

УДК 611.813.14.018: 599.323.4

ГЕНЕТИКА ПОВЕДЕНИЯ: АССОЦИАЦИЯ ГЕНОТИПА ПО ЛОКУСУ TAG 1A DRD2 С ОСОБЕННОСТЯМИ ПОВЕДЕНИЯ ДВУХ СУБПОПУЛЯЦИЙ КРЫС

Леушкина Н.Ф., Калимуллина Л.Б.

*Кафедра морфологии и физиологии человека и животных
Башкирского государственного университета, Уфа*

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

В работе впервые приведены сведения об особенностях аудиогенной чувствительности и поведения в «открытом поле» двух групп крыс, гомозиготных по локусу TAG 1A DRD₂.

Изучение механизмов взаимодействия организма с факторами внешней среды, а также организации простых и сложных форм поведения – актуальная проблема учения о высшей нервной деятельности, которая занимает центральное место в системе нейронаук. Современная нейробиология обладает широким набором методических приемов, позволяющих проследить путь от гена к психологическому признаку (психогенетика), использует разнообразные подходы в анализе поведенческих реакций животных с модификациями структуры гена (генетика поведения).

Целью данной работы явился анализ поведенческих реакций и аудиогенной чувствительности двух субпопуляций крыс линии WAG/Rij, различающихся аллельной структурой по локусу TAG 1A гена рецептора дофамина второго типа (DRD₂). Проведенные ранее исследования полиморфизма TAG 1A рестрикционного локуса дофамина рецептора второго типа (DRD₂) у этой линии крыс [3], показали наличие двух аллелей (A₁ и A₂) и выявили частоту представительства генотипов A₁/A₂, A₁/A₁ и A₂/A₂ в популяции крыс линии WAG/Rij. Целенаправленное скрещивание крыс позволило получить на кафедре морфологии и физиологии человека Башкирского госуниверситета две субпопуляции гомозиготных крыс указанной линии (A₁/A₁ и A₂/A₂, далее обозначены как группы крыс A1A1 и A2A2).

Крысы линии WAG/Rij являются инбредной линией с генетически детерминированной абсансной эпилепсией. Важ-

ным звеном в патогенетических механизмах этой формы эпилепсии является дефицит дофаминэргической системы, при этом ведущее значение имеет изменение уровня функционирования дофаминовых рецепторов второго типа (DRD₂) [5].

Всех использованных в работе половозрелых крыс (в возрасте шести месяцев) содержали в стандартных условиях вивария, характеризующихся постоянством комнатной температуры (20⁰-22⁰)С и уровнем влажности. Еду и питье животные получали ad libitum. Аудиогенную чувствительность крыс определяли в специальной камере (60х60х60см) по методике Г.Д.Кузнецовой, используя «звон ключей» («keys ringing»). Звуковой сигнал имел диапазон 13-85 kHz (максимум спектра 20-40 kHz) и среднюю интенсивность 50-60 dB с величиной пиков до 80-90 dB (рис.). Стимульный раздражитель включал в себя ультразвуковую часть (20 кГц и выше) и был более эффективным для вызова большого судорожного припадка, чем звук звонка или гудка [10]. Он предъявлялся в течение 1,5 минут.

Поведение крыс изучали в тесте – «открытое поле». «Открытое поле» представляло собой квадратную освещенную арену, разделенную на 16 равных частей. В течение 5 минут регистрировали такие параметры как латентный период до первого движения, число пересеченных квадратов в центре и на периферии поля, количество стоек в центре и на периферии поля, эпизоды груминга и общее время их проведения, неподвижность, урикации, число бо-

люсов с занесением их в протокольные листы. Регистрацию параметров поведения проводили в течение десяти дней. Тест «открытое поле» был разработан еще в тридцатые годы прошлого века К. Холлом для оценки поведения крыс [9] и в настоящее время это один из самых распространенных методов регистрации поведения грызунов, который широко используется в экспериментальной нейробиологии. Полученные результаты систематизировали и подвергали статистической обработке.

Процент животных, гомозиготных по аллелю A_1 по локусу TAG 1A DRD_2 (условно обозначаемая в работе как группа A1A1), проявивших чувствительность к аудиогенной стимуляции формированием большого судорожного припадков в выборке из десяти поколений (общее количество – 78), составил 16 процентов. Среди крыс, гомозиготных по аллелю A_2 (условно обозначены в работе как группа A2A2) в тождественном локусе DRD_2 в тех же условиях наблюдения (общее количество 112 особей), процент отреагировавших на звуковой стимул судорожным припадком оказался равным 80.

Выявленные различия в аудиогенной чувствительности исследованных нами групп крыс (A1A1 и A2A2) позволили предположить особенности в функционировании вестибуло-кохлеарного анализатора и поставили следующий вопрос, который решался в данной работе – проявляется ли различная настройка вестибуло-кохлеарного анализатора в поведении животных. Известно, что характеристики поведенческих реакций весьма адекватно отражают функциональные свойства нервной системы, при этом «поведенческий акт» – это всегда результат системной (с учетом нейрофизиологических, медиаторных и гормональных механизмов) обработки энергетических и информационных свойств раздражителя корковыми и подкорковыми структурами [8].

В экспериментальной группе животных (общее количество A1A1 и A2A2 равно 27), результаты исследования поведения которых приводятся в данной работе, процент аудиогенных особей составил в группе A1A1 25 % и 95% в группе A2A2.

Полученные результаты по регистрации поведения систематизированы в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Показатели двигательной активности крыс группы A1A1 и A2A2 в открытом поле (ОП)

Генотип по TAG 1A DRD_2	Неподвижность (сек)		Двигательная активность (число амбуляций – количество пересеченных квадратов)		
	До первого движения	В течение сеанса ОП	общая	Центр ОП	Периферия ОП
A_1/A_1	0,55±0,49	1,15±0,98	98,03±8,09	6,78±2,05	91,25±6,04
A_2/A_2	10,25±2,24	31,45±9,25	48,26±5,99	2,68±0,67	45,58±5,32
Уровень значимости p	<0,01	<0,05	<0,01	>0,05	<0,001

Приведенные в таблице 1 данные показывают, что у крыс A2A2 по сравнению с A1A1 значимо увеличен латентный период до начала локомоции, при этом различия достигают 20-кратного значения. Также крысы A2A2 в процессе тестирования в открытом поле чаще замирают, оставаясь в неподвижности. Общая продолжи-

тельность неподвижности у крыс A2A2 в тридцать раз превышает этот показатель у крыс A1A1.

Анализ двигательной активности крыс, основанный на подсчете числа амбуляций, выявил, что крысы A2A2 в течение всего сеанса наблюдения за их поведением в открытом поле, меньше двигают-

ся. Они посещают в два раза меньшее число квадратов (общая двигательная активность, $p < 0,01$). При этом снижение общей двигательной активности приводит к тому, что крысы A2A2 меньше пересекают квадраты как в центре ($p < 0,05$), так и на периферии поля ($p < 0,001$). При этом следует отметить, что крысы обеих групп предпочитают двигаться по периферии поля и редко посещают его центр, что позволяет

предполагать, что обеим группам крыс присуща тревожность.

Показателем исследовательской деятельности крыс является количество вертикальных стоек, которые крысы совершают, становясь на задние лапы, и совершая повороты головы, что часто сопровождается движением вибрисс. Эти данные приведены в таблице 2.

Таблица 2. Показатели исследовательской деятельности и груминга крыс группы A1A1 и A2A2 в открытом поле (ОП)

Генотип TAG 1A DRD ₂	Количество вертикальных стоек			Груминг		Уринация число
	общая	Центр ОП	Периферия ОП	Кол-во эпизодов	Общее время сек	
A ₁ /A ₁	29,97±3,54	1,72±0,54	28,25±3,00	5,87±0,48	14,62±4,05	0,31±0,12
A ₂ /A ₂	14,34±2,08	0,29±0,16	14,05±1,92	4,28±0,53	12,21±1,28	0,09±0,04
Уровень значимости p	<0,001	<0,01	<0,001	>0,05	>0,05	<0,05

Как следует из данных таблицы 2, у крыс A2A2 мы отметили уменьшение числа стоек как в центре ($p < 0,01$) и на периферии ($p < 0,001$) по сравнению с крысами другой группы – A1A1. Общее количество стоек у крыс группы A2A2 уменьшено вдвое ($p < 0,001$), что свидетельствует о значительно меньшей исследовательской деятельности этой группы крыс. Показатели груминга, как по времени, так и по числу эпизодов не различались между изучаемыми группами крыс. Крысы A2A2 имели меньшее количество уринаций ($p < 0,05$). В целом, полученные результаты свидетельствуют о том, что крысы A2A2 меньше двигаются, значительно реже совершают стойки и чаще «замирают», пребывая в состоянии неподвижности.

Результаты исследования поведения двух групп крыс (A1A1 и A2A2) выявили наличие большего по длительности латентного периода до первой амбуляции у крыс A2A2. Это послужило основанием для предположения о том, что у этой группы крыс существуют затруднения в афферентном синтезе раздражений, поступаю-

щих из внешней среды в условиях новой обстановки (открытое поле).

Эпилепсия является одним из наиболее распространенных неврологических заболеваний, имеет сложный полигенный характер и осложнена тем, что 30% пациентов резистентны к фармакотерапии. Много неясного в этиологии и патогенезе этого заболевания. Поэтому понимание биологических механизмов патогенеза и фармакорезистентности эпилепсии является актуальной задачей биологической психиатрии, невозможной без использования экспериментальных моделей [6].

Молекулярно-генетические исследования у грызунов с аудиогенными припадками немногочисленны. Недавно показано, что у крыс КМ отсутствуют определенные гипервариабельные фрагменты ДНК (маркеры, свойственные резистентным лабораторным животным), которые, вероятно, отражают структурные изменения в геноме и связаны с проявлением аудиогенного приступа [2]. Признак «чувствительность к звуку» используется для исследования механизма развития судорожных состояний. Линии мышей и крыс, об-

ладающие аудиогенной чувствительностью, служат моделями эпилепсии человека. Аудиогенная эпилепсия относится к категории патологических состояний, которые провоцируются внешней стимуляцией, иначе говоря, рефлекторно.

Сравнение поведенческих показателей крыс A1A1 и A2A2 в тесте «открытое поле» позволило обратить внимание на выраженную неподвижность крыс A2A2 (превышающую по времени практически в 30 раз аналогичный показатель у A1A1). Неподвижность крыс группы A2A2 приводила к меньшей двигательной активности (количество пересеченных квадратов по периферии поля уменьшено вдвое по сравнению с крысами A1A1). Наблюдалось и резкое снижение исследовательской деятельности (количество стоек на периферии поля у крыс A2A2 уменьшено вдвое, а в центре – в семь раз).

Эти данные указывают, что у крыс, гомозиготных по аллелю A₂ в локусе TAG 1A DRD₂, вероятно, в связи с изменением (снижением порога чувствительности к акустическим сигналам) функционального состояния слухового анализатора, а вследствие этого и баланса полисенсорных взаимовлияний в центре их анализа – в миндалевидном комплексе, возникают затруднения в осуществлении афферентного анализа. В ранее опубликованной работе [4], посвященной особенностям структурной организации миндалевидного комплекса данных субпопуляций крыс, приведены доказательства правомерности этого предположения. Было показано, что удельная площадь комплекса ядер базолатеральной группировки миндалевидного комплекса больше у крыс A1A1 в обоих полушариях по сравнению с крысами A2A2. Базолатеральная группировка имеет обширные связи с различными областями новой, старой и межзатылочной коры, а также с ядерными центрами слухового истато-

кинетического анализаторов [1,7]. Вероятно, затруднения, возникающие на этапе афферентного синтеза, приводят к нарушению работы программирующих блоков в функциональной системе поведения и формированию определенных препятствий в реализации поступившей в организм информации из окружающей среды в виде локомоторных актов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Акмаев И.Г., Калимуллина Л.Б. Миндалевидный комплекс мозга: функциональная морфология и нейроэндокринология. М.: Наука, 1993. 272 с.
2. Зорина З.А., Полетаева И.И., Резникова Ж.В. Основы этологии и генетики поведения. М.: Высшая школа, 2002. 383 с.
3. Калимуллина Л.Б., Ахмадеев А.В., Бикбаев А.Ф. и др. Медицинская генетика, 2005, №5, с.198.
4. Леушкина Н.Ф., Ахмадеев А.В., Калимуллина Л. Б. В сб. научных статей «Интегративная физиология», Уфа, БашГУ, с.48.
5. Мидзяновская И.С., Кузнецова Г.Д., Туомисто Л. и др. // Нейрохимия, 2004, т.21, № 4, с.264.
6. Нуца Н.А., Калуев А.В. Современная биологическая психиатрия: проблемы и перспективы. Нейронауки, 2008, №3, с.23.
7. Чепурнов С.А., Чепурнова Н.Е. Миндалевидный комплекс мозга. М.: Изво МГУ, 1981.- 267 с.
8. Шуваев В.Т., Суворов Н.Ф. Базальные ганглии и поведение. СПб.: Наука, 2001. – 278 с.
9. Hall C.S.// J.Comp. Psychol., 1934. V.18, N.3, p.385
10. Kuznetsova G. D., Coenen A.M.L., van Luijtelaar E.L.M. In: The WagRij rat model of absence epilepsy: The Nijmegen – Moscow research. 2000, Nijmegen, NICI, 141 p.

**GENETIC OF BEHAVIOR: ASSOCIATION OF GENOTYPE IN LOCUS TAG 1A
DRD2 WITH BEHAVIOR PECULIARITIES OF TWO RAT'S SUBPOPULATIONS**

Leushkina N.F., Kalimullina L.B.

Bashkir State University, Ufa

In this work firstly describes peculiarities of audiogenic sensitiveness and behavioral reactions in "open field" test of two groups of rats, which are homozygous in locus TAG 1A DRD₂.