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

prolonged behavioral responses also. In the second experiment we investigated the effects of feeding WAG/Rij pups of surrogate Wistar mothers on offspring behavior in the elevated plus maze at 20 and 35 postnatal days and behavior in the open field, the forced swim test, the active avoidance learning in the shuttle box at adult age. The WAG/Rij rats feeding Wistar females had higher rate of exploratory activity in the elevated plus maze and in the open field compared to rats feeding WAG/Rij dams. It was found that there are the differences in the correlation relationships of the behavioral characteristics in the exploratory tests with the indicators of performance on active avoidance learning between the rat groups. Thus, a feeding of rat pups with genetically determined absence seizures by mothers without a hereditary brain disease leads in the increase of exploratory activity and changes the behavior organization at learning in adult age.

Эпигенетические факторы обуславливают динамику развития поведения с первых дней постнатального онтогенеза. Главным источником эпигенетических воздействий для новорожденного служит поведение матери [Шишелова, Раевский, 2016; Pérez-Torrero, Rubio-Navarro, 2015; Tang et al., 2014].

Целью работы было исследование влияния материнской заботы кормящих самок на формирование поведения потомства с врожденной патологией головного мозга. В качестве модели такой патологии использовали крыс линии WAG/Rij, генетически предрасположенных к развитию абсанс-эпилепсии. Все эксперименты выполняли в соответствии с требованиями Директивы Совета Европейского Сообщества (86/609/ЕЕС) об использовании животных для экспериментальных исследований. В первой серии экспериментов было проведено сравнение материнского поведения кормящих самок крыс линии WAG/Rij и самок крыс неконвульсивной линии Wistar в первую неделю после родов. Для этого ежедневно оценивали материнское поведение впервые родивших самок крыс линии Wistar (n=7) и линии WAG/Rij (n=5) со 2-го по 7-й день послеродового периода. Использовали разработанный нами протокол регистрации оценки материнского поведения самок крыс. Каждую кормящую самку с пометом содержали в отдельной клетке в стандартных условиях. В начале эксперимента мать отсаживали из клетки на 4 минуты. В это время брали крысят поочередно в руки, осматривали и возвращали в гнездо. Появление нового, чужого запаха и оборонительные реакции крысят на прикосновение человека служили сигналом для последующей стимуляции защитных материнских реакций. Далее возвращали мать в клетку, сажая в угол, противоположный занятому гнездом, и немедленно проводили видеосъемку поведения самки в течение 10 минут. По видеофайлу оценивали следующие показатели материнской заботы: латентный период возврата в гнездо на продолжительное время (более 1 мин), наличие активных контактов матери с крысятами (вылизывания детенышей, перекладывания их в гнезде и перетаскивания по клетке), латентный период первого активного контакта с крысятами, количество активных контактов и продолжительность каждого, суммарную продолжительность актов строительства гнезда (манипуляций с опилками клетки, направленных на наращивание стенок гнезда) и «рытья тоннелей» (когда самка погружает нос в опилки и передвигается под ними), суммарную продолжительность пребывания матери в гнезде. Оценивали стратегию перетаскивания крысят - защитной материнской реакции, направленной на изменение локализации обнаруженного гнезда. Использовали следующую разработанную нами классификацию: стратегия 1 проявляется в переносе самкой только части крысят из помета в другой угол клетки или в разные части клетки при отсутствии постройки нового гнезда и укрытии перенесенных крысят, стратегия 2 проявляется во временном перетаскивании большинства или всех крысят из помета по клетке с последующим возвратом каждого крысенок в исходное гнездо, стратегия 3 проявляется в переносе всех крысят в другой угол клетки, где самка строит новое гнездо. Также регистрировали число и продолжительность актов аутогруминга кормящей самки, и наличие эпизодов поведения с высокой продолжительностью (более одной минуты без пауз) и часто повторяющихся (более 10), которые, по нашему мнению, могут отражать проявление компульсивности [Tucci et al., 2014]. Обнаружены существенные различия в материнском поведении самок крыс исследованных линий. Самки WAG/Rij по сравнению

с самками Wistar имели статистически значимые отличия в паттернах материнского поведения, проявляющиеся в перемещении крысят и манипуляциях с материалами подстилки. При этом поведение, направленное на поддержание гигиены (вылизывание) и кормление детенышей, не различалось. У самок WAG/Rij зафиксированы сниженные суммарная продолжительность переворачивания крысят в гнезде и продолжительность одного акта перетаскивания (табл.1). У самок WAG/Rij чаще, чем у крыс Wistar, проявлялась неэффективная для терморегуляции и защиты детенышей первая стратегия перетаскивания (41% и 11% соответственно, two-side тест сравнения двух пропорций, $p < 0,05$) и реже - вторая (45% и 74% соответственно, $p < 0,05$). Наряду с этим матери WAG/Rij имели высокие по сравнению с самками Wistar показатели продолжительности манипуляций с опилками и аутогруминга, во время которых отсутствует контакт матери с детенышами (табл.1). У самок WAG/Rij зафиксированы отклонения в недельной динамике уровня материнской заботы. Максимальный уровень материнской заботы у впервые родивших самок наблюдается на 3-й - 4-й дни после родов и временно снижается на 5-й день, когда самка начинает покидать гнездо на более длительный срок [Шишелова, Раевский, 2016]. У крыс WAG/Rij на 3-й день после родов был статистически значимо увеличен латентный период возврата в гнездо по сравнению с крысами Wistar (335 ± 147 с и 190 ± 123 с соответственно, тест Медиан, $p=0,0285$). Различий латентного периода возврата в гнездо в другие дни между самками WAG/Rij и Wistar не наблюдалось. При этом от 4-го к 5-му дню послеродового периода у всех крыс Wistar возрастал латентный период возврата в гнездо, что соответствует стандартной динамике материнского поведения, в то время как у трех самок WAG/Rij происходило, напротив, снижение этого показателя. Также у самок WAG/Rij в два раза чаще наблюдались пролонгированные и часто повторяющиеся поведенческие акты, что может свидетельствовать о затруднениях в смене поведенческих паттернов. Большинство показателей материнского поведения крыс WAG/Rij имело меньшую стабильность по популяции по сравнению с крысами Wistar (табл.1).

Таким образом, материнское поведение самок WAG/Rij в первую неделю после родов характеризуется меньшей эффективностью по сравнению с самками Wistar: уменьшением времени тактильного контакта в связи со снижением длительности актов перемещения крысят в гнезде и при перетаскивании, более частым проявлением первой стратегии перетаскивания, увеличенным времени возврата в гнездо для ухода и кормления на 3-й день послеродового периода.

Табл.1.

Показатели материнского поведения самок крыс Wistar и WAG/Rij в первую неделю после родов (среднее значение $\pm$ С.К.О.).

Показатель поведения	Самки Wistar	Самки WAG/Rij	Различие средних, тест Манна-Уитни, p	Различие дисперсий, тест Брауна-Форсайта, p
Суммарная продолжительность актов перекладывания крысят в гнезде, с	$38,9 \pm 41,7$	$6,0 \pm 6,0$	0,000002	0,009
Средняя продолжительность одного акта перетаскивания, с	$15,2 \pm 10,3$	$7,4 \pm 5,6$	0,001	0,010
Длительность самого продолжительного акта перетаскивания	$36,8 \pm 30,7$	$16,91 \pm 11,18$	0,007	0,033
Суммарная продолжительность актов строительства гнезда, с	$20,9 \pm 28,2$	$51,2 \pm 42,0$	0,010	0,010
Суммарная продолжительность актов «рытья», с	$15,1 \pm 13,6$	$32,5 \pm 30,1$	0,040	-
Суммарная продолжительность актов аутогруминга, с	$30,4 \pm 35,0$	$132,0 \pm 120,2$	0,000005	0,000009
Число актов аутогруминга	$3,27 \pm 1,91$	$5,21 \pm 3,68$	0,015	0,010
Средняя продолжительность одного акта аутогруминга, с	$20,0 \pm 19,0$	$65,0 \pm 63,1$	0,000006	0,009

Во второй части работы исследовали поведение самцов крыс линии WAG/Rij, выращенных самками той же линии, и самками крыс линии Wistar. Для исследования отбирали самок WAG/Rij и Wistar, родивших в один день. На 3-й день жизни крысят WAG/Rij проводили замену родившей их самки на лактирующую самку Wistar (опытная группа) или на другую самку WAG/Rij (контрольная группа). В возрасте 20-ти и 35-ти дней тестировали поведение самцов в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ). После этого самцов WAG/Rij содержали группами в отдельных клетках. Во взрослом возрасте оценивали показатели поведения в тестах «открытое поле», «принудительного плавания» Порсолта и при обучении условному рефлексу двустороннего избегания (УРДИ) в челночной камере.

Обнаружено, что у крысят WAG/Rij, выращенных самками Wistar ($n=18$), в возрасте 20-ти дней была выше исследовательская активность в открытых коридорах ПКЛ: статистически значимо больше длина пройденного пути (тест Манна-Уитни, $p<0,05$) и выше вариабельность показателей поведения (тест Брауна-Форсайта, $p<0,05$) по сравнению с контрольной группой крыс, выращенных самками WAG/Rij ($n=21$). В возрасте 35-ти дней у крыс экспериментальной группы были больше длина пути, суммарно пройденного в ПКЛ, и в его открытых отсеках, время пребывания в открытых отсеках, скорость перемещения в закрытых коридорах лабиринта, число стоек, свешиваний вниз из открытых отсеков, а также число актов груминга по сравнению с контрольной группой (тест Манна-Уитни, $p<0,05$). Это свидетельствует о повышенной исследовательской активности экспериментальных животных в критический период перехода к самостоятельному существованию. При оценке динамики показателей поведения в ПКЛ (парный тест Вилкоксона, $p < 0,01$) обнаружено, что у крыс опытной группы от 20-го к 35-му дню жизни существенно увеличивались общие длина пути и средняя скорость движения, возрастали средняя и максимальная скорости движения в закрытых коридорах, уменьшалась продолжительность «сидения без перемещений», что отражает увеличение двигательной активности. У крыс этой группы к 35-му дню жизни также снижалось время пребывания в закрытом отсеке, увеличивались число стоек и свешиваний вниз из центральной площадки, что отражает рост исследовательской активности. У крыс контрольной группы наблюдалось меньше статистически значимых изменений поведения в ПКЛ от 20-го к 35-му дню жизни. В закрытых коридорах у этих животных увеличивалась только максимальная скорость перемещения, что при отсутствии статистически значимых изменений других показателей двигательной и исследовательской активностей, по-видимому, характеризует увеличение активно-оборонительной реакции избегания. В открытых коридорах у них возрастала средняя скорость движения и уменьшалась продолжительность «сидения», наряду с отсутствием увеличения длины пути. Эти явления, вероятно, отражают снижение пассивно-оборонительного поведения в опасных отсеках. Таким образом, у крыс опытной группы в ювенильный период происходило развитие исследовательского поведения, выявляемое в ПКЛ. У крыс контрольной группы не наблюдалось изменений исследовательской активности в этом возрасте.

Во взрослом возрасте у крыс линии WAG/Rij, выращенных самками Wistar ($n=16$), была статистически значимо выше исследовательская активность в «открытом поле» (больше длина пройденного пути во всем открытом поле и в потенциально опасной центральной зоне, скорость перемещения и число стоек, $p < 0,05$, тест Медиан) по сравнению с крысами, выращенными самками WAG/Rij ($n=20$). В тесте Порсолта у первых зафиксирована меньшая суммарная продолжительность эпизодов «быстрого» плавания (со скоростью более 10 см/с), истощающего физические ресурсы животных. При этом не отмечалось статистически значимых различий между группами по времени иммобильности.

В тесте УРДИ достигли критерия обученности (5 условных реакций из 6 сочетаний) 95% крыс, выращенных самками WAG/Rij и 69% крыс, выращенных самками

Wistar. Различия статистически значимы (two-side тест сравнения двух пропорций, $p < 0,05$). Остальные показатели обучения УРДИ животных исследованных групп не различались. Снижение доли обучившихся животных в экспериментальной группе, возможно, отражает формирование иной структуры поведения при обучении оборонительному условному рефлексу у таких животных. Анализ связей между показателями поведения в использованных нами для взрослых животных тестах показал, что у крыс, выращенных самками WAG/Rij, продолжительность обучения УРДИ статистически значимо положительно коррелировала со скоростью перемещения в «открытом поле» и длиной пути в центральной зоне, что отражает негативную связь эмоциональной реактивности и обучаемости у контрольных животных. У крыс, выращенных самками Wistar, подобных связей не было обнаружено, что говорит о снижении связи между системами, организующими исследовательское поведение и оборонительное. При этом для этой группы было характерным большее число корреляций между показателями обучения УРДИ, что, возможно, свидетельствует о большей специфичности опыта, приобретаемого при обучении таких животных новому навыку.

Заключение. Самки крыс линии WAG/Rij, генетически предрасположенной к развитию абсанс-эпилепсии, проявляют сниженный уровень материнской заботы в первые дни постнатального онтогенеза. Выкармливание крысят WAG/Rij здоровыми самками Wistar, не имеющих наследственных заболеваний головного мозга, приводит к формированию более выраженного исследовательского поведения и изменяет структуру поведения потомства при обучении во взрослом возрасте.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-06-00404 - ОГН

1. 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.
 2. Pérez-Torrero E., Rubio-Navarro L. Maternal Behavior Their Adjustments and Implicated Factors. Journal of Behavioral and Brain Science. 2015. Vol. 5 (2). P. 40-55. URL: <http://dx.doi.org/10.4236/jbbs.2015.52004>.
 3. 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. Vol. 35 (2): 245-51. doi: 10.1016/j.yfrne.2013.11.002.
 4. Tucci M.C., Dvorkin-Gheva A., Johnson E., Cheon P., Taji L., Agarwal A., Foster J., Szechtman H. Performance of compulsive behavior in rats is not a unitary phenomenon - validation of separate functional components in compulsive checking behavior. Eur J Neurosci. 2014. Vol. 40 (6): 2971-9. doi: 10.1111/ejn.12652.
-