

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



УДК 612.85.01

Сравнительное исследование слуховой чувствительности крыс линии Wistar и крыс-гетерозигот со сниженной экспрессией гена транспортера дофамина DAT-1

Г.Д. Хорунжий^{1, *} , М.А. Егорова¹ , З.С. Фесенко², Е.В. Ефимова² 

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова, Российская академия наук, Россия, 194223, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44

²Санкт-Петербургский государственный университет, Институт трансляционной биомедицины Санкт-Петербургского государственного университета, Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9

*e-mail: khorunzhii.gd@gmail.com

Выполнено сравнительное исследование характеристик слуховой чувствительности интактных крыс линии Wistar и крыс-гетерозигот трансгенной линии DAT-het (dopamine transporter heterozygous) со сниженным уровнем экспрессии гена *Slc6a3*, кодирующего дофаминовый транспортер обратного захвата 1 (dopamine transporter 1, DAT-1), представляющих собой экспериментальную модель патологии системы дофаминергических нейронов (синдром дефицита внимания и гиперактивности). В ходе работы анализировали амплитудные и временные параметры коротколатентных стволовых слуховых вызванных потенциалов, зарегистрированных у крыс обеих линий при действии парных щелчков и одиночных тональных сигналов. Характеристики слуховой чувствительности крыс линий Wistar и DAT-het были сходными, но, тем не менее, сравнительный анализ амплитуд волн коротколатентных стволовых слуховых вызванных потенциалов выявил значимо большую амплитуду волны 1 у крыс линии DAT-het. Полученные данные позволяют предположить, что гетерозиготы DAT-het отличаются от крыс с нормально функционирующим транспортером обратного захвата дофамина DAT-1 повышенным уровнем дофаминергической передачи сигнала, сопряженной с активацией D1-рецепторов, локализованных в мембранах нейронов спирального ганглия улитки внутреннего уха.

Ключевые слова: крыса, дофаминергическая система, синдром дефицита внимания и гиперактивности, трансгенные животные, слух, коротколатентные стволовые слуховые вызванные потенциалы

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-80-3-3

Введение

Хорошо известно, что нарушения функций дофаминергической системы лежат в основе патогенеза целого ряда тяжелых расстройств центральной нервной системы, включая болезнь Паркинсона и синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) [1–4]. Высокая социальная значимость данных патологий и несовершенство их диагностических критериев (что особенно справедливо в отношении СДВГ) делают актуальной задачей поиск их дополнительных маркеров. Данные о повышенном риске развития тяжелых форм СДВГ у детей, у которых диагностированы нарушения слуха [5, 6], дают основания полагать, что результаты оценки слуховой чувствительности пациента могут быть использованы в качестве дополнительного критерия при диагностике СДВГ, особенно в спорных

и неоднозначных ситуациях. Разработке такого критерия может способствовать исследование характеристик слуха у трансгенных животных — экспериментальных моделей СДВГ.

На сегодняшний день подходы к созданию подобных моделей, в основном, сводятся к получению животных — в первую очередь, мышей и крыс — у которых при помощи методов генной инженерии снижена или подавлена экспрессия генов, кодирующих белки, необходимые для корректной работы системы дофаминергических нейронов [7–10]. К настоящему времени получен целый ряд моделей, в большей или меньшей степени соответствующих клинической картине СДВГ. К ним относятся мыши и крысы, нокаутированные по генам, кодирующим транспортеры обратного захвата дофамина, клеточные рецепторы к дофами-

ну и некоторые другие белки, регулирующие дофаминергическую передачу сигнала [7, 9, 10, 11–14]. Для мышей DAT-ko (dopamine transporter knock-out), нокаутированных по гену *Slc6a3*, кодирующему дофаминовый транспортер DAT-1 (dopamine transporter 1), показаны ключевые поведенческие особенности, традиционно рассматриваемые как симптомы СДВГ (гиперактивность, расстройство внимания, ухудшение показателей рабочей памяти и импульсивное поведение) [10]. У мышей-гетерозигот со сниженной экспрессией гена *Slc6a3* (DAT-het, dopamine transporter heterozygous) поведенческие тесты также подтвердили снижение внимания и гиперреактивность в ответ на внешние стимулы [10]. Вместе с тем, как модельный объект, трансгенные крысы обладают рядом преимуществ по сравнению с мышами, например, лучшей выживаемостью в экспериментах [14].

Одним из наиболее распространенных методов объективной оценки слуховой функции является регистрация так называемых коротколатентных стволовых слуховых вызванных потенциалов (КСВП) – суммарных ответов стволовых слуховых центров на звук [15–19]. Согласно имеющимся данным, КСВП, регистрируемые у нормально слышащей крысы линии Wistar, состоят из пяти волн (пигов), развивающихся в течение первых 6 мс после включения звукового сигнала. Каждый из пиков отражает реакцию на звук сенсорных нейронов, локализованных на определенном уровне слухового восходящего пути (рисунки, А, Б) [18]. При этом волна I соответствует суммарному ответу на звук волокон слухового нерва (первичных слуховых афферентов); волна II отражает реакцию на звуковой сигнал нейронов кохлеарных ядер; волна III соответствует включению в процесс обработки звуковой информации ядер верхнеоливарного комплекса; наконец, формирование волн IV и V является следствием анализа поступающего звукового сигнала нейронами ядер латеральной петли и задних холмов среднего мозга [15, 18].

В настоящее время в литературе отсутствуют публикации, посвященные сравнительным исследованиям характеристик слуха у здоровых животных и животных с нарушением функций дофаминового транспортера. Настоящая работа представляет собой первую попытку объективной оценки и сопоставления показателей слуховой чувствительности крыс линии Wistar и крыс выведенной на ее основе трансгенной линии DAT-het.

Материалы и методы

В исследовании регистрировали КСВП у интактных крыс линии Wistar и крыс-гетерозигот трансгенной линии DAT-het (Институт трансляционной биомедицины Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, Россия) со сниженной экспрессией гена *Slc6a3*,

кодирующего транспортер обратного захвата дофамина DAT-1. Характеристики КСВП гетерозигот DAT-het сопоставляли с таковыми у крыс линии Wistar, выступавших в качестве контрольной группы. В экспериментах использовали самок в возрасте 8–10 мес. Каждая группа состояла из 20 животных.

Схема эксперимента была идентичной в обеих группах и заключалась в регистрации КСВП при предъявлении звуковых сигналов (парных щелчков и одиночных тонов) крысам, находившимся в состоянии общей анестезии, поддерживаемой внутримышечными инъекциями телазола (тилетамин + золазепам, 25 мг/кг массы крысы) и ромпуна (ксилазин, 0,7 мг/кг массы крысы) каждые 2 ч. В ходе эксперимента крыса располагалась в звукозаглушенной анэхоидной камере. В начале каждого эксперимента у крысы регистрировали КСВП в ответ на парные щелчки и определяли их порог. Если порог КСВП в ответ на щелчки составлял 50 дБ уровня звукового давления (УЗД) или выше, превышая измеренные в ходе ранее выполненных работ средние пороги КСВП крыс линии Wistar в ответ на щелчки и звуковые тоны [18, 19], данное животное не включали в состав тестовой или контрольной групп.

Для генерации звуковых сигналов с заданными характеристиками использовали специализированную компьютерную систему Sinutronic V1 (Albotronic, Германия). Одиночные тоны (длительность 100 мс, время нарастания и спада 5 мс) и прямоугольные импульсы (длительность 100 мс) после их генерации компьютерной системой поступали на аттенюатор (Kenwood, Япония) и далее – на усилитель мощности (Амфитон 25У-002С, ПО Лорта, Россия) и электродинамический излучатель (Fostex FT17H, Япония). И одиночные тоны, и прямоугольные импульсы (парные щелчки) предъявляли 3 раза в секунду с межимпульсным интервалом 300 мс. При регистрации КСВП использовали тональные сигналы частотой 2, 4, 8, 10, 16, 20, 24, 30, 32 и 45 кГц. Тестовые тоны предъявляли последовательно по 1000 повторений сигнала каждой частоты. Парные щелчки также предъявляли 1000 раз. Сигналы поступали в открытое поле из звукоизлучателя, расположенного на расстоянии 0,55 м от правой ушной раковины животного. Неравномерность частотной характеристики излучателя составляла ± 6 дБ на частотах 2–49 кГц.

КСВП регистрировали с помощью подкожно размещаемых активного и индифферентного серебряных электродов (проволок диаметром 0,25 мм). Оба электрода закрепляли в коже головы крысы – в области вертекса (активный) и за левым ухом (индифферентный). Клипсу заземления располагали на кончике хвоста. Регистрацию КСВП выполняли с помощью дифференциального усилителя биопотенциалов DAM-50 (WPI, США). Выходной сигнал усилителя DAM-50 отфильтровывали

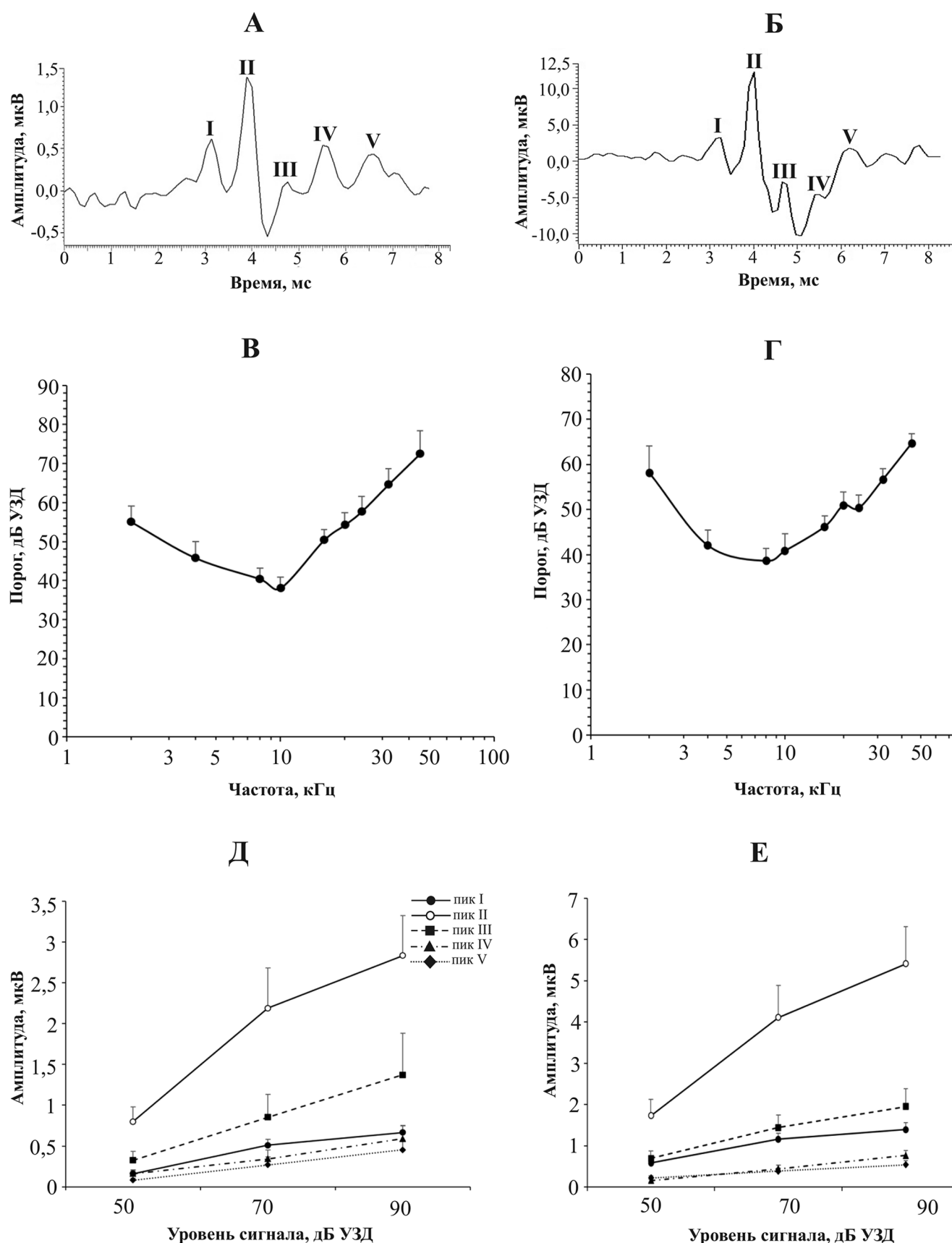


Рисунок. Основные характеристики КСВП, зарегистрированных у крыс линии Wistar и крыс-гетерозигот *DAT*-het. Вверху: примеры КСВП крыс линии Wistar (**А**) и *DAT*-het (**Б**), вызванных предъявлением парных щелчков с уровнем 90 дБ УЗД. Римскими цифрами обозначены амплитудные пики КСВП. В центре: усредненная по всем исследованным животным каждой группы зависимость порогов КСВП крыс линий Wistar (**В**) и *DAT*-het (**Г**), вызванных тональными сигналами, от частоты звука. Внизу: зависимость средней амплитуды пиков I–V КСВП крыс линий Wistar (**Д**) и *DAT*-het (**Е**) от уровня звуковых щелчков. Для средних значений на графиках В–Е указаны стандартные ошибки (mean $\pm$ SE).

(200 Гц — 5 кГц) и усиливали в 10 раз при помощи фильтра Кемо VBF8 (Кемо, Великобритания), после чего он поступал на интерфейс CED1401plus (Cambridge electronic design, Великобритания) для записи полученных данных в компьютер и суммирования КСВП по всем повторениям стимулов при помощи процедуры накопления (среда регистрации и анализа данных CED Spike 2.6.1). Кроме того, выходной сигнал усилителя DAM-50 поступал на вход цифрового запоминающего осциллографа Tektronix MSO 2024 (Tektronix, США), что обеспечивало постоянный визуальный контроль картины регистрируемой активности (в т.ч. частоты сердечных сокращений) и позволяло оценивать глубину анестезии в ходе эксперимента.

Для анализа амплитудных и временных параметров КСВП использовали возможности программного обеспечения CED Spike 2.6.1, с помощью которых оценивали пиковую амплитуду (в мкВ) и латентность (в мс) компонентов КСВП. За латентность каждого пика КСВП принимали промежуток времени от начала действия звукового сигнала до момента достижения максимальной амплитуды (т.е. вершины) пика с учетом акустической задержки (1,6 мс). Статистическую обработку полученных данных производили с помощью программных пакетов STATISTICA 10 и SigmaPlot 12.1

Результаты исследования

У экспериментальных животных в обеих группах зарегистрированные КСВП состояли из пяти волн (пиков) (рисунок). Латентные периоды, с которыми происходило формирование отдельных волн КСВП, не различались между обеими группами и составляли в среднем от 3 мс (волна I) до 6,6 мс (волна V) (рисунок, А, Б).

У крыс линии Wistar (контрольная группа) минимальные пороги КСВП — как в ответ на парные щелчки, так и при предъявлении одиночных тональных сигналов — составляли 20 дБ УЗД. У крыс-гетерозигот DAT-het минимальные пороги КСВП в ответ на тональные сигналы составляли 30 дБ УЗД, в ответ на парные щелчки — 20 дБ УЗД.

Одной из базовых характеристик слуховой чувствительности животного или человека, анализируемых в психофизических и нейрофизиологических исследованиях слухового восприятия, является слуховая чувствительность по частоте. Для ее оценки в нашей работе для крыс линий Wistar и DAT-het при действии одиночных тонов были получены усредненные по всем животным соответствующей группы частотно-пороговые кривые (т.е. зависимости средних порогов КСВП от частоты предъявляемых тонов). Эти кривые были сходными в обеих группах и соответствовали минимальным порогам КСВП в ответ на тоны 8–10 кГц (рисунок, В, Г). При этом у крыс линии Wistar минимальный порог КСВП соответствовал

частоте сигнала 10 кГц (рисунок, В). У трансгенных крыс-гетерозигот КСВП развивались с минимальным порогом в ответ на тон частотой 8 кГц (рисунок, Г).

Выполненная нами на следующем этапе работы оценка амплитудных параметров КСВП крыс позволила объективно охарактеризовать вклад активности нейронов стволовых центров в восходящем слуховом пути в формирование реакций на звуковые сигналы. В контрольной группе при действии парных щелчков уровнем 50, 70 и 90 дБ УЗД наибольшей амплитудой отличались II и III волны КСВП, соответствующие суммарной реакции на предъявление акустического стимула нейронов кохлеарных ядер и ядер верхнеоливарного комплекса. Их амплитуда была значимо выше, чем у остальных волн КСВП (т.е. компонентов I, IV и V) ($p < 0,01$, ранговый дисперсионный анализ ANOVA, тест Данна) (рисунок, Д). Такую же картину мы наблюдали и у крыс-гетерозигот DAT-het, в КСВП которых наибольшую амплитуду также имели волны II и III ($p < 0,01$, ранговый дисперсионный анализ ANOVA, тест Данна) (рисунок, Е). С ростом уровня щелчков от 50 до 90 дБ УЗД усредненная по всем животным данной группы амплитуда волны II возрастала от 0,8 до 2,8 мкВ у крыс линии Wistar и от 1,7 до 5,4 мкВ у крыс линии DAT-het; амплитуда пика III увеличивалась от 0,3 до 1,4 мкВ у крыс линии Wistar и от 0,7 до 1,9 мкВ у трансгенных крыс. Таким образом, в обеих группах экспериментальных животных амплитуда II и III компонентов КСВП повышалась с ростом уровня звука от десятых долей до единиц мкВ. Достоверных различий по амплитуде волн II и III между крысами линий Wistar и трансгенными крысами-гетерозиготами при действии звуков уровня 50–90 дБ УЗД, а также по характеру ее изменения с ростом уровня сигнала обнаружено не было ($p > 0,5$) (рисунок, Д, Е).

Амплитуда волны I КСВП у исследованных животных обеих линий была меньше, чем волн II и III. У крыс линии Wistar амплитуда волны I в ответах на парные щелчки возрастала в диапазоне от 0,2 до 0,7 мкВ с увеличением уровня звука от 50 до 90 дБ УЗД. У крыс DAT-het она была значимо выше и составляла 0,6–1,4 мкВ при предъявлении щелчков такого же уровня ($p = 0,00103$, тест Манна-Уитни) (рисунок, Д, Е). Латентности I пика КСВП при этом не различались в обеих группах экспериментальных животных. Таким образом, мы выявили достоверные различия в амплитуде наиболее раннего компонента КСВП у нормальных и трансгенных крыс.

Волны IV и V у крыс обеих линий были наименее выражены. Их средние амплитуды практически не различались как при действии парных щелчков, так и при предъявлении одиночных тонов (рисунок, Д, Е). Так, амплитуда волны IV с повышением уровня щелчков от 50 до 90 дБ УЗД,

увеличивалась от 0,16 до 0,6 мкВ у крыс контрольной группы и от 0,15 до 0,8 мкВ у крыс-гетерозигот (рисунок, Д, Е). Волна V, соответствующая ответу на звуковой стимул нейронов слухового центра среднего мозга, имела наименьшую среднюю амплитуду — с ростом уровня щелчков она возрастала от 0,08 до 0,5 мкВ у крыс линии Wistar и в диапазоне 0,2–0,5 мкВ у крыс DAT-het (рисунок, Д, Е). Значимые различия по амплитудам волн IV и V между крысами разных линий также не были обнаружены.

Обсуждение результатов

Результаты представленного исследования продемонстрировали сходство амплитудных и временных параметров КСВП крыс линии Wistar и трансгенных крыс-гетерозигот DAT-het. Принимая во внимание, что крысы линии Wistar послужили основой для выведения гетерозигот DAT-het, и учитывая результаты поведенческих исследований, не выявивших существенных различий в реакциях крыс-гетерозигот и крыс линии Wistar на изменение окружающей обстановки [20], мы ожидали сходства основных показателей слуховой чувствительности крыс обеих линий. Вместе с тем сравнительный анализ амплитуд волн КСВП крыс линии Wistar и гетерозигот DAT-het выявил значимо большую амплитуду пика I у крыс DAT-het. Этот результат подразумевает различия в формировании периферических реакций на звук у интактных крыс и крыс-гетерозигот, возникающие вследствие разной эффективности функционирования транспортера DAT-1.

На сегодняшний день в кортиевоом органе грызунов показано присутствие клеточных рецепторов к дофамину D1 и D2 [21–23]. У морской свинки D1-рецепторы были обнаружены в мембранах дендритов нейронов спирального ганглия улитки внутреннего уха [21]. Их активация при этом способствовала увеличению амплитуды составных потенциалов действия, регистрируемых от групп волокон в составе слухового нерва, различающихся по скорости проведения нервного импульса [21]. Другое исследование показало снижение амплитуды составных потенциалов действия в условиях введения в перилимфу кортиева органа 1-метил-4-фенил-1,2,3,4-тетрагидропиридина, представляющего из себя нейротоксин, избирательно повреждающий дофаминергические нейроны [24]. Возможно, у крыс-гетерозигот DAT-het, отличающихся сниженной по сравнению с нормой эффективностью функционирования транспортера DAT-1, дофамин, задерживаясь в синаптической щели, способствует усилению реакции волокон слухового нерва на звук, активируя D1-рецепторы. Очевидно, что дофаминергическая регуляция слуховой чувствительности включает также D2-опосредованную нисходящую передачу сигналов к кортиеву органу от стволовых центров слуха через эфферентные

проекции оливокохлеарного пучка [23]. Известно, что активация D2-рецепторов ингибирует аденилатциклазный путь передачи внутриклеточных сигналов, что в физиологическом отношении проявляется в ослаблении ответа волокон слухового нерва на звуковые сигналы [21, 23, 25]. Таким образом, большая по сравнению с нормой амплитуда I компонента КСВП у крыс-гетерозигот, как нам представляется, с малой вероятностью является следствием активации D2-рецепторов. Усиление дофаминергической передачи сигнала через D2-рецепторы должно было бы способствовать снижению амплитуды волны I КСВП у гетерозигот, чего мы не наблюдали. Исследования, проведенные с использованием метода полимеразной цепной реакции в реальном времени, выявили экспрессию в нейронах спирального ганглия улитки D4- и D5-подтипов дофаминовых рецепторов [23]. Тем не менее, у мышей, нокаутированных по генам D3–D5-рецепторов к дофамину, не выявлено изменений амплитуды и порогов компонента I КСВП, а также изменений порогов отоакустической эмиссии на частоте продукта искажения [23, 26]. Это свидетельствует о том, что опосредованная дофамином модуляция чувствительности к звуковым сигналам на периферии слуховой системы определяется балансом процессов активации и инактивации D1- и D2-рецепторов [23, 26]. D3–D5-подтипы дофаминовых рецепторов, по видимому, не участвуют в модуляции слуховых ответов в кортиевом органе [23].

На сегодняшний день между линиями крыс DAT-het и Wistar обнаружены отдельные поведенческие различия, например, на мотивационном этапе полового поведения [27]. У мышей-гетерозигот по гену *Slc6a3* отмечены худшие по сравнению с интактными животными показатели внимания и гиперреактивность при действии сенсорных сигналов [10]. У интактных крыс, в свою очередь, показан вклад дофаминергической нейротрансмиссии в обработку биологически значимых акустических сигналов и неожиданных звуков одиночными слуховыми нейронами на уровне ствола мозга [28]. Тем не менее, только на основе анализа характеристик КСВП у крыс-гетерозигот представляется затруднительным сделать вывод о коррелятах патологий дофаминергической системы и, в частности, СДВГ, в суммарных реакциях стволовых центров слуха на звуковые сигналы. По видимому, дофамин модулирует реакции слуховых центров более избирательно, чем на периферии, и его влиянию подвержены ответы отдельных групп нейронов, а не всей нейрональной популяции данного слухового центра, что могло бы объяснить отсутствие различий в параметрах волн II–V КСВП, зарегистрированных нами у крыс линий Wistar и DAT-het. Для окончательного ответа на этот вопрос необходимо исследовать слуховую чувствительность животных, у которых

транспортер DAT-1 не функционирует, т.е. гомозигот, нокаутированных по кодирующему его гену. Нам представляется вероятным обнаружить у крыс DAT-ko значимые изменения во временных характеристиках и величине вызванных звуком суммарных реакций центральных слуховых нейронов ствола мозга (т.е. в латентностях и амплитудах волн II–V КСВП). Выявление таких изменений позволит определить степень влияния патологии дофаминергических нейронов на анализ звуковых сигналов слуховыми центрами мозга крыс, а также уровень в восходящем слуховом пути, в наибольшей степени подверженный этому влиянию.

Заключение

Сравнительный анализ характеристик КСВП крыс линии Wistar и трансгенных крыс-гетерозигот DAT-het показал, что у крыс DAT-het волна I КСВП, соответствующая суммарной реакции волокон слухового нерва на звук, имеет большую амплитуду, чем у крыс линии Wistar. Полученные данные позволили предположить, что у гетерозигот, отличающихся сниженной по сравнению с нормой экспрессией гена, кодирующего транспортер дофамина DAT-1, изменяется характер до-

фаминергической передачи в кортиевом органе. По-видимому, это изменение обусловлено дополнительной активацией D1-рецепторов, локализованных на мембранах дендритов нейронов спирального ганглия улитки внутреннего уха, вследствие увеличения концентрации внеклеточного дофамина. В целом, результаты настоящей работы создают предпосылки для дальнейшего исследования слуховой чувствительности крыс-гомозигот (DAT-ko), у которых полностью подавлена экспрессия гена *Slc6a3* и транспортер обратного захвата дофамина DAT-1 не функционирует.

Работа выполнена за счет средств федерального бюджета по государственному заданию № 075-00263-25-00. Работа З.С. Фесенко и Е.В. Ефимовой выполнена при поддержке Санкт-Петербургского государственного университета, шифр проекта 117033714. Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными и одобрены Комиссией по биоэтике Института эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова РАН (Протокол № 1-2 от 26.01.2023). Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hirsch E.C., Hunot S., Faucheux B., Agid Y., Mizuno Y., Mochizuki H., Tatton W., Tatton N., Olanow W. Dopaminergic neurons degenerate by apoptosis in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 1999;14(2):383–385.
2. Viggiano D., Vallone D., Ruocco L.A., Sadile A.G. Behavioural, pharmacological, morpho-functional molecular studies reveal a hyperfunctioning mesocortical dopamine system in an animal model of attention deficit and hyperactivity disorder. *Neurosci Biobehav. Revs.* 2003; 27(7):683–689.
3. Mehler-Wex C., Riederer P., Gerlach M. Dopaminergic dysbalance in distinct basal ganglia neurocircuits: implications for the pathophysiology of Parkinson's disease, schizophrenia and attention deficit hyperactivity disorder. *Neurotox Res.* 2006;10(3–4):167–179.
4. Zhou Z., Yan Y., Gu H., Sun R., Liao Z. Dopamine in the prefrontal cortex plays multiple roles in the executive function of patients with Parkinson's disease. *Neural Regenerat. Res.* 2024;19(8):1759–1767.
5. Soleimani R., Jalali M.M., Faghieh H.A. Comparing the prevalence of attention deficit hyperactivity disorder in hearing-impaired children with normal-hearing peers. *Arch. Pediatr.* 2020;27(8):432–435.
6. Tsur N., Zloof Y., Rittblat M., Reuven Y., Simchoni M., Derazne E., Yitzchaki Z., Adler L., Shlaifer A., Manuva O., Beer Z. Hearing impairment and severe attention deficit/hyperactivity disorder: A nationwide study. *Otol Neurotol.* 2024;45(3):e142–e146.
7. Leo D., Gainetdinov R.R. Transgenic mouse models for ADHD. *Cell Tissue Res.* 2013;354(1):259–271.
8. Rahi V., Kumar P. Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Internatl. J. Develop. Neurosci.* 2021;81(2):107–124.
9. Regan S.L., Hufgard J.R., Pitzer E.M., Sugimoto C., Hu Y.C., Williams M.T., Vorhees C.V. Knockout of latrophilin-3 in Sprague-Dawley rats causes hyperactivity, hyper-reactivity, under-response to amphetamine, and disrupted dopamine markers. *Neurobiol. Disease.* 2019;130:104494.
10. Regan S.L., Williams M.T., Vorhees C.V. Review of rodent models of attention deficit hyperactivity disorder. *Neurosci. Biobehav. Revs.* 2022;132:621–637.
11. Gainetdinov R.R., Jones S.R., Caron M.G. Functional hyperdopaminergia in dopamine transporter knockout mice. *Biol. Psychiatry.* 1999;46(3):303–311.
12. Shen H.-W., Hagino Y., Kobayashi H., Shinohara-Tanaka K., Ikeda K., Yamamoto H., Yamamoto T., Lesch K.-P., Murphy D.L., Hall F.S., Uhl G.R., Sora I. Regional differences in extracellular dopamine and serotonin assessed by *in vivo* microdialysis in mice lacking dopamine and/or serotonin transporters. *Neuropsychopharmacol.* 2004;29(10):1790–1799.
13. Leo D., Sukhanov I., Zoratto F., Illiano P., Caffino L. et al. Pronounced hyperactivity, cognitive dysfunctions, and BDNF dysregulation in dopamine transporter knock-out rats. *J. Neurosci.* 2018;38(8):1959–1972.
14. Lloyd J.T., Yee A.G., Kalligappa P.K., Javed A., Cheung P.Yu., Todd K.L., Karunasinghe R.N., Vlajkovic S.M., Freestone P.S., Lipski J. Dopamine dysregulation and altered responses to drugs affecting dopaminergic transmission in a new dopamine transporter knockout (DAT-KO) rat model. *Neuroscience.* 2022;491:43–64.
15. Lev A., Sohmer H. Sources of averaged neural responses recorded in animal and human subjects during cochlear audiometry (electro-cochleogram). *Arch. Klin. Exp. Ohren. Nasen. Kehlkopfheilkd.* 1972;201(2):79–90.

16. Chiappa K.H., Gladstone K.J., Young R.R. Brain stem auditory evoked responses: studies of waveform variations in 50 normal human subjects. *Arch. Neurol.* 1979;36(2):81–87.
17. Church M.W., Jen K.L.C., Stafferton T., Hotra J.W., Adams B.R. Reduced auditory acuity in rat pups from excess and deficient omega-3 fatty acid consumption by the mother. *Neurotoxicol. Teratol.* 2007;29(2):203–210.
18. Alvarado J.C., Fuentes-Santamaría V., Jareno-Flores T., Blanco J.L., Juiz J.M. Normal variations in the morphology of auditory brainstem response (ABR) waveforms: a study in Wistar rats. *Neurosci. Res.* 2012;73(4):302–311.
19. Jafarzadeh S, Pourbakht A. Morphology variations of click-evoked auditory brainstem response with low and high rate stimuli in rat. *Aud. Vestib. Res.* 2018;28(1):22–27.
20. Adinolfi A., Zelli S., Leo D., Carbone C., Mus L., Illiano P., Allea E., Gainetdinov R.R., Adriani W. Behavioral characterization of DAT-KO rats and evidence of asocial-like phenotypes in DAT-HET rats: The potential involvement of norepinephrine system. *Behav Brain Res.* 2019;359:516–527.
21. Niu X., Canlon B. The signal transduction pathway for the dopamine D1 receptor in the guinea-pig cochlea. *Neuroscience.* 2006;137(3):981–990.
22. Darrow K.N., Simons E.J., Dodds L., Liberman M.C. Dopaminergic innervation of the mouse inner ear: evidence for a separate cytochemical group of cochlear efferent fibers. *J. Comp. Neurol.* 2006;498(3):403–414.
23. Maison S.F., Liu X.P., Eatock R.A., Sibley D.R., Grandy D.K., Liberman M.C. Dopaminergic signaling in the cochlea: receptor expression patterns and deletion phenotypes. *J. Neurosci.* 2012;32(1):344–355.
24. Le Prell C.G., Halsey K., Hughes L.F., Dolan D.F., Bledsoe S.C. Disruption of lateral olivocochlear neurons via a dopaminergic neurotoxin depresses sound-evoked auditory nerve activity. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 2005;6(1):48–62.
25. Wu J.S., Yi E., Manca M., Javaid H., Lauer A.M., Glowatzki E. Sound exposure dynamically induces dopamine synthesis in cholinergic LOC efferents for feedback to auditory nerve fibers. *Elife.* 2020;9:e52419.
26. Kitcher S.R., Pederson A.M., Weisz C.J. Diverse identities and sites of action of cochlear neurotransmitters. *Hear. Res.* 2022;419:e.108278.
27. Sanna F., Bratzu J., Serra M.P., Leo D., Quartu M., Boi M., Espinoza S., Gainetdinov R.R., Rosaria Melis M., Argiolas A. Altered sexual behavior in dopamine transporter (DAT) knockout male rats: a behavioral, neurochemical and intracerebral microdialysis study. *Frontiers Behav. Neurosci.* 2020;14:58.
28. Valdés-Baizabal C., Carbajal G.V., Pérez-González D., Malmierca, M.S. Dopamine modulates subcortical responses to surprising sounds. *PLoS Biol.* 2020;18(6):e3000744.

Поступила в редакцию 16.04.2025

После доработки 04.08.2025

Принята в печать 02.09.2025

RESEARCH ARTICLE

Comparative study of auditory sensitivity in normal Wistar rats and heterozygous rats with reduced expression of the dopamine transporter (DAT-1) gene

G.D. Khorunzhii^{1,*} , M.A. Egorova¹ , Z.S. Fesenko², E.V. Efimova² 

¹Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Torez Ave. 44, St. Petersburg, 194223, Russia;

²Saint Petersburg State University, Saint Petersburg State University Institute of Translational Biomedicine, Universitetskaya Emb. 7/9, St. Petersburg, 199034, Russia

*e-mail: khorunzhii.gd@gmail.com

The comparative electrophysiological study of auditory sensitivity of intact Wistar rats and heterozygous rats of the transgenic DAT-het line with a reduced expression level of the Slc6a3 gene encoding the dopamine reuptake transporter (DAT-1), providing an experimental model of dopaminergic neurons pathology, was performed. The amplitude and time parameters of auditory brainstem responses recorded in rats of both lines under presentation of paired clicks and single tones were analyzed. Generally, the auditory sensitivities of Wistar and DAT-het rats were similar, but a comparative analysis of the amplitudes of auditory brainstem response peaks, obtained from experimental animals, revealed a significantly greater amplitude of peak 1 in DAT-het rats. Thus, the data obtained suggest that DAT-het heterozygotes differ from rats with a normally functioning dopamine reuptake DAT-1 transporter by an increased level of dopaminergic signaling via activation of D1 receptors localized in the membranes of neurons of the cochlea spiral ganglion.

Keywords: rat, dopaminergic system, attention deficit hyperactivity disorder, transgenic animals, hearing, auditory brainstem response

Funding: The research was supported by state budget funds (no. 075-00263-25-00). The work of Z.S. Fesenko and E.V. Efimova was funded by St. Petersburg State University (project no. 117033714).

Сведения об авторах

Хорунжий Глеб Дмитриевич — канд. биол. наук, науч. сотр. группы нейрофизиологических основ механо-рецепторных функций ИЭФБ РАН. Тел.: 8-812-552-32-56; e-mail: khorunzhii.gd@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2650-5619>

Егорова Марина Александровна — канд. биол. наук, руководитель группы нейрофизиологических основ механо-рецепторных функций ИЭФБ РАН. Тел.: 8-812-552-32-56; e-mail: ema6913@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4216-6469>

Фесенко Зоя Сергеевна — мл. науч. сотр. лаборатории нейробиологии и молекулярной фармакологии Института трансляционной биомедицины СПбГУ. Тел.: 8-921-630-28-03; e-mail: z.fesenko@spbu.ru

Ефимова Евгения Викторовна — канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории нейробиологии и молекулярной фармакологии Института трансляционной биомедицины СПбГУ. Тел.: 8-921-630-28-03; e-mail: e.v.efimova@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9641-515X>