

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПОВЕДЕНИЯ КРЫС НИСАГ В ТЕСТЕ ОТКРЫТОГО ПОЛЯ

© 2022 г. О. Е. Редина¹, *, #, С. Э. Смоленская¹, #, А. Л. Маркель¹

¹Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, 630090 Россия

*e-mail: oredina@ngs.ru

Поступила в редакцию 23.09.2021 г.

После доработки 18.01.2022 г.

Принята к публикации 20.01.2022 г.

Исследовали генетический контроль поведения крыс НИСАГ (ISIAN) с наследуемой индуцированной стрессом артериальной гипертензией в тесте открытого поля. Сканирование генома (QTL-анализ) проведено в группе самцов-гибридов F₂ (НИСАГ × WAG) в возрасте шести месяцев с помощью 149 микросателлитных полиморфных маркеров. Изучены признаки: латентный период начала движения, двигательная активность (ДА) в первую минуту первого теста открытого поля, ДА на периферии площадки открытого поля, вертикальные стойки (rearing) и “умывание” (grooming) на периферии площадки открытого поля, дефекация. Показан полигенный контроль всех изученных признаков. Показаны различные эффекты аллелей крыс НИСАГ в найденных QTLs: в некоторых локусах присутствие аллелей крыс НИСАГ приводит к увеличению значения признака, в других – к его снижению, а для ряда локусов эффекты на фенотип показаны в гетерозиготном варианте. Среди найденных локусов 11 были описаны впервые: три из них (на хромосомах 5, 11 и 18) ассоциированы с признаком двигательная активность в первую минуту первого теста открытого поля; один локус (на хромосоме 14) ассоциирован с двигательной активностью на периферии открытого поля; один локус (на хромосоме 17) ассоциирован с grooming на периферии открытого поля; два локуса (на хромосомах 17 и 18) ассоциированы с rearing на периферии открытого поля; четыре локуса (на хромосомах 11, 12, 14 и 19) ассоциированы с уровнем дефекации. Выявлены общие локусы, ассоциированные как с поведением, так и с ранее изученными признаками, которые могут оказывать влияние на поведение. На хромосоме 5 описан общий локус, ассоциированный с двумя признаками поведения и с базальной концентрацией кортикостерона в плазме крови. На хромосоме 8 найден общий локус, ассоциированный с двигательной активностью на периферии площадки открытого поля и с концентрацией дофамина в стволе мозга. На хромосоме 18 найден общий локус для четырех признаков поведения и уровня норадреналина в гипоталамусе. Полученные результаты вносят вклад в функциональную аннотацию генома крыс.

Ключевые слова: поведение, QTL-анализ, тест открытого поля, линия крыс НИСАГ.

DOI: 10.31857/S0016675822070141

Воздействие неблагоприятных эндогенных и внешних факторов приводит к изменению уровня гормонов и нейротрансмиттеров, вызывая тревогу и стрессовые состояния, что может сказываться на функции висцеральных органов, когнитивных способностях и поведении человека [1, 2]. Одной из адаптивных реакций организма в ответ на воздействие эмоционального стресса является повышение уровня артериального давления (АД). Показано, что тревога и депрессия являются частыми расстройствами у пациентов с артериальной гипертензией [3, 4]. Метаанализ связи между тревожными расстройствами и гипертензией показал, что тревога может предшествовать гипер-

тонии, что имеет клиническое значение для ранней диагностики и лечения как тревожности, так и гипертензии [5]. На модели крыс со спонтанной гипертензией (SHR) было показано изменение эндокринного статуса и поведения крыс при стрессе, и было сделано предположение о существовании общих механизмов контроля для данных признаков [6].

Признаки поведения являются количественными и, как правило, контролируются многими генами. Хорошо известно, что генетические факторы играют важную роль в проявлении поведенческих реакций, в том числе тревожности и стресс-реактивности. Кроме того, тревожность и расстройства, ассоциированные со стрессом, рассматриваются как сложные наследственные фено-

Авторы внесли равный вклад.

типы, демонстрирующие генетические корреляции с фенотипическими признаками других полигенных заболеваний [7]. Известно, что эмоциональный стресс активирует симпатическую нервную систему и гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальную ось, приводя к повышению уровня глюкокортикоидов и адреналина в плазме крови [8, 9]. В свою очередь, нейроэндокринные изменения, вызванные стрессом, могут влиять на уровень АД, вес тела, а также приводить к изменению морфометрических показателей ряда органов-мишеней [10–12] и поведения [13]. Несмотря на то что на изучение генетического контроля особенностей поведения, связанного с повышенной тревожностью, направлены усилия большого числа исследователей, генетические основы тревожных и связанных со стрессом расстройств изучены недостаточно.

Для изучения генетического контроля поведения было создано несколько линий мышей и крыс, различающихся по локомоторной активности, по уровню дефекации, по эмоциональности и тревожности (reviewed in [14]). Для изучения генетических основ полигенных признаков, в том числе тревожности и поведения, часто и успешно используют QTL (Quantitative Trait Locus) анализ, позволяющий находить ассоциации полиморфных маркеров в геномах сравниваемых линий с изучаемыми количественными признаками и выявлять генетические локусы, контролирующие эти признаки. QTL-анализ был использован для определения генетических локусов многих физиологических признаков, в том числе поведения у мышей [15, 16] и крыс [17, 18].

Одной из адекватных животных моделей для изучения молекулярно-генетических механизмов тревожности и ассоциированных с ней физиологических состояний является линия крыс НИСАГ (ISIAH). Селекция крыс НИСАГ проводилась на резкое повышение уровня артериального давления в условиях мягкого эмоционального стресса [19]. В результате была получена высокоинбредная [20] линия крыс с наследуемой индуцированной стрессом артериальной гипертензией, стресс-реактивность которой определяется особенностями функционирования ее гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпато-адреналовой систем [9]. Анализ поведения крыс НИСАГ показал, что двигательная и исследовательская активность крыс НИСАГ в незнакомой обстановке достоверно выше, чем у крыс контрольной линии. Однако спонтанная двигательная активность крыс НИСАГ, измеренная в домашней клетке, была понижена по сравнению с нормотензивными крысами линии WAG, что позволило сделать заключение о наличии гиперреактивности крыс НИСАГ в условиях незнакомой обстановки. Таким образом, крысы линии НИСАГ отличаются от нормотензивных крыс WAG как по величинам артери-

ального давления, так и по характеристикам поведения [21].

Ранее нами был проведен QTL-анализ для картирования генетических локусов, ассоциированных с проявлением нескольких ключевых признаков, характеризующих гипертензивный статус крыс НИСАГ. Работа была проведена на двух группах самцов гибридов F_2 (НИСАГ \times WAG) в возрасте 3–4-х и шести месяцев. Были определены генетические локусы, ассоциированные с артериальным давлением в покое и при эмоциональном (рестрикционном) стрессе, весом тела, массой органов мишеней (почки, надпочечники, сердце), концентрацией кортикостерона в плазме крови в покое и при эмоциональном (рестрикционном) стрессе [22, 23]. В группе крыс в возрасте шести месяцев были картированы также такие признаки как масса селезенки [24], концентрация дофамина в стволе мозга [25] и концентрация норадреналина в гипоталамусе [26]. Было показано, что генетический контроль и соответственно результаты картирования локусов зависят от возраста животных, что хорошо согласуется с результатами работ зарубежных исследователей [27, 28].

Ранее мы показали, что двигательная активность в тестах открытого поля у крыс НИСАГ в возрасте 3–4-х месяцев ассоциирована с локусами на хромосомах 2 и 16 [29]. Однако взросление крыс НИСАГ сопровождается процессом развития патологического состояния. При этом картина ассоциации генетических локусов с фенотипическими признаками, функционально связанными с гипертензивным состоянием, может изменяться, что было показано как в наших предыдущих публикациях [22, 23], так и в работах зарубежных коллег [27, 28, 30]. В настоящей работе было проведено картирование генетических локусов, контролирующее поведение в нескольких тестах открытого поля у крыс НИСАГ в возрасте шести месяцев. Кроме того, были описаны генетические локусы, ассоциированные как с признаками поведения, так и с признаками концентрация кортикостерона в плазме крови, концентрация дофамина в стволе мозга и концентрация норадреналина в гипоталамусе, которые ассоциированы с функциональным статусом симпатической нервной системы и могут участвовать в регуляции поведения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. В работе использовали гипертензивных крыс линии НИСАГ/Icgn (с наследуемой индуцированной стрессом артериальной гипертензией) и нормотензивных крыс линии WAG/GSto-Icgn (Wistar Albino Glaxo). QTL (Quantitative Trait Locus) анализ проводили на самцах-гибридах F_2 (НИСАГ \times WAG) в возрасте шести месяцев ($n = 126$). Крыс содержали в стандартных условиях вивария ИЦиГ

Таблица 1. Сравнительная характеристика поведения самцов линий НИСАГ, WAG и самцов-гибридов F₂ (НИСАГ × WAG) при проведении теста открытого поля

№ п/п	Поведение	НИСАГ $M \pm m$ (n = 10)	WAG $M \pm m$ (n = 14)	F ₂ (6 мес.) $M \pm m$ (n = 126)
1	Двигательная активность в первую мин первого теста (число пересеченных квадратов), шт.	46 ± 3.7**	23 ± 4.6	47.3 ± 1.9
2	Двигательная активность на периферии (сумма пересеченных квадратов за 4 теста), шт.	552 ± 71***	207 ± 25.4	237.3 ± 9.8
3	Grooming на периферии (число актов груминга за 4 теста), шт.	12 ± 2.2*	5.6 ± 1.5	5.4 ± 0.5
4	Rearing на периферии (число вставаний за 4 теста), шт.	61 ± 11.7**	21 ± 3.94	18.7 ± 0.9
5	Дефекация (число болюсов за 4 теста), шт.	16 ± 2.3	15 ± 2.8	12.8 ± 0.6
6	Латентный период (время от помещения крысы на площадку до начала движения, сумма за 4 теста), с	20 ± 3.5**	65 ± 12	85.0 ± 5.9

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ у крыс НИСАГ по сравнению с крысами WAG.

СО РАН (Новосибирск, Россия) со свободным доступом животных к корму и воде. Эксперименты выполнены в соответствии с международными Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных и одобрены биоэтическим комитетом ИЦиГ СО РАН по работе с экспериментальными животными (протокол № 69 заседания комиссии по Биоэтике от 20.01.2021 г.).

Тестирование поведения. За неделю до начала опытов крыс рассаживали в одиночные клетки. Тест открытого поля проводили на самцах как описано ранее [29]. Для этого использовали ярко освещенную огороженную прямоугольную площадку (140 × 70 см), расчерченную на квадраты 10 × 10 см (всего – 98 квадратов). 12 квадратов в центре площадки были очерчены темно-синим цветом. Освещалась площадка двумя электрическими лампами по 75 Вт каждая, которые располагались с двух коротких сторон площадки на высоте 75 см над ней и на равном удалении (по 30 см) от каждой из трех соответствующих сторон площадки.

Тест продолжался 6 мин. В анализе использовали следующие характеристики поведения крыс в тесте открытого поля: 1) двигательная активность в первую минуту первого теста открытого поля (число пересеченных квадратов, шт.); 2) двигательная активность на периферии площадки открытого поля (сумма пересеченных квадратов за четыре теста, шт.); 3) груминг (grooming) на периферии площадки открытого поля (число актов груминга за четыре теста, шт.); 4) вставание на задние лапы (rearing) на периферии площадки открытого поля (число вставаний за четыре теста, шт.); 5) величина дефекации (число болюсов за четыре теста, шт.); 6) латентный период (время от помещения на площадку до начала локомоции, сумма за четыре теста, с). Крысы тестировались на протяжении четырех последовательных дней. Взятые в анализ показатели поведения выбраны на основе предыдущих исследований [31] как наиболее информативные. Сумма значений за 4 дня дает интегральную оценку поведения, которая в значительной степени нивелирует влияние случайных

факторов на столь лабильный показатель, каковым является поведение. Двигательная активность в первую минуту первого теста анализировалась отдельно от общей двигательной активности, так как локомоторная активность крысы в первую минуту в основном соответствует реакции избегания незнакомой обстановки, в отличие от двигательной активности в конце первого и в последующих тестах, которая дает вклад главным образом в компоненту, ассоциированную с исследовательским поведением [31]. Учитывая то, что проявлений смещенной активности (grooming) в центре площадки открытого поля не наблюдалось, этот признак охарактеризован в работе как grooming на периферии площадки открытого поля. Межлинейные различия изучаемых параметров поведения крыс НИСАГ и WAG и их гибридов F₂ (НИСАГ × WAG) приведены в табл. 1 [29].

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (Stat Soft, Tulsa, USA). Достоверность различий между средними значениями оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Для нормализации распределения признака – груминг на периферии, вставание на задние лапы (rearing) на периферии и латентное время были логарифмированы (ln).

QTL (Quantitative Trait Locus) анализ группы крыс F₂ (НИСАГ × WAG) проведен с использованием 149 полиморфных микросателлитных маркеров. Их список приведен на сайте ИЦиГ СО РАН (<http://icg.nsc.ru/isiah/en/category/ctl/>). Положение маркеров на хромосомах определялось по базе данных RGSC Genome Assembly v 5.0 и выражалось в миллионах нуклеотидов (мегабазах, Mb) от начала хромосомы.

Геномную ДНК выделяли из ткани печени с использованием протеиназы К и фенольной экстракции по стандартной методике [32]. Далее ДНК переосаждали и растворяли в деионизированной воде. Генотипирование с помощью ПЦР проводили по стандартной описанной ранее методике [23].

Анализ сцепления проводили с помощью программ MAPMAKER/EXP 3.0 и MAPMAKER/QTL 1.1 [33]. Границы локусов определялись в соответствии с изменением LOD-балла на единицу. Для расчета пороговых значений достоверности LOD-балла использовали программу QTL Cartographer Version 1.17, JZmapqtl (statgen.ncsu.edu) [34, 35]. Уровень статистической значимости рассчитывали методом случайных перестановок экспериментальных данных с репликацией 1000 раз (пермутационный тест) [36]. Сцепление считали достоверным, если экспериментально полученный LOD-балл превышал 5%-ное пороговое значение при анализе генома (expqtl-wisethreshold) [37]; сцепление считали вероятным, если экспериментально полученный LOD-балл превышал 5%-ное пороговое значение при проведении пермутационного теста для отдельно взятой хромосомы (chromosome-wise threshold).

Для сравнения генетических локусов, найденных в настоящей работе, с результатами исследования других линий крыс использовали базу данных Rat Genome Database (RGD, <http://rgd.mcw.edu/>).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Хромосомная локализация QTL, ассоциированных с проанализированными признаками в возрасте шести месяцев, представлена на рис. 1. Найденные локусы расположены на 15 хромосомах, при этом на восьми из них находятся два и более QTL. Большинство локусов ассоциированы только с одним из изучаемых признаков, но несколько локусов являются общими для нескольких признаков поведения. Наибольшее число QTL найдено на хромосоме 18. Описание найденных QTLs дано в табл. 2.

Полученные результаты подтверждают участие многих локусов в генетическом контроле всех взятых в анализ признаков поведения. Для признака двигательная активность в первую минуту первого теста найдено шесть локусов. В двух локусах присутствие аллелей НИСАГ приводит к увеличению двигательной активности, а в двух — к снижению. Двигательная активность на периферии площадки открытого поля контролируется четырьмя локусами. Присутствие двух аллелей крыс НИСАГ в локусе на хромосоме 8 ассоциировано со снижением двигательной активности крыс, а в локусе на хромосоме 14 — с увеличением двигательной активности. Присутствие двух аллелей НИСАГ в локусах на хромосомах 4 и 17 увеличивает груминг на периферии, при этом присутствие аллелей НИСАГ в локусе маркера D17Mgh3 ассоциировано с увеличением не только груминга, но и rearing на периферии. Наибольшее число локусов (8 локусов) было выявлено при анализе признака дефекация. Присутствие двух аллелей НИСАГ в одном из них (на хромосоме 11) ассоциировано с увеличением значения признака, а в

трех локусах (на хромосомах 7, 14 и 18) — со снижением значения признака. Два локуса, ассоциированных с признаком дефекация (на хромосомах 2 и 14), были охарактеризованы наиболее высокими значениями LOD-балла среди всех локусов, представленных в табл. 2. Для каждого из изученных признаков были найдены локусы, в которых значение признака достоверно изменяется у гетерозиготных животных.

Большинство найденных в нашей работе локусов, ассоциированных с изучаемыми признаками, перекрывается с QTLs, описанными для признаков поведения при анализе других линий крыс, в том числе гипертензивных, однако ассоциация некоторых локусов с признаками поведения была описана нами впервые. Всего мы описали 11 новых локусов, ассоциированных с генетическим контролем фенотипического проявления пяти изучаемых нами признаков поведения крыс в тесте открытого поля (см. последний столбец в табл. 2).

Некоторые локусы, ассоциированные с признаками поведения, перекрываются с ранее описанными нами локусами, ассоциированными с базальной концентрацией кортикостерона в плазме крови на хромосоме 5 (рис. 2,а), с концентрацией дофамин в стволе мозга на хромосоме 8 (рис. 2,б) и с концентрацией норадреналина в гипоталамусе на хромосоме 18 (рис. 2,в). Характеристика локусов, ассоциированных с этими ранее изученными признаками, которые могут оказывать эффект на поведение, представлена в табл. 3.

В локусе на хромосоме 5 (рис. 2,а) все три признака достоверно увеличивают значение у гетерозиготных животных. В локусе на хромосоме 8 (рис. 2,б) значения обоих признаков достоверно снижены у животных, гомозиготных по аллелям крыс НИСАГ. Присутствие аллелей НИСАГ в локусе хромосомы 18 (рис. 2,в) ассоциировано с высокодостоверным увеличением концентрации норадреналина в гипоталамусе и со снижением двигательной активности крыс в первую минуту теста открытого поля. Остальные признаки поведения, ассоциированные с локусом на хромосоме 18, достоверно изменялись у гетерозиготных по данному локусу животных: двигательная активность и число вертикальных стоек на периферии открытого поля возрастали, а латентный период снижался (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе представлены результаты QTL-анализа, проведенного с целью определения генетических локусов, ассоциированных с проявлением шести признаков поведения крыс НИСАГ в тесте открытого поля: двигательная активность (ДА) в первую минуту первого теста открытого поля, ДА на периферии площадки открытого поля, rearing (число вертикальных стоек) и grooming на периферии площадки открытого поля, дефекация и латентный период. Работу проводили

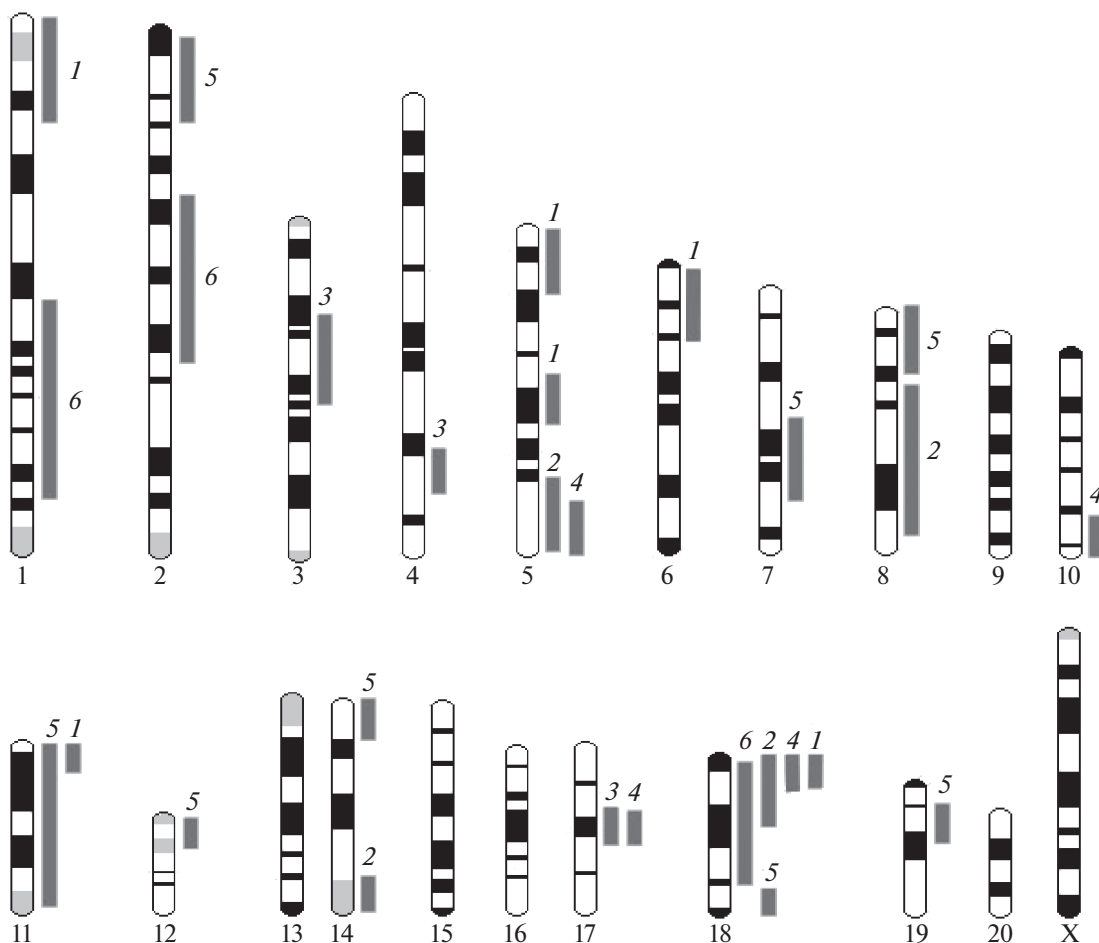


Рис. 1. Расположение локусов, ассоциированных с поведением самцов-гибридов F₂ (НИСАГ × WAG) в тесте открытого поля. Серые прямоугольники показывают протяженность локусов, цифры около них обозначают признаки, с которыми ассоциированы локусы: 1 – двигательная активность в первую минуту первого теста открытого поля; 2 – двигательная активность на периферии открытого поля; 3 – grooming на периферии открытого поля; 4 – rearing на периферии открытого поля; 5 – дефекация; 6 – латентный период. Схематическое изображение хромосом получено с сайта https://oct2014.archive.ensembl.org/Rattus_norvegicus/Location/Genome.

в группе самцов гибридов F₂ (НИСАГ × WAG) в возрасте шести месяцев.

Поведение крыс в тестах открытого поля связывают в первую очередь с мотивациями тревожности, страха и исследования [31, 38–40]. Крысы НИСАГ характеризуются снижением реакции проявления страха и гиперреактивностью в незнакомой обстановке, а также наличием повышенной исследовательской активности по сравнению с контрольными крысами линии WAG [21, 29]. Имеющиеся межлинейные различия поведения позволили успешно применить QTL-анализ и выявить генетические локусы, ассоциированные с каждым из параметров поведения.

Ранее высокая эффективность метода QTL была показана и на других линиях крыс при изучении генетического контроля различных поведенческих признаков, таких как общая двигательная активность [41], тревожность [17], поведение, связанное с эмоциональностью [42].

Полученные в нашей работе результаты QTL-анализа указывают на полигенный генетический контроль проявления всех изученных признаков поведения. Ранее полигенный контроль проявления этих признаков поведения был нами показан и в группе более молодых самцов-гибридов F₂ (НИСАГ × WAG) в возрасте 3–4-х месяцев [29]. Эти результаты хорошо согласуются и с результатами других групп исследователей, изучающих генетику поведения, связанного с двигательной активностью, тревожностью и эмоциональностью [43, 44].

Большинство локусов, описанных в настоящей работе, ассоциированы только с одним из шести изучаемых признаков, но некоторые локусы являются общими для нескольких признаков поведения (рис. 1). Многие найденные нами в настоящей работе локусы, ассоциированные с поведением крыс НИСАГ, перекрываются с локусами, ранее описанными для других линий крыс.

Таблица 2. Генетические локусы и эффекты аллелей для признаков поведения самцов гибридов F₂ (НИСАГ × WAG) в тесте открытого поля

Хромосома: маркер в пике локуса (Мб)	Протяженность локуса, Мб	LOD-балл	Генотип			Пересекается с QTLs, ассоциированными с поведением у других линий крыс. Название локуса; описание признака; линия крыс; ссылка
			<i>H/H</i> <i>M ± m</i> <i>n</i>	<i>H/W</i> <i>M ± m</i> <i>n</i>	<i>W/W</i> <i>M ± m</i> <i>n</i>	
Двигательная активность в первую минуту первого теста открытого поля						
1: D1Rat150 (17.5)	0–54	2.57	58.2 ± 3.2* ^{†††} 31	43.0 ± 2.8 61	45.7 ± 3.6 32	Despr8 (Despair related QTL 8); locomotor behavior trait; F344; [44]
5: D5Rat188 (22.8)	0–40	1.96	46.8 ± 3.3 31	43.0 ± 2.7 61	56.7 ± 4.0 ^{††} 32	novel
5: D5Rat85 (92.7)	72–104	2.29	38.0 ± 3.7 ^{††} 31	53.0 ± 2.3 59	46.6 ± 4.3 34	Anxrr21 (Anxiety related response QTL 21); fear/anxiety-related behavior trait; RHA; [17]
6: D6Rat80 (1.1)	0–34	1.58	37.3 ± 4.5* [†] 24	49.2 ± 2.7 65	51.4 ± 3.1 35	Despr12 (Despair related QTL 12); locomotor behavior trait; F344; [44] Stresp10 (Stress response QTL 10); stress-related behavior trait; F344; [18]
11: D11Rat87 (1.0)	0–26	2.28	51.3 ± 3.3** 32	50.7 ± 2.7 62	36.7 ± 4.0 ^{††} 30	novel
18: D18Rat106 (13.2)	0–24	2.44	37.3 ± 3.8* ^{††} 30	51.5 ± 2.6 56	49.6 ± 3.6 38	novel
Двигательная активность на периферии открытого поля						
5: D5Rat93 (157.4)	122–168	2.44	206.2 ± 17.6 [†] 28	256.2 ± 13.3 73	225.7 ± 23.9 23	Anxrr4 (Anxiety related response QTL 4); exploratory behavior trait; SHR; [43]
8: D8Rat21 (89.1)	40–108	2.55	218.9 ± 18.0** 33	222.1 ± 12.9 61	296.4 ± 22.3 ^{††} 30	Anxrr9 (Anxiety related response QTL 9); exploratory behavior trait; SHR; [43]
14: D14Rat18 (86.0)	72–115.1	1.69	252.7 ± 22.3* 31	258.1 ± 14.1 59	194.2 ± 15.4 ^{††} 34	novel
18: D18Rat106 (13.2)	0–44	1.60	205.6 ± 18.6 [†] 30	267.5 ± 15.0 56	224.2 ± 17.4 38	Anxrr11 (Anxiety related response QTL 11); exploratory behavior trait; SHR; [43]
Grooming на периферии открытого поля						
3: D3Rat130 (55.2)	38–86	1.96	4.0 ± 0.8 [†] 36	6.8 ± 0.8 60	4.5 ± 0.8 [†] 28	Despr11 (Despair related QTL 11); locomotor behavior trait; F344; [44] Anxrr10 (Anxiety related response QTL 10); exploratory behavior trait; SHR; [43]
4: D4Rat57 (196.6)	188–206	2.77	7.4 ± 1.1*** 37	5.5 ± 0.6 65	2.2 ± 0.5 ^{†††} 22	Anxrr51 (Anxiety related response QTL 51); exploratory behavior trait; SHR; [62]
17: D17Mgh3 (45.5)	40–50	2.64	7.2 ± 0.8* [†] 50	4.4 ± 0.7 60	4.1 ± 1.0 14	novel
Rearing на периферии открытого поля						
5: D5Rat93 (157.4)	148–177.2	1.71	16.1 ± 2.1 [†] 30	21.2 ± 1.2 66	16.9 ± 1.8 28	Anxrr4 (Anxiety related response QTL 4); exploratory behavior trait; SHR; [43]
10: D10Rat17 (93.6)	72–110.6	1.65	21.7 ± 1.4 ^{††} 57	16.1 ± 1.2 50	18.5 ± 3.0 16	Anxrr22 (Anxiety related response QTL 22); fear/anxiety-related behavior trait; RHA; [17]
17: D17Mgh3 (45.5)	34–50	1.87	22.1 ± 1.4* [†] 50	17.1 ± 1.4 60	16.2 ± 2.1 14	novel

Таблица 2. Окончание

Хромосома: маркер в пике локуса (Mb)	Протяженность локуса, Mb	LOD-балл	Генотип			Пересекается с QTLs, ассоциированными с поведением у других линий крыс. Название локуса; описание признака; линия крыс; ссылка
			<i>H/H</i> <i>M ± m</i> <i>n</i>	<i>H/W</i> <i>M ± m</i> <i>n</i>	<i>W/W</i> <i>M ± m</i> <i>n</i>	
18: D18Rat106 (13.2)	0–28	2.56	14.9 ± 1.6 ^{††} 30	22.0 ± 1.4 56	18.0 ± 1.7 38	novel
Дефекация						
2: D2Rat194 (47.8)	18–58	3.05 [§]	15.0 ± 1.0 ^{††} 33	10.8 ± 0.8 61	15.4 ± 1.3 ^{††} 30	Anxrr3 (Anxiety related response QTL 3); exploratory behavior trait; SHR; [43]
7: D7Rat42 (92.9)	76–114	2.19	11.7 ± 1.0 ^{**} 35	12.1 ± 0.9 56	16.2 ± 1.2 ^{††} 33	Anxrr8 (Anxiety related response QTL 8); exploratory behavior trait; SHR; [43]
8: D8Rat53 (21.9)	0–36	1.69	15.9 ± 1.2 [†] 24	12.1 ± 0.9 65	13.0 ± 1.1 35	Despr4 (Despair related QTL 4); locomotor behavior trait; F344; [44]
11: D11Rat38 (66.3)	0–88	1.77	14.4 ± 1.3 [*] 37	13.6 ± 0.8 59	10.0 ± 1.2 [†] 28	novel
12: D12Rat2 (13.8)	0–20	2.52	13.6 ± 1.2 34	11.3 ± 0.8 62	16.3 ± 1.1 ^{†††} 28	novel
14: D14Rat5 (11.9)	0–22	3.37 [§]	10.3 ± 0.9 ^{*†††} 51	15.0 ± 0.9 58	14.7 ± 1.5 15	novel
18: D18Rat1 (86.1)	68–86.3	2.20	10.3 ± 1.1 ^{**} 33	13.3 ± 0.9 59	15.5 ± 1.1 32	Anxrr11 (Anxiety related response QTL 11); exploratory behavior trait; SHR; [43]
19: D19Rat47 (24.4)	14–30	2.41	13.3 ± 1.1 27	11.3 ± 0.9 62	16.0 ± 1.1 ^{††} 34	novel
Латентный период						
1: D1Rat131 (159.2)	148–250	2.17	69.0 ± 9.6 [†] 30	101.4 ± 9.8 60	66.8 ± 9.8 [†] 33	Anxrr14 (Anxiety related response QTL 14); locomotor behavior trait; HEP; [63] Despr9 (Despair related QTL 9); locomotor behavior trait; F344; [44]
2: D2Rat75 (100.3)	88–176	2.32	91.1 ± 10.5 35	90.0 ± 8.0 60	65.9 ± 15.4 29	Despr10 (Despair related QTL 10); locomotor behavior trait; F344; [44] Anxrr7 (Anxiety related response QTL 7); exploratory behavior trait; SHR; [43]
18: D18Mgh1 (47.7)	8–60	2.30	102.3 ± 10.6 ^{††} 31	66.4 ± 6.7 54	96.0 ± 14.0 39	Anxrr11 (Anxiety related response QTL 11); exploratory behavior trait; SHR; [43]

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ у крыс с двумя аллелями НИСАГ по сравнению с крысами, имеющими два аллеля WAG.

[†] $p < 0.05$, ^{††} $p < 0.01$, ^{†††} $p < 0.001$ у крыс с двумя аллелями НИСАГ или WAG по сравнению с гетерозиготой.

[§] LOD-балл превышал 5%-ное пороговое значение при анализе генома (experiment-wise threshold).

Mb – мегабазы, т.е. положение маркера на хромосоме, выраженное в миллионах нуклеотидов от начала хромосомы.

H/H и *W/W* – гомозиготы по аллелям крыс НИСАГ и WAG, *H/W* – гетерозигота.

Ссылки на основные публикации представлены в табл. 2. Этот результат предполагает частичное сходство генетического контроля сходных поведенческих признаков у разных линий крыс, что хорошо согласуется с нашими ранее полученными результатами, которые продемонстрировали частичное сходство генотипа крыс НИСАГ с генотипом крыс SHR при сравнении SNPs у крыс НИСАГ и других гипертензивных линий крыс [45].

Наибольшее число перекрывающихся локусов было найдено для признаков, охарактеризованных как “locomotor behavior trait” при изучении поведения крыс линии F344 и как “exploratory behavior trait” при изучении поведения крыс SHR со спонтанно развивающейся гипертензией. В двух случаях найдены перекрывающиеся локусы с QTLs, охарактеризованными как “fear/anxiety-related behavior trait”, которые были описаны ранее

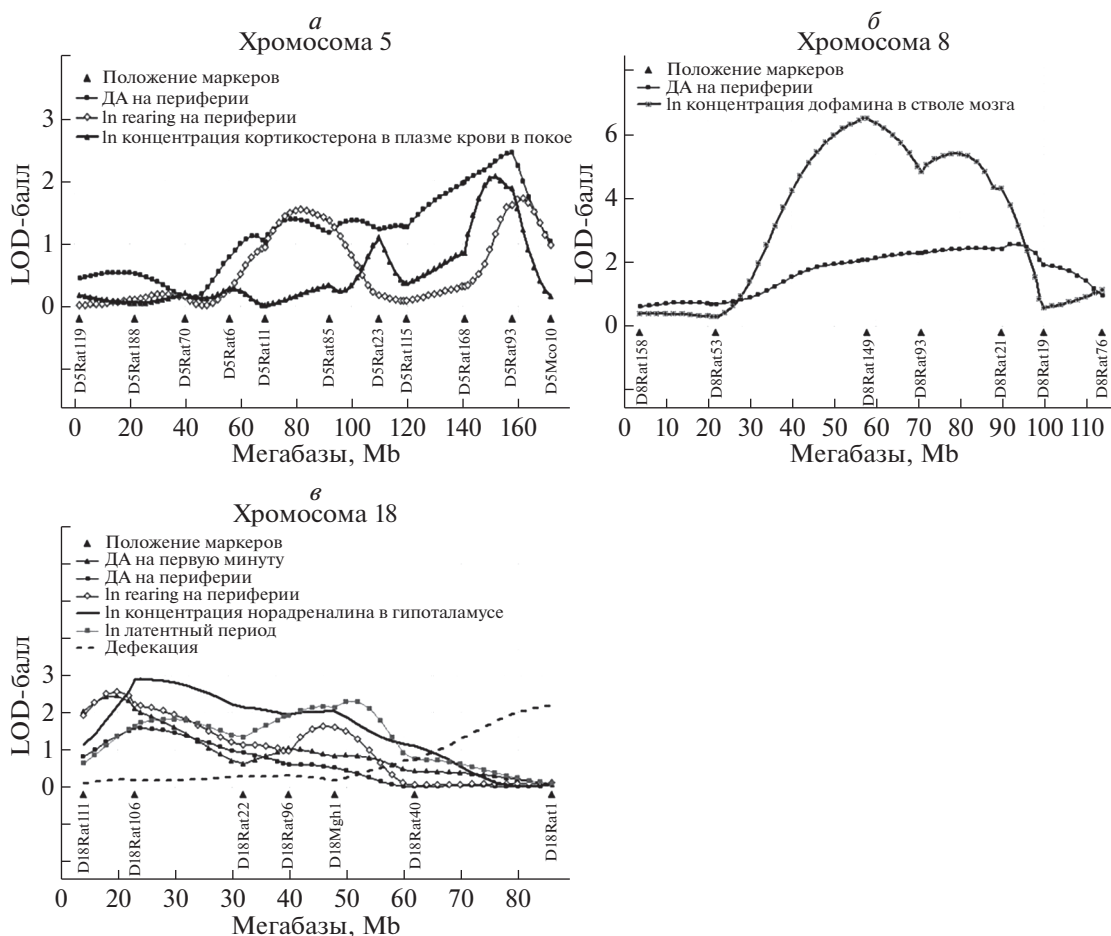


Рис. 2. Общие локусы, ассоциированные: *а* – с двумя признаками поведения и с концентрацией кортикостерона в плазме крови в покое; *б* – с двигательной активностью на периферии площадки открытого поля и с концентрацией дофамина в стволе мозга; *в* – с пятью признаками поведения и с концентрацией норадреналина в гипоталамусе.

при генетическом картировании поведения у крыс RHA и RLA (Roman high avoidance и Roman low avoidance), которые были селектированы по дифференциальной реакции на проявление страха [17]. Следует отметить, что большинство из локусов, связанных с поведением при анализе других линий крыс и перекрывающихся с локусами, описанными в данной работе, охарактеризованы как локусы, ассоциированные с тревогой и страхом (Anxiety related response QTL и Despair related QTL). Этот результат хорошо согласуется с представлениями о том, что поведенческие признаки в тесте открытого поля могут рассматриваться как интегральная характеристика проявления тревожности, страха и исследовательской активности, но с различным вкладом этих составляющих в каждый из изучаемых признаков [31]. Результат нашей работы позволил в масштабе генома определить локусы, специфически ассоциированные с каждым из взятых в анализ признаков поведения крыс НИСАГ, а также локусы, которые могут давать вклад в формирование интегрального фенотипического ответа.

Однако нами были выявлены и локусы, специфические для линии крыс НИСАГ. Они отмечены в табл. 2 как novel. Всего впервые были описаны 11 локусов для пяти из проанализированных признаков: три из них (на хромосомах 5, 11 и 18) ассоциированы с признаком двигательная активность в первую минуту первого теста открытого поля; один локус (на хромосоме 14) ассоциирован с двигательной активностью на периферии открытого поля; один локус (на хромосоме 17) ассоциирован с grooming на периферии открытого поля; два локуса (на хромосомах 17 и 18) ассоциированы с вертикальной активностью (rearing) на периферии открытого поля; и 4 локуса (на хромосомах 11, 12, 14 и 19) ассоциированы с уровнем дефекации. Новизна описанных локусов определялась по базе данных Rat Genome Database (RGD, <https://rgd.mcw.edu/>), в которой систематически собирается вся представленная в научной литературе информация о функциональной аннотации генома крысы с помощью QTL-метода. Наличие значительного числа впервые описанных локусов может

Таблица 3. Генетические локусы и эффекты аллелей для признаков концентрация кортикостерона в плазме крови в покое, концентрация дофамина в стволе мозга и концентрация норадреналина в гипоталамусе, которые перекрываются с локусами, ассоциированными с признаками поведения самцов-гибридов F₂ (НИСАГ × WAG) в тесте открытого поля

Маркер в пике локуса (Mb)	Протяженность локуса, Mb	LOD-балл	Генотип			Локусы подробно описаны нами в
			H/H M ± SEM n	H/W M ± SEM n	W/W M ± SEM n	
Концентрация кортикостерона в плазме крови в покое, мкг/100 мл						
D5Rat93 (157.4)	140–164	2.06	1.43 ± 0.20 ^{††} 30	2.53 ± 0.33 68	1.66 ± 0.33 28	[22]
Концентрация дофамина в стволе мозга, нг/мг ткани						
D8Rat149–D8Rat21 (58.3–89.1)	46–90	6.50	0.87 ± 0.05 ^{***†††} 36	1.33 ± 0.05 60	1.19 ± 0.07 30	[25]
Концентрация норадреналина в гипоталамусе, нг/мг ткани						
D18Rat106 (13.2)	0–50	2.91	2.21 ± 0.15 ^{**} 29	1.97 ± 0.10 56	1.65 ± 0.11 38	[26]

Примечание. H/H и W/W – гомозиготы по аллелям крыс НИСАГ и WAG, H/W – гетерозигота.

быть связано со специфичностью селекционного процесса при создании линии крыс НИСАГ.

Известно, что процесс адаптации организма к воздействию стрессовых факторов опосредуется согласованным действием гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпато-адреналовой систем, что обеспечивается сложной системой прямых и обратных связей между их функциональными центрами (паравентрикулярным ядром гипоталамуса и группами моноаминсинтезирующих клеток в стволе мозга) и периферическими органами и тканями. В ответ на воздействие стрессорирующих факторов происходит активация норадренергических ядер ствола мозга, через нервные окончания которых значительное количество норадреналина поступает в ядра гипоталамуса, что является пусковым механизмом активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) и секреции кортикостерона в надпочечниках [46]. Секреция кортикостерона является важным звеном в организации защиты и поддержании гомеостаза, однако неадекватная регуляция его секреции может влиять на многочисленные физиологические процессы и поведение, связанное с эмоциональностью [47], а также приводить к физиологическим и психологическим патологиям [48]. Показано, что активация ГГНС приводит к активации поведения не только у крыс [49], но связана с повышенной тревожностью и депрессией у человека [50, 51].

Как мы уже упоминали выше, особенности селекции крыс НИСАГ привели к созданию линии, характеризующейся резким увеличением уровня артериального давления в условиях мягкого эмоционального стресса, а также гиперреактивностью при измерении характеристик поведения в незнакомой обстановке [19, 21]. Стресс-реактивность крыс НИСАГ определяется особенностями функционирования их гипоталамо-гипофизар-

но-надпочечниковой и симпато-адреналовой систем [9]. У крыс НИСАГ в гипоталамусе достоверно увеличена концентрация норадреналина [26], а в гипофизе увеличен синтез проопиомеланокортина [9]. Эти эндокринные изменения могут оказывать влияние на функционирование периферических органов-мишеней. Ранее при картировании с помощью QTL-анализа признаков артериального давления и весовых параметров органов-мишеней в нашей работе были найдены общие локусы, ассоциированные с базальной концентрацией кортикостерона в плазме крови и с массой надпочечников на хромосоме 11 [22] и с массой сердца на хромосоме 1 [23]. На хромосоме 18 нами был описан общий локус, ассоциированный с весом сердца и концентрацией норадреналина в гипоталамусе [26]. Общность локусов для разных признаков может указывать на то, что признаки находятся в тесной физиологической связи, могут либо контролироваться разными, но тесно сцепленными генами, либо геном с плейотропным влиянием на эти признаки.

В настоящей работе мы описали общие локусы, ассоциированные как с признаками, характеризующими функциональный статус гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпато-адреналовой систем, так и с признаками поведения.

На хромосоме 5 был выявлен общий локус, ассоциированный как с базальной концентрацией кортикостерона в плазме крови, так и с поведением крыс в двух тестах открытого поля (рис. 2,а). Ранее этот локус при изучении поведения крыс SHR был ассоциирован с исследовательским поведением и реакцией тревожности (exploratory behavior trait, Anxiety related response QTL 4) [43].

На хромосоме 8 были найдены перекрывающиеся локусы, ассоциированные с концентрацией дофамина в стволе мозга, а также с двигательной активностью крыс на периферии площадки от-

крытого поля (рис. 2,б). При изучении поведения крыс SHR этот локус был описан как локус исследовательского поведения и реакции тревожности (exploratory behavior trait, Anxiety related response QTL 9) [43].

Наиболее статистически высокодостоверный локус, ассоциированный с уровнем норадреналина в гипоталамусе, перекрывается с несколькими локусами, ассоциированными с признаками поведения крыс в тесте открытого поля (рис. 2,в). Существование связи между уровнем норадреналина в гипоталамусе и двигательной активностью животных отмечалось и ранее. Было показано, что при SART стрессе (specific alternation of rhythm in temperature), который получают в результате повторных воздействий на животных холодом, наблюдали как повышение уровня норадреналина в гипоталамусе [52], так и повышение двигательной активности крыс, а также увеличение числа стоек на задних лапах (rearing) в тесте открытого поля [53]. Наличие связи между концентрацией норадреналина в гипоталамусе и двигательной активностью отмечалось и в исследовании свободно бегающих крыс [54]. Результаты настоящей работы хорошо согласуются с этими данными и предполагают, что совместное проявление признака концентрация норадреналина в гипоталамусе и нескольких признаков поведения (двигательная активность в первую минуту первого теста, двигательная активность на периферии и rearing на периферии площадки открытого поля) может контролироваться генами (или геном), локализованными в описанном нами локусе на хромосоме 18.

Согласно данным базы RGD в разделах Neurological Disease Portal и Cardiovascular Disease Portal на 18-й хромосоме крысы в интервале 8–64 Mb находятся локусы *Anxrr11* (anxiety related response QTL 11) и *Anxrr20* (anxiety related response QTL 20), связанные с тревожностью. Локус *Anxrr11*, характеризующий исследовательское поведение крыс линии RI (BN.Lx × SHR), перекрывается со всеми, найденными нами на 18-й хромосоме локусами, ассоциированными с поведением в тестах открытого поля и концентрацией норадреналина в гипоталамусе [43]. Локус *Anxrr20* (*Rear3*), характеризующий координацию движения тела [55], частично перекрывается с локусом признака rearing на периферии, описанным в настоящей работе. У мышей в районе синтении с 18-й хромосомой крыс также описаны локусы, ассоциированные с изменением двигательной активности [56].

Локус, описанный нами ранее в центральной части хромосомы 18 в районе маркера D18Mgh1 [26] и ассоциированный с концентрацией норадреналина в гипоталамусе и массой сердца, по результатам, представленным в настоящей работе, перекрывается с локусом, ассоциированным с признаком латентный период (рис. 2,в). В этом же районе хромосомы 18 наблюдается и увеличе-

ние значения LOD-балла для признака rearing на периферии площадки открытого поля.

Полученные данные показали, что генетический контроль изучаемых признаков поведения в группе самцов-гибридов F₂ (НИСАГ × WAG) в возрасте шести месяцев значительно отличается от генетического контроля тех же признаков поведения в группе более молодых животных (в возрасте 3–4 месяцев) [29]. В группе более молодых животных наиболее высокодостоверные локусы, ассоциированные с двигательной активностью крыс в тесте открытого поля, были найдены для признака двигательная активность на периферии площадки открытого поля. Они были локализованы в дистальной части хромосомы 2 и в проксимальной части хромосомы 16. Эти локусы были также ассоциированы с признаками rearing на периферии и с концентрацией кортикостерона в плазме крови при воздействии рестрикционного стресса (ограничение подвижности крысы в течение 30 мин в тесной проволочной клетке). Кроме того, в дистальной части хромосомы 16 был описан локус, ассоциированный с двигательной активностью крыс в первую минуту первого теста открытого поля [29]. Как можно видеть из рис. 1, у крыс в возрасте шести месяцев на хромосоме 2 не было найдено локусов, ассоциированных с признаками двигательная активность на периферии площадки открытого поля и rearing на периферии площадки открытого поля, а на хромосоме 16 не было определено ни одного QTL.

Наличие разницы в генетическом картировании признаков поведения в двух группах самцов-гибридов F₂ (НИСАГ × WAG) разного возраста хорошо согласуется с полученными нами ранее результатами. Ранее при проведении картирования других полигенных признаков в этих же группах животных – уровень артериального давления в покое и при стрессе, вес тела, весовые параметры органов-мишеней (почки, надпочечники, сердце), уровень кортикостерона в плазме крови в покое и при стрессе – также были найдены специфические для каждого возраста QTLs, ассоциированные с каждым из признаков [22, 23]. Найденные различия могут отражать онтогенетические изменения в генетическом контроле физиологических признаков у крыс НИСАГ [22, 23] и, как показала настоящая работа, поведение не является исключением.

Эти результаты хорошо согласуются с представлениями о том, что фенотип, контролируемый многими генами, может находиться под влиянием разных генетических локусов в разных возрастных периодах, о чем сообщалось многими авторами при изучении крыс [27, 28, 30], цыплят [57], а также человека [58].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные нами данные по картированию признаков поведения хорошо совпа-

дают с результатами работ, проведенных на других модельных животных. Безусловно, следует понимать, что в связи с протяженностью локусов, ассоциированных с признаками, каждый QTL может содержать несколько тесно сцепленных генов [59], либо даже кластеры функционально связанных генов [60]. Тем не менее, учитывая результативность сочетания QTL-анализа и современных подходов анализа экспрессии генов [61], полученные нами данные могут быть полезны для определения в найденных локусах генов-кандидатов, в том числе и обладающих плеiotропным действием на фенотипическое проявление изучаемых признаков, ассоциированных как с повышенной активностью гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатно-адреналовой систем, так и с особенностями поведения крыс гипертензивной линии НИСАГ.

Работа по генотипированию образцов поддержана бюджетным проектом FWNR-2022-0019. Математическая обработка полученных данных и подготовка результатов к публикации поддержана грантом РФФИ № 20-04-00119а.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kvetnansky R., Sabban E.L., Palkovits M.* Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches // *Physiol. Rev.* 2009. V. 89. № 2. P. 535–606. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2006>
2. *Deshpande R.P., Babu P.P.* Anxiety, stress, and neurological dysfunction: from basic biology to present therapeutic interventions // *Application of Biomedical Engineering in Neuroscience*. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2019. P. 401–413.
3. *Bussotti M., Sommaruga M.* Anxiety and depression in patients with pulmonary hypertension: impact and management challenges // *Vasc. Health Risk Manag.* 2018. V. 14. P. 349–360. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S147173>
4. *Hamam M.S., Kunjummen E., Hussain M.S. et al.* Anxiety, depression, and pain: considerations in the treatment of patients with uncontrolled hypertension // *Curr. Hypertens. Rep.* 2020. V. 22. № 12. P. 106. <https://doi.org/10.1007/s11906-020-01117-2>
5. *Lim L.F., Solmi M., Cortese S.* Association between anxiety and hypertension in adults: A systematic review and meta-analysis // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2021. V. 131. P. 96–119. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.08.031>
6. *Roman O., Seres J., Pomelova M., Jurcovicova J.* Neuroendocrine or behavioral effects of acute or chronic emotional stress in Wistar Kyoto (WKY) and spontaneously hypertensive (SHR) rats // *Endocr. Regul.* 2004. V. 38. № 4. P. 151–155.
7. *Meier S.M., Trontti K., Purves K.L. et al.* Genetic variants associated with anxiety and stress-related disorders: A genome-wide association study and mouse-model study // *JAMA Psychiatry.* 2019. V. 76. № 9. P. 924–932. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2019.1119>
8. *Lin W., Wang W., Shao F.* New animal model of emotional stress: Behavioral, neuroendocrine and immunological consequences // *Chinese Sci. Bulletin.* 2003. V. 48. № 15. P. 1565–1568. <https://doi.org/10.1007/BF03183962>
9. *Markel A.L., Redina O.E., Gilinsky M.A. et al.* Neuroendocrine profiling in inherited stress-induced arterial hypertension rat strain with stress-sensitive arterial hypertension // *J. Endocrinol.* 2007. V. 195. № 3. P. 439–450. <https://doi.org/10.1677/JOE-07-0254>
10. *Markel A.L., Maslova L.N., Shishkina G.T. et al.* Developmental influences on blood pressure regulation in ISIAH rats // *Development of the Hypertensive Phenotype: Basic and Clinical Studies*. Amsterdam; Lausanne; N.Y.; Oxford; Shannon; Singapore; Tokyo: Elsevier, 1999. P. 493–526.
11. *Tamashiro K.L., Nguyen M.M., Ostrander M.M. et al.* Social stress and recovery: implications for body weight and body composition // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2007. V. 293. № 5. P. R1864–R1874. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00371.2007>
12. *de Souza D.B., Silva D., Silva C.M.C. et al.* Effects of immobilization stress on kidneys of Wistar male rats: A morphometrical and stereological analysis // *Kidney Blood Press Res.* 2011. V. 34. № 6. P. 424–429. <https://doi.org/10.1159/000328331>
13. *Bohus B., Benus R.F., Fokkema D.S. et al.* Neuroendocrine states and behavioral and physiological stress responses // *Prog. Brain Res.* 1987. V. 72. P. 57–70. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)60196-x](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)60196-x)
14. *Mormede P., Courvoisier H., Ramos A. et al.* Molecular genetic approaches to investigate individual variations in behavioral and neuroendocrine stress responses // *Psychoneuroendocrinology.* 2002. V. 27. № 5. P. 563–583. [https://doi.org/10.1016/s0306-4530\(01\)00093-2](https://doi.org/10.1016/s0306-4530(01)00093-2)
15. *Flint J.* Animal models of anxiety and their molecular dissection // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2003. V. 14. № 1. P. 37–42. [https://doi.org/10.1016/s1084-9521\(02\)00170-2](https://doi.org/10.1016/s1084-9521(02)00170-2)
16. *Bailey J.S., Grabowski-Boase L., Steffy B.M. et al.* Identification of quantitative trait loci for locomotor activation and anxiety using closely related inbred strains // *Genes Brain Behav.* 2008. V. 7. № 7. P. 761–769. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183x.2008.00415.x>
17. *Fernandez-Teruel A., Escorihuela R.M., Gray J.A. et al.* A quantitative trait locus influencing anxiety in the laboratory rat // *Genome Res.* 2002. V. 12. № 4. P. 618–626. <https://doi.org/10.1101/gr.203402>
18. *Ahmadiyeh N., Churchill G.A., Solberg L.C. et al.* Lineage is an epigenetic modifier of QTL influencing behavioral coping with stress // *Behav. Genet.* 2005. V. 35. № 2. P. 189–198. <https://doi.org/10.1007/s10519-004-1018-5>
19. *Markel A.L.* Development of a new strain of rats with inherited stress-induced arterial hypertension // *Genetic Hypertension*. Paris: Colloque INSERM, 1992. P. 405–407.
20. *Адарчиев В.А., Корохов Н.П., Остапчук В. и др.* Характеристика линий крыс с нормотензивным и гипертензивным статусом методом геномного фингерпринтинга // *Генетика.* 1996. V. 32. № 12. P. 1669–1677.
21. *Meshkov I.O., Alekhina T.A., Moreva T.A., Markel A.L.* Behavioral characteristics of ISIAH rat strain // *Zh.*

- Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I.P. Pavlova. 2012. V. 62. № 2. P. 233–242.
22. Redina O.E., Smolenskaya S.E., Maslova L.N., Markel A.L. Genetic control of the corticosterone level at rest and under emotional stress in ISIAH rats with inherited stress-induced arterial hypertension // Clin. Exp. Hypertens. 2010. V. 32. № 6. P. 364–371. <https://doi.org/10.3109/10641961003628502>
 23. Redina O.E., Smolenskaya S.E., Maslova L.N., Markel A.L. The genetic control of blood pressure and body composition in rats with stress-sensitive hypertension // Clin. Exp. Hypertens. 2013. V. 35. № 7. P. 484–495. <https://doi.org/10.3109/10641963.2012.758274>
 24. Redina O.E., Smolenskaya S.E., Abramova T.O., Markel A.L. Genetic loci for spleen weight and blood pressure in ISIAH rats with inherited stress-induced arterial hypertension // Mol. Biol. 2014. V. 48. № 3. P. 351–358. <https://doi.org/10.1134/S0026893314030169>
 25. Redina O.E., Smolenskaya S.E., Markel A.L. Dopamine level in the medulla oblongata is under the control of chromosome 8 locus in ISIAH rats // Dokl. Biol. Sci. 2010. V. 431. P. 100–102. <https://doi.org/10.1134/s0012496610020080>
 26. Redina O.E., Smolenskaya S.E., Polityko Y.K. et al. Hypothalamic norepinephrine concentration and heart mass in hypertensive ISIAH rats are associated with a genetic locus on chromosome 18 // J. Pers. Med. 2021. V. 11. № 2. P. 67. <https://doi.org/10.3390/jpm11020067>
 27. Samani N.J., Gauguier D., Vincent M. et al. Analysis of quantitative trait loci for blood pressure on rat chromosomes 2 and 13. Age-related differences in effect // Hypertension. 1996. V. 28. № 6. P. 1118–1122. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.28.6.1118>
 28. Kovacs P., van den Brandt J., Kloting I. Effects of quantitative trait loci for lipid phenotypes in the rat are influenced by age // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 1998. V. 25. № 12. P. 1004–1007. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.1998.tb02174.x>
 29. Redina O.E., Smolenskaya S.E., Maslova L.N. et al. The characteristics of motor activity in ISIAH rats in an open field test are controlled by genes on chromosomes 2 and 16 // Neurosci. Behav. Physiol. 2009. V. 39. № 1. P. 57–64. <https://doi.org/10.1007/s11055-008-9100-8>
 30. Garrett M.R., Dene H., Rapp J.P. Time-course genetic analysis of albuminuria in Dahl salt-sensitive rats on low-salt diet // J. Am. Soc. Nephrol. 2003. V. 14. № 5. P. 1175–1187. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000060572.13794.58>
 31. Markel A.L., Galaktionov Yu K., Efimov V.M. Factor analysis of rat behavior in an open field test // Neurosci. Behav. Physiol. 1989. V. 19. № 4. P. 279–286. <https://doi.org/10.1007/BF01236015>
 32. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor: CSHL Press, 1989. 1659 p.
 33. Lander E.S., Green P., Abrahamson J. et al. MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations // Genomics. 1987. V. 1. № 2. P. 174–181. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(87\)90010-3](https://doi.org/10.1016/0888-7543(87)90010-3)
 34. Basten C.J., Weir B.S., Zeng Z.-B. Zmap—a QTL cartographer // Proc. 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production: Computing Strategies and Software. Guelph, Ontario, Canada: Organizing Committee, 1994. P. 65–66.
 35. Basten C.J., Weir B.S., Zeng Z.-B. QTL Cartographer. Version 1.17 // Department of Statistics, North Carolina State Univ. Raleigh, NC. 2004.
 36. Churchill G.A., Doerge R.W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping // Genetics. 1994. V. 138. P. 963–971. <https://doi.org/10.1093/genetics/138.3.963>
 37. Lander E., Kruglyak L. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results // Nat. Genet. 1995. V. 11. № 3. P. 241–247. <https://doi.org/10.1038/ng1195-241>
 38. Gray J.A., Flint J., Dawson G.R., Fulker D.W. A strategy to home-in on polygenes influencing susceptibility to anxiety // Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp. 1999. V. 14. № S1. P. S3–S10. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1077\(199908\)14:1+<S3::AID-HUP111>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1077(199908)14:1+<S3::AID-HUP111>3.0.CO;2-8)
 39. Sousa N., Almeida O.F., Wotjak C.T. A hitchhiker's guide to behavioral analysis in laboratory rodents // Genes Brain Behav. 2006. V. 5. Suppl. 2. P. 5–24. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2006.00228.x>
 40. Nosek K., Dennis K., Andrus B.M. et al. Context and strain-dependent behavioral response to stress // Behav. Brain Funct. 2008. V. 4. P. 23. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-4-23>
 41. Moisan M.P., Courvoisier H., Bihoreau M.T. et al. A major quantitative trait locus influences hyperactivity in the WKHA rat // Nat. Genet. 1996. V. 14. № 4. P. 471–473. <https://doi.org/10.1038/ng1296-471>
 42. Ramos A., Moisan M.P., Chaouloff F. et al. Identification of female-specific QTLs affecting an emotionality-related behavior in rats // Mol. Psychiatry. 1999. V. 4. № 5. P. 453–462. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000546>
 43. Conti L.H., Jirout M., Breen L. et al. Identification of quantitative trait loci for anxiety and locomotion phenotypes in rat recombinant inbred strains // Behav. Genet. 2004. V. 34. № 1. P. 93–103. <https://doi.org/10.1023/B:BEGE.0000009479.02183.1f>
 44. Solberg L.C., Baum A.E., Ahmadiyah N. et al. Sex- and lineage-specific inheritance of depression-like behavior in the rat // Mamm. Genome. 2004. V. 15. № 8. P. 648–662. <https://doi.org/10.1007/s00335-004-2326-z>
 45. Редина О.Е., Девяткин В.А., Еришов Н.И., Маркель А.Л. Генетический полиморфизм экспериментально воспроизводимых форм артериальной гипертензии // Генетика. 2020. Т. 56. № 2. С. 211–224. <https://doi.org/10.31857/S0016675820020101>
 46. Coll A.P., Challis B.G., Yeo G.S. et al. The effects of proopiomelanocortin deficiency on murine adrenal development and responsiveness to adrenocorticotropic // Endocrinology. 2004 V. 145. № 10. P. 4721–4727. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0491>
 47. Mitra R., Sapolsky R.M. Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. № 14. P. 5573–5578. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705615105>
 48. Burford N.G., Webster N.A., Cruz-Topete D. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis modulation of glucocorticoids in the cardiovascular system // Int. J. Mol. Sci. 2017. V. 18. № 10. P. pii: E2150. <https://doi.org/10.3390/ijms18102150>
 49. Sutton R.E., Koob G.F., Le Moal M. et al. Corticotropin releasing factor produces behavioural activation in rats //

- Nature. 1982. V. 297. № 5864. P. 331–333.
<https://doi.org/10.1038/297331a0>
50. *Boyer P.* Do anxiety and depression have a common pathophysiological mechanism? // *Acta. Psychiatr. Scand. Suppl.* 2000. № 406. P. 24–29.
51. *Binder E.B., Nemeroff C.B.* The CRF system, stress, depression and anxiety—insights from human genetic studies // *Mol. Psychiatry.* 2010. V. 15. № 6. P. 574–588.
<https://doi.org/10.1038/mp.2009.141>
52. *Hata T., Kita T., Kamanaka Y. et al.* Catecholamine levels in the brain of SART (repeated cold)-stressed rats // *J. Auton. Pharmacol.* 1987. V. 7. № 3. P. 257–266.
<https://doi.org/10.1111/j.1474-8673.1987.tb00154.x>
53. *Hata T., Nishimura Y., Kita T. et al.* The abnormal open-field behavior of SART-stressed rats and effects of some drugs on it // *Jpn. J. Pharmacol.* 1988. V. 48. № 4. P. 479–490.
<https://doi.org/10.1254/jjp.48.479>
54. *Lambert G.W., Jonsdottir I.H.* Influence of voluntary exercise on hypothalamic norepinephrine // *J. Appl. Physiol.* (1985). 1998. V. 85. № 3. P. 962–966.
<https://doi.org/10.1152/jap.1998.85.3.962>
55. *Baum A.E., Solberg L.C., Churchill G.A. et al.* Test- and behavior-specific genetic factors affect WKY hypoactivity in tests of emotionality // *Behav. Brain. Res.* 2006. V. 169. № 2. P. 220–230.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.01.007>
56. *Eisener-Dorman A.F., Grabowski-Boase L., Steffy B.M. et al.* Quantitative trait locus and haplotype mapping in closely related inbred strains identifies a locus for open field behavior // *Mamm. Genome.* 2010. V. 21. № 5–6. P. 231–246.
<https://doi.org/10.1007/s00335-010-9260-z>
57. *Carlborg O., Kerje S., Schütz K. et al.* A global search reveals epistatic interaction between QTL for early growth in the chicken // *Genome Res.* 2003. V. 13. № 3. P. 413–421.
<https://doi.org/10.1101/gr.528003>
58. *Beck S.R., Brown W.M., Williams A.H. et al.* Age-stratified QTL genome scan analyses for anthropometric measures // *BMC Genet.* 2003. V. 4. Suppl. 1. P. S31.
<https://doi.org/10.1186/1471-2156-4-S1-S31>
59. *Legare M.E., Bartlett F.S., Frankel W.N.* A major effect QTL determined by multiple genes in epileptic EL mice // *Genome Res.* 2000. V. 10. № 1. P. 42–48.
60. *Morel L., Blenman K.R., Croker B.P., Wakeland E.K.* The major murine systemic lupus erythematosus susceptibility locus, Sle1, is a cluster of functionally related genes // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98. № 4. P. 1787–1792.
<https://doi.org/10.1073/pnas.031336098>
61. *Yagil C., Hubner N., Monti J. et al.* Identification of hypertension-related genes through an integrated genomic-transcriptomic approach // *Circ. Res.* 2005. V. 96. № 6. P. 617–625.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000160556.52369.61>
62. *Izídio G.S., Oliveira L.C., Oliveira L.F. et al.* The influence of sex and estrous cycle on QTL for emotionality and ethanol consumption // *Mamm. Genome.* 2011. V. 22. № 5–6. P. 329–340.
<https://doi.org/10.1007/s00335-011-9327-5>
63. *Terenina-Rigaldie E., Moisan M.P., Colas A. et al.* Genetics of behaviour: phenotypic and molecular study of rats derived from high- and low-alcohol consuming lines // *Pharmacogenetics.* 2003. V. 13. № 9. P. 543–554.
<https://doi.org/10.1097/01.fpc.0000054120.14659.8c>

Genetic Control of the Behavior of ISIAH Rats in the Open Field Test

O. E. Redina^{a, *}, S. E. Smolenskaya^a, and A. L. Markel^a

^aFRC Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

*e-mail: oredina@ngs.ru

Genetic control of behavior in ISIAH rats with inherited stress-induced arterial hypertension in an open field test was investigated. Genome scanning (QTL analysis) was carried out in a group of male F₂ hybrids (ISIAH × WAG) at the age of 6 months using 149 microsatellite polymorphic markers. The following traits were studied: latent period of the onset of movement, locomotor activity (LA) in the 1st minute of the open field test, LA on the periphery of the open field area, vertical activity (rearing) and grooming on the periphery of the open field area, defecation. The polygenic control of all studied traits has been determined. Various effects of ISIAH rat alleles in the found QTLs are shown: in some loci the presence of ISIAH rat alleles leads to an increase in the trait value, in others – to its decrease, and for a number of loci the effects on the phenotype are shown in a heterozygous state. Among the found loci, 11 were described for the first time: three of them (on chromosomes 5, 11, and 18) are associated with the trait of motor activity in the 1st minute of the open field test; one locus (on chromosome 14) is associated with locomotor activity at the periphery of the open field; one locus (on chromosome 17) is associated with grooming at the periphery of the open field; two loci (on chromosomes 17 and 18) are associated with rearing at the periphery of the open field; and 4 loci (on chromosomes 11, 12, 14 and 19) are associated with the level of defecation. Common loci associated with both behavior and previously studied traits that can influence behavior have been identified. On chromosome 5, a common locus associated with two behavioral traits and with a basal plasma corticosterone concentration has been described. On chromosome 8, a common locus associated with locomotor activity at the periphery of the open field area and with the concentration of dopamine in the brain stem was found. On chromosome 18, a common locus for four traits of behavior and the level of norepinephrine in the hypothalamus was identified. The results obtained contribute to the functional annotation of the rat genome.

Keywords: behavior, QTL analysis, open field test, ISIAH rat strain.