РАЗДЕЛ IV. БИОЛОГИЯ

Шишелова А.Ю.^{1,2}, Смирнов К.С.²

Влияние ранней социальной изоляции на поведение во взрослом возрасте зависит от критического периода постнатального онтогенеза

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова

²ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
(Россия, Москва)

doi: 10.18411/gdsn-25-12-2019-22

idsp: scienceconf-25-12-2019-22

Abstract

The effect of complete social deprivation in the critical periods of early postnatal ontogenesis on adult behavior in Wag/Rij rats with a genetic predisposition to the absence epilepsy was studied. It was found that a 3-hour daily social isolation of rat pups from the mother and siblings in early postnatal ontogenesis affects the exploratory behavior and learning conditioned response in adulthood. Adult rats behavior was tested in the elevated plus-maze, the open field and during the learning of two-way active avoidance in the “shuttle box”. The effect of social deprivation depends on the social period of ontogeny. The isolation in the second week of postnatal life (from 9th to 15th day) led to an increase in emotional reactivity to a new environment, an increase in exploratory behavior in a threatening space of the elevated plus-maze, and an increase in the ability to learn a conditioned response. The isolation in the third week of life (from 16th to 22nd day) led to a more pronounced increase in locomotor and exploratory activity in a potentially dangerous open space of the elevated plus-maze and the open field, without causing changes in anxiety and the ability to learn a conditioned response. Thus, the second and third weeks of postnatal ontogeny are characterized by different sensitivity to social influences for subsequent development of exploratory behavior and learning ability.

Развитие новорожденного и формирование его поведения в значительной степени зависит от социальной среды [Pryce, Feldon, 2003; Curley J.P. et al, 2011]. В раннем постнатальном онтогенезе наиболее значимые источники видоспецифических сенсорных сигналов – это мать и сиблинги [Шишелова А.Ю., Раевский В.В., 2016; Шишелова А.Ю., Раевский В.В., 2018; Шишелова А.Ю., Раевский В.В., 2019, Friedman E. et al., 2006; Tang A.C. et al., 2014]. Эпигенетическое влияние социальных факторов на развитие новорожденного зависит от периода онтогенеза [Шишелова А. Ю., Раевский В.В., 2009; Шишелова А.Ю., Раевский В.В., 2019]. Так, у крыс в первую неделю жизни двигательная активность детенышей снижена, и в этот период жизни активное социальное поведение у них проявляется преимущественно в контакте с матерью во время сосания и вылизывания. С 9-го дня жизни увеличивается уровень социальных коммуникаций в гнезде, начинается развитие взаимного груминга и игровых реакций между сиблингами, сопровождающееся формированием целенаправленных движений вибрисс («whisking») [Grant R.A., 2012; Pellis S.M., Pellis V.C., 1997]. Изменение социальной среды в этот период может быть более критичным для последующих процессов развития по сравнению с воздействием в первые дни постнатального онтогенеза. Показано, что нарушение видоспецифической афферентации путем удаления вибрисс с 9-го по 20-й дни жизни оказывает более сильное влияние на синхронность развития ранних поведенческих реакций по сравнению с депривацией со 2-го дня жизни [Шишелова А. Ю., Раевский В.В., 2009]. Было обнаружено, что при вибриссэктомии со 2-го дня жизни происходят перестройки в созревании функциональных систем поведенческих реакций с более интенсивным включением зрительной афферентации для их сенсорного обеспечения, что может приводить к компенсации недостатка информации от вибрисс [Шишелова А. Ю., Раевский В.В., 2009]. Таким образом, после прозревания, происходящего у интактных крысят в возрасте 15-16 дней, зрительная афферентация может стать ведущей для

интеграции функциональных систем развивающихся в этот период поведенческих актов: стоек, груминга, манипуляторной активности, составляющих основу социального и исследовательского поведения. С этого же возраста значительно возрастают двигательная активность, коммуникации между сиблингами и игровое поведение [Auger A.P., Olesen K.M., 2009; Himmler B. T. et al., 2015]. Это создает основание для деления периода социализации раннего постнатального онтогенеза на два: до открытия глаз (9-15 дни) и после (с 16-го дня жизни). Целью работы было оценить влияние неблагоприятных социальных факторов во вторую и третью недели раннего постнатального онтогенеза на поведение и способность к обучению потомства крыс линии WAG/Rij с врожденной предрасположенностью к абсанс эпилепсии. Мы предполагаем, что изменение социальной среды в семье особей с врожденной патологией головного мозга может оказывать положительное воздействие на формирование поведения у детенышей.

В качестве модели социальной депривации нами была использована полная социальная изоляция, когда каждого детеныша содержали отдельно от матери и сиблингов. В экспериментальных группах крысят линии WAG/Rij подвергали ежедневной изоляции в течение 3-х часов: в первой группе с 9-го по 15-й день (4 помета), во второй группе - с 16-го по 22-й день постнатального онтогенеза (5 пометов). В контрольной группе проводили только осмотр крысят в возрасте 2-х и 9-ти дней (6 пометов). В возрасте 27 дней крысят отсаживали от матери и далее содержали группами по 3-4 животных в каждой клетке. В возрасте 2 мес. тестировали поведение самцов в приподнятом крестообразном лабиринте, через 2 нед. – в «открытом поле». Двигательную и исследовательскую активность оценивали с помощью видеотрекинга: в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) в течение пяти минут, в «открытом поле» в течение десяти минут. После 5 месяцев жизни, когда у большинства крыс WAG/Rij появляется заметная эпилептическая активность, проводили тестирование когнитивных способностей путем обучения условному рефлексу двустороннего избегания (УРДИ) в челночной камере.

Были получены следующие результаты. В ПКЛ по большинству показателей двигательной и вертикальной активности в закрытых коридорах и на центральной площадке не было выявлено отличий экспериментальных групп от контрольной. Обнаружено только статистически значимое влияние воздействия в раннем онтогенезе на длину пути в закрытых коридорах ($F(2,50) = 4,90$, $p=0,011$) и число свешиваний с центральной площадки ($F(2,50) = 11,17$, $p=0,0001$). Post-hoc анализ показал, что крысы, изолированные с 9-го дня, проходят большее расстояние в закрытых коридорах по сравнению с другими группами (табл. 1). В обеих экспериментальных группах наблюдалось большее число свешиваний, чем в контрольной (табл. 1).

Табл. 1.

Показатели поведения в закрытых коридорах и на центральной площадке ПКЛ крыс контрольной и экспериментальных групп (среднее $\pm$ С.К.О.)

Показатели поведения	Контрольная группа $n=19$	Изолированные с 9-го дня жизни $n=15$	Изолированные с 16-го дня жизни $n=19$
Длина пути в закрытых коридорах, см	$886,6 \pm 182,0$	$1006,6 \pm 208,5$ * $p = 0,048$ @ $p = 0,007$	$818,6 \pm 133,2$
Число свешиваний из центральной площадки (среднее за мин пребывания в этой зоне)	$4,26 \pm 1,27$	$8,12 \pm 2,98$ * $p = 0,0002$	$6,59 \pm 2,76$ * $p = 0,006$
Число актов груминга	$0,89 \pm 0,99$	$1,73 \pm 1,03$ # $p = 0,018$	$1,47 \pm 1,26$
доля крыс с дефекациями, %	26%	67% & $p = 0,017$	33%

Обозначения: * - отличие от контрольной группы, @ - отличие от другой экспериментальной группы (ANOVA, post-hoc анализ, Newman-Keuls test)

- отличие от контрольной группы, тест Манна-Уитни,

& - отличие от контрольной группы, two-side тест сравнения двух пропорций

В открытых коридорах у крыс, изолированных с 9-го дня жизни, статистически значимо увеличивались средняя длина пути, пройденного во время одного выхода в открытый коридор, по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Других статистически значимых отличий этой группы от контрольной не было обнаружено. У крыс, изолированных с 16-го дня жизни, по сравнению с контрольной группой происходило статистически значимое увеличение большинства показателей поведения в открытых коридорах: длины пути, времени пребывания, максимальной скорости перемещения, средней длины пути, пройденного за каждый выход в открытый коридор (табл. 2), что свидетельствует о повышении исследовательской активности в опасном пространстве.

Табл. 2.

Показатели поведения в открытых коридорах ПКЛ крыс контрольной и экспериментальных групп (среднее $\pm$ С.К.О.)

Показатели поведения в открытых коридорах	Контрольная группа $n=13$	Изолированные с 9-го дня жизни $n=10$	Изолированные с 16-го дня жизни $n=16$
Длина пути, см	$114,9 \pm 76,7$	$175,2 \pm 83,6$	$232,4 \pm 130,8$ * $p = 0,006$
Время пребывания, с	$32,2 \pm 21,9$	$52,8 \pm 30,0$	$60,2 \pm 30,4$ * $p = 0,009$
Средняя длина пути, пройденного за один выход, см	$50,1 \pm 29,2$	$70,0 \pm 24,5$ * $p = 0,028$	$72,45 \pm 30,05$ * $p = 0,046$
$V_{\max}$, см/с	$16,0 \pm 5,4$	$18,75 \pm 4,2$	$22,4 \pm 7,9$ * $p = 0,013$

Обозначения: * - отличие от контрольной группы (тест Манна-Уитни)

У крыс, изолированных с 9-го дня жизни, показатели эмоциональной реактивности и тревожности в новой обстановке - число актов груминга и число крыс с дефекациями - были статистически значимо больше по сравнению с контрольными животными (табл. 1). Вторая экспериментальная группа не отличалась от контрольной по этим показателям.

Таким образом, изоляция с 9-го по 15-й дни жизни приводила к увеличению эмоциональной реактивности на новую обстановку во взрослом возрасте и увеличение отдельных показателей исследовательской активности во всех отсеках лабиринта. Изоляция с 16-го дня жизни оказывала наиболее выраженное влияние на поведение в открытых коридорах ПКЛ во взрослом возрасте, вызывая значительное увеличение большинства показателей исследовательской активности.

В «открытом поле» обнаружено статистически значимое влияние изоляции на длину пути (анализ ANOVA, $F_{(2,49)} = 7,724$, $p = 0,0012$), время «сидения» $F_{(2,49)} = 8,087$, $p = 0,0009$), среднюю скорость перемещения ($F_{(2,49)} = 9,3704$, $p = 0,0004$). *Post-hoc* анализ показал, что крысы, изолированные с 16-го дня жизни, имели более высокую двигательную активность по сравнению с другими группами (табл. 3). Также у животных, изолированных в более поздний период, происходило увеличение исследовательской активности (длины пути и $V_{\max}$ в центральной зоне, числа стоек), и числа актов груминга (табл. 3). Поведение крыс из первой экспериментальной группы не отличалось от контрольной, за исключением увеличения числа актов груминга (табл. 3).

Таким образом, изоляция с 9-го дня жизни не оказывала влияния на исследовательское поведение в «открытом поле» у взрослых крыс, в то время как изоляция с 16-го дня жизни вызывала выраженное увеличение двигательной и исследовательской активности в этом тесте.

При обучении УРДИ у крыс, подвергавшихся изоляции с 9-го дня жизни, зарегистрировано повышение способности к обучению. Так, критерия обученности (наличие 9 условных реакций в ответ на 10 последовательных предъявлений условного

стимула) не достигли 52% контрольных крыс, 17% крыс 1-й экспериментальной группы (отличие от контрольной группы статистически значимо, $p = 0,046$, two-side тест сравнения двух пропорций), 50% крыс 2-й экспериментальной группы. У животных 1-й экспериментальной группы также были статистически значимо больше число условных реакций ($52,6 \pm 18,3$ % от 50 сочетаний) и максимальное число условных реакций, наблюдавшихся подряд ($11,9 \pm 7,0$) по сравнению с контрольной группой ($36,2 \pm 21,8$ % и $6,9 \pm 5,8$ соответственно, критерий Манна-Уитни, $p=0,033$ и $p=0,026$). Остальные показатели обучения УРДИ не различались у контрольных и экспериментальных животных. Таким образом, социальная изоляция во вторую неделю жизни приводит к увеличению способности к обучению УРДИ во взрослом возрасте, а изоляция на третьей неделе жизни не оказывает влияния на обучение условному рефлексу.

Таблица 3.

Показатели поведения в «открытом поле» контрольных и экспериментальных крыс (среднее значение $\pm$ С.К.О.)

Показатели поведения	Контрольная группа $n=19$	Изолированные с 9-го дня жизни $n=16$	Изолированные с 16-го дня жизни $n=17$
Длина пути, см	$2998,2 \pm 1008,4$	$3116,8 \pm 799,9$	$4019,9 \pm 635,5$ * $p = 0,002$ @ $p = 0,003$
Время «сидения», с	$308,4 \pm 79,2$	$303,9 \pm 59,2$	$233,9 \pm 32,7$ * $p = 0,002$ @ $p = 0,0016$
Средняя скорость перемещения, см/с	$5,05 \pm 1,6$	$5,3 \pm 1,4$	$6,9 \pm 1,0$ * $p = 0,008$ @ $p = 0,0014$
Длина пути в центральной зоне, см	$69,3 \pm 75,2$	$140,2 \pm 146,5$	$286,5 \pm 134,3$ # $p = 0,00002$
$V_{\max}$ в центральной зоне, см/с	$21,5 \pm 11,7$	$24,9 \pm 9,8$	$32,5 \pm 7,3$ # $p = 0,0048$
Число стоек	$10,16 \pm 5,08$	$10,13 \pm 4,92$	$15,29 \pm 4,77$ # $p = 0,0042$
Число актов груминга	$2,47 \pm 1,81$	$5,63 \pm 1,96$ # $p=0,0001$	$5,0 \pm 3,28$ # $p = 0,0072$

Обозначения: * - отличие от контрольной группы, @ - отличие от другой экспериментальной группы (ANOVA, post-hoc, Newman-Keuls test, для показателей, имевших нормальное распределение); # - отличие от контрольной группы (тест Манна-Уитни, для показателей, имевших отличное от нормального распределение).

Закключение. Ежедневная социальная депривация особей с генетической предрасположенностью к абсанс эпилепсии путем полной изоляции от матери и сиблингов в раннем постнатальном онтогенезе влияет на исследовательское поведение и способность к обучению во взрослом возрасте. Характер влияния социальной депривации зависит от периода онтогенеза. Депривация на второй неделе жизни приводит к увеличению эмоциональной реактивности на новую обстановку во взрослом возрасте, повышению исследовательской активности в угрожающем пространстве при наличии выбора между опасной и безопасной зонами и увеличению способности к обучению условному рефлексу избегания болевого раздражения. Депривация на третьей неделе жизни приводит к более выраженному повышению двигательной и исследовательской активности в потенциально угрожающем открытом

пространстве, не вызывая изменений тревожности и способности к обучению условному рефлексу с болевым подкреплением.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-013-00597 «Социальные факторы, агрегирующие проявление абсанс-эпилепсии».

1. Шишелова А. Ю., Раевский В.В. Влияние вибриссэктомии в раннем постнатальном онтогенезе у крыс на развитие поведения. Журнал высшей нервной деятельности. 2009. Т. 59. № 3. С. 326 – 334.
2. Шишелова А.Ю., Раевский В.В. Влияние опыта материнства на формирование видоспецифического поведения потомства в раннем онтогенезе. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2016. Т.52. № 5. С. 347-353.
3. Шишелова А.Ю., Раевский В.В. Влияние пре- и постнатальных факторов на формирование ранних поведенческих реакций. ДОКЛАДЫ АКАДЕМИИ НАУК. 2018, том 479, № 3, с. 351–353.
4. Шишелова А.Ю., Раевский В.В. Социальная среда раннего онтогенеза и формирование исследовательского поведения в зрелом возрасте. Экспериментальная психология. 2019. Т.12. №3 с. 142-147.
5. Auger A.P., Olesen K.M. Brain sex differences and the organisation of juvenile social play behaviour. J Neuroendocrinol. 2009. V. 21. № 6. P. 519-525. doi: 10.1111/j.1365-2826.2009.01871.x.
6. Curley J.P., Jensen C.L., Mashoodh R., Champagne F.A. Social influences on neurobiology and behavior: epigenetic effects during development. Psychoneuroendocrinology, 2011. V. 36. № 3. P. 352–371. doi: 10.1016/j.psyneuen.2010.06.005.
7. Friedman E., Berman M., Overstreet D. Swim test immobility in a genetic rat model of depression is modified by maternal environment: a cross-foster study. Dev Psychobiol. 2006. V.48. № 2. P. 169-177.
8. Grant R.A., Mitchinson B., Prescott T.J. The development of whisker control in rats in relation to locomotion. Developmental Psychobiology. 2012. V. 54. № 2. P. 151-168. doi: 10.1002/dev.20591.
9. Himmler B. T., Himmler S. M., Stryjek R., Modlińska K., Pisula W., Pellis S.M. The Development of Juvenile-Typical Patterns of Play Fighting in Juvenile Rats does not Depend on Peer-Peer Play Experience in the Peri-Weaning Period. International Journal of Comparative Psychology. 2015. V.28. P. 1-18.
10. Pellis S.M., Pellis V.C. The prejuvenile onset of play fighting in laboratory rats (*Rattus norvegicus*). Dev. Psychobiol. 1997. V. 31. № 3. P. 193-205.
11. Pryce C.R., Feldon J. Long-term neurobehavioural impact of the postnatal environment in rats: manipulations, effects and mediating mechanisms. Neurosci Biobehav Rev. 2003. V. 27. № 1-2. P. 57-71.
12. Tang A.C., Reeb-Sutherland B.C., Romeo R.D., McEwen B.S. On the causes of early life experience effects: evaluating the role of mom. Front Neuroendocrinol. 2014. V.35. № 2. P. 245-251. doi: 10.1016/j.yfrne.2013.11.002.

Шишелова А.Ю.¹, Алексанян О.В.²

Формирование поведения крыс линии WAG/Rij зависит от материнской заботы в раннем постнатальном онтогенезе

¹*Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова*

²*Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова
(Россия, Москва)*

doi: 10.18411/gdsn-25-12-2019-23

idsp: scienceconf-25-12-2019-23

Abstract

Species-specific signals, accepted in early postnatal ontogeny, are significant for development of organism in this period and later. Nursing mother is an important source of such sensory signals. The present study examined the relationship between the maternal behavior in WAG/Rij rats with genetic predisposition to absence epilepsy and the behavior of their offspring at juvenile and adult age. In the first experiment the maternal behavior in WAG/Rij rats during the first week postpartum were compared to behavior of the normal Wistar mothers. The WAG/Rij females showed lower level of maternal care manifested in a prolongation latency of return to the nest at 3-d day postpartum, a decrease of the pups shifting, and an impairment of pup carry. WAG/Rij females had significantly more frequent occurrence of abnormally