

DOI: 10.1134/S0869813918110067

РИТМЫ АКТИВНОСТИ—ПОКОЯ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА У МЫШЕЙ, НОКАУТНЫХ ПО ГЕНУ *Panx1*

© В. М. Ковальзон,^{1,2} А. А. Латышкова,^{1,3}
А. Д. Комарова,^{1,3} Ю. В. Панчин^{1,4}

¹ Институт проблем передачи информации им. А. А. Харкевича, РАН,
Москва, Россия

E-mail: kovalzon@sevin.ru

² Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН,
Москва, Россия

³ Кафедра высшей нервной деятельности биологического факультета
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова,
Москва, Россия

⁴ Институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского,
Москва, Россия

Паннексины — семейство из трех белков, играющих важную роль в межклеточной коммуникации. В работе показано, что у мышей, нокаутных по гену белка *Panx1* (*Panx1^{-/-}*), отмечается более высокий уровень двигательной активности и более высокая представленность бодрствования за счет снижения медленного сна по сравнению с контрольными животными из-за пониженного содержания аденозина в головном мозге. Далее было предположено, что у этих мышей также могут наблюдаться нарушения терморегуляции и температурной кривой суточного ритма. Для проверки 8 взрослым мышам-самцам линии C57BL/6J (контроль) и 8 выведенным от этой линии взрослым самцам *Panx1^{-/-}* под легким наркозом вживляли внутрибрюшинно автономные датчики температуры и двигательной активности. Проводили многомесячную регистрацию при окружающей температуре $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Результаты подтвердили ранее полученные нами данные о более высокой двигательной активности *Panx1^{-/-}* мышей по сравнению с контрольными. Суточный ритм температуры тела у *Panx1^{-/-}* мышей был сохранен и не отличался от такового у контрольных животных. В первой серии опытов была обнаружена повышенная склонность к впадению в торпор у *Panx1^{-/-}* мышей по сравнению с контрольными животными. Однако в последующей серии, проводившейся у других четырех пар животных, впадений в торпор не отмечалось. Таким образом, роль гена белка *Panx1* во внутрисуточном ритме активность—покой подтвердилась, а его роль в температурном ритме и терморегуляторных реакциях осталась неясной и требует проведения дальнейших исследований.

Ключевые слова: паннексины, активность—покой, терморегуляция.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 11. С. 1325—1330. 2018

V. M. Kovalzon,^{1,2} A. A. Lатышкова,^{1,3} A. D. Komarova,^{1,3} Yu. V. Panchin.^{1,4} REST-ACTIVITY AND BODY TEMPERATURE RHYTHMS IN *Panx1^{-/-}* MICE. ¹ Kharckevich Institute

Information Transmission of RAS, Moscow, Russia; e-mail: kovalzon@sevin.ru; ² Severtsov Institute Ecology and Evolution, of RAS, Moscow, Russia; ³ Department Higher Nervous Activity, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; ⁴ Belozersky Institute Physical-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.

Pannexins are a protein family playing an important role in the intercellular communication. We have previously demonstrated the elevated locomotor activity and wake time percentage at the expense of NREM sleep in *Panx1*^{-/-} as compared to WT mice. This effect is possibly due to the decreased level of cerebral adenosine in *Panx1*^{-/-} mice. Thus we also proposed possible disturbances in thermoregulation and the circadian temperature curve. To check up the hypothesis, 8 adult male *Panx1*^{-/-} and 8 correspondent WT mice; were implanted with intraperitoneal autonomic temperature and movement probes under anesthesia. The recording were performed for several months at the room temperature (23 ± 1°C). The results confirmed our previous data on higher movement activity in *Panx1*^{-/-} vs. WT mice. Circadian rhythm of body temperature was the same in both groups of mice. Increased tendency to fall into torpor in *Panx1*^{-/-} vs. WT mice was observed in the four pairs of animals that were studied after the summer solstice. However, no falls were observed in another four pairs of mice studied after the winter solstice. Thus, the role of *Panx1* gene in the circadian rhythm of rest-activity was confirmed, although its role in the temperature rhythm and thermoregulatory reactions remains unclear and requires further investigation.

Key words: pannexins, rest-activity rhythm, thermoregulation.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 11. P. 1325—1330. 2018

Паннексин-1 (*Panx1*) — белок, обнаруженный в 2000 г. группой российских исследователей [1]. Последующее интенсивное изучение этого белка и его гена различными авторами показало, что имеются три паралога паннексинов, экспрессированных в различных органах и тканях млекопитающих; при этом экспрессия *Panx1* в головном мозге — одна из самых высоких [2]. Паннексины играют важную роль в межклеточной коммуникации, поскольку формируют как щелевые контакты между клетками, так и полуканалы в наружной клеточной мембране. Последние обладают высокой проницаемостью для АТФ и ряда других сигнальных молекул. Эти свойства определяют ключевое значение паннексинов в паракринной и аутокринной регуляции [2, 3]. Нервные и глиальные клетки экспрессируют этот белок уже на ранних стадиях эмбрионального развития, так что формирование дефектных клеточных каналов может сказываться на нейрональном развитии и дифференцировке [3, 4]. Отсутствие образуемых *Panx1* мембранных каналов может приводить к снижению поступления АТФ в межклеточную среду головного мозга. Таким образом, паннексины должны быть вовлечены в регуляцию многих важных биологических функций, а также в реализацию ряда патологических механизмов. Однако реальная физиологическая роль этой группы белков остается малоизученной.

Животные, нокаутные по паннексинам, фертильны и внешне сходны с контрольными, хотя у них и обнаружены некоторые изменения в работе отдельных органов и систем. Так, нами было показано, что мыши, нокаутные по гену белка *Panx1* (*Panx1*^{-/-}), демонстрируют более высокий уровень двигательной активности и более высокую представленность бодрствования за счет снижения медленного сна по сравнению с контрольными животными. Эти изменения особенно заметны в темный (активный) период суток [5]. Причиной таких изменений, по нашему предположению, является снижение концентрации аденозина в межклеточной жидкости, являющееся в свою очередь результатом нарушения поступления его предшественника, АТФ, через мембранные каналы, отсутствующие у *Panx1*^{-/-} мышей. Аденозин же является важ-

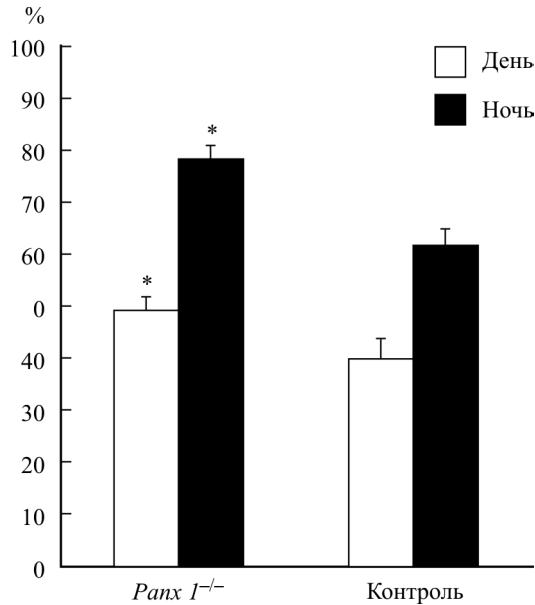


Рис. 1. Средняя суммарная продолжительность периодов активного бодрствования контрольных ($N = 8$; правая пара столбиков) и *Panx1^{-/-}* ($N = 8$; левая пара столбиков) мышей в течение восьмисуточного произвольно выбранного периода (светлые столбики — «день», темные столбики — «ночь») без внешних воздействий при температуре 23 °С в камере в процентах ($M \pm SEM$; 12 ч = 100%; *достоверное различие между группами, $p < 0.05$; U-test).

нейшим «фактором медленного сна» и, возможно, торпора, а антагонист его рецепторов, кофеин, — общеизвестным стимулятором бодрствования [6, 7].

Кроме воздействия на цикл бодрствование—сон аденозин вызывает заметное снижение температуры тела [6, 7]. В этой связи мы предположили, что у *Panx1^{-/-}* мышей могут также наблюдаться нарушения терморегуляции и температурной кривой суточного ритма. Для проверки этого предположения 8 взрослым (2—3-месячным массой 25—30 г) мышам-самцам линии C57BL/6J (контроль) и 8 выведенным от этой линии взрослым самцам *Panx1^{-/-}* под легким авертиновым наркозом вживляли внутрибрюшинно датчики (экологгеры). Экологгеры 3.9 конструкции Д. В. Петровского (Новосибирск) представляют собой миниатюрные изолированные капсулы из биологически нейтрального пластика, в которых находится термодатчик и акселерометр, а также накопитель и источник питания. Экологгер позволяет длительное время (недели и месяцы) проводить измерения температуры «сердцевины» тела с заданной периодичностью и чувствительностью параллельно с регистрацией двигательной активности животного. Данные могут быть извлечены неинвазивно в любой момент с помощью специального считывателя, поднесенного на 10—15-й секунде к брюшной полости животного.

Работа проведена в соответствии с принципами Базельской декларации, и протокол исследования поддержан этической комиссией ИПЭЭ РАН. Животные находились в индивидуальных камерах из оргстекла размером 20×20×45 см в изолированном подвальном помещении, лишенном связи с внешними ритмоводителями при окружающей температуре 23 ± 1 °С. Яркий белый свет в камерах включался автоматически в 9 ч и сменялся в 21 ч на слабый красный. Вода и пища были доступны постоянно. Температура тела

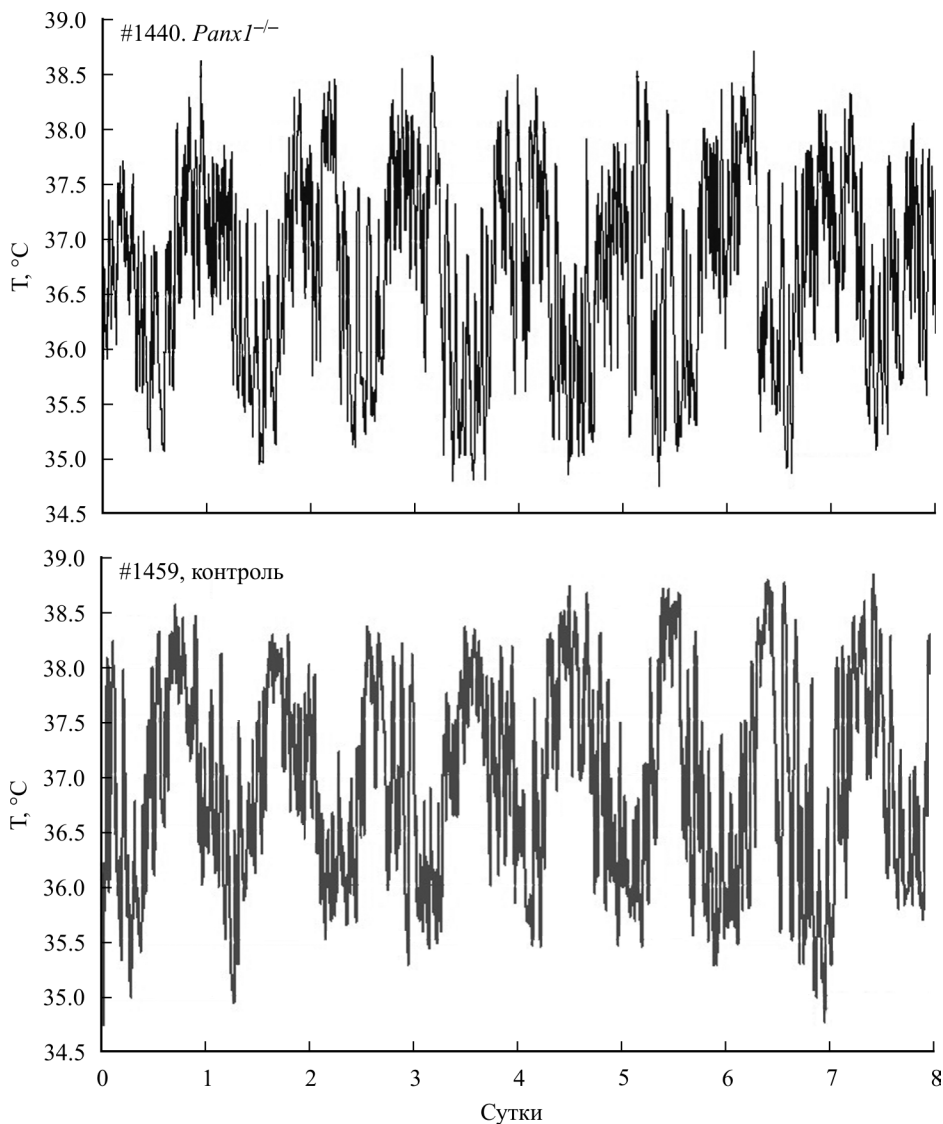


Рис. 2. Суточный ритм температуры тела у $Panx1^{-/-}$ и контрольной мыши при комнатной окружающей температуре (23 °C).

По оси абсцисс — сутки записи; по оси ординат — температура тела в °C.

измерялась датчиком в автоматическом режиме раз в 10 мин с чувствительностью 0.1 °C, и результаты хранились в накопителе до их считывания.

Результаты настоящих опытов подтвердили ранее полученные нами данные о более высокой двигательной активности $Panx1^{-/-}$ мышей по сравнению с контрольными (рис. 1). Эффект был особенно выражен в ночной период.

Суточный ритм температуры тела у $Panx1^{-/-}$ мышей был сохранен и не отличался от такового у контрольных животных (рис. 2).

В первой серии опытов, которая проводилась у четырех пар животных, была обнаружена повышенная склонность к впадению в торпор (рис. 3) при комнатной температуре у $Panx1^{-/-}$ мышей (7 эпизодов за 3 месяца у трех из

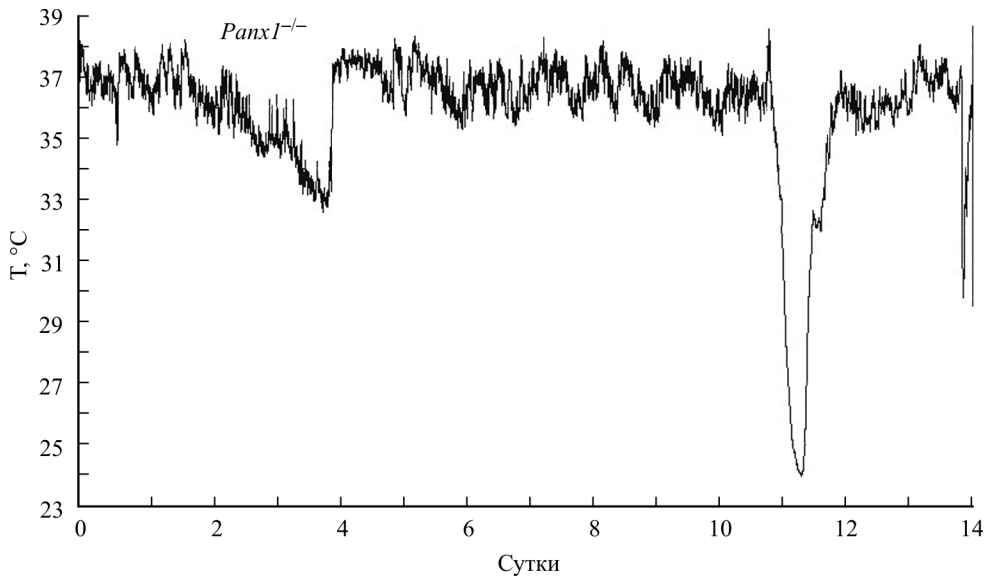


Рис. 3. Спонтанное впадение в торпор мыши *Panx1^{-/-}* при комнатной температуре (23 °С).
По оси абсцисс — сутки записи; по оси ординат — температура тела в °С.

четырёх животных) по сравнению с контрольными животными (0 эпизодов за 3 месяца).

Однако в последующей серии, проводившейся у других четырех пар животных, не было отмечено ни одного впадения в торпор ни у *Panx1^{-/-}*, ни у контрольных животных.

Как говорилось выше, повышенная двигательная активность, которая отмечалась у *Panx1^{-/-}* мышей, связана, по нашей гипотезе, с недостаточным уровнем аденозина в головном мозге. Это в свою очередь отражает нарушение поступления его источника, АТФ, из клеток мозга в межклеточную жидкость из-за отсутствия мембранных полуканалов *pannexin1*. Выборочные данные, дополнительно полученные в нашем исследовании (в настоящем кратком сообщении не представлены), указывают, что статистическая значимость различий сохраняется при учете данных за весь период эксперимента. Наши предшествующие исследования [5] также говорят о закономерности этого явления для *Panx1^{-/-}* мышей.

Что же касается температуры тела, то в изучении ее регуляции у мышей как модельных объектов, в том числе механизмов торпора, в последние годы достигнут значительный прогресс, связанный в первую очередь с внедрением новейших технологий в экспериментальные методы [8–10]. Тем не менее ее регуляция у *Panx1^{-/-}* и нормальных мышей линии C57 требует дальнейшего изучения. Первая серия экспериментов, приведенных в данном сообщении, проводилась во второй половине года, в сезон после летнего солнцестояния. Вторая серия проводилась в первой половине года, в сезон после зимнего солнцестояния. Поскольку наши подопытные животные не имели возможности использовать внешние ритмоводители, можно предположить, что различия между сериями связаны с внутренней сезонной динамикой физиологических процессов, которая у лабораторных грызунов хорошо выражена даже при виварном содержании (включающем искусственное освещение и посто-

янную температуру). В целом эффект отсутствия гена белка Pannx1 на терморегуляцию мышей пока надо признать неопределенным.

Таким образом, роль гена белка Pannx1 во внутрисуточном ритме активности—покой подтвердилась, а его роль в температурном ритме и терморегуляторных реакциях осталась неясной и требует проведения дальнейших исследований.

Работа выполнена при помощи гранта РНФ (проект № 17-15-01433).
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] *Panchin Y., Kelmanson I., Matz M., Lukyanov K., Usman N., Lukyanov S.* A Ubiquitous family of putative gap junction molecules. *Current Biology*. 10(13): R473—R474. 2000.
- [2] *Esseltine J. L., Laird D. W.* Next-generation connexin and pannexin cell biology. *Trends Cell Biology*. 26(12): 944—955. 2016.
- [3] *Shestopalov V. I., Panchin Y. V.* Pannexins and gap junction protein diversity. *Cell. Mol. Life Sci.* 65(3): 376—394. 2008.
- [4] *Shestopalov V. I., Panchin Y., Tarasova O. S., Gaynullina D., Kovalzon V. M.* Pannexins are potential new players in the regulation of cerebral homeostasis during sleep-wake cycle. *Front. Cell. Neurosci.* 11: 210. 2017.
- [5] *Kovalzon V. M., Moiseenko L. S., Ambaryan A. V., Kurtenbach S., Shestopalov V. I., Panchin Y. V.* Sleep-wakefulness cycle and behavior in pannexin1 knockout mice. *Behav. Brain Res.* 318: 24—27. 2017.
- [6] *Holst S. C., Landolt H. P.* Sleep homeostasis, metabolism, and adenosine. *Curr. Sleep Med. Reports*. 1(1): 27—37. 2015.
- [7] *Silvani A., Cerri M., Zoccoli G., Swoap S. J.* Is adenosine action common ground for NREM sleep, torpor, and other hypometabolic states? *Physiology*. 33: 182—196. 2018.
- [8] *Jastroch M., Giroud S., Barrett P., Geiser F., Heldmaier G., Herwig A.* Seasonal control of mammalian energy balance: Recent advances in the understanding of daily torpor and hibernation. *J. Neuroendocrinology*. 28(11) doi 1111/jne 12437. 2018.
- [9] *Van Breukelen F., Martin S. L.* The hibernation continuum: physiological and molecular aspects of metabolic plasticity in mammals. *Physiology*. 30: 273—281. 2015.
- [10] *Geiser F.* Hibernation. *Curr. Biology*. 23(5): R188—R193. 2013.

Поступила 18.10.2018
После доработки 22.10.2018
Принята к публикации 19.11.2018