

УДК 611.813.14.018: 599.323.4

ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И ГРУМИНГА У КРЫС, ГОМОЗИГОТНЫХ ПО РАЗНЫМ АЛЛЕЛЯМ ЛОКУСА TAQ 1A DRD2 НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА

Ахмадеев А.В., Галиева Л.Ф.

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет Минобрнауки РФ», Уфа, e-mail: mpha@ufanet.ru

Целью работы явился сравнительный анализ исследовательской деятельности и груминга на разных стадиях эстрального цикла двух субпопуляций крыс линии WAG/Rij с генетически детерминированным изменением экспрессии изоформ D2 рецептора. Исследования проведены на двух группах половозрелых крыс с генотипами A₁/A₁ и A₂/A₂ по локусу Taq 1A DRD2. Исследовательскую деятельность крыс (всего 20, 10 с генотипом A1A1 и 10 – с A2A2) изучали в установке «открытое поле» по общепринятой методике. Стадии эстрального цикла определяли по цитологии влагалищных мазков. Результаты работы показали, у крыс с генотипом A2A2 исследовательская деятельность значительно повышена на стадии метэструс по сравнению со стадией диэструс. При этом длительность груминга значительно снижается на стадии проэструс и увеличивается на стадии эструс. У крыс с генотипом A1A1 исследовательская деятельность и груминг в динамике эстрального цикла не изменяются.

Ключевые слова: половые стероиды, дофаминергическая трансмиссия, локус Taq 1A DRD2.

PECULIARITIES OF EXPLORATORY ACTIVITY AND GROOMING IN RATS HOMOZYGOUS FOR DIFFERENT ALLELES OF THE LOCUS DRD2 TAQ 1A AT DIFFERENT STAGES OF THE ESTROUS CYCLE

Akhmadeev A.V., Galieva L.F.

Bashkir state University, Ufa, e-mail: mpha@ufanet.ru

The aim of this work was a comparative analysis of exploratory activities and grooming at different stages of the estrous cycle of the two subpopulations of WAG/Rij rats with genetically determined differences in the expression of the isoforms of the D2 receptor. The research was conducted on two groups of mature rats with the genotypes A₁/A₁ and A₂/A₂ on the locus Taq 1A DRD₂. The exploratory activity of rats (total amount 20, 10 with genotype A₁/A₁ and 10 – A₂/A₂) studied in the "open field" system according to the standard methods. Estrus phases identified through a vaginal smear. The results showed that rats with genotype A₂/A₂ had significantly increased exploratory activity at the stage of metestrus in comparison with the stage of diestrus. Along with this the duration of grooming was significantly reduced at the stage of proestrus, and increases at the stage of estrus. In rats with genotype A₁/A₁ exploratory activity and grooming in the dynamics of the estrous cycle does not change.

Keywords: sexsteroids, dopaminergic transmission, locus Taq 1A DRD₂.

Результатами исследований по молекулярной генетике, выполненными как на людях, так и на экспериментальных животных, выявлена роль полиморфного локуса Taq 1A гена рецептора дофамина второго типа (DRD₂) в патогенезе многих психоневрологических заболеваний. При этом показано, что наличие аллеля A₁ (T>C) типично для пациентов с различными формами аддиктивных расстройств и проявлениями синдрома гиперактивности и дефицита внимания, в то время как аллель A₂ (C>T) чаще встречается у больных шизофренией и страдающих обсессивно-компульсивными расстройствами [10].

Исследование ориентировочно-исследовательского поведения гомозиготных крыс по локусу Taq 1A DRD₂ выявило ассоциацию генотипа A₁/A₁ с активной, а генотипа A₂/A₂ – пассивной стратегией поведения; а также наличие половых различий в группах

гомозиготных крыс. Активность самок крыс обеих групп выше, чем самцов, но у крыс с генотипом A_1/A_1 эти различия более выражены и имеют место со стороны большего числа параметров [2]. Эти данные указали на роль фактора пола в формировании поведенческих реакций животных и на необходимость изучения влияния на поведение половых стероидов.

Целью работы явился сравнительный анализ исследовательской деятельности и груминга на разных стадиях эстрального цикла двух субпопуляций крыс линии WAG/Rij с различиями генотипа локуса Taq 1A DRD_2 .

Материал и методы исследования

Исследования проведены на двух группах половозрелых крыс линии WAG/Rij генотипами A_1/A_1 и A_2/A_2 по локусу Taq 1A DRD_2 с массой тела 250-320 г. Более подробно данные о крысах, условиях их содержания, генотипировании локуса и выполненном эксперименте приведены в работе [1]. К настоящему времени две группы крыс линии WAG/Rij, имеющих генотипы A_1/A_1 и A_2/A_2 по локусу Taq 1A DRD_2 , прошли более 30 поколений. Поведение крыс (всего 20, 10 крыс с генотипом A_1/A_1 и 10 крыс с генотипом A_2/A_2) изучали в установке «квадратное открытое поле» по общепринятой методике. Исследовательскую деятельность оценивали по количеству вертикальных стоек в центре и периферии поля, сумма этих двух показателей определяла общую исследовательскую деятельность. Регистрировали количество эпизодов груминга и его общую продолжительность. Стадии эстрального цикла определяли по цитологии влагалищных мазков непосредственно перед регистрацией поведения крыс. Полученные результаты систематизировали по стадиям эстрального цикла и подвергали статистической обработке с помощью пакета программ “Statistica 6”.

Результаты исследования и их обсуждение

Количество стоек на разных стадиях эстрального цикла (ЭЦ): диэструс (Д), проэструс (П), эструс (Э) и метэструс (М), отражающее выраженность исследовательской деятельности крыс с генотипом A_1/A_1 , приведено в табл. 1.

Таблица 1

Показатели исследовательской деятельности крыс с генотипом A_1/A_1 в открытом поле на разных стадиях эстрального цикла ($M \pm m$)

Кол-во стоек	Стадии ЭЦ и результаты сравнения численных характеристик вертикальных стоек								
	Д	р	П	р	Э	р	М	р	Д
общ	12,40 $\pm 3,44$	>0,05	18,30 $\pm 3,73$	>0,05	17,70 $\pm 3,26$	>0,05	16,50 $\pm 3,66$	>0,05	12,40 $\pm 3,44$
центр	1,20 $\pm 0,75$	>0,05	2,00 $\pm 0,80$	>0,05	2,60 $\pm 0,94$	>0,05	0,70 $\pm 0,30$	>0,05	1,20 $\pm 0,75$
периф	11,20 $\pm 3,05$	>0,05	16,70 $\pm 3,31$	>0,05	15,10 $\pm 3,01$	>0,05	15,80 $\pm 3,47$	>0,05	11,20 $\pm 3,05$

Данные табл. 1 показывают, что общее количество вертикальных стоек повышается на стадии проэструс по сравнению со стадией диэструс, несколько снижается на стадиях эструс и метэструс, и возвращается к исходному уровню на стадии диэструс. Все различия являются статистически незначимыми ($p > 0,05$).

Изменения в характеристиках груминга у крыс с генотипом A_1/A_1 отражены в табл.2.

Таблица 2

Количество эпизодов и общая продолжительность груминга у крыс с генотипом A_1/A_1 в открытом поле на разных стадиях эстрального цикла ($M \pm m$)

Параметры	Стадии ЭЦ и результаты сравнения численных характеристик груминга								
	Д	р	П	р	Э	р	М	р	Д
Кол-во эпизодов	2,20 $\pm 0,38$	$>0,05$	2,80 $\pm 0,49$	$>0,05$	2,19 $\pm 0,60$	$>0,05$	3,20 $\pm 0,80$	$>0,05$	2,20 $\pm 0,38$
длительность	10,00 $\pm 2,66$	$>0,05$	12,60 $\pm 2,44$	$>0,05$	9,60 $\pm 1,95$	$>0,05$	11,90 $\pm 2,83$	$>0,05$	10,00 $\pm 2,66$

Приведенные в табл. 2 данные свидетельствуют о том, что характеристики груминга (количество его эпизодов и общая длительность) изменяются параллельно друг другу, общая длительность увеличивается на стадии проэструс, снижается на стадии эструс и достигает наибольшей величины на стадии метэструс. Однако сравнение показателей не выявляет статистически значимых различий ($p > 0,05$).

Результаты регистрации исследовательской деятельности крыс с генотипом A_2/A_2 приведены в табл. 3.

Таблица 3

Показатели исследовательской деятельности крыс с генотипом A_2/A_2 в открытом поле на разных стадиях эстрального цикла ($M \pm m$)

Кол-во стоек	Стадии ЭЦ и результаты сравнения численных характеристик вертикальных стоек								
	Д	р	П	р	Э	р	М	р	Д
общ	7,30 $\pm 1,51$	$>0,05$	8,20 $\pm 1,06$	$>0,05$	11,20 $\pm 1,32$	$>0,05$	14,80 $\pm 1,32$	$<0,05$	7,30 $\pm 1,51$
центр	1,20 $\pm 0,75$	$>0,05$	0,80 $\pm 0,29$	$>0,05$	0,70 $\pm 0,30$	$>0,05$	1,60 $\pm 0,45$	$>0,05$	1,20 $\pm 0,75$
периф	6,10 $\pm 1,15$	$>0,05$	7,40 $\pm 0,83$	$>0,05$	10,40 $\pm 1,36$	$>0,05$	12,90 $\pm 1,20$	$<0,05$	6,10 $\pm 1,15$

Данные табл. 3 показывают, что общее количество вертикальных стоек последовательно по стадиям цикла (проэструс, эструс и метэструс) увеличивается, достигая максимума на стадии метэструс. На стадии метэструс общее количество стоек значимо больше, чем на стадии диэструс ($p < 0,05$). Стойки крысы совершают преимущественно на периферии поля ($p < 0,05$).

Результаты регистрации характеристик груминга у крыс с генотипом A_2/A_2 приведены в табл. 4.

Таблица 4

Количество эпизодов и общая продолжительность груминга у крыс с генотипом A_2/A_2 в открытом поле на разных стадиях эстрального цикла ($M \pm m$)

Параметры	Стадии ЭЦ и результаты сравнения численных характеристик груминга								
	Д	р	П	р	Э	р	М	р	Д
Кол-во эпизодов	2,40 $\pm 0,47$	>0,05	$\pm 1,40$ 0,26	>0,05	2,80 $\pm 0,89$	>0,05	1,40 $\pm 0,31$	<0,05	2,40 $\pm 0,47$
длительность	8,60 $\pm 1,85$	<0,05	2,90 $\pm 0,72$	<0,05	10,70 $\pm 3,26$	>0,05	7,00 $\pm 1,51$	>0,05	8,60 $\pm 1,85$

Приведенные в табл. 4 показывают, что изменения в количестве эпизодов груминга не достоверны ($p > 0,05$). Общая длительность груминга значимо снижается на стадии проэструс по сравнению со стадией диэструс ($p < 0,05$), а затем значимо повышается на стадии эструс ($p < 0,05$).

Выводы

Итак, сравнительный анализ показателей исследовательской деятельности крыс с генотипами A_1/A_1 и A_2/A_2 выявил следующие особенности:

1. У крыс с генотипом A_2/A_2 исследовательская деятельность изменяется в динамике ЭЦ - количество вертикальных стоек, максимальное на стадии метэструс значимо снижается на стадии диэструс. У крыс с генотипом A_1/A_1 достоверные различия в количестве стоек на разных стадиях цикла отсутствуют;
2. Характеристики груминга у крыс с генотипом A_1/A_1 в динамике ЭЦ не изменяются. У крыс с генотипом A_2/A_2 длительность груминга значимо снижается на стадии проэструс и увеличивается на стадии эструс.

Выявленные особенности могут быть объяснены различиями механизмов влияния половых стероидов на разные изоформы D2 рецептора. У крыс с генотипом A_1/A_1 согласно данным молекулярной генетики снижена экспрессия короткой изоформы D2 рецептора [9], выполняющей функции ауторецептора. Поскольку снижение экспрессии одной из изоформ рецептора сопровождается повышением экспрессии другой [7], есть основание полагать, что у крыс с генотипом A_1/A_1 повышена экспрессия длинной изоформы. Наоборот, у крыс с генотипом A_2/A_2 , вероятно, повышена экспрессия короткой изоформы. Основанием для подобного предположения являются результаты авторов [4], изучавших поведение D2L-/- мышей, у которых с помощью генетических технологий (gene-targeting technology) было выполнено удаление участка гена, ответственного за экспрессию длинной изоформы рецептора. Авторы показали, что D2L-/- мыши (у которых сохранилась экспрессия только

D2S, и она была повышена) демонстрировали пассивную стратегию поведения, которая выявлена и у крыс с генотипом A_2/A_2 [2].

У самок крыс с генотипом A_2/A_2 динамика изменений поведенческих реакций на разных стадиях эстрального цикла отлична от крыс с генотипом A_1/A_1 . У крыс с генотипом A_1/A_1 исследовательская деятельность повышается только на стадии проэструс (т.е. под влиянием эстрадиола и притом незначимо) и затем находится на одном уровне, не меняясь на других стадиях цикла. У крыс с генотипом A_2/A_2 исследовательская деятельность возрастает до стадии метэструс, на которой изменения достигают значимых величин по сравнению со стадией диэструс. Это указывает на то, что у крыс с генотипом A_2/A_2 большее влияние на изменение поведения оказывает прогестерон, содержание которого в плазме крови достигает пиковых значений на стадии метэструс [6]. Прогестерон повышает содержание катехоламинов в нервной ткани и экспрессию дофаминовых рецепторов [8], активируя на лютеиновой фазе цикла разные формы мотивационного поведения, включая пищевое, антиконфликтное, исследовательское и половое, снижает уровень тревожности.

Выявленные в работе особенности поведения крыс, гомозиготных по разным аллелям локуса $Taq\ 1A\ DRD_2$, могут быть детерминированы в периоде половой дифференциации мозга, в котором происходят сложные взаимовлияния половых стероидов и катехоламинов. Исследованиями последних лет уточнены механизмы вовлечения дофамина в процессы половой дифференциации мозга. Показано, что дофамин в периоде половой дифференциации мозга может регулировать экспрессию рецепторов половых стероидов лиганд-независимым путем [5], внося тем самым изменения в ход половой дифференциации мозга.

Эти данные показывают, что полиморфный локус $Taq\ 1A\ DRD_2$, оказывающий влияние на экспрессию изоформ D_2 рецептора и, следовательно, предопределяющий изменения в дофаминергической трансмиссии, может включаться в процессы половой дифференциации мозга. Генетически детерминированные различия в содержании дофамина у крыс вариантами полиморфного локуса $Taq\ 1A\ DRD_2$ способны предопределить особенности его влияния на экспрессию рецепторов половых стероидов и взаимодействия половых стероидов с изоформами D_2 рецептора.

Работа выполнена при финансовой поддержке базовой части Госзадания Министерства образования и науки РФ, тема 1442.

Список литературы

1.Ахмадеев А.В., Галиева Л.Ф. Влияние половых стероидов на поведение крыс, имеющих

генетически детерминированные различия в экспрессии изоформ D2 рецептора // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 3; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=24590> (дата обращения: 24.05.2016).

2. Леушкина Н.Ф., Ахмадеев А.В. Нейрофенотипические характеристики крыс, имеющих различия генотипа по локусу Таq 1A DRD2// Фундаментальные исследования. – 2014. – № 9-4. – С.772-775.

3. Леушкина, Н.Ф., Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б. Исследование влияния фактора пола на поведение крыс с модификацией аллельной структуры *DRD2* // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2009. – № 4. – С.14-17.

4. Dopamine D2 long receptor-deficient mice display alterations in striatum-dependent functions / Y. Wang, R. Xu, T. Sasaoka, S. Tonegawa, M.P. Kung, E.B. Sankoorikal // J Neurosci. – 2000. – V. 20(22). – P. 8305-8320.

5. Dopaminergic activation of estrogen receptors in neonatal brain alters progesterin receptor expression and juvenile social play behavior / K. M. Olesen, H. M. Jessen, C.J. Auger, A.P. Auger // Endocrinology. – 2005. – V.146. – P.3705–3712.

6. Female hippocampal estrogens have a significant correlation with cyclic fluctuation of hippocampal spines / A. Kato, Y. Hojo, S. Higo, Y. Komatsuzaki, G. Murakami, H. Yoshino, M. Uebayashi, S. Kawato //Frontiers in neural circuits. – 2013. – doi: 10.3389/fncir.2013.00149.

7. Guivarc'h D., Vernier P., Vincent J. D. Sex steroid hormones change the differential distribution of the isoforms of the D2 dopamine receptor messenger RNA in the rat brain // Neuroscience. – 1995. – V. 69(1). – P. 159-166.

8. Holder M. K., Veichweg S. S., Mong J. A. Methamphetamine-enhanced female sexual motivation is dependent on dopamine and progesterone signaling in the medial amygdala // HormBehav. – 2015. – V.67. – P. 1-11.

9. Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory / Y. Zhang, A. Bertolino, L. Fazio, G. Blasi, A. Rampino, R. Romano, T. Mei-Ling Lee, A. Tao Xiao, Papp, D. Wang, W. Sadee // Journal The Proceedings of the National Academy of Sciences USA. – 2007. – V. 104(51). – P.20552-20557.

10. The ANKK1 kinase gene and psychiatric disorders / G. Ponce, R. Perez-Gonzalez, M. T. Aragues, Palomo, R. Rodriguez-Jimenez, M. A. Jimenez-Arriero, J. Hoenicka // J. Neurotox. Res. – 2009. – V.16. – P. 50–59.