

М.Ю. Макачук, І.Г. Зима

Вплив аносмії на статеві відмінності при здійсненні умовних рефлексів активного уникнення у щурів

В хронических экспериментах на белых крысах исследовали влияние периферической аносмии на половой диморфизм формирования условных рефлексов активного избегания (УРАИ) в челночной камере. Показано, что у интактных самцов формирование условнорефлекторных реакций происходило быстрее, чем у самок, хотя степень сохранения рефлекторной деятельности формирования УРАИ как у самцов, так и у самок. Кроме того, у самцов и самок с аносмией отмечено изменение соотношения между ними количества межсигнальных реакций на противоположное по сравнению с интактными животными. Предполагается, что полученные эффекты периферической аносмии, вероятно, связаны с изменением функциональной активности ядер миндалевидного тела.

ВСТУП

Раніше [8,9,16,22] було показано важливе значення нюхового аналізатора в регуляції різних форм умовнорефлекторної захисної поведінки у самців щурів. Разом з тим нині є достатня кількість даних про наявність статевого диморфізму відносно різних показників умовнорефлекторної діяльності [1,4,5,17]. Слід відмітити, що ці дані дуже неоднозначні. Так, деякі дослідники [4,5] зазначають, що для самиць у стресових ситуаціях характерне переважання активнотрихисних форм поведінки, а для самців - пасивнотрихисних, тоді як інші дотримуються протилежної думки [1,13,17]. Подібні розбіжності, досить імовірно, є результатом застосування для таких оцінок тестових систем, які викликають у тварин під час тестування різний рівень стресу.

Щодо ролі нюхового аналізатора в реалізації умовнорефлекторної захисної поведінки тварин зі статевими відмінностями, то це питання залишається мало вивченим.

Мета нашої роботи - вивчення впливу периферичної аносмії на статеві відмінності у формуванні і збереженні умовних активно-

захисних рефлексів у човниковій камері у щурів. Це важливо з точки зору вивчення ролі нюхового аналізатора в механізмах навчання і пам'яті.

МЕТОДИКА

Досліди проводили на 27 білих безпородних лабораторних щурах-самцях і 25 щурах-самицях масою 180–200 г, вік яких до початку експерименту становив 7–8 міс. Тварин утримували в стандартних пластмасових клітках розміром 40x35x25 см за умов віварію з 12-годинним періодом перебування на світлі та в темряві без будь-яких обмежень в їжі або воді. У кожній клітці було по п'ять тварин. Всіх тварин було розділено на чотири групи. У тварин I групи (n=11, самці) та III (n=14, самиці) викликали і підтримували аносмію, вводячи за описаною раніше методикою [9] раз на тиждень під легким ефірним наркозом 1,5 мл 5%-го розчину сульфату цинку. У щурів II та IV груп (n=11, самиці, n=16, самці) в ті ж терміни слизову носа промивали відповідним об'ємом фізіологічного розчину.

© М.Ю. Макачук, І.Г. Зима

Оскільки ефекти аносмії залежать від часу [9,10] і найбільш чітко виявляються після 4-5-го тижня аносмії, то в цих дослідженнях до вивчення захисної поведінки приступали на 28-му добу аносмії. Повноту виключення нюху тестували за спеціально виробленою методикою [11] за швидкістю та характером виявлення одорувальних харчових кульок у закритих годівницях.

Умовний рефлекс активного уникнення (УРАУ) больового подразнення виробляли в човникової камері за описаною раніше методикою [8]. Протягом перших двох діб кожну тварину на 10 хв вміщували в човникову камеру і реєстрували кількість спонтанних переходів із одного відсіку камери в інший. На третю добу виробляли УРАУ, поєднуючи дію світла та електробольового подразнення кінцівок. Через 5 с ізольованої дії світлового подразника на стрижні відсіку, де знаходився щур, автоматично подавався електричний струм силою 1-1,5 мА, а в момент переходу тварини в інший відсік світло і струм вимикали. Умовними вважали викликані ввімкненням світла реакції переходу в інший

відсік, якщо їх латентний період був меншим ніж 5 с. Крім латентного періоду реєстрували кількість міжсигнальних реакцій.

Вихідний дослід складався із 100 пред'явлень умовного сигналу з інтервалом 50-70 с. При визначенні швидкості утворення УРАУ критерієм були 8 умовних реакцій на 10 застосувань сигналу. Після семи діб у всіх щурів у повторному досліді відновлювали УРАУ до прийнятого критерію. Розраховуючи міру збереження рефлексу, використовували раніше запропоновану методику [9].

Статистичну обробку результатів проводили з урахуванням критерію t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз спонтанної активності щурів різних груп у період їх адаптації до човникової камери не виявив будь-яких істотних відмінностей ні між контрольними і аносмованими тваринами, ні між самцями і самицями. Проте слід відмітити відносно високий рівень спонтанної активності самиць з аносмією (таблиця).

Основні показники при утворенні умовного рефлексу активного уникнення у інтактних щурів та щурів з аносмією у вихідному та повторному досліді

Показник	Самці		Самиці	
	Контроль (n=16)	Аносмія (n=11)	Контроль (n=11)	Аносмія (n=14)
Кількість спонтанних переходів у період адаптації до човникової камери	8,7±0,9	7,0±1,2	8,2±0,8	11,1±1,4
Кількість поєднань подразників до появи першої умовної реакції				
	<i>вихідний дослід</i>	17,3±3,6	20,1±5,2	33,8±6,4
<i>повторний дослід</i>	15,2±4,2	3,1±1,1 **	13,3±2,9	3,3±0,7**
Кількість поєднань подразників до досягнення критерію утворення УРАУ				
	<i>вихідний дослід</i>	88,6±8,1	52,3±6,4***	72,0±11,9
<i>повторний дослід</i>	29,5±1,3	11,8±3,8***	24,0±5,9	10,1±4,7*
Кількість міжсигнальних реакцій				
	<i>вихідний дослід</i>	6,5±0,9	6,4±1,0	3,8±0,6
<i>повторний дослід</i>	7,4±0,5	12,2±0,5***	7,3±0,9	16,1±1,8***
Індекс збереження умовного рефлексу, %	66,7	77,4	66,7	70,7

* P<0,05; ** P<0,02; *** P<0,01 - достовірність різниці відносно відповідного контролю

Початок утворення УРАУ показав, що у контрольних самців до появи першої умовної реакції в середньому потрібно було $(17,3 \pm 3,6)$ поєднань подразників, тоді як у контрольних самиць перша умовна реакція з'являлася достовірно пізніше ($P < 0,05$). Самцям контрольної групи до появи першої умовної реакції в середньому потрібно було $(33,8 \pm 6,4)$ поєднань подразників. Щури інших груп виявляли першу умовну реакцію після приблизно однакової кількості поєднань подразників (див. таблицю).

Динаміка середньогрупової кількості умовних реакцій (відсотки) під час утворення УРАУ у вихідному досліді (рис.1,а) також підтверджує те, що швидкість утворення рефлексу у контрольних самиць у початковий період є помітно нижчою, ніж у контрольних самців. У самців і самиць з аносією швидкість наростання кількості правильних реакцій під час навчання була помітно вищою, ніж у контрольних тварин. При цьому не було різниці значень між самицями та самцями.

Слід відмітити і те, що щури з аносією в обох групах достовірно швидше досягали критерію утворення УРАУ, ніж щури відповідного контролю (див. таблицю). Контрольні тварин обох груп не розрізнялися за цим показником. Крім того, не всі тварини досліджуваних груп у вихідному досліді досягали критерію утворення УРАУ. Відсоток тварин, які не досягли критерію, по-перше, залежав від їхньої статі, а по-друге - від наявності чи відсутності у даної тварини нюху. Так контрольні самці та самиці, котрі не досягли критерію утворення УРАУ становили 25 і 29 % відповідно. Щури-самці з аносією, що не досягли критерію утворення УРАУ, склали 8 %, а самиці - 17 %.

У вихідному досліді було виявлено також різницю в характері змін міжсигнальної активності у тварин різної статі. У контрольних самиць кількість міжсигнальних реакцій у цей період була достовірно ($P < 0,05$) нижчою, ніж у контрольних самців і тварин обох груп з відсутністю нюху, котрі при цьому не відрізнялися між собою (див. таблицю, рис.2,а).

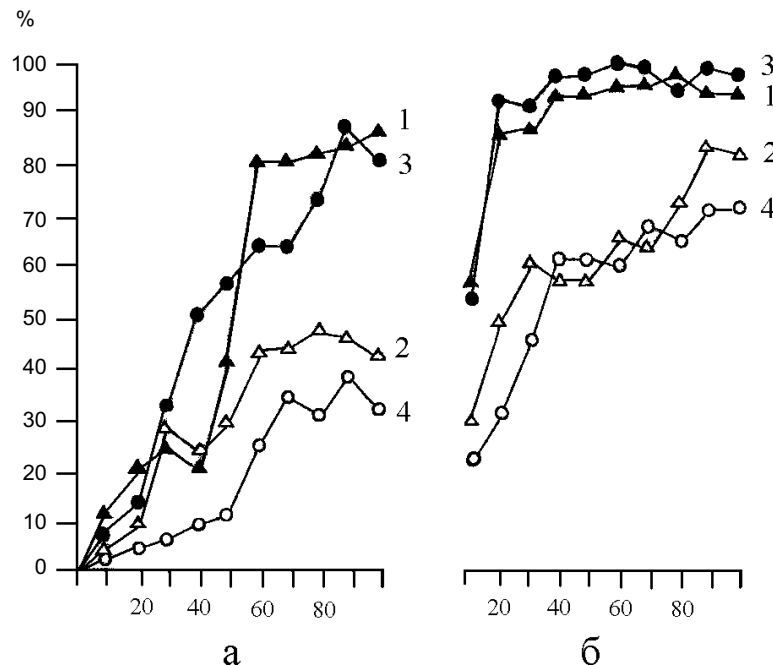


Рис.1. Зміни кількості умовнорефлекторних реакцій уникнення у вихідному (а) і повторному досліді (б): 1 – самці з аносією, 2 - контрольні самці, 3 – самиці з аносією, 4- контрольні самиці щурів.

Повторне дослідження, проведене через 7 днів, показало, що міра збереження УРАУ у щурів усіх груп була приблизно однаковою (див. таблицю).

Деякі із досліджуваних показників у цей період виявляли чітку залежність лише від наявності чи відсутності нюху, а деякі були пов'язані зі статтю тварин. Так, контрольним самцям і самицям щурів потрібна була приблизно однакова кількість поєднань подразників до появи в цьому досліді першої умовної реакції і для відновлення УРАУ до прийнятого критерію його утворення. При цьому, як і у вихідному досліді, самцям і самицям з аносмією необхідна була значно менша кількість застосувань подразників до появи першої умовної реакції і відновлення критерію утворення УРАУ, ніж контрольним тваринам обох груп (див. таблицю, рис.1,б).

Щодо міжсигнальної активності, то тварини з аносмією – і самці, і самиці – в середньому достовірно частіше здійснювали міжсигнальні реакції, ніж відповідні контрольні тварини (див. таблицю). Однак детальний

аналіз динаміки кількості міжсигнальних реакцій у повторному дослідженні виявив деякі цікаві закономірності. Так, виявилось, що у контрольних самиць в початковому періоді (перші 30 поєднань подразників) кількість міжсигнальних реакцій була достовірно ($P < 0,005$) нижчою, ніж у контрольних самців. У самиць з аносмією в цей період кількість міжсигнальних реакцій була значно ($P < 0,001$) вищою, ніж у відповідних самців (див. рис.2,б). Надалі відмінності, пов'язані зі статтю тварин, в міжсигнальній активності нівелювались, а пов'язані з наслідками аносмії зберігалися майже до кінця повторного досліду (див. рис.2,б).

Проведене дослідження, з одного боку, показало, що умовні рефлекси активного уникнення у самців і самиць при наявності у них нюху проявляються неоднаково, а з іншої - те, що характер впливу аносмії на ці форми поведінки залежить від статі тварин.

Питання про статевий диморфізм при реалізації форм поведінки, які з репродуктивним безпосередньо не пов'язані, вивчене

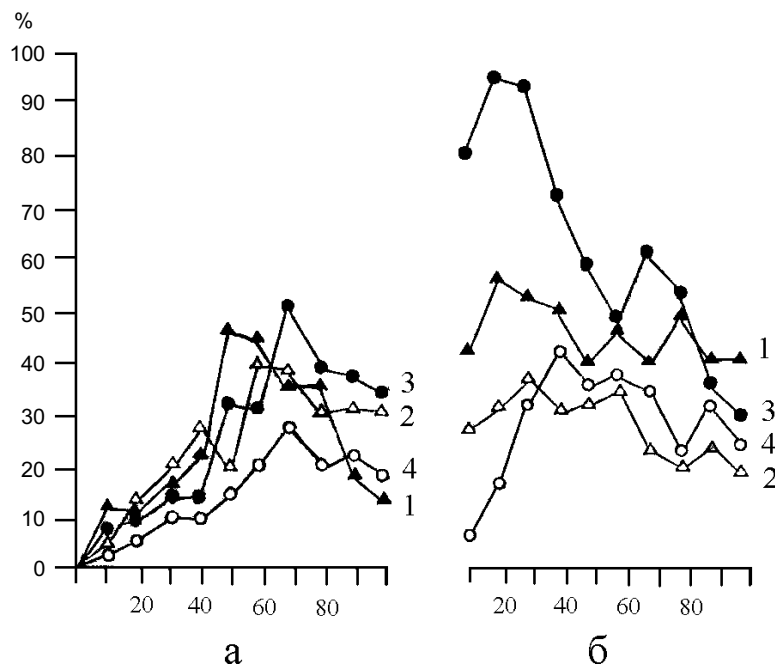


Рис.2. Зміни кількості міжсигнальних реакцій у вихідному (а) і повторному досліді (б): 1 – самці з аносмією, 2 - контрольні самці, 3 – самиці з аносмією, 4- контрольні самиці щурів.

недостатньо, хоч є дані про те, що в стресових ситуаціях у самиць щурів порівняно з самцями проявляється більш висока орієнтувально-дослідницька активність за умов меншого рівня страху [4,5]. Такий висновок зроблено, в основному, виходячи з результатів вивчення поведінки тварин у відкритому полі та різного роду лабіринтах. Тобто, коли основним стресорним фактором є новизна та незвичність ситуації [10].

У разі вивчення спонтанної активності щурів різних груп у період їх адаптації до умов човникової камери ми не виявили відмінностей залежно від статі тварин, наявності чи відсутності у них нюху. Подібні результати отримані і при вивченні дослідницької активності інтактних самців і самиць щурів у спеціальній закритій камері [5].

Відмінності поведінки, які визначаються статтю тварин, найбільш чітко виявлялись у цьому дослідженні на початковому етапі утворення УРАУ у вихідному досліді. У цей період контрольні самиці щурів значно гірше і повільніше, ніж контрольні самці, навчалися цьому типу поведінки. Аносмія ж повністю нівелювала таку різницю в швидкості формування УРАУ, істотно полегшуючи умовну активність у щурів обох статей. При цьому слід відмітити особливий характер змін міжсигнальної активності у тварин з аносмією. Ця особливість полягає в тому, що співвідношення кількості міжсигнальних реакцій у самців і самиць з відсутністю нюху стає протилежним порівняно з контрольними тваринами.

Виникає питання, чому самиці, які за умов відкритого поля мають вищий рівень орієнтувально-дослідницької активності та менший рівень страху, ніж самці [4,5], гірше реалізують УРАУ? Можливо, тут треба враховувати те, що при утворенні УРАУ діють фактори, які відсутні за умов відкритого поля, здатність адаптації до яких визначає успішність навчання цій формі поведінки. Одним з таких факторів, найбільш імовірно, є повторюваний больовий вплив, який викликає максимальне напруження функціону-

вання в такій ситуації основних структур лімбічної системи мозку. Таким чином, адаптаційні можливості за подібних умов визначаються діяльністю мигдалини, гіпоталамуса і септо-гіпокампального комплексу [2,7,16,17]. Якщо врахувати те, що ці структури мають виражені статеві відмінності в нейроанатомічній [6,20] і нейрохімічній організації [14,19,21], то слід гадати, що саме вони є тією структурною основою різниці поведінки самців і самиць у початковий період утворення УРАУ. В основі цієї поведінкової дихотомії може лежати і різна реактивність симпатико-адреналової системи самців і самиць [15,21,23,24]. При цьому, звичайно, не можна забувати і про роль статевих гормонів [6,12,21,25].

У макросматичних тварин нюх тісно пов'язаний не тільки із статевою поведінкою, але і є однією із систем, яка відіграє важливу роль у підтриманні рівня загальної збудливості мозку, реалізуючи її через генерацію в структурах нюхового аналізатора особливої високочастотної високоамплітудної активності [3]. Однією з центральних ланок цієї системи є ядра мигдалеподібного тіла, котрі отримують прямі проєкції від нюхових цибулин. За умов аносмії, мабуть, порушується нормальний характер функціонування саме цих структур, що на поведінковому рівні виявляється в різкому підвищенні збудливості та гіперемоційності тварин з аносмією [9,10,18]. Імовірно за все, саме це підвищення збудливості останніх і призводить до помітного полегшення формування у них УРАУ. Певним підтвердженням втягування в реалізацію наслідків аносмії мигдалеподібного тіла можуть бути наші попередні роботи [2,7] про подібне полегшення утворення УРАУ у самців щурів після електролітичного зруйнування її кортикомедіальних ядер.

Ще одним доказом підвищення у тварин з аносмією рівня загальної збудливості може бути виявлення у них різкого посилення міжсигнальної активності. Слід відмітити, що саме характер змін міжсигнальної активності у інтактних самців і самиць, з одного

боку, і у самців і самиць з аносмією, з іншого, дозволяє стверджувати те, що аносмія по-різному змінює стратегію поведінки тварин у разі здійснення УРАУ. Інтактні самиці мають низьку міжсигнальну активність, а самці – високу, тоді як при аносмії відмінності між ними за цим показником стають протилежними. Наявність подібних відмінностей у характері міжсигнальної активності у тварин з аносмією та контрольних тварин дозволяє думати, що аносмія по-різному у самців і самиць змінює функціонування структур, які отримують нюхові входи. Центральне місце серед цих структур займають мигдалеподібні тіла і гіпоталамічні ядра. Наявність статевих відмінностей у нейроанатомічній [16,17,20] і нейрохімічній організації [14,21] саме цих структур, можливо, і служить основою виявлених відмінностей в ефектах аносмії у самців і самиць.

ВИСНОВКИ

1. Самці щурів за умов повторюваної дії болювих подразників мають певні адаптаційні переваги над самицями, тому умовний рефлекс активного уникнення у човниковій камері у них формується швидше, ніж у самиць, тоді як міра збереження цього рефлексу не залежить від статі тварин.

2. Аносмія виявляє зумовлену статтю різницю в здійсненні УРАУ за рівнем міжсигнальної, а не умовної активності, змінюючи співвідношення кількості міжсигнальних реакцій у тварин з аносмією на протилежне порівняно з інтактними тваринами.

M.Yu. Makarchuk, I.G. Zima

INFLUENCE OF ANOSMIA ON SEX-RELATED DIFFERENCES IN CONDITIONED AVOIDANCE IN RATS

An influence of peripheral anosmia on sex-related differences in training and maintaining the conditioned avoidance (CA) behaviour in a shuttle box was studied. Intact males have been shown to manifest conditioned behaviour earlier than intact females, whereas

the degree of CA maintenance did not depend on an animal's sex. Prolonged anosmia facilitated training of conditional avoidance in both males and females, but it reversed the ratio of the amount of intersignal responses at anosmatic males to females versus the intact ones. Observed effects of anosmia are supposed to be realized due to the appropriate changes in the functional activity of the nuclei of the amygdaloid complex.

Taras Shevchenko Kiev National University

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бианки В.Л., Макарова И.А. Онтогенетическая динамика ассиметрии полушарного контроля поведения у крыс различного пола // Журн. высш. нерв. деятельности, 1995. – 45, № 1. – С.135.
2. Богач П.Г., Макачук Н.Е., Чайченко Г.М. Функциональное значение базолатеральной и кортикомедиальной частей миндалины в обеспечении пищевого и оборонительного поведения крыс // Физиол. журн. – 1981. – 27, № 4. – С.485.
3. Зима И.Г. Электрофизиологическое исследование обонятельных структур мозга крысы: нейрофизиологический и поведенческий аспекты: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Харьков, 1992. – 18 С.
4. Кассиль В.Г. Онтогенетические особенности реагирования животных на невротизирующие воздействия. - В кн.: Неврозы: экспериментальные и клинические исследования. – Л.: Наука, 1989. – С.67.
5. Кассиль В.Г., Бондаренко М.Ю. Половой диморфизм в паттернах условнорефлекторной вкусовой аверсии и ориентировочно-исследовательского и пассивно-оборонительного поведения // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1996. – 46, № 1. – С.63.
6. Кимура Д. Половые различия в организации мозга. - В кн.: В мире науки. – 1992. – № 11-12. – С.73.
7. Макачук Н.Е., Богач П.Г., Чайченко Г.М. Влияние разрушения базолатеральной части и медиальных ядер миндалевидного комплекса на оборонительные условные рефлексы у крыс // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1981. – 31, № 1. – С.78.
8. Макачук Н.Е., Ганжа Б.Л. Влияние олфактобульбэктомии на оборонительное поведение у белых и серых лабораторных крыс. - В кн.: Пробл. физиологии гипоталамуса. – 1987. – Вып. 21. – С.59.
9. Макачук Н.Е., Ганжа Б.Л., Струц О.В. Агрессивно-оборонительное поведение при периферической и центральной деофактации у крыс. – Там же. – 1991. – Вып.25. – С.86.

10. Макарчук Н.Е., Рытикова Л.С. Поведенческие реакции аносмированных крыс на новые комплексные раздражители // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1996. – **46**, № 1. – С. 176.
11. Макарчук М.Ю., Ритикова Л.С. Поведінкове тестування змін нюхової чутливості у щурів після периферичної деолфактації та олфактобульбектомії // Вісн. Київ. ун-ту. – 1996. – № 2. – С.120.
12. Резников А.Г. Половые гормоны и дифференциация мозга – Киев, Наук. думка, 1982. – 252 С.
13. Blanchard R.G., Kleinschmidt Ch. F., Fukunaga Ch. S., Blanchard D.C. Defensive attack behavior in male and female rats // Animal Learning and Behavior. – 1980. – **8**, № 1. – P. 177.
14. Carlsson M., Svensson K., Eriksson E., Carlsson A. Rat brain serotonin: biochemical and functional evidence for sex difference // J. Neural Transmission. – 1985. – **65**. – P. 297.
15. Dluzen D.E., Ramirez V.D. Receptive female rats stimulate norepinephrine release from olfactory bulbs of freely behaving male rats // Neuroendocrinology. – 1989. – **49**. P.28.
16. Gomita Ju., Ueki S. Effects of limbic lesions, especially of olfactory bullectomy on simple conditioned avoidance response in rats // J. Pharm. Dyn. – 1980. – **3**, № 2. – P. 94.
17. Kemble E.D., Strand M.H. A comparison of amygdaloid lesion effects in male and female rats // Bulletin Psychonomic Societi. – 1979. – **13**, № 6. – P.333.
18. Leonard B.E., Earley C.J., Egan J. Neurochemical and behavioral aspects of olfactory bullectomy in the rat // Biol. Aspects Learning. – 1979. – 5. – P.153.
19. Loy R., Sheldon R.A. Sexually dimorphic development of cholinergic enzymes in the rat septohippocampal system // Development Brain Research. – 1987. – **34**. – P. 156.
20. Nishizuka M., Arai Y. Sexual dimorfism in synaptic organisation in the amygdala and its dependence on neonatal hormone environment // Brain Research. – 1981. – **212**. – P. 31.
21. Stanley H.F., Watts A.G. Changes in catecholamine concentration in the hypothalamus and region of the midbrain raphe in male and female rats during postnatal development // Neuroscience Letters. – 1985. – **62**. – P. 75.
22. Stoddart D.M. The developing mammalian olfactory system and its role in mediating the effects of psychotropic and physiologically active odours agents // Pharm. Ther. – 1982. – **17**. – P. 65.
23. Stone E.A., Herrera A.S. Adrenergic modulation of cyclic AMP formation in rat CNS: highest level in olfactory bulb // Brain Res. – 1986. – **384**. – P.401.
24. Wilson D.A., Sullivan R.M. Olfactory associative conditioning in infant rats with brain stimulation as reward: II. Norepinephrine mediates a specific component of the bulb response to reward // Behavioral Neuroscience. – 1991. – **105**, № 6. – P. 843.
25. Yu G.Z., Kaba H., Okutani, Takanashi S., Higuchi T. The olfactory bulb: a critical site of action for oxytocin in the induction of maternal behavior in the rat // Neuroscience. – 1996. – **72**, №4. – P. 1083.

Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка

Матеріал надійшов до редакції 22.01.2002