

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ГРУМИНГА И УРОВНЕЙ ТРЕВОЖНОСТИ У ПРЕДПОЧИТАЮЩИХ АЛКОГОЛЬ КРЫС

Ахмадеев А.В.¹, Галиева Л.Ф.¹, Леушкина Н.Ф.¹

¹ФГБОУ ВПО «Бакирский государственный университет Минобрнауки РФ», Уфа, Россия (450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32) e-mail: mpha@ufanet.ru

Целью работы явился анализ половых различий в характеристиках груминга и уровней тревожности у предпочитающих алкоголь крыс. Используемые в работе крысы получены из популяции крыс линии WAG/Rij после генотипирования локуса Taq 1A DRD2, скрещивания животных с генотипом A1/A1 и выявления в последующем предпочтения алкоголя в тесте двух поилок. Характеристики груминга изучали как компонент ориентировочно-приспособительного поведения животных, показатели тревожности анализировали с помощью теста «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). Половые различия проявляются в показателях предпочтения открытого и закрытого рукава лабиринта, количестве совершаемых стоек, в продолжительности времени иммобилизации и свидетельствуют о том, что самцам присуща большая тревожность. По результатам данной работы выявлена связь уровня тревожности и характеристик груминга, которая проявляется в том, что большему уровню тревожности соответствуют меньшая длительность и меньшее количество эпизодов груминга.

Ключевые слова: алкоголизм, тревожность, половые стероиды, груминг, предпочитающие алкоголь крысы

SEX DIFFERENCES IN GROOMING AND LEVELS OF ANXIETY IN ALCOHOL-PREFERRING RATS

Akhmadeev A.V.¹, Galieva L.F.¹, Leushkina N.F.¹

¹Bashkir State University, Ufa, Russia (450076, Ufa, Zaki Validi st. 32) e-mail: mpha@ufanet.ru

The aim of this study was to analyze sex differences in the characteristics of grooming and levels of anxiety in alcohol-preferring rats. The rats that were used in the study obtained from a population of WAG/Rij rats after genotyping of the locus Taq 1A DRD2, after interbreeding animals with genotype A1/A1 and the detection on the preference of alcohol in the test of «two drinkers». Characteristics of grooming studied as a component of the orientation-adaptive behavior of animals, levels of anxiety was analyzed by the «elevated plus maze» test. Sex differences revealed in indicators of the preference open and closed tubing of the labyrinth, in the number of committed stands and the duration of immobilization time. These data indicates that the males have a more severe anxiety. The results of this work show the relationship between level of anxiety and characteristics of grooming, which manifested in the fact that a greater level of anxiety corresponds to a shorter duration and fewer episodes of grooming.

Keywords: alcoholism, anxiety, sex steroids, grooming, alcohol-preferring rats

Процесс возрастания числа больных алкоголизмом в последние десятилетия не обошел женщин, получивших большую экономическую и морально-психологическую независимость. Распространенность алкоголизма среди женщин резко возросла. Для женщин характерны быстрое формирование и более тяжелое течение болезни, ранние изменения личности, приводящие к социальной дезадаптации. Наряду с этим алкоголизм у женщин труднее поддается лечению. Последнее указывает на необходимость детального анализа патогенеза женского алкоголизма, поскольку выявление его особенностей позволит разработать ранние диагностические методы и найти оптимальные пути лечения.

Исследования по анализу нейробиологических факторов, лежащих в основе предрасположенности к употреблению психоактивных веществ, широко проводятся на экспериментальных моделях, которые созданы на основе фенотипического признака –

предпочтения алкоголя. Наша работа выполнена на крысах, предпочтение алкоголя у которых было установлено на основании генетического фактора – изучения полиморфизма локуса Taq 1A DRD2 у крыс, значение которого в развитии психоневрологических заболеваний, включая и аддитивные расстройства, выявлено у людей различной этнической и половой принадлежности [3].

Известно, что груминг является специфической поведенческой реакцией грызунов на стресс. Однако изменения его основных характеристик (длительность, количество эпизодов), имеющие место при помещении экспериментальных животных в «открытое поле» или под влиянием агонистов и антагонистов дофаминовых рецепторов, трактуются по-разному. Одна группа ученых считает, что груминг «замещает» проявление других форм поведения (например, исследовательской активности и т.д.), временно заингибированных страхом и тревогой [8]. Подтверждением этого мнения является тот факт, что анксиолитические препараты вместе со снижением уровня тревожности животных приводят к уменьшению продолжительности груминга. Другие ученые считают, что «груминг является поведенческим критерием успешной адаптации животных к стрессовой ситуации» [7] и сопровождает реакцию «расслабления, успокоения». Усиление частоты и длительности груминга отмечается и по мере привыкания животного к обстановке теста, а также в комфортных условиях – перед сном или после него, или принятия пищи [6].

Целью работы явился анализ половых различий в характеристиках груминга и уровней тревожности у предпочитающих алкоголь крыс.

Материал и методы исследования.

Исследования проведены на двух группах (20 самцов и 20 самок) предпочитающих алкоголь (ПА) крыс половозрелого возраста с массой тела 250–320 г. Используемые в работе ПА крысы получены из популяции крыс линии WAG/Rij после генотипирования локуса Taq 1A DRD2, скрещивания животных с генотипом A1A1 в локусе Taq 1 A и выявления в последующем предпочтения алкоголя в тесте двух поилок [4]. Более подробно сведения об экспериментальных крысах приведены в ранее опубликованной работе [1]. Всех использованных в работе половозрелых крыс содержали в стандартных условиях вивария, характеризующихся постоянством комнатной температуры (20–22⁰C) и уровнем влажности. Пищу и питье животные получали *ad libitum*, продолжительность светового дня составляла 12–14 ч. Все процедуры с животными выполняли с соблюдением международных правил и норм (European Communities Council Directives, 1986).

Характеристики груминга (его длительность и количество эпизодов в течение всего сеанса тестирования поведения крыс в «открытом поле») изучали как компонент ориентировочно-приспособительного поведения животных. «Открытое поле» представляло

собой квадратную освещенную в центре арену (лампой 40 Вт) площадью 100 см², разделенную на 16 равных частей. Крысу в начале тестирования в открытом поле помещали в один из центральных квадратов и наблюдали за ее поведением в течение 5 мин, регистрируя показатели горизонтальной и вертикальной активности, характеристики груминга, вегетативные компоненты поведения (болюсы и уринации).

Показатели тревожности анализировали с помощью теста «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). ПКЛ, использованный в работе, представлял собой установку, состоящую из двух закрытых и двух открытых лучей, расположенных друг против друга. Высота стенок закрытых рукавов лабиринта составляла 20 см. На месте пересечения открытых и закрытых рукавов лабиринта находилась открытая площадка. Лабиринт устанавливали на высоте 1 м от пола. В начале регистрации поведения крысу помещали в центр лабиринта, головой к открытому рукаву. В течение 5 мин регистрировали ряд параметров: количество посещений и время пребывания в открытых и закрытых рукавах лабиринта, количество стоек в открытом и закрытом рукаве, количество свешиваний с открытого рукава, число эпизодов и продолжительность груминга, длительность состояния неподвижности, количество болюсов и уринаций.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0. Сравнение вариационных рядов осуществляли с помощью параметрического критерия Стьюдента и непараметрического критерия U-критерия Манна—Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Характеристики груминга у самцов и самок ПА крыс приведены в таблице 1.

Таблица 1

Характеристики груминга у самцов и самок предпочитающих алкоголь крыс (M+m)

Параметры поведения	Пол животных		t-value	p
	Самцы	Самки		
Общая длительность груминга (с)	10,99±0,75	14,75±1,07	2,71	<0,01
Общее количество эпизодов груминга	2,27±0,19	3,51±0,24	3,86	<0,001

При изучении половых различий ориентировочно-приспособительного поведения ПА крыс меньшее количество эпизодов груминга и менее выраженную его длительность демонстрируют самцы. Они также показывали меньшую двигательную активность и менее выраженную исследовательскую деятельность по сравнению с самками. Важно при этом отметить, что самцы крыс проявляли горизонтальную и вертикальную активность в большей степени в периферической зоне «открытого поля». Сопоставление этих двух показателей привело к вопросу – не является ли меньшая длительность груминга у самцов отражением их

большей тревожности по сравнению с самками ПА крыс, так как сведения литературы свидетельствуют, что существует связь тревожности и характеристик груминга [4, 5].

Результаты исследования поведения крыс в ПКЛ, являющемся общепризнанным тестом на уровни тревожности, приведены в таблице 2.

Таблица 2

Основные показатели поведения самцов и самок ПА крыс в приподнятом крестообразном лабиринте (M+m)

Показатели поведения	самцы	самки	t	p
Количество посещений открытого рукава (ОР)	3,55+0,18	4,68+0,24	3,74	<0,001
Количество посещений закрытого рукава (ЗР)	3,98+0,22	4,58+0,24	1,85	>0,05
Время, проведенное в ОР	134,13+6,96	162,03+7,51	2,73	<0,01
Время, проведенное в ЗР	166,39+7,09	140,67+7,09	2,56	<0,05
Неподвижность в ОР	1,51+0,19	0,29+0,15	0,99	>0,05
Неподвижность в ЗР	6,52+1,95	0,60+0,28	2,94	<0,01
Длительность груминга в ОР	1,86+0,42	1,84+0,37	0,03	0,99
Длительность груминга в ЗР	3,95+0,61	4,43+0,61	0,55	>0,05
Количество стоек в ОР	5,06+0,53	7,25+0,59	2,74	<0,01
Количество стоек в ЗР	7,15+0,53	8,13+0,69	1,13	>0,05
Количество свешиваний в ОР	11,50+0,81	17,09+0,9	4,61	<0,001

Приведенные в таблице 2 данные показывают, что самки по сравнению с самцами этой группы чаще посещают как открытые ($p < 0,001$), так и закрытые рукава ($p = 0,07$). При этом время, проведенное ими в ЗР, меньше ($p < 0,05$), чем в открытом ($p < 0,01$), по сравнению с самцами. Обращает на себя внимание также продолжительность неподвижности у самцов в ЗР: она на порядок выше, чем у самок ($6,52+1,95$ по сравнению с $0,60+0,28$). Этот факт убедительно показывает большую тревожность самцов по сравнению с самками.

Обращает на себя близость величин, характеризующих у самок количество заходов в открытый ($4,68+0,24$) и закрытый ($4,58+0,24$) рукава лабиринта. Это может быть отражением того, что у самок ПА крыс проявляются признаки стереотипного поведения.

Данные таблицы 2 также показывают, что по числу совершаемых крысами этой группы стоек в ОР существуют значимые различия, и они отсутствуют по выраженности исследовательской деятельности в ЗР. По количеству свешиваний с ОР самки превосходят самцов, выявившиеся различия достоверны при высоком уровне значимости. Полученные результаты показывают, что самки крыс группы A_1/A_1 проявляют меньшую тревожность по сравнению самцами этой группы. И самцы, и самки предпочитают проводить груминг в ЗР, по его длительности половые различия отсутствуют.

Наряду с приведенными выше данными мы решили провести анализ внутри групп самцов и самок, который позволил бы определить степень тревожности, а также выраженность стереотипии поведения.

Таблица 3

Показатели предпочтения рукавов лабиринта внутри группы самцов ПА крыс

Показатели поведения	Характеристики рукавов ПКЛ		t	p
	открытый	закрытый		
Количество посещений	3,55+0,18	3,98+0,22	1,52	>0,05
Время пребывания, с	134,13+6,96	166,39+7,09	3,24	<0,01
Количество стоек	5,06+0,53	7,15+0,53	2,79	<0,01
Неподвижность, с	1,51+0,19	6,52+1,95	2,19	<0,05

Приведенные в таблице 3 данные показывают, что самцы ПА крыс предпочитают ЗР: в нем они проводят большую часть времени, совершают большее количество стоек, в нем больше иммобилизация. Почти равное число посещений ОР и ЗР лабиринта указывает на проявление признаков стереотипного поведения.

Тожественные показатели у самок этой группы приведены в таблице 4.

Таблица 4

Показатели предпочтения рукавов лабиринта внутри группы самок ПА крыс

Показатели поведения	Характеристики рукавов ПКЛ		t	p
	открытый	закрытый		
Количество посещений	4,68+0,24	4,58+0,24	0,28	>0,05
Время пребывания, с	162,03+7,51	140,67+7,09	2,07	<0,05
Количество стоек	7,25+0,59	8,13+0,69	0,97	>0,05
Неподвижность, с	0,29+0,15	0,60+0,28	0,94	>0,05

Данные таблицы 4 свидетельствуют о том, что самки большую часть времени проводят в ОР, выраженность исследовательской деятельности в рукавах лабиринта не различается, и практически нет иммобилизации. У самок присутствуют явления стереотипного поведения, проявляющиеся почти в равных величинах числа посещений рукавов лабиринта.

Проведенный сравнительный анализ выявляет большую тревожность самцов ПА крыс по сравнению с самками. Явления стереотипии перемещений из одного рукава лабиринта в другой характерны как для самцов, так и для самок этой группы животных.

Анализ половых различий поведения в ПКЛ выявил интересную закономерность — самки крыс предпочитают большую часть времени проводить в ОР, в отличие от самцов, которые пребывают больше в ЗР лабиринта. Это приводит к противоположным сдвигам в показателях и влечет за собой проявление значимых различий. В целом это свидетельствует о том, что самцы проявляют большую тревожность по сравнению с самками.

Заключение

Итак, изучение поведения самцов и самок ПА крыс (гомозиготных по аллелю А1 локуса Таq 1 А DRD2) в ПКЛ показало наличие половых различий. Они проявляются в показателях предпочтения ОР и ЗР лабиринта, количестве совершаемых стоек, в продолжительности времени иммобилизации и свидетельствуют о том, что самцам присуща большая тревожность. По результатам данной работы выявлена связь уровня тревожности и характеристик груминга. Связь проявляется в том, что большему уровню тревожности соответствуют меньшая длительность груминга и меньшее количество его эпизодов. Работа выполнена при финансовой поддержке базовой части госзадания Министерства образования и науки, тема № 1442.

Список литературы

1. Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б. Нейробиологические характеристики предпочитающих и отвергающих алкоголь крыс, имеющих различия генотипа по локусу Таq 1А DRD2 // Вопросы наркологии. — 2013. — № 3. — С. 22–29.
2. Борисова Е.В., Русаков Д.Ю., Судаков С.К. Различия характеристик опиатных и катехоламиноергических рецепторов стриатума и коры головного мозга крыс линий Fischer-344 и Wag/Gsto могут обуславливать различия в положительно-подкрепляющем действии морфина // Бюллетень эксперим. биол. и мед. — 1992. — № 9. — С. 296–298.
3. Кибитов А.О., Воскобоева Е.Ю., Моисеев И.А., Шамакина И.Ю., Анохина И.П. Сравнительный анализ вариантов полиморфизма генов дофаминовых рецепторов DRD2 и DRD4 у больных с зависимостью от разных видов ПАВ. // Наркология. — 2007. — № 4. — С. 31–38.
4. Inhibition of self-grooming induced by sleep restriction in dam rats / G.N.Pires, T.A. Alvarenga, I.O. Maia, R. Mazaro-Costa, S. Tufik, M.L. Andersen // Indian J Med Res. — 2012. — V. 136(6). — P. 1025–1055.
5. Jiang S.F., Gao Y.F. Effects of simulated weightlessness on emotional behavior in rats. *Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry.* // 2013. — V. 41. — P. 6–10. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.11.006.
6. Kalueff A.V., Keisala T., Minasyan A. Temporal stability of novelty exploration in mice exposed to different open field tests. // *Behav. Processes.* — 2006. — V. 72. — P. 104–112.
7. Kametani H. Analysis of age-related changes in stress induced grooming in the rat. Differential behavioral profile of adaptation to stress. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.; Neural mechanisms and biological significance of grooming behavior.* // 1988. — P. 101–113.

8. Moody T.W., Meralli Z., Crawley J.N. The effects of anxiolytics and other agents on rat grooming behaviour. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*; Neural mechanisms and biological significance of grooming behavior. // 1988. — V. 525. — P. 281–289.

Рецензенты:

Муфазалова Н.А., профессор, д.м.н., профессор кафедры фармакологии № 1 с курсом клинической фармакологии Башкирского государственного медицинского университета, г. Уфа;

Мурзабаев Х.Х., д.м.н., профессор, зав. кафедрой гистологии ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа.