



УДК 577.212, 577.352, 575.113

## ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ Т-типу І КАЛІЄВОГО КАНАЛУ Kir 4.1 У СІТЧАСТОМУ ЯДРІ ТАЛАМУСА ТА СОМАТОСЕНСОРНІЙ КОРІ ЩУРІВ ЛІНІЇ WAG/Rij

**О. І. Болдирєв<sup>1,2,4</sup>, К. Л. Гулак<sup>1,4</sup>, М. Ю. Батюк<sup>1</sup>,  
В. Є. Досенко<sup>2,4</sup>, С. М. Скачков<sup>3</sup>, М. Ітон<sup>3</sup>, Я. М. Шуба<sup>1,2,4</sup>**

<sup>1</sup> Міжнародний центр молекулярної фізіології НАН України  
вул. Акад. Богомольця, 4, Київ 01024, Україна

<sup>2</sup> Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України  
вул. Акад. Богомольця, 4, Київ 01024, Україна

<sup>3</sup> Центральньо-Карибський університет  
Авеню Лаурел, 100, Байамон 00960, Пуерто-Ріко, США

<sup>4</sup> Державна ключова лабораторія молекулярної і клітинної біології  
вул. Акад. Заболотного, 150, Київ 03680, Україна  
e-mail: alexey@biph.kiev.ua

Лінія щурів WAG/Rij – це спадкова модель дитячої епілепсії людини. Хоч генетичні механізми формування нападів (абсансів) у щурів WAG/Rij невідомі, але виявлено, що у генерації імпульсно-хвильових розрядів важливу роль відіграють ділянка соматосенсорної кори, що представлена верхньою губою (“кортикальний фокус”), і сітчасте ядро таламусу (СтЯ). Досліджували експресію мРНК пороутворюючих субодиниць CACNA1G, CACNA1H, CACNA1I низькопорогових кальцієвих каналів (Т-тип) у обох кіркових ділянках і калієвого каналу Kir 4.1 у “кортикальному фокусі” за допомогою методу кількісної полімеразної ланцюгової реакції. Було з’ясовано збільшення кількості мРНК CACNA1G у “кортикальному фокусі” щурів WAG/Rij у 2,5 разу порівняно з відповідною ділянкою кори у контрольних щурів Wistar. У цьому разі мРНК CACNA1H і CACNA1I відрізнялися між лініями недовірно. Рівні мРНК CACNA1G і CACNA1H у СтЯ мали тенденцію до збільшення, а кількість мРНК CACNA1I була незмінною. Виявлено збільшення кількості білка Ca<sub>v</sub> 3.1 у тканині “кортикального фокусу” щурів WAG/Rij. Кількість мРНК калієвого каналу Kir 4.1 була однаковою в обох лініях. Наші результати вказують на ймовірну участь CACNA1G у формуванні епілептичного фенотипу у щурів лінії WAG/Rij.

**Ключові слова:** дитяча епілепсія, кальцієві канали Т-типу, калієвий канал Kir 4.1, щури лінії WAG/Rij, кількісна ПЛР, Вестерн-блот аналіз.

### ВСТУП

Лінія щурів WAG/Rij відома більше 20 років спадковою моделлю дитячої епілепсії (petit mal, абсанс-епілепсія) людини. Ця модель має високий ступінь відповідності дитячій епілепсії за показниками електроенцефалографії, характеру нападів їхньої тривалості тощо [3, 6]. Водночас генетична база виникнення епілепсії у щурів лінії

WAG/Rij та її етіологія як у щурів, так і у людини залишаються невстановленими [1]. Нещодавні дослідження вказують на зміни функції низькопорогових кальцієвих каналів (Т-типу) як імовірну причину або необхідний етап для формування нападу [2].

В основі нападу дитячої епілепсії лежить специфічна нейрональна активність – імпульсно-хвильові розряди (IXP), які циркулюють так званою таламо-кортикальною петлею, захоплюючи щоразу дедалі більші ділянки мозку. Щодо джерела появи IXP у щурів лінії WAG/Rij висунуто кілька гіпотез [9]. Одна з них припускає, що джерелом є таламус, особливо його сітчасте ядро. Справді, IXP за механізмом виникнення і характеристиками нагадують ритмічну активність таламусу під час сну [1]. Сітчасті нейрони таламусу в цьому разі функціонують як пейсмейкери, які генерують ритмічні низькопорогові кальцієві спайки, увінчані пачками розрядів потенціалів дії. Ця активність блокує надходження сенсорної інформації від нижчих відділів мозку до кори. До того ж підвищена експресія генів низькопорогових кальцієвих каналів, відкривання яких призводить до формування низькопорогових кальцієвих спайок, спостерігалася саме у сітчастому ядрі в інших моделях епілепсії [11].

Друга гіпотеза пропонує вважати джерелом IXP нейрони кори, які вже, у свою чергу, збуджують нейрони таламусу і викликають циклічний процес поширення хвиль. На користь цієї гіпотези свідчить низка енцефалографічних даних, які доводять, що під час нападу найперші синхронні коливання відбуваються у певній зоні соматосенсорної кори, наближеній до представництва верхньої губи, – “кортикальному фокусу”. Також застосування антиепілептичного препарату етосукциміду, який є неселективним блокатором кальцієвих каналів Т-типу, викликало припинення нападу у разі введення саме в цю ділянку кори, але приводило тільки до незначного зменшення активності у разі ін'єкції препарату в сітчасте ядро таламусу [6].

Під час нападів епілепсії нейрони кори і таламусу переходять у гіперзбуджений стан, який супроводжується підвищенням частоти генерації потенціалів дії, що може бути пов'язане з порушенням функції астроцитів. Астроцити є відповідальними за викачування надлишкового глутамату і калію з міжклітинного простору в мозку, знижуючи таким чином збудливість нервових клітин. Необхідним учасником підтримання мембранного потенціалу спокою в астроцитах є калієвий канал вхідного випрямлення Kir 4.1 [7], порушення роботи якого призводить до деполяризації мембрани астроциту, пригнічення захоплення калію і глутамату й посилення короткострокової синаптичної потенціалізації в нейронах [4].

Зрозуміло, що особливості роботи нервової системи щурів лінії WAG/Rij можуть бути пов'язані з генетичними особливостями певних відділів мозку, зокрема, з різним рівнем експресії генів іонних каналів. Проте для цієї лінії такі дослідження щодо кальцієвих каналів Т-типу і калієвого каналу Kir 4.1 у корі головного мозку невідомі. Виходячи з цього, у нашій роботі ми порівняли експресію генів трьох  $\alpha 1$ -субодиниць Т-каналів CACNA1G, CACNA1H, CACNA1I (на рівні мРНК) у сітчастому ядрі таламусу та ділянці “кортикального фокусу”, а також калієвого каналу Kir 4.1 у “кортикальному фокусу” щурів ліній Wistar і WAG/Rij, а надалі підтвердили зміни, що спостерігалися, за допомогою імунохімічних методів на рівні білка.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У дослідженнях використовували щурів самців з кожної лінії, віком 6–12 місяців для повного прояву епілептичного фенотипу у лінії WAG/Rij. Щурів наркотизували ефіром, декапітували та видаляли півкулі головного мозку. Мозок вміщували в охолоджену (+4 °C) штучну спинномозкову рідину (у ммоль/л: 150 NaCl, 5 KCl, 2 MgCl<sub>2</sub>,

2 CaCl<sub>2</sub>, 10 HEPES, 10 глюкози) та робили зрізи товщиною 500 мкм. Далі за атласом [8] і роботою [6] визначали локалізацію сітчастого ядра таламусу і ділянку сомато-сенсорної кори, після чого скальпелем вирізали тканину. Отримані препарати використовували для аналізу мРНК і білка методами ПЛР і Вестерн-блот. Усі маніпуляції з тваринами проводили згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин (1998), що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, і Законом України “Про захист тварин від жорстокого поводження” (2014).

**Кількісна полімерна ланцюгова реакція.** Тканину негайно гомогенізували у розчині Trizol (Trizol RNA-Prep, “Isogene”, Росія), а гомогенат використовували для виділення сумарної РНК. Зворотну транскрипцію здійснювали за допомогою RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, Литва), беручи 0,3–0,6 мкг сумарної РНК та оліго-dT(18) праймер. З отриманої одноланцюгової ДНК ампліфікували за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі фрагменти генів, що кодують пороутворюючі субодиниці каналів Ca<sub>v</sub> 3.1, Ca<sub>v</sub> 3.2, Ca<sub>v</sub> 3.3 і гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогеназу (GAPDH, внутрішній контроль). Реакційна суміш складалася з: двократної ПЛР-суміші FastTaqMan PCR MasterMix (Applied Biosystems, США), 5 мкМ розчину кожного (прямого та зворотного) праймера і флуоресцентного зонда, 2 мкл ДНК, отриманої після зворотної транскрипції. ПЛР здійснювали у термоциклері 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США) за програмою 94 °C 5 с, 60 °C 30 с протягом 45–50 циклів. Праймери для CACNA1G (набір Rn01460253\_m1), CACNA1H (набір Rn01460339\_gH), CACNA1I (прямий – 5'-GCTCGTGGTGCTCATGAAGA-3', зворотний – 5'-ATGAAGATGAACAGCATGAGTAGCA-3', зонд – ACGTGGCCACCTTCT, барвник FAM) були розроблені та валідовані компанією Applied Biosystems (США). Для визначення кількості GAPDH використовували TaqMan Rodent GAPDH Control Reagents (VIC™ Probe) (Applied Biosystems, США).

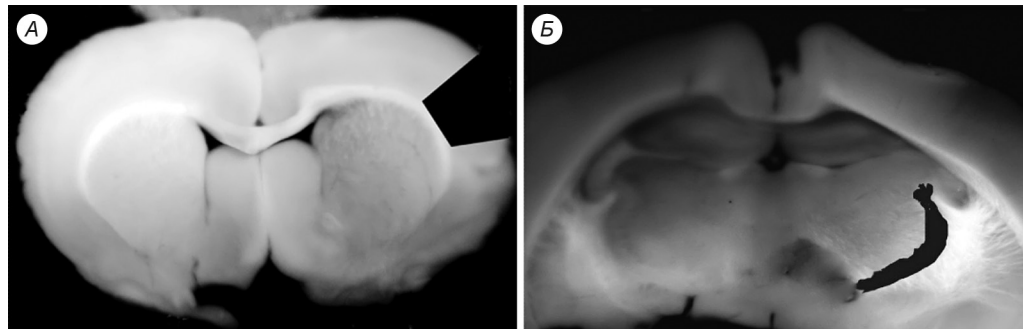
Кількісну оцінку експресії й обробку даних проводили з використанням програмного забезпечення 7500 Fast System SDS Software 1.3.1 (Applied Biosystems, США).

**Вестерн-блот аналіз.** Тканину негайно гомогенізували у розчині PFA з 0,5% TritonX-100 за допомогою скляного гомогенізатора Поттера. Отриману суміш центрифугували упродовж 30 хв при 16 000 g та +4 °C. Білкову фракцію надосадової частини розділяли електрофорезом у 7,5% поліакриламідному гелі з додаванням додецилсульфату натрію. Після цього білок з гелю переносили на нітроцелюлозну мембрану способом напівсухого електропереносу, використовуючи прилад BioSan. Білок каналу Ca<sub>v</sub> 3.1 виявляли за допомогою специфічних поліклональних антитіл кролика. Для внутрішнього контролю використовували антитіла кролика проти β-актину. Далі інкубували мембрану з вторинними козячими антитілами проти неваріабельної ділянки антитіл кролика, кон'югованими з пероксидазою хрому. Хемілюмінесценцію фіксували за допомогою рентгенівської плівки. Кількість білка порівнювал методом денситометрії.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Експресію генів трьох пороутворювальних α1-субодиниць T-каналів на рівні мРНК визначали у сітчастому ядрі таламусу та у ділянці “кортикального фокусу”, що міститься у соматосенсорній корі, в яку проектується закінчення від носа та верхньої губи (рис. 1). Порівнювали відповідні ділянки мозку щурів ліній Wistar та WAG/Rij віком 6–12 місяців, по 8 щурів у кожній групі. Було знайдено експресію всіх трьох генів α1-субодиниць у обох ліній у кожній досліджуваній ділянці, однак

рівні їхніх мРНК відрізнялися. Так, рівень експресії цих генів у сітчастому ядрі таламусу в обох лініях можна виразити такою послідовністю: CACNA1I>>CACNA1G>CACNA1H. У “кортикальному фокусі” щурів лінії Wistar рівні експресії були: CACNA1I>CACNA1G>CACNA1H, тоді як у тій же ділянці кори щурів лінії WAG/Rij трохи відрізнялися: CACNAI~CACNA1G>>CACNA1H.



**Рис. 1.** Розташування ділянки “кортикального фокусу” (А) та сітчастого ядра таламусу (Б) на зрізах мозку щура. Фотографії зроблено за допомогою фотоапарата Canon і об’єктива з фокусною відстанню 50 мм і кроп-фактором матриці 1,6× без додаткового збільшення

**Fig. 1.** Position of “cortical focus” (A) and reticular thalamic nucleus (B) on rat brain slices. Pictures are taken with Canon camera (50 mm lens, 1.6× crop of a sensor, no additional magnification)

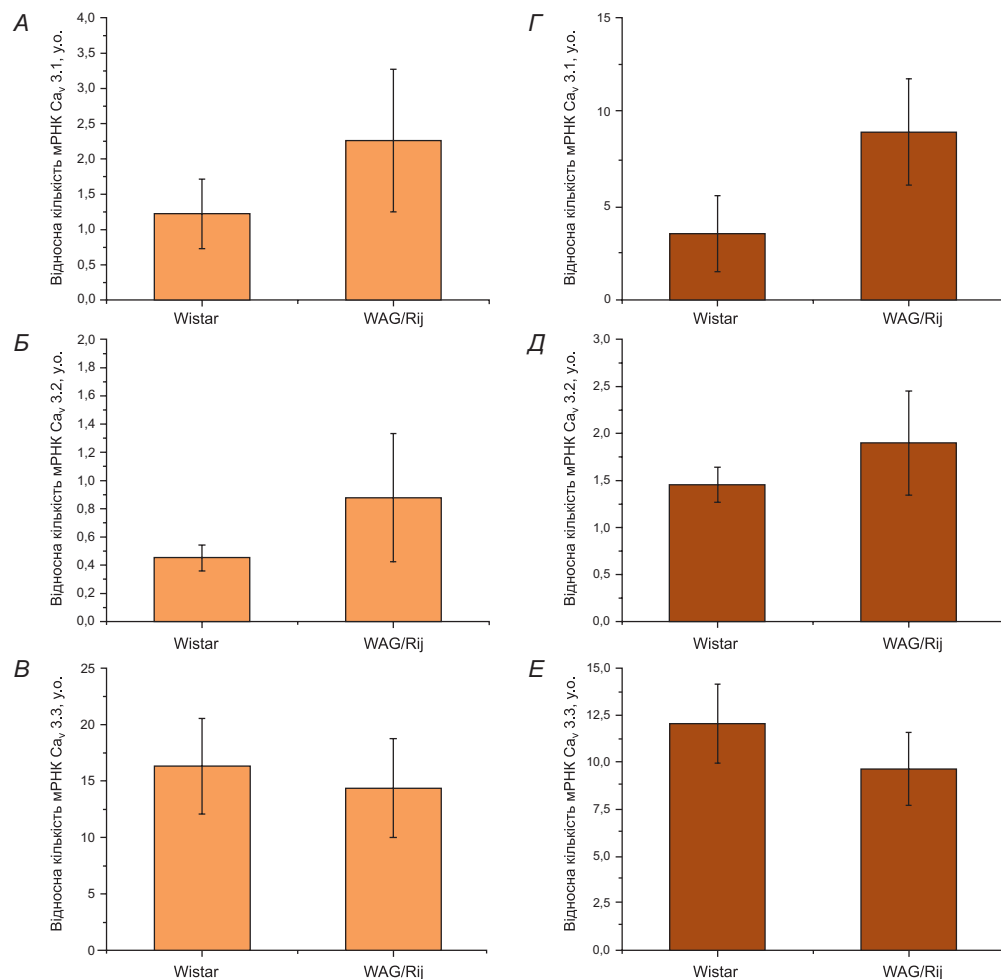
Порівняння рівнів експресії генів кожної із  $\alpha 1$ -субодиниць між нормальними й епілептичними щурами виявило деякі відмінності. Так, рівень експресії CACNA1G виявився трохи збільшеним у щурів лінії WAG/Rij порівняно з Wistar у сітчастому ядрі. Зокрема “кортикальному фокусі” це збільшення становить 153 % для лінії WAG/Rij порівняно з Wistar (рис. 2).

Кількість транскрипту CACNA1H була підвищеною у щурів WAG/Rij порівняно зі щурами Wistar як у сітчастому ядрі таламусу, так і у досліджуваній ділянці кори.

Рівень експресії гена CACNA1I незначно зменшувався у обох досліджуваних ділянках у щурів WAG/Rij. Рівень експресії гена каналу Kir 4.1 був практично однаковий у ділянці “кортикального фокусу” щурів обох ліній (рис. 3).

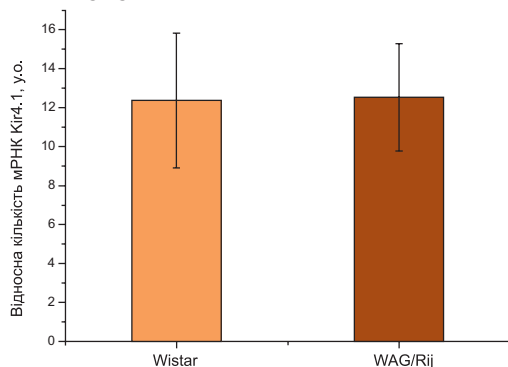
Для визначення того, чи зміни в кількості мРНК відображаються на рівні білка каналу  $\text{Ca}_v 3.1$ , ми дослідили методом Вестерн-блот аналізу білковий склад тканини “кортикального фокусу”. Проводили три незалежних дослідження наявності білка каналу  $\text{Ca}_v 3.1$  у тканинах щурів ліній WAG/Rij і Wistar шестимісячного віку ( $n = 5$  у кожній групі). У всіх досліджуваних зразках поліклональними анти- $\text{Ca}_v 3.1$  антитілами було виявлено білкову смугу на рівні вище 250 кДа (приблизно 270 кДа), що відповідає розміру досліджуваного білка. Напівкількісним порівнянням за допомогою денситометрії встановлено збільшення кількості субодиниці  $\text{Ca}_v 3.1$  у 2,1 разу в тканинах щурів лінії WAG/Rij порівняно зі щурами Wistar (рис. 4).

Досліджено експресію генів низькопорогових кальцієвих каналів у двох ділянках мозку щурів лінії WAG/Rij, які вважаються відповідальними за формування епілептогенних IXP. Продемонстровано збільшення рівня мРНК і білка каналу CACNA1G та у ділянці потенційного кортикального “фокусу”. Імовірно, однією з причин формування IXP у таламо-кортикальній петлі є надлишок кальцієвих каналів, як вважали деякі автори [12]. Наші результати також узгоджуються з висновками дослідження [10] про ключову роль саме CACNA1G у виникненні нападів у мишачій моделі дитячої епілепсії. У роботі [5] у разі штучного збільшення рівня білка  $\text{Ca}_v 3.1$  у мозку мишей



**Рис. 2.** Відносний рівень експресії мРНК трьох  $\alpha 1$ -субодиниць низькопорогових кальцієвих каналів у сітчастому ядрі (А, Б, В) та "кортикальному фокусі" (Г, Д, Е) у лінії WAG/Rij і Wistar: А, Г – CACNA1G; Б, Д – CACNA1H; В, Е – CACNA1I

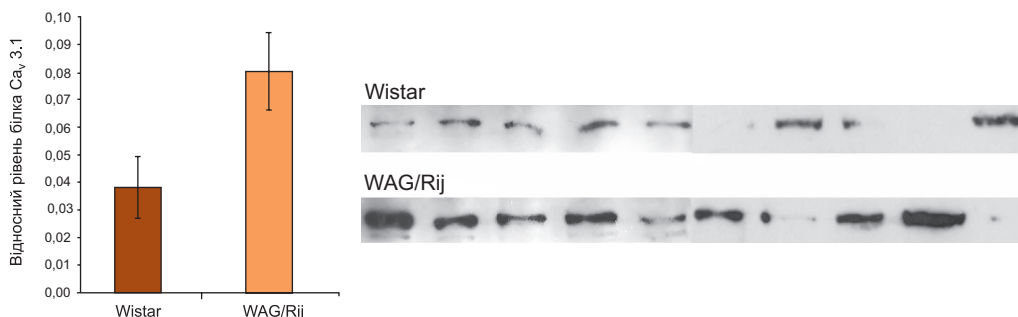
**Fig. 2.** Relative mRNA expression levels of 3 T-type calcium channel  $\alpha 1$ -subunits in reticular nucleus (A, Б, В) and "cortical focus" (Г, Д, Е) of WAG/Rij та Wistar: А, Г – CACNA1G; Б, Д – CACNA1H; В, Е – CACNA1I



**Рис. 3.** Відносний рівень експресії мРНК калієвого каналу Kir 4.1 у "кортикальному фокусі" щурів ліній WAG/Rij і Wistar

**Fig. 3.** Relative mRNA expression level of potassium channel Kir 4.1 in "cortical focus" of WAG/Rij and Wistar rat strains

виникав фенотип з ІХР, характерними для дитячої епілепсії людини. Цікаво, що автори зосередилися на вивченні ролі таламуса в цій моделі, хоча їхні результати з гібридизації мРНК *in situ* однозначно вказують на значне підвищення експресії гена *CACNA1G* у корі. Подальші дослідження будуть спрямовані на встановлення наявності в кортикальних нейронах функціональних Т-каналів і їхніх характеристик.



**Рис. 4.** Кількість білка  $\text{Ca}_v3.1$  у ділянці “кортикального фокуса” соматосенсорної кори щурів ліній WAG/Rij та Wistar. Смуги на блоті відповідають розміру молекули більше 250 кДа. Проби вирівняні за концентрацією сумарного білка та за мономером актину

**Fig. 4.**  $\text{Ca}_v3.1$  protein amount in “cortical focus” of WAG/Rij and Wistar rat strains. Bands are located higher than 250 kDa marker band. Samples are adjusted by total protein concentration and actin bands

Подібна оцінка експресії генів субодиниць Т-каналів, здійснена у сітчастому ядрі таламуса щурів лінії WAG/Rij, виявила збільшення кількості як мРНК *CACNA1H*, так і *CACNA1I*, однак не *CACNA1G* [2]. Таке розходження може бути пов'язане з особливостями ліній щурів, використаних як контроль у згаданому дослідженні та цій роботі – ACI та Wistar, відповідно. Водночас відсутність різниці в експресії гена *Kir 4.1* каналу не дає можливості говорити про залучення цього астроцитарного каналу в генезис формування нападу.

## ВИСНОВОК

Кількість низькопорогового кальцієвого каналу  $\text{Ca}_v3.1$  збільшується у “кортикальному фокусі”, що свідчить про його ймовірну участь у формуванні епілептичного фенотипу щурів лінії WAG/Rij. Внесок інших низькопорогових кальцієвих каналів і астроцитарного калієвого каналу *Kir 4.1* є малоімовірним.

1. Anderson M.P., Mochizuki T., Xie J. et al. Thalamic  $\text{Ca}_v3.1$  T-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel plays a crucial role in stabilizing sleep. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 2005; 102(5): 1743–1748.
2. Broicher T., Kanyshkova T., Meuth P. et al. Correlation of T-channel coding gene expression, IT, and the low threshold  $\text{Ca}^{2+}$  spike in the thalamus of a rat model of absence epilepsy. **Molecular and Cellular Neuroscience**, 2008; 39(3): 384–399.
3. Coenen A.M., E.L. van Luijckelaar. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. **Behavioral Genetics**, 2003; 33(6): 635–655.
4. Djukic B., Casper K.B., Philpot B.D. et al. Conditional knock-out of *Kir4.1* leads to glial membrane depolarization, inhibition of potassium and glutamate uptake, and enhanced short-term synaptic potentiation. **Journal of Neuroscience**, 2007; 27(42): 11354–11365.



5. Ernst W.L., Zhang Y., Yoo J.W. et al. Genetic enhancement of thalamocortical network activity by elevating alpha 1g-mediated low-voltage-activated calcium current induces pure absence epilepsy." **Journal of Neuroscience**, 2004; 29(6): 1615–1625.
6. Meeren H.K., Pijn J. P.M., Van Luijckelaar E.L. et al. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. **The Journal of Neuroscience**, 2002; 22(4): 1480–1495.
7. Olsen M.L., Sontheimer H. Functional implications for Kir4.1 channels in glial biology: from K<sup>+</sup> buffering to cell differentiation. **Journal of Neurochemistry**, 2008; 107(3): 589–601.
8. Paxinos G., Watson C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates** New York: Academic Press, 1997.
9. Shin H.S. T-type Ca<sup>2+</sup> channels and absence epilepsy. **Cell Calcium**, 2006; 40(2): 191–196.
10. Song I., Kim D., Choi S. et al. Role of the alpha1G T-type calcium channel in spontaneous absence seizures in mutant mice. **Journal of Neuroscience**, 2004; 24(22): 5249–5257.
11. Talley E.M., Solryzano G., Depaulis A. et al. Low-voltage-activated calcium channel subunit expression in a genetic model of absence epilepsy in the rat." **Molecular Brain Research**, 2000; 75(1): 159–165.
12. Zhang Y., Vilaythong A.P., Yoshor D., Noebels J.L. Elevated thalamic low-voltage-activated currents precede the onset of absence epilepsy in the SNAP25-deficient mouse mutant coloboma. **Journal of Neuroscience**, 2004; 24(22): 5239–5248.

#### T-type CALCIUM CHANNEL AND Kir 4.1 POTASSIUM CHANNEL GENE EXPRESSION IN THALAMIC RETICULAR NUCLEUS AND SOMATOSENSORY CORTEX OF WAG/Rij RAT STRAIN

**O. Boldyriev<sup>1,2,4</sup>, K. Gulak<sup>1,4</sup>, M. Batiuk<sup>1</sup>,  
V. Dosenko<sup>2,4</sup>, S. Skatchkov<sup>3</sup>, M. Iton<sup>3</sup>, Y. Shuba<sup>1,2,4</sup>**

<sup>1</sup> International Center of Molecular Physiology, NAS of Ukraine  
4, Bogomoletz St., Kyiv 01024, Ukraine

<sup>2</sup> Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, 4, Bogomoletz St., Kyiv 01024, Ukraine

<sup>3</sup> Universidad Central del Caribe, 100, Laurel Ave, Bayamon 00960, Puerto Rico, USA

<sup>4</sup> State Key Laboratory of Molecular and Cellular Physiology  
150, Academic Zabolotny St., Kyiv 03680, Ukraine  
e-mail: alexey@biph.kiev.ua

WAG/Rij rat strain is inherited model of human childhood absence epilepsy. Genetic mechanisms of seizures are unknown but it was shown that reticular thalamic nucleus (RTn) and somatosensory cortex ('cortical focus') are involved in appearing of spike-wave discharges (SWD) origin. T-type calcium channels are long suspected players in development of SWD in thalamocortical loop; Kir 4.1 is essential channel for normal physiology of cortical astrocytes involved in the glutamate uptake. We examined mRNA expression level of Kir 4.1 in somatosensory 'cortical focus' and three T-channels alpha1-subunits in both 'cortical focus' and RTn of WAG/Rij strain compared to control Wistar rats by means of RT-qPCR. We found CACNA1I>>CACNA1G>CACNA1H in RTn of both strains. In 'cortical focus' tissue mRNA quantity was CACNA1I>CACNA1G>>CACNA1H for Wistar and CACNA1I=CACNA1G>>CACNA1H for WAG/Rij strain. CACNA1G mRNA is slightly upregulated in RTn and 3-fold in 'cortical focus' of WAG/Rij. Level of CACNA1H is also higher in both brain regions in WAG/Rij rats. CACNA1I showed insignificant decreasing in both studied tissues of WAG/Rij strain. Level of Ca<sub>v</sub>3.1 protein was increased in 'cortical focus' tissue of WAG/Rij. We also demonstrated stable level of Kir 4.1 mRNA

expression in 'cortical focus'. Our results may suggest CACNA1G involvement in SWD generation in somatosensory cortex while role of other T-type calcium channel subunits and Kir 4.1 is less possible.

**Keywords:** childhood epilepsy, low-voltage-activated calcium channels, thalamus, somatosensory cortex, qPCR, Western-blot analysis.

## ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ Т-типа И КАЛИЕВОГО КАНАЛА Kir 4.1 В СЕТЧАТОМ ЯДРЕ ТАЛАМУСА И СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЕ КРЫС ЛИНИИ WAG/Rij

**А. И. Болдырев<sup>1,2,4</sup>, К. Л. Гулак<sup>1,4</sup>, М. Ю. Батюк<sup>1</sup>,  
В. Е. Досенко<sup>2,4</sup>, С. М. Скачков<sup>3</sup>, М. Итон<sup>3</sup>, Я. М. Шуба<sup>1,2,4</sup>**

<sup>1</sup>Международный центр молекулярной физиологии НАН Украины  
ул. Акад. Богомольца, 4, Киев 01024, Украина

<sup>2</sup>Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАН Украины  
ул. Акад. Богомольца, 4, Киев 01024, Украина

<sup>3</sup>Центрально-Карибский университет  
Авеню Лаурел, 100, Байамон 00960, Пуэрто-Рико, США

<sup>4</sup>Государственная ключевая лаборатория молекулярной и клеточной биологии  
ул. Акад. Заболотного, 150, Киев 03680, Украина  
e-mail: alexey@biph.kiev.ua

Линия крыс WAG/Rij – это наследственная модель детской эпилепсии человека. Генетические механизмы формирования приступов (абсансов) у крыс WAG/Rij неизвестны, однако обнаружено, что в генерации импульсно-волновых разрядов важную роль играют зона соматосенсорной коры верхней губы (“кортикальный фокус”) и сетчатое ядро таламуса (СтЯ). Исследовали экспрессию мРНК поробразующих субъединиц CACNA1G, CACNA1H, CACNA1I низкопороговых кальциевых каналов (Т-тип) в обеих зонах и калиевого канала Kir 4.1 в “кортикальном фокусе” при помощи метода количественной полимеразной цепной реакции. Было показано увеличение количества мРНК CACNA1G в “кортикальном фокусе” крыс WAG/Rij приблизительно в 2,5 раза по сравнению с соответствующим участком коры у крыс Wistar. При этом мРНК CACNA1H и CACNA1I отличались между линиями недостоверно. Уровни мРНК CACNA1G и CACNA1H у СтЯ имели тенденцию к увеличению, а количество мРНК CACNA1I было неизменным. Выявлено увеличение количества белка Ca<sub>v</sub>3.1 в ткани “кортикального фокуса” крыс WAG/Rij. Количество мРНК калиевого канала Kir 4.1 было одинаковым в двух линиях. Наши результаты указывают на вероятное участие изменений экспрессии мРНК CACNA1G в формировании эпилептического фенотипа у крыс линии WAG/Rij.

**Ключевые слова:** детская эпилепсия, кальциевые каналы Т-типа, калиевый канал Kir 4.1, крысы линии WAG/Rij, количественная ПЦР, Вестерн-блот анализ.

Одержано: 17.08.2015