

УДК 611.813.14.018: 599.323.4

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА D2-РЕЦЕПТОРА И КАТЕХОЛАМИНЫ В РЕГУЛЯЦИИ ОРИЕНТИРОВОЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПОВЕДЕНИЯ КРЫС

Леушкина Н.Ф., Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б.

*Башкирский государственный университет, Уфа, e-mail: mpha@ufanet.ru*

В работе впервые приведены сведения об особенностях поведения и содержания катехоламинов в миндалевидном комплексе мозга двух групп крыс, гомозиготных по дуаллельному локусу TAG 1A D2.

**Ключевые слова:** ген рецептора дофамина второго типа, катехоламины, миндалевидный комплекс мозга

## POLYMORPHISM OF DOPAMINE GENE RECEPTOR OF THE SECOND TYPE AND CATECHOLAMINES IN THE REGULATION OF ORIENTING-EXPLORATORY BEHAVIOR OF RATS

Leushkina N.F., Akhmadeev A.V., Kalimullina L.B.

*The Bashkir state university, Ufa, e-mail: mpha@ufanet.ru*

For the first time provides information about behavior and the content of catecholamines in the amygdaloid complex of the brain of two groups of rats homozygous for the biallelic locus TAG 1A D2.

**Keywords:** dopamine gene receptor of the second type, catecholamines, amygdaloid complex of the brain

Исследование механизмов формирования адаптивного поведения и факторов, приводящих к его нарушению, представляет важную медико-биологическую и социальную проблему. Знание генетических маркеров риска формирования девиантного поведения и связанных с ними биохимических сдвигов в нервной системе создает базис для своевременной разработки методов их коррекции.

В ранее проведенном исследовании [2] на основании сравнительного анализа характеристик поведения двух групп крыс линии WAG/R<sub>7</sub>, гомозиготных (A<sub>1</sub>/A<sub>1</sub> и A<sub>2</sub>/A<sub>2</sub>) по локусу TAG 1A гена рецептора дофамина второго типа (D2) в условиях новизны обстановки, было установлено наличие значимых межгрупповых различий. Крысы с генотипом A<sub>1</sub>/A<sub>1</sub> (далее A<sub>1</sub>A<sub>1</sub>) по сравнению с крысами с генотипом A<sub>2</sub>/A<sub>2</sub> (далее A<sub>2</sub>A<sub>2</sub>) проявляли большую двигательную активность и более выраженную исследовательскую деятельность. На основании этих результатов было высказано предположение, что крысы A<sub>2</sub>A<sub>2</sub> имеют больший уровень тревожности и проявляют пассивную стратегию приспособительного поведения в отличие от другой группы, паттерн поведения которой может быть охарактеризован как активная стратегия поведения.

Целью данного сообщения является изложение результатов сравнительного анализа динамики поведенческих реакций в тесте «открытое поле» (ОП), содержания норадреналина (НА), дофамина (ДФ) и его метаболита 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) в центре афферентного синтеза – миндалевидном комплексе мозга (МК) указанных выше двух групп крыс.

Все эксперименты проведены с соблюдением норм биомедицинской этики. Исследование выполнено на 140 крысах, содержащихся в условиях вивария, характеризующихся постоянством комнатной температуры (20-22 °С) и уровнем влажности. Еду и питье животные получали ad libitum. Изучение поведения в тесте «открытое поле» проведено на 34 крысах с генотипом A<sub>1</sub>/A<sub>1</sub> и 25 крысах с A<sub>2</sub>/A<sub>2</sub>. Тестирование проводили ежедневно в течение 10 дней по методике, изложенной ранее [1]. Содержание НА, ДФ и ДОФУК в МК определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для этого материал для исследования брали от крыс, умерщвленных передозировкой эфирного наркоза. После декапитации извлекали из черепа головной мозг и под контролем микроскопа на толстом фронтальном срезе (1-1,5 мм) из нативного мозга на льду выделяли область МК. Образцы, взятые из правого и левого полушария, взвешивали (в среднем, вес навески был 25-30 мг) и анализировали в одной пробе. После взвешивания кусочки мозга гомогенизировали в 20 объемах холодной 0,1 М перхлорной кислоты (Sigma, USA) и 1 пг/50 мкл дигидроксибензиламина гидробромида (ДГБА, Sigma, USA) в качестве внутреннего стандарта путем механического растирания в гомогенизаторе с тефлоном пестиком в течение пяти минут. Гомогенизат микропипеткой переносили в эпендорф и центрифугировали (при -20 °С) в течение десяти минут при 6000 оборотов в минуту. Супернатант переносили микропипеткой в эпендорфы, снабженные специальными насадками (наборы для микрофльтрации фир-

мы «Биохром», Россия). Диафрагма насадки, отделяющая ее полость от эпендорфа, имела отверстия, которые мы закрывали при анализе каждой пробы сменяющимися фильтрами с величиной пор 0,02 мкм. После повторного центрифугирования в течение трех минут, супернатанты в эпендорфах помещали в специально сконструированные боксы со льдом

и анализировали. Вычисляли величины каталитического коэффициента (ДОФУК/ ДФ), отражающего скорость метаболизма дофамина. Статистическую обработку проводили в программном пакете Statistica 5,5.

Основные показатели динамики поведенческих реакций в ОП крыс  $A_1A_1$  представлены в табл. 1.

**Таблица 1**

Динамика поведения крыс  $A_1A_1$  в «открытом поле»

Параметры поведения	1 день	5 день	10 день
Амбуляции в центре	2,03 ± 0,56	5,94 ± 0,70***	5,47 ± 0,86
Амбуляции по периферии	55,56 ± 6,04	76,24 ± 4,06**	69,35 ± 6,73
Стойки по периферии	9,15 ± 1,85	19,74 ± 2,12***	16,82 ± 2,29
Продолжительность груминга в сек	16,38 ± 2,42	10,38 ± 1,32*	8,47 ± 2,16
Эпизоды груминга	1,94 ± 0,21	2,35 ± 0,32	1,74 ± 0,37

Примечание: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$  по сравнению с первым днем тестирования.

Результаты показали, что у крыс  $A_1A_1$  в первые пять дней тестирования определяется постепенное увеличение общей двигательной активности (при этом преобладают амбуляции по периферии поля), которая становится максимальной на пятый день эксперимента ( $p < 0,001$  по сравнению с первым днем в центре ОП и  $p < 0,01$  по периферии). После пятого дня двигательная активность стабилизируется (табл. 1). Тождественная динамика выявляется и в отношении исследовательской деятельности. Количество стоек, совер-

шаемых крысами, увеличивается в первые пять дней эксперимента, превышая к пятому дню исходный уровень почти втрое ( $p < 0,001$ ). Выявляются изменения со стороны груминга – время, затрачиваемое крысами на его проведение к пятому сеансу посещения ОП, значимо снижается, что свидетельствует об адаптации крыс к новой обстановке.

Динамика поведенческих реакций, регистрируемых по дням тестирования у крыс группы  $A_2A_2$  абсолютно иная, она представлена в табл. 2.

**Таблица 2**

Динамика поведения крыс  $A_2A_2$  в «открытом поле»

Параметры поведения	1 день	5 день	10 день
Амбуляции в центре	2,08 ± 0,72	2,52 ± 0,72	2,92 ± 0,74
Амбуляции по периферии	34,36 ± 4,30	39,28 ± 6,70	46,00 ± 6,77
Стойки по периферии	5,76 ± 1,65	7,88 ± 1,78	6,60 ± 1,38
Продолжительность груминга в сек	3,68 ± 1,26	3,72 ± 0,95	10,40 ± 3,45
Эпизоды груминга	0,96 ± 0,30	2,84 ± 1,17	1,68 ± 0,51

Как показывают данные табл. 2 ни со стороны двигательной активности, ни со стороны исследовательской деятельности не отмечается изменений в поведении крыс этой группы. Крысы во время всех посещений ОП мало передвигаются, часто застывая на месте, совершают единичные стойки, количество которых в первый день эксперимента вдвое меньше, чем у крыс  $A_1A_1$ .

По данным [9, 14] в течение первых четырех дней тестирования крыс в ОП происходит снижение двигательной активности. Начиная с пятого дня отмечается повышение амбуляций [3, 6, 14], что рассматрива-

ется как показатель снижения психоэмоционального напряжения при повторных посещениях животным ОП. Исследованные нами две группы крыс, различающиеся генотипом по локусу TAG 1A DRD<sub>2</sub>, показали явные отклонения в ориентировочно-приспособительном поведении. У крыс  $A_1A_1$  двигательная активность и исследовательская деятельность неуклонно возрастали в течение первых пяти дней тестирования, что, мы полагаем, является проявлением их гиперактивности, в основе чего лежит неуравновешенность основных нервных процессов, а именно: преобладание процессов

возбуждения над процессами торможения, т.е. имеет место тот тип нервной системы, который И.П.Павлов обозначил как безудержный [4].

Нервная система крыс  $A_2A_2$ , которым свойственен пассивный тип поведения, характеризующийся гиподинамичностью, вероятно, должна рассматриваться как слабый тип. Этот тип нервной системы отличается слабым течением процессов возбуждения и торможения, неадекватных силе получаемых раздражителей, а в отдельных случаях даже срывом в работе нервных центров, появлением при воздействии сильных раздражителей «запредельного торможения» вместо нормального возбуждательного процесса.

Обращает на себя и динамика реакции груминга. Если у крыс  $A_1A_1$  его продолжительность к пятому сеансу значительно уменьшается, сохраняясь в дальнейшем на том же уровне, у крыс  $A_2A_2$  время проведения груминга не изменяется к пятому сеансу, а к десятому дню тестирования увеличивается. Это, на наш взгляд свидетельствует о том, что многократное посещение ОП не снижает у них стрессорного воздействия новой обстановки, проявляясь в их тревожности.

Существует мнение, что груминг (или чесательный рефлекс) является показателем адаптации животных к влиянию стрессора [10] и отражает состояние дофаминергической системы. Уменьшение продолжительности груминга отмечено при введении тревожным животным анксиолитических препаратов [12]. Увеличение продолжительности груминга на протяжении всех десяти дней их тестирования в ОП позволяет говорить, что в процессе неоднократных посещений ОП крысами  $A_2A_2$  их тревожность возрастает.

Если рассматривать поведение наших крыс с позиций психобиологической модели индивидуальности С.Р. Клонингера [5], в которой черты темперамента соотносятся с определенными биохимическими системами мозга, то крыс  $A_1A_1$  следует отнести к особям с ярко выраженным признаком «поиск новизны», который, по мнению автора, связан с состоянием дофаминергической системы.

Анализ содержания ДФ, ДОФУК и НА в МК показал, что при почти равных количествах содержания в ткани МК ДОФУК ( $p > 0,05$ ) содержание ДФ значительно больше у крыс  $A_1A_1$  ( $p < 0,01$ ). Соотношение ДОФУК/ДФ вдвое меньше ( $0,17 \pm 0,03$  против

$0,39 \pm 0,03$ ) у крыс  $A_1A_1$ , что указывает на его ускоренный метаболизм. Содержание НА также значительно выше у крыс  $A_1A_1$  ( $p < 0,01$ ).

Полученные результаты показывают, что гиперактивность, имеющая место у крыс с генотипом  $A_1A_1$  связана с увеличенным содержанием ДФ и НА в МК, а гиподинамия (являющаяся проявлением базовой тревожности) у крыс с генотипом  $A_2A_2$  – со сниженным содержанием этих катехоламинов. Метаболизм ДФ ускорен у крыс  $A_1A_1$ .

Нами впервые проведено изучение особенностей поведения у крыс, различающихся генотипом по локусу TAG 1A D2 и они показывают, что полиморфизм этого локуса проявляется как в формировании приспособительного поведения, так и на содержании катехоламинов в МК. Сопоставление этих результатов с теми, которые получены на людях, показывает, что они совпадают. В литературе содержатся сведения свидетельствующие о том, что поведение носителей аллеля  $A_1$  в локусе TAG 1A DRD<sub>2</sub> характеризуется гиперактивностью и импульсивностью [8, 7, 13]. Также известно, что полиморфизм изученного нами локуса влияет на функции ауторецептора DRD<sub>2</sub> и активность декарбоксилазы, приводя к большему синтезу и выделению дофамина [11].

#### Список литературы

1. Леушкина Н.Ф., Калимуллина Л.Б. // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 10. – С. 18.
2. Леушкина Н.Ф., Калимуллина Л.Б. // Успехи современного естествознания. – 2010. – № 10. – С. 14.
3. Маркель А.Л., Галактионов Ю.К. // Журнал ВНД. – 1988. – Т. 38, №5. – С. 855.
4. Павлов И.П. Двадцатилетний опыт изучения высшей нервной деятельности (поведения) животных. – М.-Л., Изд-во АН СССР, 1951. – Т. 3. – Кн. 2.
5. Cloninger C.R. // Arch. Gen. Psychiatry. – 1987. – Vol. 44. – P. 573.
6. Denenberg V.H. // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1969. – Vol. 159, № 3. – P. 852.
7. Esposito-Smythers C, Spirito A, Rizzo C et al. // Pharmacol Biochem Behav. 2009. – Vol. 93, №3. – P. 306.
8. Hamidovic A., Dlugos A., Skol A. et al. // Exp Clin Psychopharmacol. 2009. – Vol. 17, №6. – P. 374.
9. Ivinslis I. // Austr. J. Psychol. – 1970. – Vol. 221. – P. 175.
10. Kametani H. // Ann.N.Y. Acad.Sci. – 1988. – Vol. 102. – P. 101.
11. Laakso A, Pohjalainen T, Bergman J. et al. // Pharmacogenet Genomics. 2005. – Vol. 15, №6. – P. 387.
12. Moody T.W., Meralli Z., Crawley J.N. // Ann.N.Y.Acad. Sci. 1988. – Vol. 525, №5. – P. 281.
13. Nemoda Z., Lyons-Ruth K., Szekely A. et al. // Behav Brain Funct. 2010. – Vol. 12, №6. – P. 4.
14. Russel P.A., Williams D.J. // Anim. Behav. 1973. – Vol. 21, p. 109.