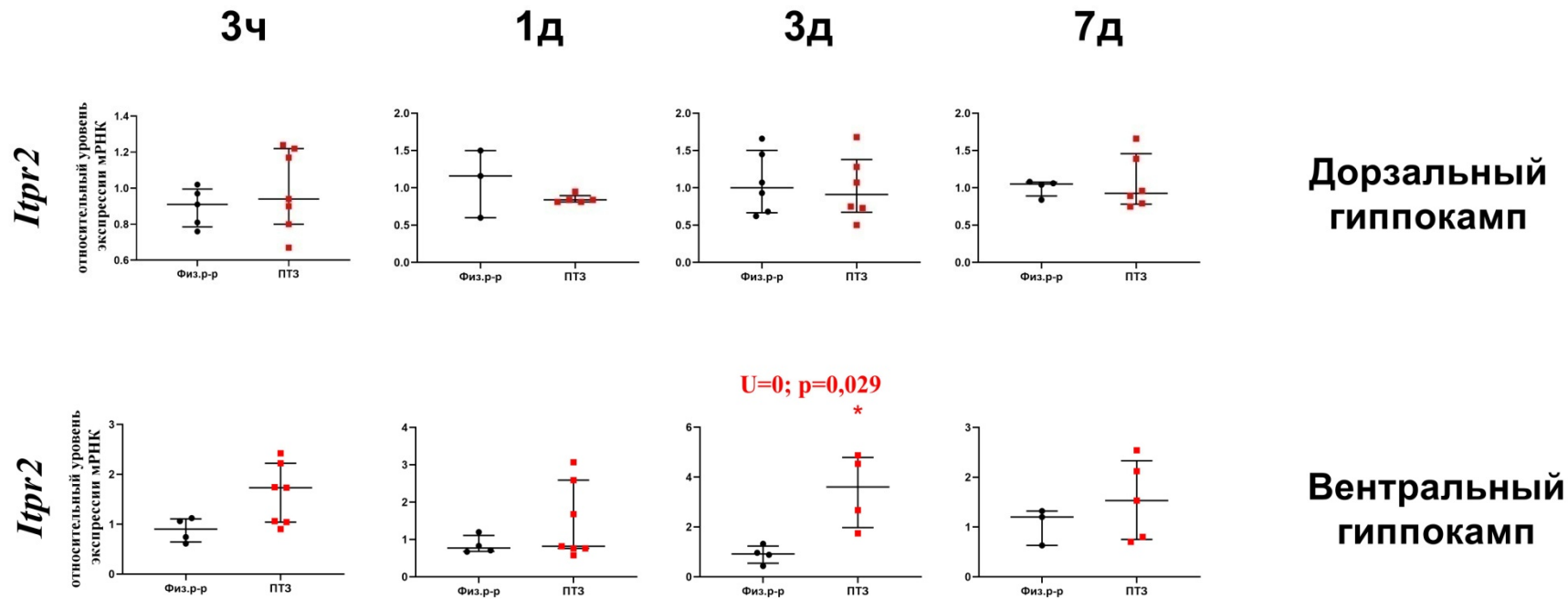
# Схема эксперимента в пентилентетразоловой (ПТЗ) модели

Экспериментальные группы:

- ✓ Контроль, n=6
- ✓ ПТЗ, n=7



# Изменение экспрессии генов астроцитарных белков в ПТЗ модели



U-критерий Манна – Уитни, \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$

**Вывод 2.** В ПТЗ модели острого эпилептического статуса выявлено усиление экспрессии гена *Itpr2* в вентральном гиппокампе через 3 дня после судорог.

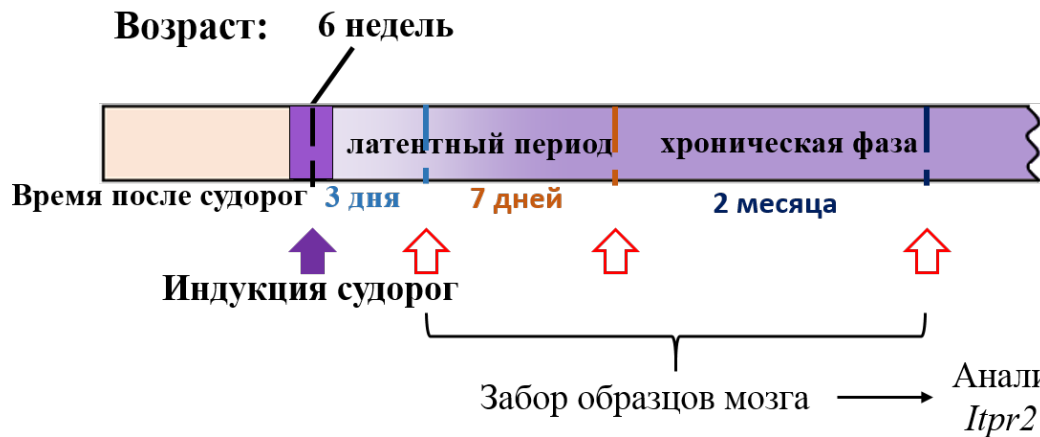
## Задача исследования 3

Исследовать экспрессию гена интереса в клетках височной коры, дорзального и вентрального гиппокампа в латентный и хронический период литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии

# Схема эксперимента в литий-пилокарпиновой (Li-ПК) модели

## Экспериментальные группы:

- ✓ Контроль, n=8
- ✓ Пилокарпин (Li-ПК), n=6-9



## Протокол индукций судорог

LiCl (127 мг/кг, в/б)

↓ 1 сутки

Метилскополамин (1 мг/кг, в/б)

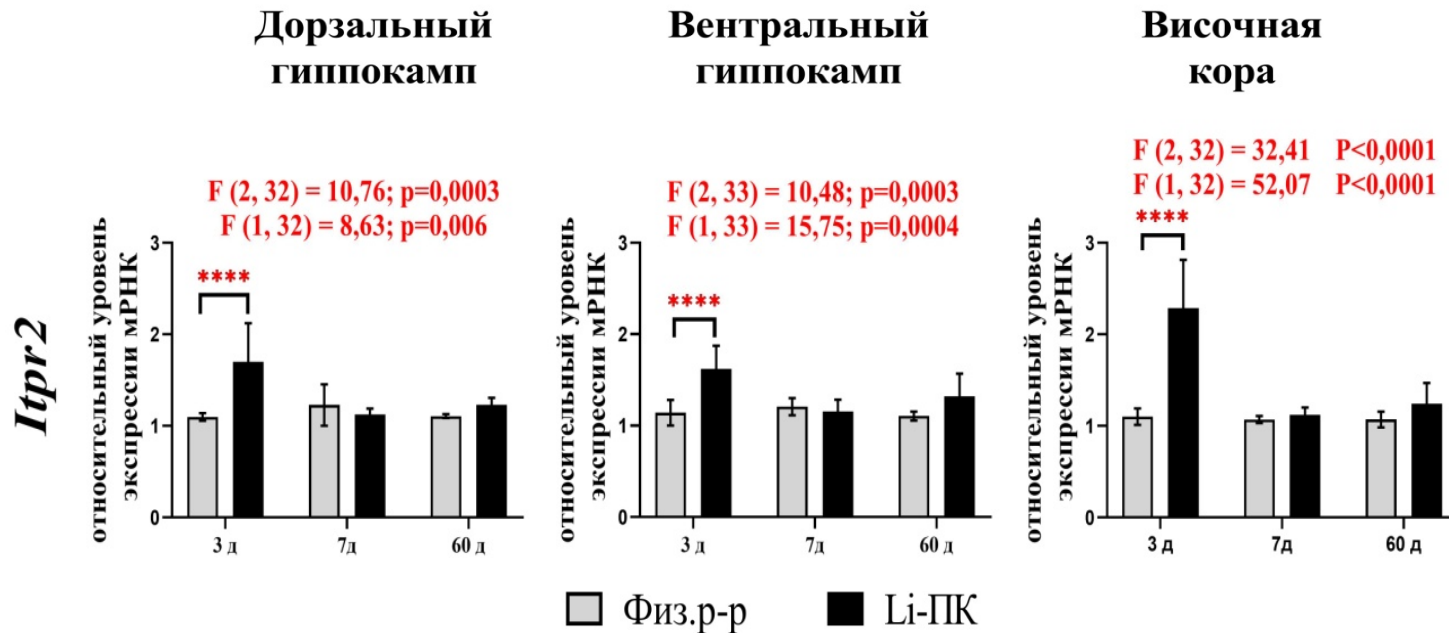
↓ 30 минут

Пилокарпин (20-40 мг/кг, в/б)

↓ 75 минут

Диазепам (10 мг/кг, в/б)

# Изменение экспрессии генов астроцитарных белков в Li-ПК модели



F - результаты двухфакторного дисперсионного анализа. \*-p<0.05, \*\*\*\* - p<0,0001, достоверные отличия от контроля. † – критерий Стьюдента. \*-p<0.05

**Вывод 3.** В литий-пилокарпиновой модели хронической височной эпилепсии отмечено усиление экспрессии гена *Itpr2* во всех исследованных областях мозга (вентральном и дорзальном гиппокампе, височной коре) через 3 дня после судорог.

Модель  
фебрильных  
судорог

Ген	<i>Itpr2</i>	
Структура / срок	3д	10д
dH	↓	
vH		

ПТЗ  
модель

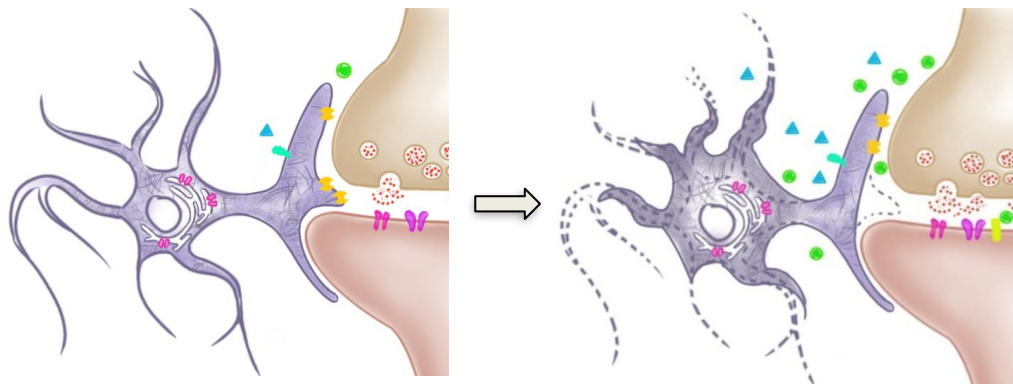
Ген	<i>Itpr2</i>			
Структура / срок	1ч	3ч	3д	7д
dH				
vH	↑			

Li-ПК  
модель

Ген	<i>Itpr2</i>		
Структура / срок	3д	7д	60д
dH	↑		
vH	↑		
ТС	↑		

## Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможной вовлеченности IP3R2 в эпилептогенез, направленность изменений экспрессии гена *Itpr2* зависела от использованной экспериментальной модели.



# Благодарю за внимание!

Работа выполнена на базе Института эволюционной физиологии и биохимии им. Сеченова РАН, в лаборатории Молекулярных механизмов взаимодействий

**Выражаю благодарность:**

Зубаревой Ольге Евгеньевне

Коваленко Анне

Дёминой Александре

Александр Шварцу

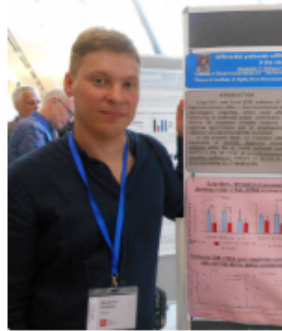
Зайцеву Алексею Васильевичу



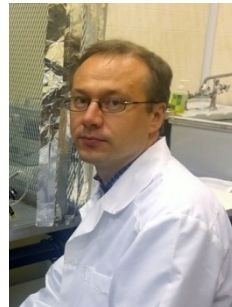
Коваленко А.А.



Дёмина А.В.



н.с., к.б.н. Шварц А.П.



д.б.н. Зайцев А.В.  
Заведующий лабораторией



в.н.с., к.б.н. Зубарева О.Е.