



Биолог. журн. Армении, 1 (62), 2010

## ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ МЫШЕЙ В ТЕСТЕ «ЧЕРНО-БЕЛАЯ КАМЕРА»

Գ.Տ.ՏԱՐԿԻՍՈՎ<sup>1</sup>, Ր.Պ.ՏԱՐԿԻՍՅԱՆ<sup>2</sup>, Լ.Մ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ<sup>1</sup>,  
Ն.Յ.ԱԿՕՅԱՆ<sup>1</sup>, Զ.Տ.ՏԱՐԿԻՍՅԱՆ<sup>1</sup>, Ի.Ր. ՄԱԴԱՏՈՎԱ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научный Центр Зоологии и Гидроэкологии НАН РА

E-mail: sarkgagik@graffiti.net

<sup>2</sup>Институт физиологии имени академика Л.А. Орбели НАН РА

Изучались индивидуальные различия в поведении беспородных мышей-самцов. Типизация животных проводилась по параметрам поведения в «черно-белой» камере. Животные были дифференцированы на две группы особей с высоким и низким уровнем базовой тревожности. Установлено, что различия в поведении не проявляются при тестировании в «открытом поле», но при этом отражаются в сигналах физиологического состояния животных, регистрируемых «Биоскопом».

*«Черно-белая» камера – типизация мышей - тревожность*

Անուամսասիրվել են ոչ գծային արու մկների վարքագծի անհատական առանձնահատկությունները: Կենդանիների տեսակավորումը կատարվել է ըստ վարքագծային չափանիշների, սև ու սպիտակե խցիկում: Փորձնական կենդանիները բաժանվել են երկու խմբի ըստ հիմնային տազնապի զգացողության բարձր և ցածր մակարդակի: Պարզվել է, որ վարքագծային տարբերությունները չեն դիտարկվում, բաց դաշտում թեստավորման դեպքում, սակայն այդ տարբերություններն արտահայտվում են կենդանիների ֆիզիոլոգիական վիճակի ազդանշանների, Բիոսկոպով գրանցման ժամանակ:

*Սև-սպիտակե խցիկ □ մկների տեսակավորում □ տազնապ*

The individual differences in the behaviour of male mice were studied. The typification of animals was out within the methods of “light-dark” box. The animals were differentiated into two groups according to the low or high level of basic anxiety. It was concluded that the difference in the behaviour is not demonstrated in «open field», but is reflected in the signals of physiological state of animals registered by a Bioscope.

*“Light-dark” box - tipification of mice - anxiety*

Разработка эффективных способов оценки индивидуально-типологических особенностей животных с помощью поведенческих моделей представляет один из актуальных разделов нейробиологии поведения, имеющих как фундаментальный, так и прикладной аспект. В частности, в качестве перспективного направления исследований, включающего указанные аспекты, обсуждается проблема связи между индивидуальными особенностями поведения животных и устойчивостью к патогенным воздействиям [6, 11].

В настоящее время преобладает подход к исследованию индивидуальной реактивности животных, основанный на оценке определенных эмоциональных состояний (склонность к тревоге, страху, ярости, депрессии).

Можно выделить по меньшей мере четыре типа поведенческих моделей, которые могут использоваться в подобных исследованиях.

1. Модели, основанные на зоосоциальных, обычно внутривидовых, отношениях между животными, например, в условиях спровоцированной агрессии [4], или «эмоционального резонанса» [13].
2. Модели, демонстрирующие склонность животных к развитию депрессивно-подобного состояния в условиях неизбежных авersiveвных раздражений. К наиболее часто используемой модели данного типа относится тест Порсолта (поведенческий тест «отчаяния» или вынужденного плавания) [21].
3. Модели, основанные на провоцировании конфликтной ситуации обычно посредством поощрения и наказания одного и того же условнорефлекторного ответа животного [20]. Возможна типизация животных по степени ингибирования их поведенческой активности.
4. Модели, ориентированные на анализ спонтанного поведения при помещении животных в незнакомую для них среду. К основным поведенческим моделям данного типа относятся: «открытое поле», «норковая камера», «крестообразный приподнятый лабиринт», «Суок-тест», «черно-белая камера» [3,5,9,10,16,19,22]. Они обычно рассматриваются в качестве экспериментальных моделей тревожности и широко используются в современной психофармакологии при решении задач скрининга лекарственных препаратов.

В настоящем сообщении представлены результаты исследований индивидуальных особенностей поведения мышей в тесте «черно-белая камера» (ЧБК).

**Материал и методика:** ЧБК представляет собой закрытый ящик, состоящий из двух отсеков, разделенных перегородкой: большого светлого (30x26x20см), пол которого разделен на 25 квадратов, и малого темного (10x10x20см). Отсеки сообщаются между собой через отверстие в перегородке (3x3см), которое имеет выдвигающую вертикальную дверцу.

Сверху темный отсек снабжен плотно подогнанной открывающейся наверх крышкой. Над светлым отсеком располагается электрическая лампа мощностью 40 Вт.

Эксперименты проводили на 10 беспородных белых мышах-самцах (возраст 3-4 месяца).

Тестирование проводили в дневное время, в промежутке между 11 и 13 часами.

При эксперименте мышь опускалась в темный отсек камеры, после чего камера закрывалась сверху крышкой. Дверца в перегородке также была плотно закрыта. В полной темноте мышь адаптировалась к темному отсеку. Привыкание длилось 300 сек., после чего над светлым отсеком зажигалась электрическая лампочка и открывали дверцу в перегородке. Собственно тестирование длилось 300 сек., в ходе которых визуальное и видеокamerой регистрировали поведение животных.

В ходе эксперимента регистрировали следующие поведенческие показатели: число и латентность (сек) выглядываний из темного отсека в светлый через отверстие в перегородке, число выходов в светлый отсек. Выглядыванием считалось частичное или полное пересечение животным условного порога в отверстии центральной перегородки между отсеками.

Под выходом понималось любое продвижение в сторону освещенного отсека, которое сопровождалось двигательной-исследовательской активностью в этом отсеке. При этом регистрировали число пересеченных квадратов (локомоции) и вертикальные стойки. Регистрировалась также суммарная длительность (в с) выглядываний и выходов в освещенную часть камеры.

Через 7 дней после экспериментов в ЧБК всех животных тестировали в режиме «открытого поля» (ОП). Процедура тестирования состояла в следующем: животное помещали в угол светлого отсека при закрытом отверстии в темный отсек. В течение 300 с. регистрировали число пересеченных квадратов и вертикальные стойки.

Показатели локомоций и стоек представляли отношением абсолютного числа пересеченных квадратов или стоек ко времени (в с) нахождения животного в светлом отсеке (ОП).

Еще одну серию экспериментов проводили с использованием прибора «Биоскоп», позволяющего бесконтактно оценивать физиологическое состояние животного [12,17]. Эксперименты проводили на бодрствующих животных через сутки после опытов в ОП.

Результаты исследований обрабатывались с использованием пакета программ «Origin Pro 75».

**Результаты и обсуждение.** Используемая процедура тестирования поведения в ЧБК предоставляет животному возможность выбора: или активно исследовать новую ситуацию (светлый отсек), или оставаться в пределах темного ограниченного пространства (экологически характерная для грызунов форма защитного поведения).

Исследовательская активность инициируется потребностью в новой информации как таковой, которая как и другие потребности организма (например, потребности в пище, воде, особи противоположного пола и др.) у многих видов животных, в том числе грызунов, имеет самостоятельное значение и чрезвычайно сильна [10,14]. В то же время потребность самосохранения в условиях определенной аверсивности открытого и освещенного пространства (светлый отсек) побуждает животное к ожиданию от новизны потенциальной угрозы, вызывая реакцию тревоги [18].

Таким образом, сдвиг баланса конкурирующих потребностей в ту или иную сторону определяет результирующий тип поведения подопытного животного в ЧБК.

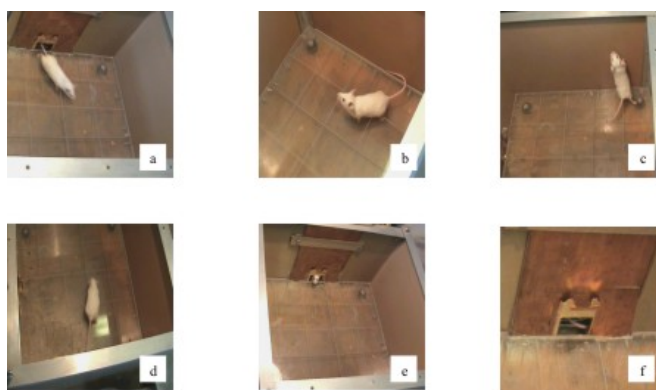
Проведенные эксперименты позволили выделить в исследуемой популяции белых мышей следующие типы поведения (табл. 1).

Таблица 1. Показатели поведения мышей в черно-белой камере

Номера мышей	Выглядывание в светлый отсек			Выходы в светлый отсек					Типы поведения
	Латентность (сек)	Число выглядываний	Общее время выглядываний (сек)	Латентность (сек)	Число выходов	Число пересеченных квадр.	Вертикальная ориентация	Общее время в светлом отсеке (сек)	
М 1	0	0	0	6	1	128	67	294	
М 2	11	1	2	13	2	122	37	279	
М 3	5	7	8	23	3	82	13	127	
М 4	29	11	43	30	6	79	8	210	
М 5	11	24	75	0	0	0	0	0	
М 6	3	17	33	0	0	0	0	0	
М 7	25	12	65	0	0	0	0	0	
М 8	12	15	78	0	0	0	0	0	
М 9	14	6	27	0	0	0	0	0	
М 10	0	0	0	0	0	0	0	0	

Как видно из таблицы, первый и пятый типы поведения характеризуются соответственно максимальной и минимальной степенью исследовательской активности в отношении новизны (светлый отсек), демонстрируя таким образом крайние варианты рассматриваемой популяции. Максимальная исследовательская активность животного характеризуется следующими проявлениями: отсутствием выглядывания из темного отсека, значительным сроком пребывания в светлом (294 с из 300), сравнительно высоким уровнем ориентировочной локомоции (число пересеченных квадратов, вертикальные стойки) (табл. М1, рис.1;a-d). Минимальная активность – пребыванием животного в темном отсеке в течение всего периода тестирования (300 с), полным отсутствием реакции выглядывания из темного отсека (табл. М10; рис.1,f).

Анализ поведения животных в используемой модели позволяет разделить наблюдаемые типы поведения на два класса, отличающихся по степени их близости к крайним вариантам популяции. При этом в качестве операционального классификационного критерия рассматривается *переход особи в светлый отсек (с предшествующей реакцией выглядывания или без нее), сопровождаемый горизонтальной (пересечение квадратов) и вертикальной (стойки) активностью.*



**Рис. 1.** Примеры поведения мышей в ЧБК.

a-d - исследовательская активность животного в светлом отсеке,  
e – реакция выглядывания  
f - мышь, демонстрирующая минимальную активность.

По данному критерию мыши М1-М4, демонстрирующие типы поведения 1, 2 и мыши М5-М10 с типами поведения 3, 4, 5 (табл.) относятся к особям соответственно с низким и высоким уровнем базовой тревожности.

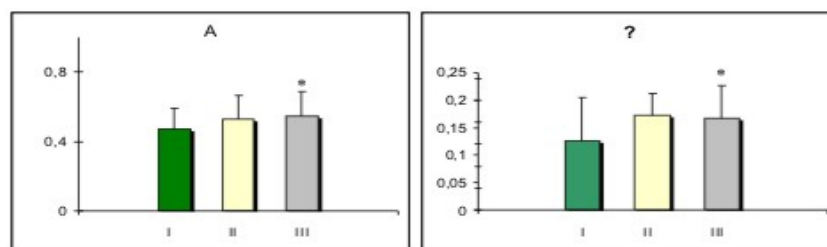
Подобное разделение животных на две крайние группы по уровню тревожности напоминает раннюю классификацию И.П. Павлова, разделившего экспериментальных собак на «смелых» и «трусливых» по степени выраженности «рефлекса биологической осторожности» [8].

Традиционно ЧБК используется для экспериментальной оценки препаратов, вызывающих тревогу (анксиогенов) и противотревожных средств (анксиолитиков) [5]. При этом тестирование животных (мыши, крысы) предполагает использование одной из двух процедур. Первая процедура - животное помещается в темный отсек с последующей регистрацией его активности, направленной на исследование светлого отсека (процедура, используемая в настоящей работе). Вторая - животное помещается в светлый отсек с регистрацией исследовательской активности и проявления норкового рефлекса – убежание в темный отсек (наиболее распространенная процедура тестирования мышей в психофармакологических исследованиях).

В литературе мы не обнаружили исследований, в которых ЧБК специально используется для типизации экспериментальных животных. Более того, мы не обнаружили и примеров использования ЧБК при исследовании психофармакологических препаратов, которым предшествует типизация подопытных животных на других поведенческих моделях. Заметим, что использование в исследованиях линейных животных не исключает наличия выраженных индивидуальных различий в поведении среди отдельных особей [1,2].

В следующей серии опытов нас интересовало, в какой мере выявленные в ЧБК различия в поведении животных обнаружатся при их тестировании в режиме ОП.

Данные относительно использования ОП для оценки индивидуальных особенностей поведения грызунов (крысы, мыши) носят противоречивый характер. Полагают, например, что тест ОП не является достаточно адекватным для этих целей [15]. С другой стороны, допускается возможность типизации животных по параметрам поведения в ОП на предмет их устойчивости к эмоциональному стрессу (формирование наркотической зависимости) [3]. Рассматривается возможность типизации на основе анализа динамики габитуации животного к условиям ОП [9].



**Рис. 2.** Показатели поведения у мышей, тестируемых в режиме ОП.

A – отношение числа пересеченных квадратов ко времени нахождения мыши в ОП (в светлом отсеке).

B – отношение числа стоек ко времени нахождения мыши в ОП (в светлом отсеке).

I – соответствующие показатели животных с низкой базовой тревожностью при тестировании в ЧБК

II – то же в ОП

III – показатели животных с высокой базовой тревожностью

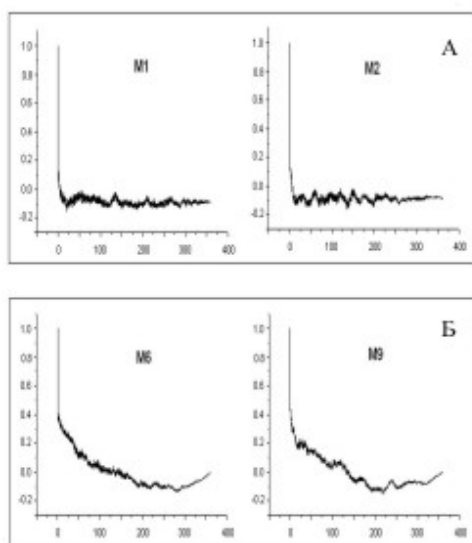
\* -  $p > 0,05$ , U- критерий, при сравнении с I и II.

Как видно из рис. 2, показатели поведения у мышей с высокой базовой тревожностью достоверно не отличаются от показателей животных с низкой тревожностью. Таким образом, индивидуальные особенности поведения животных, выявленные с помощью ЧБК, не проявляются в ситуации «навязанной» новизны (тестирование в режиме ОП). Иными словами, обсуждаемая форма тестирования (ОП) не чувствительна к предварительно классифицированным в ЧБК группам животных.

Безусловно, этот вывод не может служить достаточным основанием для исключения ОП из арсенала поведенческих моделей, используемых для оценки индивидуальных особенностей животных. Дальнейшее техническое усовершенствование модели и определенная модификация процедуры тестирования, очевидно, усилят «разрешающие» возможности данного теста.

Так, например, в последнее время типологические особенности поведения животных (крысы) исследуются в ОП в комплексе с другими поведенческими тестами с последующей обработкой всех полученных показателей методом факторного анализа [6].

В следующей серии экспериментов ставился вопрос о том, в какой мере ранее идентифицированные различия в поведении отразятся в дистанционных показателях функционального состояния животных, регистрируемых аппаратным комплексом «Биоскоп» [17].



**Рис. 3.** Нормированная корреляционная функция сигналов физиологического состояния животных, регистрируемых биоскопом.

А, Б – мыши, соответственно, с низкой и высокой базовой тревожностью.

По оси абсцисс - время в минутах, по оси ординат – значение корреляционной функции.

M1, M2, M6, M9 – номера подопытных мышей (см. таблицу).

Процедура тестирования используемой методики предполагает многочасовую регистрацию дистанционных сигналов бодрствующих животных, которые помещались в специально сконструированную камеру, ограничивающую возможность их перемещения. Это обстоятельство позволяет рассматривать сигналы «Биоскопа» как отражение изменений физиологического состояния организма, вызванного стрессорным воздействием («мягкая» форма иммобилизационного стресса).

Результаты исследования показали достаточно высокую чувствительность комплекса к указанным изменениям. Эти изменения отражались как в спектральных характеристиках дистанционных сигналов, так и в наибольшей степени их корреляционных функциях (рис. 3).

Как видно из рис.3, корреляционная функция сигналов физиологического состояния подопытных животных определенным образом отражает индивидуальные различия, предварительно выявленные в ЧБК.

Таким образом, изложенные экспериментальные данные и их анализ показали возможность оценки индивидуальных особенностей поведения лабораторных мышей с помощью теста «черно-белая камера». При этом выделены две группы особей, объединяющие животных по степени выраженности тревожности – аналога одной из личностных характеристик, которую в клинике связывают с риском возникновения невротических нарушений [7]. Продемонстрирована достаточная эффективность метода дистанционной оценки физиологического состояния животных в сочетании с традиционными медико-биологическими тестами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Жданова И.В., Щипилова Л.С., Киреева К.Н.* Связь иерархической структуры сообщества с особенностями обучения у нелинейных белых крыс и крыс линии Dull Трайона. Журнал ВНД им. И.П.Павлова. 37, 4, с. 769-771, 1987.
2. *Карпова И.В.* Содержание дофамина, его метаболитов и ГАМК в nigro-стриарной системе у крыс с разной способностью к обучению. Журнал ВНД им. И.П.Павлова. 42, 1, с. 161-163, 1992.
3. *Коплик Е.В.* Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу. Вестник новых медицинских технологий. 9, 1, с. 16-18, 2002.
4. *Кудрявцева Н.Н.* Применение теста «перегородка» в поведенческих и фармакологических экспериментах. Росс. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 88, 1, с. 90-105, 2002.
5. *Латин И.П.* Модели тревоги на мышах: оценка в эксперименте и критика методики. Экспер. клин. фармакол. 63, 3, с. 58-62, 2000.
6. *Мельников А.В., Куликов М.А., Новикова М.Р., Шарова Е.В.* Выбор показателей поведенческих тестов для оценки типологических особенностей поведения крыс. Журнал ВНД им. И.П.Павлова. 54, 5, с. 712-717, 2004.
7. Неврозы: экспериментальные и клинические исследования. Л. Наука, 223с, 1989.
8. *Павлов И.П.* Двадцатилетний опыт объективного изучения высшей нервной деятельности (поведение) животных. -М.: Наука, 659 с, 1973.
9. *Саркисов Г.Т., Саркисян Ж.С., Коваль И.Н., Карапetyан Л.М., Мадатова И.Р.* Индивидуальные особенности поведения крыс в “открытом поле” и радиально-симметричном лабиринте. //Биолог. журнал Армении. 59, 1-2, с.18-21, 2007.
10. *Саркисов Г.Т.* Субкортикальные механизмы научения и памяти в аспекте эволюционных преобразований мозга. Изд-во НАН Армении “Гитуцон”. 241 с, 2007.
11. *Саркисова К.Ю.* Связь между типами поведения, особенностями окислительного метаболизма мозга и устойчивостью к патогенным воздействиям. Докт. дисс. Москва, Ин-т ВНД и НФ РАН, 256с, 1997.
12. *Саркисян Р.Ш.* Новые аспекты функционирования биологических систем. Автореферат докт. дисс. Ереван. 46 с, 2008.
13. *Симонов П.В.* Мотивированный мозг. Москва, “Наука”, 267 с, 1987.
14. *Симонов П.В.* Созидающий мозг. Москва, “Наука”, 112 с, 1993.
15. Функциональные системы организма: Руководство (под ред. К.В. Судакова). Москва, Медицина. 432с, 1987.
16. *Belzung C., Griebel G.* Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice^ a review. //Behav. Brain Res. 125, p. 141-149, 2001.
17. *Draayer J.P., Grigoryan H.R., Sargsyan R. Sh., Ter-Grigoryan S.A.* Systems and Methods for Investigation of Living Systems. US patent Application Publication, Pub. No.; US 2007/0149866 A1. Pub. Date: Jun. 28, 2007.
18. *File S.E.* Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse// Behav. Brain Res. 125, p. 151-157, 2001.
19. *Kalueff A.V., Tuohimaa P.* The Suok («rope walking») murine test of anxiety. Brain Res. Protocols. 14, 87-99, 2005.
20. *Leonard B.E.* From animals to man: Advantages, problems and pitfalls of animal models in psychopharmacology: In: Human Psychopharmacology: Measures and Methods (V. 2), Eds I.Hindmarch, P.D.Stonier, Wiley and Sons, Chichester, New York, p. 334-345, 1989.
21. *Porsolt R.D., McArthur R.A, Lenegre A.* Psychotropic screening procedures: In: Methods in Behavioral Pharmacology, Ed. F. van Haaren, Elsevier, New York, p. 23-51, 1993.
22. *Sargisov G.T., Karapetyan L.M., Sarkisyan Zh.S., Mikaelyan Kh.M.* Extinction of a conditioned defensive reflex in cats after lesioning of the Entopeduncular Nucleus. //Neuroscience and Behavioral Physiology, New York. 32, 6, p.643-644, 2004.

Поступила 25.08.09.