

УДК 612.8

© С.А. Кривопапов, Б.Г. Юшков, 2012.

К ВОПРОСУ О СТАБИЛЬНОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ В ТЕСТЕ ОТКРЫТОГО ПОЛЯ

С.А. Кривопапов, Б.Г. Юшков*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, лаборатория иммунофизиологии и иммунофармакологии (зав. – проф. Б.Г. Юшков), г. Екатеринбург.*

ISSUES OF BEHAVIORAL REACTION OF THE KRUSHINSKY-MOLODKINA STRAIN RATS IN OPEN FIELD TEST S.A. Krivopalov, B.G. Yushkov

SUMMARY

Genetic features of Krushinsky-Molodkina (KM) rat strain is determined not only by their susceptibility to epileptiform seizures, but also in all spheres of the behavior of these rats in the "open field" test with changing the initial level of activity, and introducing instability into the behavioral reaction. Thus, the locomotor activity of the KM is different from the locomotor activity of Wistar rats only on the first day of the experiment. In the sphere of research activity take place a shift from one behavioral act to another on the fifteenth day of the experiment. But there is a gradual increase in the proportion of "shift activity" of the general structure of behavior in the emotional sphere.

ДО ПИТАННЯ ПРО СТАБІЛЬНОСТІ ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ЩУРІВ ЛІНІЇ КРУШІНСЬКИЙ-МОЛОДКІН В ТЕСТІ ВІДКРИТОГО ПОЛЯ

С.А. Кривопапов, Б.Г. Юшков

РЕЗЮМЕ

Генетичні особливості щурів лінії Крушинського-Молодкіної (КМ) визначають не тільки їх схильність до епілептиформні напади, але і проявляються у всіх сферах поведінки цих щурів в тесті «відкрите поле», змінюючи вихідний рівень активності, і привносячи елемент нестабільності в поведінкові реакції. Так, локомоторна активність КМ відрізняється від такої у Вістар лише в першу добу експерименту. У сфері дослідницької активності до п'ятнадцятого дня експерименту, відбувається перенесення акценту з одного поведінкового акту на інший. А в емоційній сфері спостерігається поступове збільшення частки «зміщеної активності» в загальній структурі поведінки.

Ключевые слова: аудиогенная эпилепсия, крысы линии КМ, поведенческие реакции.

Крысы линии Крушинского-Молодкиной (КМ) являются уникальной моделью эпилепсии, поскольку имеют генетическую предрасположенность к аудиогенным эпилептиформным припадкам. Считается что, обязательным компонентом в клинической картине эпилепсии являются характерные изменения поведенческих реакций.

В настоящее время, накоплено достаточное количество данных, характеризующих те или иные особенности поведения крыс линии КМ, изучены основные аспекты механизмов памяти и обучения, исследованы некоторые нарушения главных нейромедиаторных систем мозга. Однако, в таких исследованиях, как правило, не затрагивается вопрос устойчивости наблюдаемых отклонений.

Цель данной работы - изучить в динамике локомоторную активность, ориентировочно-исследовательские реакции и эмоциональную сферу поведения крыс линии Крушинского-Молодкиной.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 4-6 месячных самцах крыс линий КМ, массой 250-300 г (n=28), прошедших предварительный отбор на интенсивность аудиогенного припадков. Провоцирование эпилептиформного генерализованного приступа

производилось в закрытом пластиковом контейнере 35x25x25 см, оснащенным источником поличастотного звука (звуковое давление – 80±2Дб). Длительность воздействия определялась началом развития аудиогенного припадков, а в случае его отсутствия не превышала 30 с. В эксперимент включались только те животные, у которых сила припадков в ответ на аудиостимуляцию составляла 3 и 4 балла по шкале Крушинского [1]. Контролем служили клинически здоровые, нечувствительные к звуку, самцы крыс линии Вистар (n=20), соответствующие по возрасту и массе эпилептическим. Выбор контрольной линии обусловлен тем, что селекция линии КМ велась от исходной популяции крыс Вистар. Все процедуры отбора, группировки и мечения животных экспериментальной и контрольной групп были произведены за неделю до начала исследований.

Поведенческие реакции фиксировались в классическом тесте «открытое поле» четырехкратно, с интервалом 5 дней, в вечернее время (между 16-00 и 19-00). Перед каждым тестированием животные в течение часа выдерживались непосредственно в том помещении, где размещалась установка «Открытое поле» (НПК Открытая Наука, Москва, Россия), чтобы у них была возможность привыкнуть к окружающей

обстановке. Затем, при помощи непрозрачного колпака, крысы по очереди помещались в центр арены, и начинался отсчет времени. Поведение животных фиксировалось широкоугольной видеокамерой, размещенной над ареной. Каждое тестирование состояло из четырех повторностей, интервал между которыми составлял 30 минут. Обработка видеозаписей проводилась при помощи программы RealTimer 1.21.

Оцениваемые показатели были разделены на три группы, условно характеризующие разные сферы активности животного в «открытом поле». К сфере локомоторной активности отнесены такие показатели, как «количество пройденных квадратов», «скорость горизонтальных перемещений», «время, затраченное на перемещения» и «суммарное время остановок». Сфера исследовательской активности представлена показателями: «количество исследованных нор» и «количество вертикальных стоек». А к эмоциональной сфере относятся показатели: «выход из центра», «количество актов груминга», «суммарная продолжительность актов груминга», «длительность

одного акта груминга» и «среднее количество актов дефекаций». Статистическая обработка результатов выполнялась в программе STATISTICA 8.0 с применением многофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и непараметрического критерия Манна-Уитни. Данные полученные по четырем подходам от одного животного рассматривались в анализе как отдельные случаи.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение поведенческих реакций в тесте «открытое поле» показало, что локомоторная активность изучаемых линий крыс отличается лишь в исходе (таб.1). Пересекая равное количество квадратов, самцы линии КМ показывают более высокую, чем Вистар, скорость горизонтальных перемещений в «открытом поле», однако затрачивают больше времени на остановки. Различия в локомоторной активности между опытной и контрольной группами постепенно сглаживаются и ко второй повторности (10 сутки) полностью исчезают, за счет нестабильности описанных показателей у КМ.

Таблица 1

Показатели локомоторной и исследовательской сфер активности

Линия	Сутки	Количество пройденных квадратов	Скорость горизонтальных перемещений	Время, затраченное на перемещения	Суммарное время остановок	Количество исследованных нор	Количество вертикальных стоек
КМ	1	19,50±4,37	0,26±0,04	70,26±7,96	108,59±7,53	7,75±1,29	1,25±0,24
КМ	5	15,44±3,48	0,15±0,02	98,57±11,02	70,52±11,70	9,58±1,87	5,39±1,43
КМ	10	14,97±3,43	0,16±0,02	87,59±13,09	78,83±12,25	9,71±2,10	5,03±1,44
КМ	15	19,97±4,11	0,20±0,03	94,67±11,86	77,00±11,66	11,48±2,44	5,24±1,48
Вистар	1	14,98±2,89	0,16±0,02	87,91±12,19	76,29±12,42	1,36±5,62	3,40±1,03
Вистар	5	16,21±5,00	0,20±0,04	81,53±19,18	74,57±17,31	5,14±1,26	4,21±1,88
Вистар	10	13,44±3,72	0,17±0,03	15,6180,80±	70,56±13,34	4,11±1,27	3,67±1,33
Вистар	15	15,80±5,72	0,19±0,04	79,41±18,30	78,68±16,05	4,60±1,65	2,73±1,21

Показатели исследовательской активности крыс линии Вистар стабильны. В то время как у крыс линии КМ они достоверно изменяются (таб.1). Имея в исходе более низкое значение показателя «количество вертикальных стоек», крысы КМ уже в первой повторности теста (5 сутки) приближаются к показателю линии Вистар. А к третьей повторности (15 сутки), за счет постепенного увеличения у крыс линии КМ показателя «количество исследованных нор», проявляются не существующие в исходе отличия. Таким образом, происходит перенос акцента с одного поведенческого акта на другой: с вертикальных стоек – на исследование нор. Следует отметить, что не все животные линии КМ проявляли интерес к расположенным на арене норам. Некоторые животные совсем не реагировали на них, в то время как другие исследовали каждое отверстие, встречающееся на их пути [6].

В изучении эмоциональной сферы поведения мелких грызунов особое внимание, как правило, уделяется анализу уровня эмоциональной реактивности, а также оценке наблюдаемых

проявлений груминга. Как видно Оценка значений показателя «количество актов дефекации», который традиционно связывают с уровнем эмоциональной реактивности у мелких грызунов [4], не выявила каких-либо достоверных изменений у исследуемых линий. Причем, крысы линии КМ не отличались от Вистар на всем протяжении эксперимента (таб.2).

Данные, представленные в таблице 2 указывают на то, что значение показателя «количество актов груминга» у эпилептических крыс на первые сутки эксперимента находилось на достоверно более низком уровне. Но уже к пятым суткам отличия нивелировались, за счет его повышения у КМ. Показатель «суммарная продолжительность всех актов груминга» оказался стабильным, и у крыс линии КМ он всегда находился на более низком уровне, что ранее было показано [5]. Еще одним стабильным показателем груминга у Вистар можно назвать «длительность одного акта груминга». Он всегда находился на более высоком уровне, по отношению к такому у КМ. Эпилептические же крысы обнаруживали его достоверное понижение к

пятнадцатым суткам эксперимента.

Короткий груминг (стереотипные движения чистки шерсти), как правило, интерпретируют как проявление состояния напряжения и/или конфликта исследовательской мотивации и страха [3]. Продолжительные акты груминга, напротив, оцениваются, как элементы комфортного поведения [2]. В связи с этим, на передний план в оценке эмоциональной составляющей поведенческих реакций выходит показатель средней

продолжительности одного акта груминга, который, при достаточном количественном проявлении этой реакции, может являться прямой характеристикой эмоционального состояния животного. Чем короче один акт груминга – тем выше вероятность, что имеет место смещенная активность (поведение животного, не соответствующее наличной мотивации и ситуации). И чем он продолжительнее – тем менее эмоционально животное реагирует на новизну обстановки, искусственно создаваемой в тесте «открытого поля».

Таблица 2

Показатели эмоциональной сферы активности

Линия	Сутки эксперимента	Выход из центра	Количество актов груминга	Суммарная продолжительность актов груминга	Длительность одного акта груминга	Количество актов дефекации
КМ	1	3,15±1,09	1,63±0,25	5,62±1,75	2,86±0,76	0,50±0,25
КМ	5	12,91±4,98	3,19±0,74	4,83±3,97	1,23±0,96	0,58±0,29
КМ	10	15,57±8,23	4,18±0,90	6,50±2,98	1,64±0,79	0,34±0,22
КМ	15	10,33±3,50	3,79±1,10	5,28±2,57	1,37±0,50	0,10±0,12
Вистар	1	17,79±8,92	2,71±0,62	14,40±3,88	7,14±2,69	0,64±0,23
Вистар	5	25,90±12,75	3,14±1,16	15,10±6,98	6,31±2,73	0,14±0,19
Вистар	10	30,63±16,82	5,00±2,46	17,31±6,79	4,09±1,27	0,17±0,24
Вистар	15	23,92±8,54	3,80±1,56	18,78±9,08	5,89±2,62	0,20±0,29

В эксперименте, крысы линии КМ оказывались более эмоциональными, по сравнению с линией Вистар. Возможно, с этим следует связывать тот факт, что эпилептические крысы, на протяжении всего эксперимента, раньше покидают центр арены. Эта особенность сохраняется на протяжении всех пятнадцати суток исследований. Повышенная тревожность (эмоциональность) крыс линии КМ сказывается не только на характере груминга, но, скорее всего, и на характере их локомоторной активности. Более эмоциональные КМ передвигаются по арене «короткими перебежками», в то время как менее эмоциональные Вистар сохраняют относительно низкую скорость перемещений. В эмоциональной сфере наблюдается постепенное увеличение доли «смещенной активности» в общей структуре поведения, что еще больше отдаляет крыс линии КМ от Вистар.

Таким образом, генетические особенности крыс линии КМ определяют не только их предрасположенность к эпилептиформным припадкам, но и проявляются во всех сферах поведения этих крыс в тесте «открытое поле», изменяя исходный уровень активности, и привнося элемент нестабильности в поведенческие реакции.

ВЫВОДЫ

1. Крысы линии КМ отличаются от линии Вистар характером локомоторной активности, более высоким уровнем исследовательской активности и повышенной эмоциональностью.

2. Для крыс линии КМ характерна нестабильность поведенческих реакций, которая проявляется во всех сферах их активности в тесте «открытое поле».

3. Наиболее лабильны показатели, характеризующие локомоторную активность крыс линии КМ, наименее лабильны - показатели эмоциональной сферы поведенческих реакций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крушинский Л.В. Формирование поведения животных в норме и патологии. М. Изд-во МГУ. 1960. 265 с.
2. Самохвалов В.П. Эволюционная психиатрия. Симферополь, 1993. 286 с.
3. Семиохина А.Ф., Федотова И.Б., Полетаева И.И. Крысы линии Крушинского-Молодкиной: исследования аудиогенной эпилепсии, сосудистой патологии и поведения. Журн. ВНД, т.56, № 2, 249-267.
4. Hall C.S. Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity. 1936. J. comp. physiol. Psychol. vol. 22, pp. 345-352.
5. Pleskacheva M.G. Temporal characteristics of grooming in an open field in two strains of rats // Intern. J. Comp. Psychol. 1996. V. 9. № 3. P. 105-116.
6. Pleskacheva M.G., Zorina Z.A., Wolfer D.P., Lipp H.=P. Cognitive impairments and hyperexploration of objects in rats selectively bred for audiogenic seizure susceptibility. Neural Plasticity// Eur. Brain and Behav. Soc. Abstr. 31 Ann. Meeting EBBS, Rome: 1999. Italy, P. 122.

Работа поддержана Президиумом РАН, проект № 12-П-4-1020 Исследования механизмов иммунологической регуляции функций в норме и при патологии; проект № 12-П-234-2003 Синтез и стабилизация гибридных наночастиц для систем различного назначения.