

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 DRD<sub>2</sub>.**

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 (DRD<sub>2</sub>). Проведенные ранее исследования полиморфизма TAG 1A рестрикционного локуса дофамина рецептора второго типа (DRD<sub>2</sub>) у этой линии крыс [3], показали наличие двух аллелей (A<sub>1</sub> и A<sub>2</sub>) и выявили частоту представительства генотипов A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub>, A<sub>1</sub>/A<sub>1</sub> и A<sub>2</sub>/A<sub>2</sub> 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 (A<sub>1</sub>/A<sub>1</sub> и A<sub>2</sub>/A<sub>2</sub>, 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 (DRD<sub>2</sub>) [5].

Всех использованных в работе половозрелых крыс (в возрасте шести месяцев) содержали в стандартных условиях вивария, характеризующихся постоянством комнатной температуры (20<sup>0</sup>-22<sup>0</sup>)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 <sub>2</sub>	Количество вертикальных стоек			Груминг		Уринация число
	общая	Центр ОП	Периферия ОП	Кол-во эпизодов	Общее время сек	
A <sub>1</sub> /A <sub>1</sub>	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 <sub>2</sub> /A <sub>2</sub>	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	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,001</b>	>0,05	>0,05	<b>&lt;0,05</b>

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  $A_2$  в локусе TAG 1A  $DRD_2$ , 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 межзачаточной 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 Luijckelaar 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 DRD<sub>2</sub>.