

**ПРЕДПОЧТЕНИЕ СОЦИАЛЬНЫХ ЗАПАХОВ
У ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ
(MUS MUSCULUS L.; MURIDAE, MAMMALIA)
С РАЗЛИЧНОЙ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ
К ЛЕТУЧИМ СТЕРОИДАМ**

М. А. Ключникова, В. В. Вознесенская

*Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН
Россия, 119071, Москва, Ленинский просп., 33
E-mail: veravoznessenskaya@gmail.com*

Поступила в редакцию 23.06.14 г.

Предпочтение социальных запахов у лабораторных мышей (*Mus musculus* L.; Muridae, Mammalia) с различной обонятельной чувствительностью к летучим стероидам. – Ключникова М. А., Вознесенская В. В. – Исследовали возможную связь между обонятельной чувствительностью к половому феромону хряка андростенону и неспособностью различать по запаху пол и социальный статус особей своего вида у мышей инбредных линий NZB/B1NJ и CBA/J, а также у мышей гетерогенной лабораторной популяции. Согласно полученным данным, пониженная способность к детекции андростенона у самцов мышей может быть связана с нарушением характерной реакции предпочтения химических сигналов эстральной самки.

Ключевые слова: домовая мышь, химическая коммуникация, андростенон.

Preference for social odors in laboratory mice (*Mus musculus* L.; Muridae, Mammalia) with different olfactory sensitivity to volatile steroids. – Klyuchnikova M. A. and Voznessenskaya V. V. – A possible relationship was studied between the olfactory sensitivity to androstenone as the sexual boar pheromone and the inability to discriminate sex and social rank of conspecifics in the NZB/B1NJ, CBA/J strains and outbred laboratory mice. According to our results, a low olfactory sensitivity to androstenone in the NZB/CBA model and in outbred male mice may be associated with a male's disrupted preference for an estrus female odors.

Key words: house mouse, chemical communication, androstenone.

ВВЕДЕНИЕ

Летучий стероид андростенон (5 α -андрост-16-ен-3-он, АНД) наиболее известен как классический половой феромон хряка, стимулирующий половое поведение у рецептивных самок свиней (Reed et al., 1974). Накопленные данные позволяют предположить участие АНД как химического сигнала в регуляции социального поведения и у домашней мыши (*Mus musculus* Linnaeus, 1758; Mammalia, Muridae). В определенном контексте АНД может стимулировать проявление межсамцовой агрессии у мышей (Ключникова, Вознесенская, 2011; Ingersoll, Launay, 1986). В присутствии запаха АНД у самцов мышей было отмечено снижение сексуальной мотивации на фоне более низкого, по сравнению с контрольной группой, уровня тестостерона плазмы крови, а также увеличение исследовательской активности и уменьшение продолжительности груминга в «открытом поле» (Ключникова, Вознесенская, 2013). Было показано, что в детекции АНД у домашней мыши, помимо

основной обонятельной системы, принимает участие и более специализированная на рецепции феромонов дополнительная обонятельная система (Voznessenskaya et al., 2010). С другой стороны, у домовых мышей, как и у людей (Labows, Wysocki, 1984), по всей видимости, существует вариабельность в чувствительности к летучим стероидам. Мыши инбредной линии СВА/J (СВА) детектируют АНД гораздо лучше мышей линии NZB/B1NJ (NZB) (Соколов и др., 1996; Voznessenskaya, Wysocki, 1994). Пороги обонятельной чувствительности к АНД, определенные ранее в трех различных поведенческих тестах, различались у этих двух линий, по крайней мере, в 2000 раз (Voznessenskaya et al., 1999). Особый интерес представляет выявление возможной связи между различиями в способности детектировать стероидный сигнал и проявлениями социального поведения у домашней мыши.

Целью данной работы было исследование способности мышей с различной обонятельной чувствительностью к АНД распознавать по запаху пол и репродуктивный статус особей своего вида.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа была выполнена на самцах и самках линий NZB/B1NJ ($n = 16$) и СВА/Лас ($n = 16$) (эксперимент 1), а также на самцах гетерогенной популяции ($n = 24$) (эксперимент 2), содержащихся в стандартных условиях вивария ИПЭЭ РАН при температуре 21 – 22°C и режиме освещения 12:12 ч. В обоих экспериментах мы использовали тест на предпочтение запахов самца или эстральной самки. Оба образца запаха (по 20 мкл мочи самцов и эстральных самок линии BALB/c) предъявляли одновременно в течение 10 мин, размещая их на расстоянии 20 см друг от друга в домашних клетках животных. Мы регистрировали суммарное время исследования каждого из образцов запахов и количество подходов к каждому из них. Самцы домовых мышей обыкновенно предпочитают запах эстральной самки как запаху самки в диэструсе, так и запаху самца. В эксперименте 1 помимо стандартного варианта размещения тестируемых запахов внутри клетки в отдельном опыте образцы запахов закрепляли на расстоянии 10 см над решеткой клетки. Таким образом, мы хотели разделить эффекты летучих и малолетучих компонентов мочи. Мочу собирали при помощи легких нажатий на живот в области брюшной полости мыши. Стадии эстрального цикла у самок определяли по соотношению клеточных элементов во влагалищных смывах. Свежесобранную мочу замораживали и хранили в холодильнике при -20°C до начала экспериментов. В эксперименте 2 чувствительность к андростенону у самцов гетерогенной популяции ($n = 24$) исследовали в тесте на «привыкание» («habituation-dishabituation»). Вначале самцам с целью снижения первоначальной исследовательской активности на внесение образца трижды предъявляли образцы контрольных запахов (минеральное масло, 20 мкл, по 5 мин. каждый). Затем на решетке клетки самца размещали образец, содержащий 20 мкл $1.56 \times 10^{-3}\%$ АНД. Мы регистрировали продолжительность исследования каждого образца запаха. При повторном предъявлении одинаковых образцов запаха у мышей обыкновенно наблюдалось угасание исследовательской активности. Возобновление ответа при предъявлении АНД указывает на чувствительность животных к

ПРЕДПОЧТЕНИЕ СОЦИАЛЬНЫХ ЗАПАХОВ У ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

данному веществу. В эксперименте 2 мы использовали тех же самых животных гетерогенной популяции в описанном выше тесте на предпочтение запахов. Статистическую обработку результатов проводили в Statistica 8 (StatSoft Inc., США) с применением критериев непараметрической статистики – теста Манна – Уитни, теста Вилкоксона для связанных выборок, коэффициента корреляции Спирмана.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В эксперименте 1 мы исследовали реакцию предпочтения запаха эстральной самки у самцов и самок линий NZB и CBA (табл. 1). Чувствительные к АНД самцы линии CBA ($n = 8$) проявляли предпочтение запаха эстральных самок запаху самца (тест Вилкоксона для связанных выборок, $p < 0.05$). Напротив, у самцов NZB ($n = 8$) мы не наблюдали достоверной разницы по времени исследования тех же образцов запаха. Также самцы линии CBA суммарно уделяли больше времени исследованию предложенных запахов, чем самцы линии NZB (тест Манна – Уитни, $p < 0.05$). Этот тест был проведен и для самок выбранных линий, находившихся во время эксперимента в стадии эструса. Нами были отмечены только тенденции к предпочтению самками запаха самца, и мы не наблюдали достоверных различий по суммарному времени исследования образцов запаха (тест Манна – Уитни, $p > 0.05$). В целом размещение образцов запаха в пределах досягаемости животного или на некотором расстоянии отразилось в уменьшении исследовательской реакции на удалении, но не в изменении показателей предпочтения. Предпочтение запаха эстральной самки запаху самца, наблюдавшееся у самцов линии CBA, свидетельствует о доминировании сексуальной мотивации, предвещающей развитие нормального полового поведения. Полученные в нашем эксперименте данные указывают на вероятные отклонения в поведении у малочувствительных к АНД самцов линии NZB, возможно, связанные с неспособностью распознавать по запаху пол и социальный статус других особей. Эти результаты согласуются с литературными сведениями о низкой социальной активности (Mou et al., 2008), повышенной тревожности (Trullas, Skolnick, 1993) и чрезмерной агрессивности (Ключникова, Вознесенская, 2011; Roubertoux, Carlier, 1988; Brodtkin et al., 2002; Nakamura et al., 2005) мышей линии NZB.

Таблица 1

Результаты теста на предпочтение запахов эстральной самки и самца у мышей линий CBA/Lac и NZB/BINJ

Линия и пол тестируемого животного	Контакт с запахом	Время исследования образца мочи мышей BALB/c, среднее \pm ст. ош. ср. с		
		Самцов	Эстральных самок	Суммарное
1	2	3	4	5
Самцы CBA/Lac, $n = 8$	–	12.9 \pm 2.7	36.6 \pm 6.1*	49.5 \pm 7.7#
	+	81.8 \pm 10.7	193.0 \pm 25.3*	274.8 \pm 22.2#
Самцы NZB/BINJ, $n = 8$	–	11.0 \pm 2.4	10.8 \pm 2.0	21.8 \pm 3.1
	+	62.9 \pm 16.7	73.4 \pm 19.7	136.25 \pm
Самки CBA/Lac, $n = 8$ (в эструсе)	–	20.0 \pm 4.4	17.8 \pm 5.9	37.8 \pm 7.9
	+	54.6 \pm 13.7	46.2 \pm 14.8	106.1 \pm 31.5

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5
Самки NZB/B1NJ, $n = 8$ (в эструсе)	–	11.3±2.7	8.6±2.3	19.9±4.8
	+	36.2±13.9	29.4±7.4	65.6±19.5

Примечание. + – образец запаха был размещен на решетке клетки в пределах досягаемости мыши; – – образец запаха помещали на расстоянии 10 см снаружи от решетки клетки; * – $p < 0.05$ по критерию Вилкоксона для связанных выборок (сравнение исследования образцов внутри каждой группы, определенной полом, линией и наличием контакта с запахом); # – $p < 0.05$ по критерию Манна – Уитни (сравнение соответствующих групп разных линий).

В эксперименте 2 мы исследовали предпочтение запаха эстральной самки запаху самца у самцов гетерогенной лабораторной популяции мышей ($n = 24$). Чувствительность к АНД ($1.56 \times 10^{-3}\%$) у этих животных определяли предварительно с помощью теста «habituation-dishabituation» (табл. 2).

Таблица 2

Продолжительность исследования образцов запахов в тестах на предпочтение эстральной самки и в тесте habituation-dishabituation у самцов гетерогенной популяции

Тест	Показатель, с	Ср. +/- ст. ош. ср.
Предпочтение эстральной самки	Исследование запаха эстральной самки	93.3±10.2
	Исследование запаха самца	77.1±9.0
	Суммарное время исследования	170.4±13.6
«Habituation-dishabituation»	Исследование минерального масла (K1)	26.2±3.3
	Исследование минерального масла (K2)	26.0±7.5
	Исследование минерального масла (K3)	24.6±8.1
	Исследование андростенона (АНД)	31.0±6.1

В табл. 3 представлены результаты анализа корреляционных связей между показателями обоих тестов. Достоверная положительная корреляция между временем исследования самцами АНД (но не контрольного запаха) и временем исследования запаха эстральной самки свидетельствует в пользу того, что сочетание признаков низкой чувствительности к АНД и низкой сексуальной мотивации в тесте на предпочтение у самцов инбредной линии NZB, как и обратное у самцов линии CBA, не случайно.

Таблица 3

Корреляционные связи (коэффициенты Спирмана) между показателями тестов

Показатели тестов, с	K1	K2	K3	АНД
Исследование запаха эстральной самки	0.059	0.298	0.356	0.578*
Исследование запаха самца	0.222	0.303	0.423*	0.441*
Суммарное время исследования	-0.018	0.195	0.320	0.525*

Примечание. По горизонтали: продолжительность исследования самцами образцов в тесте «habituation-dishabituation» во время предъявлений контрольного запаха (минеральное масло – попытки K1, K2 и K3) и андростенона (АНД) (с). По вертикали: время исследования образцов в тесте на предпочтение запаха эстральной самки (с). * – $p < 0.05$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты этой работы, наряду с полученными нами ранее данными и литературными сведениями, указывают на наличие связи между вариабельностью в обонятельной чувствительности к летучим стероидам и характером социального поведения у домовых мыши. Возможно, низкая сексуальная мотивация, низкая социальная активность и повышенная агрессивность у малочувствительных к летучим стероидам самцов линии NZB/B1NJ является следствием неспособности распознавать по запаху пол и репродуктивный статус особей своего вида.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-01150 а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ключникова М. А., Вознесенская В. В. Генетическая регуляция межсамцовой агрессии у домовых мыши // Докл. РАН. 2011. Т. 436, № 1. С. 136 – 138.

Ключникова М. А., Вознесенская В. В. Влияние кратковременных предъявлений летучего стероида андростенона на поведение и гормональный статус самцов домовых мыши // Докл. РАН. 2013. Т. 453, № 6. С. 707 – 709.

Соколов В. Е., Вознесенская В. В., Вайсоки Ч. Д. Индуцированная чувствительность к одорантам: новый феномен // Докл. РАН. 1996. Т. 347, № 3. С. 843 – 847.

Brodkin E. S., Goforth S. A., Keene A. H., Fossella J. A., Silver L. M. Identification of quantitative trait Loci that affect aggressive behavior in mice // J. of Neuroscience. 2002. Vol. 22, № 3. P. 1165 – 1170.

Ingersoll D. W., Launay J. Murine aggression induced by a boar chemosignal: a stimulus presentation dependency // Physiology & Behavior. 1986. Vol. 36, № 2. P. 263 – 269.

Labows J., Wysocki C. Individual differences in odor perception // Perfumer & Flavorist. 1984. Vol. 9, № 1. P. 21 – 26.

Moy S. S., Nadler J. J., Young N. B., Nonneman R. J., Segall S. K., Andrade G. M., Crawley J. N., Magnuson T. R. Social approach and repetitive behavior in eleven inbred mouse strains // Behavioural Brain Research. 2008. Vol. 191, № 1. P. 118 – 129.

Nakamura K., Nishimura H., Hirose S. Correlation of aggression with serum IgM level in autoimmune-prone NZB mice // Brain Research. Developmental Brain Research. 2005. Vol. 159, № 2. P. 145 – 148.

Reed H. C., Melrose D. R., Patterson R. L. Androgen steroids as an aid to the detection of oestrus in pig artificial insemination // British Veterinary J. 1974. Vol. 130, № 1. P. 61 – 67.

Roubertoux P. L., Carlier M. Differences between CBA/H and NZB mice on intermale aggression. II. Maternal effects // Behavior Genetics. 1988. Vol. 18, № 2. P. 175 – 184.

Trullas R., Skolnick P. Differences in fear motivated behaviors among inbred mouse strains // Psychopharmacology. 1993. Vol. 111, № 3. P. 323 – 331.

Voznessenskaya V. V., Wysocki C. J. Exposure of mice to androstenone induces behavioral sensitivity to androstenone // Chemical Senses. 1994. Vol. 19, № 5. P. 648 – 649.

Voznessenskaya V. V., Wysocki C. J., Chukhrai E. S., Poltorack O. M., Atyaksheva L. F. Long-lasting Effects of Chemical Exposures in Mice // Advances in Chemical Signals in Vertebrates / eds. R. E. Johnston, D. Müller-Schwarze, P. W. Sorensen. New York : Kluwer, 1999. P. 563 – 571.

Voznessenskaya V. V., Klyuchnikova M. A., Wysocki C. J. Roles of the main olfactory and vomeronasal systems in the detection of androstenone in inbred strains of mice // Current Zoology. 2010. Vol. 56, № 6. P. 813 – 818.