УДК 611.813.14.018: 599.323.4

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФАКТОРА ПОЛА НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС С РАЗЛИЧИЯМИ АЛЛЕЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ДОФАМИНА ВТОРОГО ТИПА (DRD2) В ТЕСТЕ ПРИПОДНЯТЫЙ КРЕСТООБРАЗНЫЙ ЛАБИРИНТ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИНДАЛЕВИДНОГО КОМПЛЕКСА МОЗГА

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

Кафедра морфологии и физиологии человека и животных Башкирского государственного университета, г.Уфа

В работе впервые приведены сведения о половых особенностях поведения в «приподнятом крестообразном лабиринте» двух групп крыс, гомозиготных по двуаллельному локусу TAG 1A DRD_2, а также сравнительный анализ морфометрических характеристик миндалевидного комплекса мозга

Ключевые слова: генотип, «приподнятый крестообразный лабиринт, фактор пола.

В ранее проведенных исследованиях, посвященных изучению ориентировочно-исследовательского поведения двух субпопуляций крыс линии WAG/Rij с различиями генотипа по локусу TAG 1A DRD2 в тесте «открытое поле», была отмечена эмоционально-стрессорная реакция животных, которая оценена нами как ситуативная тревожность (Леушкина — генетика поведения). Она проявлялась в том, что крысы обеих групп, которые мы обозначили как A1A1 и A2A2 (в соответствии генотипом указанного локуса) совершали амбуляции преимущественно по периферии «открытого поля» (ОП), редко выходя в его центр, т.е. предпочитали посещать темные периферические квадраты. Это поставило вопрос о необходимости исследования их поведения в установках, позволяющих получить более конкретные данные о тревожном состоянии крыс. Изучение поведения двух групп изучаемых нами крыс в установке приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) показало, что существуют значимые различия, свидетельствующие о более высоком уровне тревожности у крыс группы A2A2. Между тем известно, что половые стероиды оказывают влияние на выраженность тревожности, модулируя активность нейронов [1, 3], а ведущей структурой мозга, принимающей участие в ее формировании, является миндалевидный комплекс [5,8].

Поэтому целью настоящего исследования являлось выяснение роли фактора пола на выраженность тревожности у самцов и самок в группах крыс с генотипом A1A1 и A2A2 по локусу TAG 1A DRD2, а также сравнительный анализ морфометрических характеристик МК мозга.

Исследования поведения в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) проведены на половозрелых крысах, среди которых было 37 самок и 38 самцов группы A1A1 и 20 самок и 26 самцов группы A2A2.

Все крысы были выращены в идентичных условиях вивария. ПКЛ, использованный в работе, представлял собой установку, имеющую два рукава, в месте пересечения которых находилась открытая площадка. Один из рукавов лабиринта имел закрытые отсеки. Лабиринт устанавливали на высоте одного метра от пола. Изучая поведение крыс, мы регистрировали в течение пяти дней ряд параметров: количество посещений и время пребывания в открытых и закрытых рукавах, количество стоек в открытом и закрытом рукаве, количество свешиваний с открытого рукава, число эпизодов и продолжительность груминга, общую неподвижность, количество болюсов. Сравнивали показатели поведения двух групп крыс, вводя в вариационные ряды средние величины, которые рассчитывали у каждой крысы на один день тестирования при продолжительности сеанса пять минут. Морфометрические исследования проведены на 28 крысах (по семь самцов и самок в группе), головной которых фиксировали в кислом 10% формалине и заливали в парафин. Готовили 20 мкм фронтальные срезы, которые окрашивали крезилом фиолетовым по Нисслю. Препараты изучали с помощью триокулярного светового микроскопа серии МС-300 (Австрия), пользуясь объективами 10 и 40. Микрофото получали с использованием цифрового фотоаппарата Nicon CoolPix 4500. Полученные изображения экспортировали в компьютер и анализировали с помощью программы JmageJ 1.38 (USA).

Полученные результаты систематизировали и подвергали статистической обработке с помощью пакета программ «Statistica 5,5».

Полученные результаты изучения поведения в ПКЛ по группе А1А1 приведены в таблицах № 1 и № 2.

Приведенные в табл. 1 данные показывают, что самки по сравнению с самцами этой группы (А1А1), чаще посещают как открытые ($p<0,001$), так и закрытые рукава ($p<0,05$). При этом время, проведенное ими в закрытом рукаве, меньше ($<0,05$), чем в открытом ($p<0,01$) по сравнению с самцами. И самцы , и самки предпочитают проводит груминг в закрытом рукаве, по его длительности половые различия отсутствуют.

Показателями исследовательской деятельности в ПКЛ являются как количество

Таблица 1

Показатели груминга и предпочтения крысами А1А1 открытого или закрытого рукавов лабиринта

Группы крыс	Количество посещений		Время пребывания		Груминг (длительность)	
	ОР	ЗР	ОР	ЗР	ОР	ЗР
самцы	3,55 +0,18	3,98 +0,22	134,13 +6,96	166,39 +7,09	1,86 +0,42	3,95 +0,61
самки	4,68 +0,24	4,58 +0,24	162,03 +7,51	140,67 +7,09	1,84 +0,37	4,43 +0,61
p	<0,001	>0,05	<0,01	<0,05	>0,05	>0,05

Обозначения: ОР — открытый рукав (светлый отсек), ЗР — закрытый рукав (темный отсек)

Таблица 2

Показатели исследовательской деятельности крыс А1А1 в приподнятом крестообразном лабиринте

Группы крыс	Количество вертикальных стоек в рукавах		Количество свешиваний в открытом рукаве
	открытый	закрытый	
самцы	5,06+0,53	7,15+0,53	11,50+0,81
самки	7,25+0,59	8,13+0,69	17,09+0,90
p	<0,01	>0,05	<0,001

совершаемых животными стоек, так и процедура свешивания крысы с открытого рукава, когда она с высоты, на которой находится лабиринт, осматривает пространство, расположенное под рукавом лабиринта. Учитывая существующую у крыс боязнь высоты, этот же показатель может рассматриваться и как проявление меньшей тревожности. Эти данные в сравнительном аспекте в отношении самцов и самок крыс отражены в табл. 2.

Данные табл. 2 показывают, что по числу совершаемых крысами этой группы стоек в открытом рукаве существуют значимые различия, и они отсутствуют по выраженности исследовательской деятельности в закрытом рукаве. Эти данные согласуются в имеющимися в литературе сведениями по изучению поведения самок и самцов крыс в ПКЛ [6,7].

По количеству свешиваний с открытого рукава самки превосходят самцов, выявившиеся различия достоверны при высоком уровне значимости. Полученные результаты показывают, что самки крыс группы А1А1 проявляют меньшую тревожность по сравнению самцами этой группы.

Результаты, полученные в эксперименте в отношении другой (А2А2) группы, приведены в табл. 3 и 4.

Данные табл. 3 демонстрируют, что половых различий между самцами и самками этой группы не выявляется. Приведенные численные характеристики показывают, что животные этой группы практически не переходят из одного рукава в другой рукав лабиринта, находясь в состоянии неподвижности в закрытом рукаве. Длительность груминга у самцов и самок крыс не различается.

Таблица 3

Показатели груминга и предпочтения крысами А2А2 открытого или закрытого рукавов лабиринта

Группы крыс	Количество посещений		Время пребывания		Груминг (длительность)	
	ОР	ЗР	ОР	ЗР	ОР	ЗР
самцы	0,92 +0,36	1,29 +0,39	91,81 +8,11	208,19 +8,11	2,81 +0,41	5,05 +0,62
самки	1,00 +0,24	1,46 +0,19	88,25 +13,99	211,75 +13,99	1,83 +0,53	3,52 +0,67
p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Таблица 4

Показатели исследовательской деятельности крыс А2А2 в приподнятом крестообразном лабиринте

Группы крыс	Количество вертикальных стоек в рукавах		Количество свешиваний в открытом рукаве
	открытый	закрытый	
самцы	3,45+0,72	3,64+0,94	6,41+0,93
самки	5,77+0,43	4,76+0,53	5,63+0,73
p	>0,05	>0,05	>0,05

Показатели исследовательской деятельности самцов и самок группы А2А2 приведены в табл. 4.

Данные табл. 4 показывают, что ни по количеству стоек в рукавах лабиринта, ни по количеству свешиваний с открытого рукава, различия между самками и самцами крыс группы А2А2 отсутствуют.

Сопоставление полученных в данной работе результатов с показателями поведения изучаемых нами крыс в тесте «открытое поле» свидетельствует о том, что половые различия в поведенческих реакциях в «открытом поле» имеют место в группе крыс А1А1, и они отсутствуют у крыс А2А2.

Известно, что центральное место в функциональной системе, определяющей формирование тревожности и страха, занимает миндалевидный комплекс мозга (МК). Этот факт указывал на необходимость проведения сравнительного морфометрического исследования МК у двух использованных в работе групп крыс.

Удельная площадь МК крыс А1А1 и А2А2 представлена в табл. 5.

Приведенные в табл. 5 данные показывают, что у крыс А1А1 имеет место асимметрия МК как у самцов (больше МК правого полушария), так и у самок (больше площадь в левом полушарии). У крыс группы А2А2 половых различий в удельной площади МК не обнаружено. Сравнение удельной площади МК между группами крыс показывает, что у самок крыс А2А2 удельная площадь МК значимо больше в правом полушарии, у самцов А1А1 удельная площадь МК больше также в правом полушарии. Эти данные показывают, что у крыс А1А1, у которых при тестировании в открытом поле и в ПКЛ выявлены половые различия между самками и самцами, присуще явление асимметрии МК.

Таблица 5

Удельная площадь МК у крыс группы А1А1 и А2А2

МК крыс А1А1 и А2А2	самки		самцы	
	Правое полушарие	Левое полушарие	Правое полушарие	Левое полушарие
МК (А1А1)	16,64+0,48	17,39+0,36*	24,20+0,82***	21,02+0,39
МК (А2А2)	18,09+0,69	17,41+0,25	21,72+0,51	20,53+0,62
p	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05

У крыс группы A2A2, у которых половые различия в выраженности тревожности отсутствуют (т.е. обе группы показывают примерно одинаковый уровень ее выраженности), асимметрии МК нет. Полученные нами данные по асимметрии МК на крысах согласуются с наблюдением De Bellis и соавторов [4], которые в исследованиях на подростках отметили связь между уровнем тревожности и асимметрией МК, указав, что у субъектов с большей тревожностью увеличена вся площадь МК и ее размеры преобладают в правом полушарии. Выявленное явление структурной асимметрии МК ставит вопрос о необходимости изучения особенностей нейромедиаторного обмена в мозге, прежде всего, в МК, с акцентом на характеристики биогенных аминов.

Список литературы

1. Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б. // Цитология, 2006, Т. 48, № 12, с. 971.

2. Леушкина Н.Ф., Калимуллина Л.Б. // Успехи современного естествознания, 2008, №9, с.10.

3. Andreen L., Nyberg S., Turkmen S. et al. // Psychoneuroendocrinology, 2009, v.34, n.8, P. 1121.

4. De Bellis M., Casey B., Dahl R. et al. // Biol Psychiatry, 2000, v.48, n.1, p. 51.

5. Dickie E., Armony J. // Psychatry Res., 2008. v.162, n.1, P. 51.

6. Duchesne A., Dufresne M., Sullivan R. // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2009, v.17, n.2, P. 251.

7. Sullivan R. Duchesne A., Hussain D. et al. // Behav Brain Res., 2009, v.205, n.1, P. 115.

8. Toufexis D. // J.Neuroendocrinology, 2007, v.19, n.6, P. 461.

RESEARCH INFLUENCE OF GENDER FACTOR ON BEHAVIOR OF RATS WITH DIFFERENCE IN ALLELE STRUCTURE OF GENE RECEPTOR DOPAMINE SECOND TYPE (DRD_2) IN UPPER CRUCIFORM LABYRINTH TEST AND MORPHOMETRICAL CHARACTERISTICS OF AMYGDALA

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

In this work firstly adduced data about gender peculiarities of behavior two groups of rats, which are homozygous in biallele locus TAG 1A DRD_2 in upper cruciform labyrinth test, and, also gives a comparative analysis of morphometrical characteristics of Amygdala.

Genotype, «the raised crosswise labyrinth», the gender factor.