

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ  
Լ.Ա. ՕՐԲԵԼՈՒ անվ. ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ՆԱԻՐԱ ԷՄԻԼԻ ՀԱԿՈԲՅԱՆ

«ՆՈՐՈՒՅԹԻ ԱԶԱՏ ԸՆՏՐՈՒԹՅԱՆ» ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ  
ԿԵՆԴՐԱՆԻՆԵՐԻ ՎԱՐՔԱԳԾԻ ԱՆՀԱՏԱԿԱՆ-ՏԻՊԱԲԱՆԱԿԱՆ  
ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆԸ

Գ. 00.09 - «Մարդու և կենդանիների ֆիզիոլոգիա» մասնագիտությամբ

կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման  
ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ - 2014

---

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ  
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ имени Л.А.ОРБЕЛИ

АКОПЯН НАИРА ЭМИЛЬЕВНА

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНО-ТИПОЛОГИЧЕСКИХ  
ОСОБЕННОСТЕЙ ПОВЕДЕНИЯ ЖИВОТНЫХ  
В УСЛОВИЯХ «СВОБОДНОГО ВЫБОРА НОВИЗНЫ»

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук по специальности

03.00.09 – «Физиология человека и животных»

ЕРЕВАН – 2014

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության և հիդրոէկոլոգիայի գիտական կենտրոնի գիտական խորհրդի նիստում:

Գիտական ղեկավար՝ կ.գ.դ. Գ.Թ. Սարգիսով

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կ.գ.դ., պրոֆեսոր Զ.Ս. Սարգսյան  
կ.գ.դ., պրոֆեսոր Խ.Ն. Նահապետյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2014թ. դեկտեմբերի 22-ին, ժամը 13<sup>00</sup>-ին, ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում, Փորձարարական կենսաբանության 042 մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, 0028, ք.Երևան, Օրբելի եղբ., 22):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի գրադարանում և [www.molbiol.sci.am](http://www.molbiol.sci.am) կայքում:

Մեղմագիրն առաքված է 2014թ. նոյեմբերի 21-ին:

042 մասնագիտական խորհրդի  
գիտական քարտուղար, կ.գ.թ.



Գ.Ս. Մկրտչյան

---

Тема диссертации утверждена на учёном совете Научного центра зоологии и гидроэкологии НАН РА.

Научный руководитель: д.б.н. Г.Т. Саркисов

Официальные оппоненты: д.б.н., профессор Дж.С. Саркисян  
д.б.н., профессор Х.О. Нагапетян

Ведущая организация: Национальный аграрный университет Армении

Защита диссертации состоится 22-ого декабря, 2014 г. в 13<sup>00</sup>ч. на заседании Специализированного совета 042 Экспериментальной биологии, в Институте физиологии им.Л.А.Орбели НАН РА (РА, 0028, г. Ереван, ул. бр.Орбели, 22).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА и на сайте [www.molbiol.sci.am](http://www.molbiol.sci.am) .

Автореферат разослан 21-ого ноября, 2014 г.

Ученый секретарь Специализированного совета 042,

к.б.н.



Գ.Մ. Մկրտչյան

## Общая характеристика работы

**Актуальность проблемы:** Положение о важной роли индивидуально-типологических особенностей высшей нервной деятельности в организации поведения животных, берущее свое начало от ставших уже классическими исследований научной школы И.П. Павлова, не вызывает сомнений [Павлов, 1951; Красуский, 1955; Орбели, 1968; Асратян, 1983; Симонов, 1987]. Вместе с этим павловская типологизация подопытных животных (преимущественно собак), проводимая в рамках классических условных рефлексов, оказалась неприемлемой для других животных – лабораторных крыс, мышей, обычно используемых в современных исследованиях в условиях свободной двигательной активности животных. Это обстоятельство инициирует разработку новых методических приемов для оценки типологических особенностей животных [King, 1968; Симонов, 1976; Хоничева, Ильина Вильяр, 1981; Garsia-Sevilla, 1984; Evenden, 1999; Мельников и др., 2004; Мержанова и др., 2006; Саркисов и др., 2007].

Тем не менее большинство нейробиологических исследований продолжают проводиться без учета индивидуальных особенностей подопытных животных – анализ результатов этих исследований как правило основывается на оценке усредненных опытных данных, что хотя и позволяет выявить общие закономерности изучаемого процесса, но одновременно приводит к утрате важной информации относительно индивидуальной реактивности экспериментальных животных, которые зачастую демонстрируют несопоставимые особенности своего индивидуального поведения [Жуков, 1999; Саркисов, 2007].

Следует подчеркнуть, что значение исследований индивидуальных различий поведения подопытных животных не ограничивается исключительно целью лучшей объективизации полученных в эксперименте результатов. Отмечается экологическое и эволюционное значение подобных исследований [Будаев, 2000]. В качестве перспективного направления исследований обсуждается проблема связи между индивидуальными особенностями поведения животных и человека и устойчивостью к патогенным воздействиям [Friedman, Rosenman, 1959; 1977; Судаков и др., 1981; Seligman, 1982; Вальдман и др., 1984; Саркисова, Куликов, 1994; Умрюхин, Ландграф, 2002; Чазов, 2005; и др.]. Необходимо отметить, что результаты экспериментальных исследований в рамках указанной проблемы имеют важное значение для клинической медицины, способствуя разработке дифференцированного подхода к проведению лечебных мероприятий в зависимости от индивидуального психоэмоционального статуса пациента.

Представляется перспективным подход к типологизации, основанный на оценке предрасположенности животных к одной из двух альтернативных стратегий поведения, направленных на преодоление стрессорной ситуации (coping strategy, coping style) – активной или пассивной (“реакция борьбы/ бегства” или “реакция замирания”) [Boisy, 1995; Mendl, Deag, 1995; Жуков, 1997, 2007].

В то же время среди исследователей нет единого мнения относительно адекватных экспериментальных моделей для типологизации подопытных животных по критерию активное или пассивное поведение при стрессе [Виноградова, Жуков, 2001; Заржецкий и др. 2004; Павлова, Рысакова, 2010].

Чаще всего задачи типологизации пытаются решить с помощью теста “открытое поле” – поведенческой модели, ориентированной на анализ спонтанного поведения в ситуации “вынужденной” новизны (помещение животных в незнакомую для них среду) [Garsia-Sevilla, 1984; Коплик, 2002; Мельников и др., 2004; Саркисов и др., 2007; Павлова, Рысакова, 2010; и др.].

“Открытое поле” относится к моделям стресса, поскольку именно “новизна”, будучи

составляющей любого специфического “неблагоприятного фактора” окружающей среды, в качестве стрессогенного фактора способна вызвать неспецифическую адаптивную активность всего организма [Mason, 1968]. В то же время, есть основание полагать, что обсуждаемый тест не является достаточно адекватным для оценки индивидуальных различий поведения животных [Rainer et al., 1998; Саркисов и др., 2010; Акопян, 2014].

Следовательно есть необходимость в техническом усовершенствовании и определенной модификации процедуры тестирования животных в “открытом поле”, включающей прежде всего переход от схемы тестирования, основанной на “вынужденной” новизне к схеме “free-exploratory paradigm” [Griebel et al., 1993], иначе говоря, “свободного выбора новизны”, что позволит исследовать более широкий спектр зоопсихологических проявлений подопытных животных как основы для оценки индивидуальных различий поведения.

Таким образом, изучение индивидуально-типологических различий в поведении животных, предполагающее разработку адекватных экспериментальных моделей, с привлечением операциональных принципов классификации, объединяющих животных в разные типы, становится одним из актуальных направлений нейробиологических исследований, имеющих как фундаментальный, так и прикладной аспект.

**Цель и задачи:** Общая цель данных исследований заключается в комплексной оценке индивидуальных различий поведения лабораторных мышей и крыс в условиях “свободного выбора новизны”.

В соответствии с поставленной целью предусматривалось решение следующих основных задач:

1. Определить экспериментальную модель для классификации и анализа индивидуальных различий поведения лабораторных мышей и крыс в условиях “свободного выбора новизны”, предусматривающую автоматическое видео и компьютерное протоколирование поведения с последующей обработкой данных с помощью специально разработанного программного пакета.

2. Используя экспериментальную модель для поведенческого фенотипирования:

- Исследовать половые и типологические различия в поведении мышей и крыс.
- Исследовать межвидовые различия в поведении мышей и крыс.
- Оценить связь между индивидуальными различиями поведения животных и их устойчивостью к патологии, вызванной искусственно приживленной злокачественной опухолью.
- Оценить характер влияния транквилизатора (диазепам) на поведенческие проявления у крыс в сочетании с неинвазивной оценкой интегративного состояния подопытных животных с помощью аппаратного комплекса “Биоскоп” (разработан в Лаборатории интегративной биологии Института физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА).

**Научная новизна.** Использована новая экспериментальная модель (разработана в Лаборатории физиологии поведения животных Научного центра зоологии и гидроэкологии НАН РА), ориентированная на анализ индивидуальных различий в исследовательском поведении лабораторных животных (мыши, крысы) с применением схемы тестирования “свободный выбор новизны”. Модель предполагает автоматическое видео и компьютерное протоколирование поведения с последующей обработкой данных с помощью специально разработанного программного пакета – BehaviorVision AM.

Проведен комплексный анализ типологических, половых и межвидовых различий в поведении лабораторных грызунов. Показано, что лабораторные мыши, склонные к пассивной копинговой стратегии, в ситуации неконтролируемого стресса (искусственное приживление злокачественной опухоли), более устойчивы к патогенному воздействию, чем

животные, склонные к активному реагированию.

**Научно–практическое значение.** Полученные данные расширяют представления об исследовательском поведении животных в условиях “свободного выбора новизны”. Практическое значение работы связано с возможностью использования экспериментальной модели для проведения современных этологических, физиологических, фармакологических исследований (например, для скрининга фармакологических препаратов с учетом половых различий подопытных животных).

**Апробация.** Материалы диссертации были доложены на:

Международной научной конференции “Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа”, Ереван, 2011.

Международной юбилейной конференции “Физиологические механизмы регуляции деятельности организма”, посвященной 130-летию со дня рождения академика Л.А. Орбели, Ереван, 2012.

Международной научной конференции “Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа”, Ереван, 2014.

**Публикации.** По теме диссертации опубликованы 8 работ.

**Структура диссертации.** Диссертация изложена на 108 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы (теоретические предпосылки исследования), описания материалов и методов исследования, трех глав с изложением и обсуждением результатов экспериментов, заключения, выводов и списка литературы, включающего 211 источников. Диссертация содержит 42 рисунка и 10 таблиц.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.**

**Экспериментальные животные.** Эксперименты выполнены на 35 нелинейных половозрелых белых крысах обоих полов весом 120 – 160 г и 34 нелинейных половозрелых белых мышах обоих полов весом 20 – 22 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария при фиксированном (12 часовом) световом режиме в однополых группах по 4 особи в клетках размером 50×30×15 см. Воду и корм животные получали без ограничений. Тестирование поведения проводилось в дневное время в промежутке между 12:00 – 15:00 часами.

При оценке характера влияния транквилизатора на поведенческие проявления в зависимости от типа исходного реагирования животных на новизну использовался анксиолитический препарат диазепам (производитель: Алкалоид АД – Скопье. Республика Македония).

Диазепам (10мг/2 мл), растворяли в воде для инъекций и вводили животным внутривенно в дозе 0,5 мг/кг за 30 минут до тестирования.

Оценку связи между индивидуальными различиями поведения животных и их устойчивостью к патологии проводили в серии экспериментов по моделированию злокачественной опухоли *in vivo*.

После поведенческого тестирования мышам был перевиван штамм саркомы-45. Перевивку производили в стерильных условиях в специальном боксе лаборатории токсикологии и химиотерапии института тонкой органической химии им. А.Л. Мнджояна научно-технологического центра органической и лекарствопроизводительной химии НАН РА. Суспензию клеток саркомы С-45 вводили мышам в подкожную жировую клетчатку области подмышек. Это быстрорастущая саркома, которая прививается почти в 100% случаях и хорошо сохраняет свою тканевую специфичность.

Работу с животными проводили в соответствии с правилами “Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах” (Директива 2010/63/EU).

## Экспериментальная модель исследовательского поведения (ЭМИП).

Разработанная нами экспериментальная модель ориентирована на анализ индивидуальных различий в исследовательском поведении лабораторных животных (мыши, крысы). Предполагается, что данная модель позволяет тестировать степень конфликта между потребностью животного в получении новой информации (выход из экологически предпочтительного темного, замкнутого укрытия в “открытое поле”) и потребностью “самосохранения”, которое инициирует оценку новой ситуации с точки зрения потенциальной опасности для организма (реакция тревоги) [Саркисов и др., 2010, 2012; Sarkisov et al., 2013; Акопян, 2014]. Таким образом, данная поведенческая модель является гибридом традиционных тестов “открытое поле” и “чёрно-белая камера”.

Установка представляет собой круглую арену – светлый отсек диаметром 80 см, высотой стенок 45 см и малый круглый темный отсек, снабженный плотно подогнанной открывающейся наверх крышкой. Отсеки сообщаются между собой через отверстие в перегородке, которое имеет выдвижную вертикальную дверцу. Установка помещается над уровнем пола на 90 см. Над ареной установлена аналоговая видеокамера, фиксирующая поведение животного. Аналоговый сигнал, полученный от камеры с помощью TV-тюнера преобразуется в цифровой сигнал и сохраняется в виде видео файла на жёстком диске.

В экспериментах использовались две схемы тестирования:

1. Тестирование поведения животного в ситуации “свободного выбора новизны”.
2. Тестирование в условиях “навязанной” новизны.

При использовании первой схемы животное помещалось в малый отсек камеры, после чего малый отсек закрывался сверху крышкой. При этом дверца в перегородке между отсеками была плотно закрыта. В полной темноте животное адаптировалось к темному отсеку. Привыкание длилось 300 с. После чего дверца в перегородке открывалась и последующее наблюдение за поведением животного длилось 300 с.

После каждого животного установку тщательно промывали водой и высушивали.

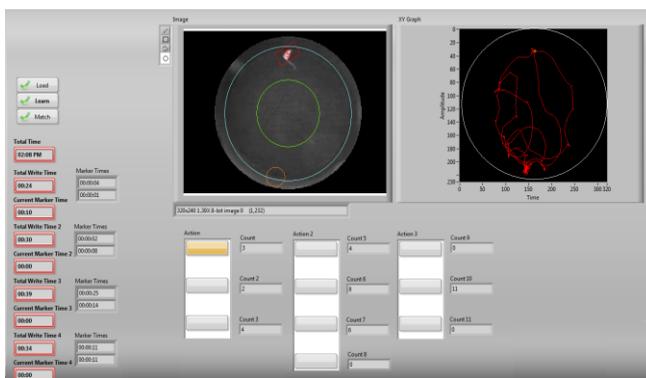
В ходе наших экспериментов регистрировался комплекс следующих поведенческих показателей:

- суммарное время нахождения в светлом отсеке
- число и продолжительность выглядываний из стартового отсека (“укрытия”)
- латентный период первого выглядывания
- число выходов в открытое поле
- латентный период первого выхода в открытое поле из стартового отсека
- число возвратов в “укрытие”
- латентный период первого возврата
- число и продолжительность вертикальных стоек с упором на борт арены (climbing)
- число и продолжительность вертикальных стоек в воздухе (rearing)
- продолжительность левосторонних перемещений
- продолжительность правосторонних перемещений
- число и продолжительность актов умывания (grooming)
- число и продолжительность неподвижного состояния или замирания (freezing)
- суммарное время нахождения в центре поля и на периферии (центр поля рассматривается как круг радиусом равным половине радиуса всего открытого поля)
- пройденный путь за фиксированное время в динамике
- скорость движения и ускорение движения
- число дефекаций и уринаций

Вторая схема тестирования предполагала помещение животного в центр светлого отсека при закрытой двери в перегородке. Длительность тестирования поведения составляла 300 с. Иными словами, вторая схема соответствовала тестированию поведения животных в “открытом поле”. При этом учитывался комплекс поведенческих показателей, соответствующих данному виду исследований, в частности число и продолжительность вертикальных стоек с упором на борт арены (climbing); число и продолжительность вертикальных стоек в воздухе (rearing); продолжительность левосторонних перемещений; продолжительность правосторонних перемещений; число и продолжительность актов умыывания (grooming), неподвижного состояния или замирания (freezing); суммарное время нахождения в центре поля и на периферии (центр поля рассматривается как круг радиусом равным половине радиуса всего открытого поля); пройденный путь за фиксированное время в динамике; скорость движения и ускорение движения; число дефекаций и уринаций.

**Машинное зрение.** Для последующей обработки и анализа полученных данных нами была использована технология “машинное зрение” (Machine vision), которая в общем случае включает цифровые устройства ввода/вывода, компьютерные сети, предназначенные для интерпретации визуальной информации, а также практического использования результатов этой интерпретации. Заметим, что эта технология является неотъемлемой частью современных систем искусственного интеллекта.

Для изучения поведенческих реакций животных с применением “машинного зрения” применительно к описанной установке была разработана программа BehaviorVision AM с использованием программного продукта компании National Instruments (NI) Lab VIEW and NI Vision. В задачи систем “машинного зрения” входит получение цифрового изображения, обработка изображения с целью выделения значимой информации и математический анализ полученных данных с точки зрения решения поставленных задач. BehaviorVision AM представляет собой группу модулей, объединенных между собой в рамках реализации комплексной оценки поведения животного.



*Рис 1. Главное окно программы BehaviorVision AM*

Модуль 1 (“модуль ввода”) – представляет собой окно ввода информации, в которое вводится 10 поведенческих показателей (выглядывание, выход, возврат, вертикальные стойки в воздухе, вертикальные стойки с упором, груминг, фризинг, левосторонние перемещения, правосторонние перемещения, выход в центр). Частью данного модуля также является совмещенный с ним модуль перемещения, который дает информацию о

пройденном пути (рис.1).

Модуль 2 (“модуль распознавания”) – при помощи множественных точек распознавания тела возможно не только отслеживать среднюю точку животного, но и участки носа и хвоста.

Модуль 3 (“модуль аппаратного управления”) позволяет автоматизировать начало и / или остановку записи данных.

Модуль 4 (“модуль вывода”) – данный модуль выводит в виде таблицы Excel значения следующих показателей: длительность нахождения в светлом отсеке, длительность выглядываний, число выглядываний, латентный период первого выглядывания, число выходов, латентный период первого выхода, число возвратов, латентный период первого возврата, длительность стоек в воздухе, число стоек в воздухе, длительность стоек с упором, число стоек с упором, длительность левосторонних перемещений, длительность правосторонних перемещений, длительность актов груминга, число актов груминга, длительность актов фризинга, число актов фризинга, длительность нахождения в центре поля, число заходов в центр поля, латентный период первого захода в центр поля, пройденный путь, скорость движения, ускорение движения.

Модуль 5 (“графический модуль”) – представляет собой 2 вида графического представления информации о поведении животного:

- График перемещения (трекинг) – показывает путь животного в установке ЭМИП в ходе эксперимента.
- График скорости – показывает изменение скорости перемещения животного в ходе эксперимента.

Отправной точкой системы формирования изображений является видеокамера. Сигнал полученный аналоговой видеокамерой преобразуется в цифровой сигнал и сохраняется в виде видеофайла, состоящего из пикселей.

Интерфейс указанной программы позволяет выбрать и открыть нужный видео файл, после чего происходит установка параметров анализа различных форм поведения с соответствующими размерными единицами.

Когда программа BehaviorVision AM принимает цифровое изображение из жёсткого диска оно не "видит" животное в открытом поле, но точечное изображение состоит из пикселей, каждый из которых имеет особое значение серого. В первую очередь BehaviorVision AM проводит различия между исследуемым субъектом и задним планом. После того, как проводится идентификация животного после завершения анализа видеофайла используются особые фильтры сглаживания.

Анализ полученных данных в поведенческих исследованиях был ориентирован на оценку 22 поведенческих показателей, которые фиксируются в виде таблицы.

Полученный экспериментальный материал поведенческих данных обрабатывали с использованием пакета прикладных программ STATISTICA.

### **Дистанционная оценка интегративного состояния животных с помощью аппаратного комплекса «Биоскоп».**

В некоторых наших исследованиях комплексный анализ поведенческого фенотипирования проводился в сочетании с оценкой интегративного состояния подопытных животных с помощью аппаратного комплекса “Биоскоп”, разработанного в Институте физиологии НАН РА [Саркисян, 2002; Draayer et al., 2006], который ориентирован на способность биологических систем дистанционно оказывать определённое воздействие на оптические характеристики отражающей поверхности датчика данного прибора.

При использовании биоскопа нет необходимости в экранировке от внешних электрических или магнитных полей, а состояние животного можно бесконтактно оценивать в любой области его тела. Допускается, что осцилляционные сигналы биоскопа дистанционно отражают уровень физиологической активности целостного организма и все параметры, характеризующие состояние его различных функциональных компонентов, интегрированы в его показаниях.

Процедура тестирования используемой методики предполагала многочасовую регистрацию дистанционных сигналов бодрствующих животных, которые помещались в специально сконструированную камеру, ограничивающую возможность их перемещения.

Анализ осцилляционных сигналов проводился с помощью специально разработанной комплексной программы, которая позволяет осуществлять операции сглаживания, полосовой фильтрации, расчета временных интервалов между последовательными пиками осцилляционных сигналов “Биоскопа” (ВВ-интервалы) и т.д. В целом, анализ экспериментальных данных в этой части исследований был ориентирован на оценку характера изменения 16 – и статистических показателей осцилляционных сигналов (таб. 1). Последующий статистический анализ характера изменения интегративных показателей проводился с использованием пакета программ “Origin-8.5”.

Таблица 1.

**Статистические показатели сигналов “Биоскопа”**

№	КРАТКИЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ	ИНТЕРПРЕТАЦИЯ
ПЕРВИЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ		
1.	<ВВ> (мин)	Среднее значение ВВ-интервалов
2.	Std_ВВ (мин)	Дисперсия ВВ-интервалов
3.	CV (%)	Коэффициент вариации ВВ-интервалов
4.	RMSDD_ВВ (мин)	Квадратный корень из суммы квадратов разностей последовательных пар ряда ВВ-интервалов
5.	Max-Min (мин)	Разница между максимальным и минимальным значениями ВВ-интервалов
6.	Max/Min	Отношение максимального и минимального значениями ВВ-интервалов
7.	АМо (%)	Амплитуда моды гистограммы ВВ-интервалов
8.	Мо (мин)	Мода гистограммы ВВ-интервалов
9.	<F>_ВВ (1/min)	Среднее частота ВВ-интервалов
10.	СПМ сигналов «Биоскопа»	Спектральная плотность мощности сигналов «Биоскопа»
11.	СПМ ВВ-интервалов	Спектральная плотность мощности ВВ-интервалов
ВТОРИЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ		
12.	$A = A_{Mo} / (Max - Min)$	
13.	$B = 1 / (Mo * (Max - Min))$	
14.	$C = A_{Mo} / (2 * Mo * (Max - Min))$	
15.	D-общее количество ВВ-интервалов отнесенных к АМо	
16.	$E = A_{Mo} / Mo$	

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

### ТИПОЛОГИЧЕСКИЕ, ПОЛОВЫЕ И МЕЖВИДОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ПОВЕДЕНИИ КРЫС И МЫШЕЙ

При статистическом анализе поведенческих показателей определялась основная активность животных по формуле [Курьянова и др., 2013] модифицированной в соответствии со спецификой используемой нами модели. Таким образом для первой схемы тестирования (ситуация “свободного выбора новизны”):

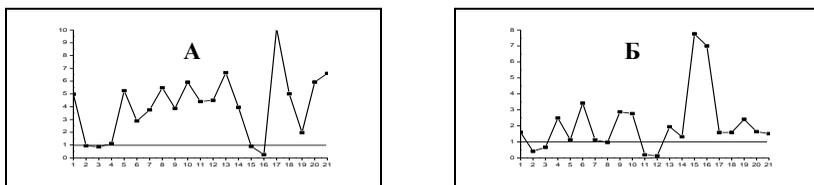
$OA = ЧВг + ЧВ + ЧСУ + ЧСВ + ЧВЦ + ПП + СД$ , где  $OA$  – основная активность;  $ЧВг$  – число выглядываний;  $ЧВ$  – число выходов;  $ЧСУ$  – число стоек с упором;  $ЧСВ$  – число стоек в воздухе;  $ЧВЦ$  – число выходов в центр;  $ПП$  – пройденный путь в метрах;  $СД$  – скорость движения см/сек. При анализе результатов тестирования поведения в условиях “навязанной” новизны из вышеуказанной формулы исключаются показатели  $ЧВг$  и  $ЧВ$ . Оценивали также коэффициент асимметрии перемещения по формуле  $K_{АП} = ДПБ - ДЛБ / ДПБ + ДЛБ$ , где  $K_{АП}$  – коэффициент асимметрии перемещения;  $ДПБ$  – длительность пройденного пути правым боком;  $ДЛБ$  – длительность пройденного пути левым боком. Оценивалась вариабельность поведенческих показателей в исследуемых группах.

При сопоставлении поведенческих показателей двух групп животных (самцы, самки) в отдельных случаях показатели самок нормировали к показателям самцов, что представлено в виде соответствующих графиков, на которых отражены средние нормированные данные с учётом стандартной ошибки.

Достоверность различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

#### Половые и типологические различия в исследовательском поведении крыс и мышей.

Анализ экспериментальных данных выявил определенные половые различия в распределении поведенческих показателей крыс и мышей, адаптируемых в условиях ЭМИП (рис. 2).



**Рис. 2. Нормированные данные средних показателей поведения крыс (А) и мышей (Б) в ЭМИП.**

Прямой линией обозначены показатели самцов; ломаной линией – самок, выраженные относительно к единице.

По оси абсцисс: 1. Нахождение в светлом отсеке, сек. 2. Длительность выглядываний из стартового отсека, сек. 3. Число выглядываний из стартового отсека, шт. 4. ЛП первого выглядывания из стартового отсека, сек. 5. Число выходов из стартового отсека, шт. 6. ЛП первого выхода из стартового отсека, сек. 7. Число возвратов в стартовый отсек, шт. 8. ЛП первого возврата в стартовый отсек, сек. 9. Длительность вертикальных стоек с упором, сек. 10. Число вертикальных стоек с упором, шт. 11. Длительность вертикальных стоек в

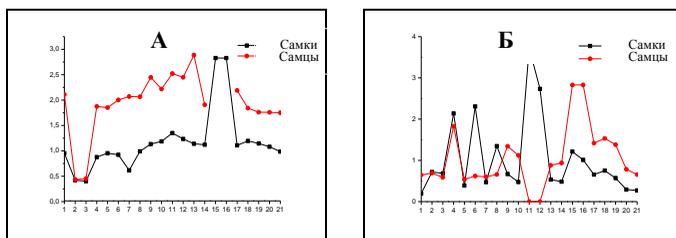
воздухе, сек. 12. Число вертикальных стоек в воздухе, шт. 13. Длительность левосторонних перемещений, сек. 14. Длительность правосторонних перемещений, сек. 15. Длительность актов груминга, сек. 16. Число актов груминга, шт. 17. Длительность нахождения в центре, сек. 18. Число заходов в центр, шт. 19. ЛП первого захода в центр, сек. 20. Пройденный путь, м. 21. Скорость движения см/сек.

Как видно из рис. 2 (А), самки крыс в отличие от самцов значительно дольше находились в открытом освещенном пространстве, чаще выходили из стартового отсека в открытое поле, выше число и продолжительность вертикальных стоек типа “climbing” и “tearing”, больше заходов в центр поля и длительность нахождения в нём, также короче латентный период первого захода в центр. У самок и самцов значительно отличается длина пройденного пути и средняя скорость движений. Груминг был довольно редким и непродолжительным у самок и отсутствовал у самцов.

Самки мышей в отличие от самцов дольше находились в открытом освещенном пространстве, у них короче латентный период первого выглядывания, больше число и продолжительность вертикальных стоек с упором (climbing) (рис.2 Б). У самок мышей несколько больше заходов в центр поля и длительность нахождения в нём, значительно отличается длина пройденного пути и средняя скорость движений. Груминг хотя и был довольно редким и непродолжительным у обоих полов, все же был значительно чаще и длительнее у самок.

Итак, исследования половых различий у мышей и крыс при тестировании в условиях ЭМИП выявили:

- Более высокую исследовательскую активность, меньшую тревожность самок крыс в сравнении с самцами (показатели поведения 1, 5, 9, 10, 17, 18; рис. 2).
- Более высокий уровень варибельности поведенческих показателей у самцов крыс по сравнению с самками, исключая проявление груминга (рис. 3 А).
- Более высокий уровень варибельности большинства показателей самцов мышей по сравнению с самками, исключая, прежде всего, временные показатели (латентные периоды тех или иных форм поведения) (рис. 3 А).



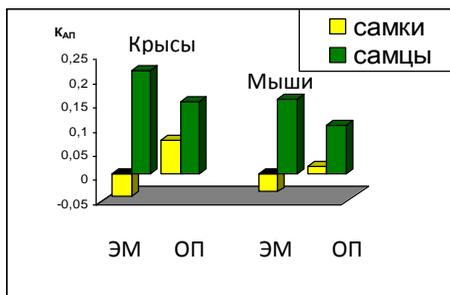
**Рис. 3. Коэффициент вариабельности показателей поведения крыс (А) и мышей (Б) в ЭМИП.**

По оси абсцисс показатели смотри рис. 2.

Вместе с тем, в условиях “навязанной” новизны (тестирование в “открытом поле”) обсуждаемые различия между разнополыми группами крыс и мышей не выявили столь ощутимых различий, что во многом обусловлено разрешающими возможностями данного

теста. Это обстоятельство подтверждается как литературными данными [Rainer et al., 1998], так и нашими предыдущими исследованиями [Саркисов и др., 2010].

Анализ полученных данных выявил определенные различия между разнополюми группами животных, одной из форм пространственно-моторной асимметрии – предпочтение направления перемещения (рис. 4).



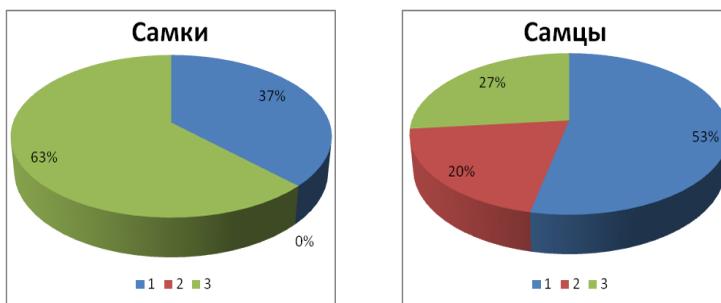
**Рис. 4. Коэффициент асимметрии самок и самцов мышей и крыс в различных условиях тестирования поведения.**

Как видно из рис. 4 степень пространственно-моторной асимметрии перемещения животных в открытом пространстве в значительно большей степени выражена у самцов крыс и мышей, чем у самок. Сходные эффекты были получены в исследованиях других авторов у крыс, кошек, китообразных [Walker, 1980; Бианки, 1985]. Обращает на себя внимание тот факт, что у самцов крыс и мышей в среднем доминируют правосторонние перемещения, тогда как у самок крыс и мышей имеет место слабо выраженные левосторонние перемещения в ЭМИП и правосторонние в “условиях навязанной новизны” (“открытое поле” – ОП).

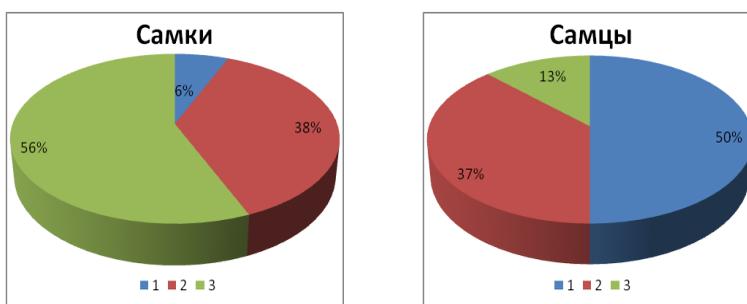
Кроме разделения животных на две группы по признаку пола проводилась также ранжировка животных внутри каждой группы с учётом проявления поведенческой активности. Рассчитывалась основная активность крыс, что позволило разделить тестируемых крыс на 3 группы: при этом низкой ОА считалось (< 20 проявлений), средней ОА (от 20 до 29 проявлений) и высокой ОА (от 30 и более проявлений). Анализ результатов (рис.5) выявил, что среди самцов высока доля особей с низкой ОА – 53%, в то время как особей со средней ОА 20 % и с высокой ОА 27 %. Среди самок, напротив, меньшинство- 37% проявляют низкую исследовательскую активность, большая часть животных демонстрирует высокую 63 % ОА.

Основная активность поведения мышей в ЭМИП рассчитывалась по следующим критериям: низкой ОА считалось (< 80 проявлений), средней ОА (от 80 до 119 проявлений) и высокой ОА (от 120 и более проявлений). Полученные результаты представляют следующую картину: среди самцов половина особей с низкой ОА – 50%, в то время как особей со средней ОА 37 % и с высокой ОА 13 %. Среди самок, напротив, меньшинство – 6 % проявляют низкую исследовательскую активность, среднее количество среднюю ОА – 38% и больше половины особей в группе демонстрируют высокую 56 % ОА. Полученные результаты представлены на рис.6.

Таким образом, в результате анализа индивидуально-типологических особенностей поведения в пределах каждой из исследуемых групп животных было установлено, что среди самцов крыс и мышей преобладают особи с низкой и средней общей активностью, среди самок – животные с высокой и средней активностью.



**Рис. 5. Процентное соотношение животных в группах самцов и самок крыс с низкой, средней и высокой основной активностью**  
1 – низкая ОА; 2 – средняя ОА; 3 – высокая ОА



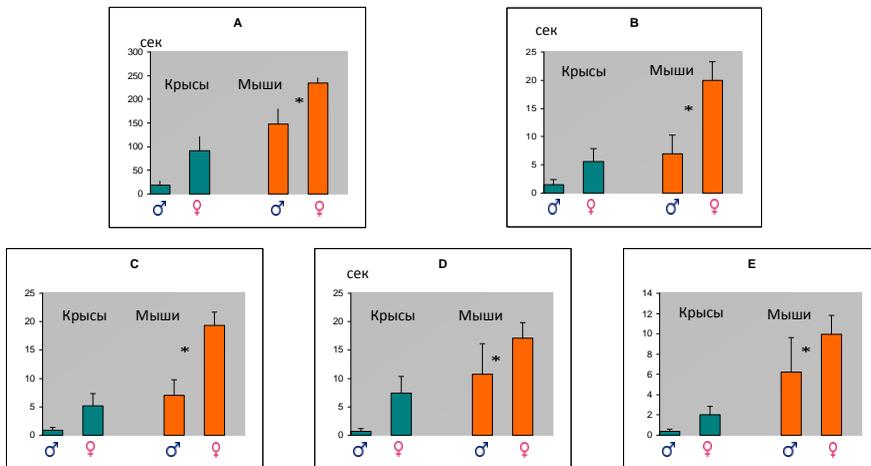
**Рис. 6. Процентное соотношение животных в группах самцов и самок мышей с низкой, средней и высокой основной активностью**  
1 – низкая ОА; 2 – средняя ОА; 3 – высокая ОА.

Наши результаты согласуются с недавними исследованиями других авторов [Курьянова и др., 2013], проведенными на нелинейных крысах в тесте “открытое поле”, дополненным “норковым рефлексом”. В то же время, в отличие от наших данных (рис. 3), в указанных исследованиях поведение крыс характеризуется индивидуальной изменчивостью, границы которой у самцов и самок практически совпадают. По видимому, следует согласиться с выше указанными авторами, что большая активность самок дает им преимущество в борьбе за выживание, воспитание детенышей и сохранение вида в целом [Кассиль, Бондаренко, 1996].

#### **Межвидовые различия в поведении мышей и крыс.**

В последние годы возрос интерес к изучению поведенческих различий между двумя обсуждаемыми видами лабораторных грызунов. В ряде исследований установлено преимущество крыс в сравнении с мышами в пространственном и двигательном научении, в половом и социальном поведении, тем не менее отмечается преимущество мышей в

количестве исследовательских реакций [Grawley, Paylor, 1997; Grawley, 1999; Frick et al., 2000; Whishaw et al., 2001; Gharbawie et al., 2004; Калуев, Тухомаа, 2005].



**Рис. 7. Основные показатели исследовательских реакций в ЭМИП у крыс и мышей.**

А – время пребывания в светлом отсеке; В – длительность стоек climbing; С – количество стоек climbing; D – длительность пребывания в центре светлого отсека; Е – число заходов в центр. \* -  $p < 0,05$

Заметим, что исследования межвидовых различий проводились, как правило, на линейных животных. В целом, общий итог этих исследований образно отражен в названии одной из работ: “Mice are not little rats” [Frick et al., 2004].

Анализ результатов экспериментов, проведенных в условиях ЭМИП выявил определенные различия в исследовательском поведении крыс и мышей (рис. 7).

Как видно из рисунка 7, лабораторные мыши по наиболее ключевым показателям исследовательской активности заметно превосходят крыс ( $p < 0.05$ ).

Таким образом, результаты, представленные в настоящем разделе, позволяют считать, что используемый тест (ЭМИП) достаточно эффективен при анализе половых, типологических и межвидовых различий в поведении лабораторных грызунов.

### **СВЯЗЬ МЕЖДУ ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ РАЗЛИЧИЯМИ ПОВЕДЕНИЯ ЖИВОТНЫХ И ИХ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ПАТОЛОГИИ, ВЫЗВАННОЙ ИСКУССТВЕННО ПРИЖИВЛЕННОЙ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛЮ.**

Основная задача экспериментов, представленных в настоящем разделе состояла в изучении зависимости устойчивости организма к патогенному воздействию от типа его реагирования на “новизну”. Опыты проводились на нелинейных белых мышах обоих полов ( $n=10$ ). После проведения поведенческого тестирования в ЭМИП и в “открытом поле”, животным была перевита опухоль Саркома-45 (см. Материал и методы исследования).

Последующие два месяца проводилось наблюдение за зараженными животными и фиксировалось время гибели каждого из них. При анализе полученного материала, в качестве базовой предпосылки, были приняты широко обсуждаемые в специальной

литературе классификации по типу поведенческих реакций на стрессор (“новизна”): активный стиль реагирования или поведение типа А; пассивный стиль реагирования или поведение типа В [Boisy, 1995; Mendl, Deag, 1995; Жуков, 1997; 2007].

Активные особи в ситуации стресса стремятся избавиться от опасности (т.н. “бегство/борьба”), а пассивные особи принимают ситуацию такой, какая она есть, не принимая активных действий (т.н. “затаивание”) [Жуков, 1997].

Типологизация подопытных животных по критерию активная или пассивная копинговая стратегия (стиль поведения при стрессе) ставит вопрос о том, как определить степень активности поведения. Предполагается, в частности, определять активность поведения как “локомоторную активность в новой аверсивной среде” [Виноградова, Жуков, 2001]. Эти же авторы степень активности крыс линии Вистар определяли с помощью “челночной камеры” как произведение числа реакций избегания и числа переходов из одной половины камеры в другую во время межсигнальной паузы за первую сессию выработки активного избегания.

Мы полагаем, что для типологизации животных по стилю стрессорной реакции в ситуации “свободного выбора новизны” (ЭМИП) представляется более адекватной. Напомним, что в предыдущем разделе исследований использовался показатель “основная активность”, который отражает двигательную активность у подопытных животных в целом за весь период тестирования. В данном разделе, степень активности копинговой реакции в условиях ЭМИП предполагает оценку степени активности двигательной реакции на стрессорную ситуацию, вызванную аверсивностью нового открытого пространства в начале тестирования.

Таким образом, в качестве базовых поведенческих показателей для оценки уровня активности копинговой реакции рассматриваются:

- Обратное значение латентного периода первого выхода из “укрытия” в открытое пространство
- Средняя скорость перемещения за первую минуту
- Среднее ускорение перемещения за первую минуту

В свою очередь уровень активности определялся на основании индекса активности (IA), представляющего собой сумму величин, нормированных по среднему значению каждого из перечисленных выше поведенческих показателей.

Связь индекса активности (IA) каждого животного и его продолжительностью жизни после заражения представлена на рисунке 8.



**Рис.8. Связь индекса активности и продолжительностью жизни животного после заражения.**

Коэффициент корреляции Пирсона ( $-0,86; p=0,01$ )

Как видно на рисунке 8, у зараженных мышей исходно проявляющих склонность к пассивному стилю реагирования на новизну (стрессор) (сравнительно низкий уровень IA) продолжительность жизни выше чем у зараженных животных, исходно склонных к активному реагированию (более высокий индекс активности).

Таким образом, представленные данные позволяют допустить, что зараженные мыши, исходно проявляющих склонность к пассивному стилю реагирования на “новизну”, оказываются более устойчивыми к патологии, вызванной искусственно приживленной злокачественной опухолью, чем животные с исходно более активным стилем поведения.

Необходимо обратить внимание на две особенности обсуждаемых опытов:

Во-первых, совершенно очевидно, что искусственно вызванное патологическое состояние является стрессором; во-вторых, при этом, имеет место неконтролируемость ситуации, т.е. невозможность избавиться от действующего стрессора.

Классической моделью неконтролируемого стресса является состояние “выученной беспомощности” (learned helplessness), обычно моделируемое ситуацией, при которой животному невозможно избавиться от аверсивного стимула [Seligman, Beagly, 1975; Maier, Seligman, 1976]. В состоянии “вынужденной беспомощности” животные перестают пытаться решать даже разрешимые для них задачи, у них наблюдаются: симптомы депрессивного состояния, повышенная неофобия [Job, Bornes, 1995], снижается агрессивность [Maier et al., 1972], наблюдаются агедония и потеря веса [Minor, Saade, 1997], иммунодефицит [Sandi et al., 1992] и т.п. Выученная беспомощность обуславливает развитие и рост искусственно приживленной злокачественной опухоли [Seligman, 1982].

Следует подчеркнуть две особенности обсуждаемых исследований: Во-первых, в опытах по “выученной беспомощности” предварительная типологизация подопытных животных не проводилась.

Во-вторых, в опытах Селигмана примерно у 20% животных так и не удалось выработать “выученную беспомощность”, что объяснялось автором влиянием всего предшествующего опыта животных, в процессе которых у них сформировалась “устойчивость к неудачам”.

Более того, допускается, что животные с высокой активностью поискового поведения *более устойчивы* к ситуации “выученной беспомощности” [Ротенберг, Бондаренко, 1989].

Напротив, ряд исследователей изучали роль активных и пассивных копинговых стратегий в неконтролируемых и контролируемых ситуациях на линиях лабораторных крыс, селектированных по скорости выработки двустороннего активного избегания (two-way shuttle-box) [Benus et al., 1991; Castanon, Mormede, 1994; Жуков, 1997]. Было установлено, что синдром “выученной беспомощности” в неконтролируемых ситуациях наблюдался преимущественно у крыс с активной копинговой стратегией, поведение “пассивных” животных практически не менялось.

Таким образом полученные нами данные, при иной модели исследования (искусственное приживление злокачественной опухоли после предварительного тестирования поведения в ЭМИП), подтверждают преимущества животных с пассивной копинговой стратегией в условиях неконтролируемого стресса.

Следует подчеркнуть, что использование теста “открытое поле” по аналогичной схеме исследования не позволило выявить аналогичные эффекты.

Заметим, что при использовании теста “открытое поле” индекс активности можно было вычислить только по двум показателям – средняя скорость и среднее ускорение перемещения за первую минуту.

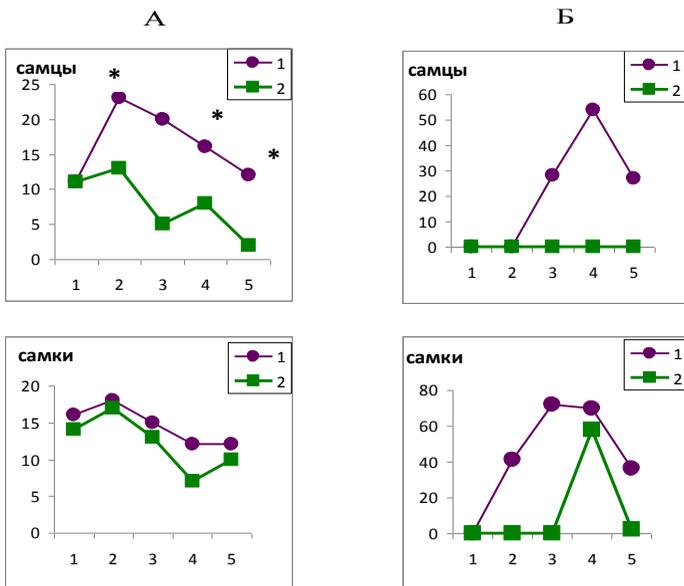
## **ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ТРАНКВИЛИЗАТОРА (ДИАЗЕПАМ) НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ У КРЫС В СОЧЕТАНИИ С НЕИНВАЗИВНОЙ ОЦЕНКОЙ ИНТЕГРАТИВНОГО СОСТОЯНИЯ ЖИВОТНЫХ.**

В опытах использовались нелинейные белые крысы обоих полов (4 самца и 4 самки). Исследования проводились поэтапно в следующей последовательности:

1. Отбор животных с пассивными поведенческими проявлениями по сведениям собранным у работника вивария, а также на основании собственных наблюдений за их зоосоциальным поведением.
2. Содержание отобранных животных в течение 15-и суток в лабораторной комнате при фиксированном световом режиме в однополых группах по 4 особи в клетках с неограниченным доступом к воде и пище.
3. Однократное тестирование поведения каждого животного (контрольные данные) в условиях ЭМИП по описанной ранее схеме (см. Материалы и методы исследования).
4. После суточного перерыва проводится биоскопная регистрация интегративного состояния животных (контрольные данные). Регистрация проводится 4 раза с интервалом в одни сутки.
5. Через двое суток после последней биоскопной регистрации проводится тестирование поведения крыс в условиях ЭМИП после однократного введения животным эталонного транквилизатора диазепама (см. Материалы и методы исследования).
6. Через двое суток после тестирования поведения в условиях ЭМИП вновь проводится биоскопная регистрация интегративного состояния крыс после однократного введения диазепама. Подобная регистрация также проводится 4 раза с суточным интервалом.
7. Через 5 суток после биоскопной регистрации у всех животных тестируется поведение в ситуации “навязанной” новизны (открытое поле).
8. Через 7 суток проводится повторное тестирование в “открытом поле” после однократного введения животным диазепама.

Как известно, диазепам способен вызывать анксиолитическую активность, купирующую страх, тревогу, внутреннее беспокойство. Именно учитывая это обстоятельство в данной серии исследований мы попытались использовать лабораторных крыс с пассивным поведенческим проявлением, с целью получения выраженного анксиолитического эффекта при введении животным диазепама и для последующего сопоставления полученных данных с результатами биоскопной регистрации. При этом при тестировании поведения в условиях ЭМИП акцентировалось внимание на двух основных показателях тревожности – число выглядываний из “укрытия” и время, проведенное в светлом отсеке. Именно число выглядываний из закрытого отсека является наиболее адекватным, надежным и воспроизводимым показателем тревожности – снижение этого показателя при действии тех или иных факторов свидетельствует о повышении уровня тревожности [Лапин, 1999, 2000]. Кроме того, время, проведенное животным в светлом отсеке, очевидно, также может служить для оценки степени тревожности – снижение этого показателя при действии тех или иных факторов свидетельствует о подавлении исследовательского поведения (увеличение тревожности) [Grawley, 1999].

Проведенный анализ выявил поведенческие эффекты действия транквилизатора в условиях ЭМИП, противоположные прогнозируемым (рис. 9).



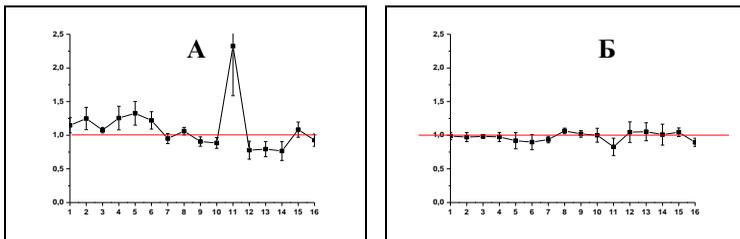
**Рис. 9.** Динамика изменения числа выгульваний из укрытия (А) и длительность пребывания в светлом отсеке (Б) у контрольных крыс (1) и животных после введения диазепама (2) в течение всего периода тестирования (300 с); \* –  $p < 0,05$  (X - критерий).

Как видно из рисунка 9, при тестировании поведения в условиях ЭМИП вместо ожидаемого анксиолитического эффекта используемого транквилизатора наблюдается анксиогенный эффект, выражающийся в снижении числа выгульваний, уменьшении времени пребывания животных в открытом пространстве. Примечательно, что анксиогенный эффект был более выражен у самцов, чем у самок.

При тестировании в “открытом поле”, судя по отдельным показателям исследовательского поведения, также наблюдалась анксиогенная активность диазепама. Это проявлялось в резком снижении величин таких поведенческих показателей, как число заходов в центр поля, длительность нахождения в центре, пройденный путь, скорость перемещения в открытом поле. В то же время при использовании “открытого поля” не удалось выявить половых различий в эффектах препарата сходных с таковыми, которые наблюдаются в условиях ЭМИП (рис. 9).

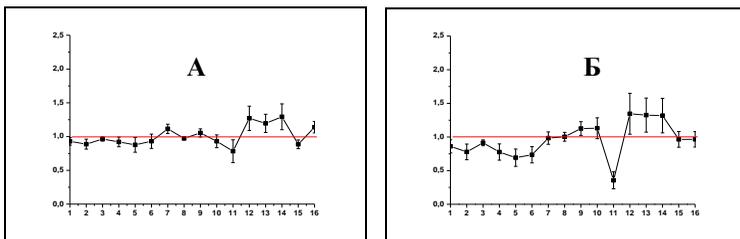
Одна из задач данных исследований заключалась в оценке возможности использования аппаратного комплекса “биоскоп” [Саркисян, 2002; Draayer et al., 2006] для выявления тех показателей интегративного состояния подопытных крыс, которые наиболее чувствительны к изменению физиологического состояния организма в условиях действия диазепама.

Анализ экспериментального материала (рис. 10, 11) дают возможность утверждать, что биоскоп реагирует на различия между полами и изменения в организме, происходящие под воздействием используемого препарата.



**Рис. 10.** Отношение средних интегративных показателей крыс-самок (ломаная линия) в норме (А) и после введения диазепама (Б) к соответствующим показателям крыс-самцов (прямая линия) в норме (А) и после диазепама (Б).

По оси абсцисс – условные номера рассчитанных показателей (таблица 1).



**Рис. 11.** Отношение средних интегративных показателей крыс-самцов (А) и крыс-самок (Б) после введения диазепама (ломаная линия) к соответствующим показателям крыс-самцов (А) и крыс-самок (Б) в норме (прямая линия).

По оси абсцисс – условные номера рассчитанных показателей (таблица 1).

Таким образом, проведенные исследования выявили “анксиогенный” эффект диазепама у крыс-самцов, в значительно меньшей степени этот эффект наблюдался у крыс-самок.

Полученные данные согласуются с экспериментальными находками, описанными в литературе, где отмечается “анксиогенная” активность диазепама в дневное время [Манвелян, Батурич, 2008; Манвелян, Анисимова, 2010]. При этом подчеркивается, что различия в активности транквилизатора связана с особенностями хронергии и хронестезии, а также влиянием половых стероидов.

Как уже отмечалось, самки крыс более активны и менее тревожны, чем самцы в условиях действия стрессора – новизна (ЭМИП). В литературе имеются данные, показывающие, что эффекты действия “анксиогенных” факторов (электрический шок или введение  $\beta$ -карболинов) более выражены у самцов-крыс, чем у самок [Heinsbroken et al., 1988; Meng, Drugan, 1993]. В то же время действие анксиолитических факторов (препарат МК-801) в условиях “открытого поля” и “крестообразного приподнятого лабиринта” вызывает более выраженный соответствующий эффект у самок-крыс, чем у самцов [Blanchard et al., 1992].

Своеобразные проявления полового диморфизма у лабораторных крыс при действии транквилизатора обнаруживаются при анализе осцилляционных сигналов биоскопа. Причем, половые различия у животных идентифицируются уже до введения препарата (рис.

10, А). Эти различия очевидно, можно рассматривать, как отражение изменений функционального состояния крыс, вызванных стрессорным воздействием (животные в период биоскопной регистрации помещались в специальную камеру, ограничивающую возможность их перемещения, т.е. имело место “мягкая” форма иммобилизационного стресса).

Как видно из представленного материала (рис. 10, 11), после введения животным диазепама, наблюдаются достаточно выраженные различия в показателях осцилляционных сигналов у самок и самцов.

Было бы заманчиво связать изменения того или иного показателя, например показателя 11 (таб. 1; рис. 11) с уровнем тревожности животных (рис. 9). Однако, как нам представляется, преждевременно связывать изменения тех или иных рассчитанных показателей с изменениями конкретных характеристик поведения на данном этапе понимания “языка” осцилляционных сигналов.

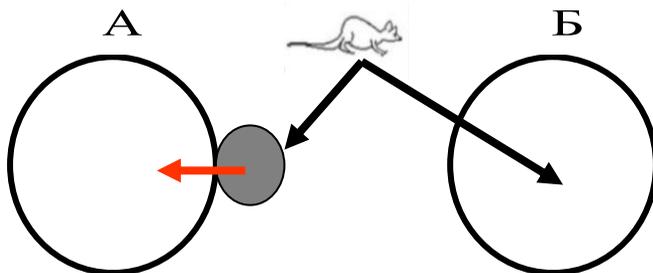
Таким образом, исследования влияния транквилизатора на поведенческие проявления у крыс в сочетании с неинвазивной оценкой интегративного состояния животных подтверждают положения о половом различии в эффектах анксиотропных факторов различной природы.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время одной из актуальных задач нейробиологии является разработка методических приемов для эффективной оценки индивидуальных различий поведения лабораторных животных [King, 1968; Симонов, 1976; Хоничева, Ильяна Вильяр, 1981; Garsia-Sevilla, 1984; Evenden, 1999; Мельников и др., 2004; Мержанова и др., 2006; Саркисов и др., 2007].

Большинство экспериментальных моделей в той или иной мере используемых для типологизации лабораторных грызунов (мыши, крысы) ориентированы на анализ исследовательского поведения животного в условиях новизны [Коплик, 2002; Лапин, 2000; Саркисов и др. 2007; Саркисов, 2007; Belzung et al., 2001; Kalueff et al, 2005; Sargisov et al., 2004].

Наиболее популярным из моделей поведения в условиях новизны является тест “открытое поле” [Hall, 1934; Калув, 1998; Prut, Belzung, 2003; и др.]. Принципиальной особенностью этого теста является то, что процедура его использования предполагает “навязывание” новизны подопытному животному (животное помещается непосредственно в открытое, светлое пространство) (рис. 12 Б).



*Рис. 12. Схема тестирования поведения в условиях ЭМИП (А) и открытого поля (Б).*

В наших исследованиях акцентировалось внимание на схеме тестирования поведения в ситуации “свободного выбора новизны”, при которой у подопытного животного есть выбор – исследовать новое или нет (рис 12 А).

Используемая экспериментальная модель исследовательского поведения (ЭМИП) является гибридом двух популярных тестов – “черно-белой камеры” и “открытого поля”.

Таким образом, в наших исследованиях апробирована экспериментальная модель, позволяющая тестировать степень конфликта между потребностью животного в получении новой информации (выход из экологически предпочитаемого темного, замкнутого укрытия в “открытое поле”) и потребностью “самосохранения”, которое инициирует оценку новой ситуации с точки зрения потенциальной опасности для организма (реакция тревоги).

Экспериментальная установка позволяет в процессе тестирования проводить автоматическое видео и компьютерное протоколирование поведения с последующей обработкой данных с помощью специально разработанного программного пакета – BehaviorVision AM.

Итак, проведенные нами исследования позволяют считать, что используемый тест (ЭМИП) достаточно эффективен при анализе половых, типологических и межвидовых различий в поведении лабораторных грызунов.

Эксперименты в условиях “навязанной” новизны (тестирования в “открытом поле”) продемонстрировали сравнительно низкие разрешающие возможности данного теста, что подтверждается и литературными данными [Rainer et al., 1998; Саркисов и др., 2010; Акопян, 2014]. Однако вряд ли правильно ставить вопрос об исключении “открытого поля” 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.

Следует отметить, что тестирование в условиях ЭМИП, очевидно, также нуждается в определенных технических дополнениях, прежде всего для визуальной регистрации поведения животного в темном замкнутом укрытии.

Перспективным направлением нейробиологических исследований можно считать проблему связи между индивидуальными особенностями поведения живых организмов и устойчивостью к патогенным воздействиям [Friedman, Rosenman, 1959; 1977; Судаков и др., 1981; Seligman, 1982; Вальдман и др., 1984; Саркисова, Куликов, 1994; Умрюхин, Ландграф, 2002; Чазов, 2005; и др.].

Экспериментальные исследования в рамках указанной проблемы часто основываются на классификации поведения по типу ответа организма, направленного на преодоление стрессорной ситуации (coping strategy, coping style) – активная и пассивная копинговая стратегия [Boisy, 1995; Mendl, Deag, 1995; Жуков, 1997, 2007]. При этом наиболее дискуссионной проблемой является вопрос о способах оценки степени активности копингового поведения животных. Именно использование экспериментальной модели по схеме “свободного выбора новизны” (ЭМИП) позволило адекватно, на наш взгляд, оценить степень активности копинга на основе таких показателей поведения, как латенция первого выхода животного в открытое пространство, скорость и ускорение перемещения в начале тестирования. Наряду с оценкой склонности животного к тому или иному стилю преодоления стрессорной ситуации возникает необходимость определить также степень контролируемости этой ситуации – эффективность копинговой стратегии зависит от того является ли ситуация контролируемой или неконтролируемой [Benus et al., 1991; Castanon, Mormede, 1994; Жуков, 1997].

Итак, в наших исследованиях показано, что животные (мыши), склонные к пассивной копинговой стратегии, в ситуации неконтролируемого стресса (искусственное приживание

злокачественной опухоли) более устойчивы к патогенному воздействию, чем животные, склонные к активному реагированию.

Проведенные исследования показали достаточно высокую чувствительность аппаратного комплекса “биоскоп” к половым различиям крыс и к изменениям их функционального состояния, вызванным действием диазепамов.

Обращает внимание, что используемый транквилизатор оказывает на подопытных животных пол-зависимое действие.

Отметим, что в наших прежних исследованиях показано, что в осцилляционных сигналах биоскопа могут отражаться и межвидовые различия животных различного уровня эволюционного развития (виноградные улитки *Helix lucorum*, ящерицы *Lacerta media*, *Lacerta strigata*, лабораторный мыши, крысы) [Саркисов и др., 2011].

Тем не менее, использование указанного комплекса в настоящее время должно сочетаться с использованием традиционных медико-биологических тестов.

## ВЫВОДЫ

1. Показана эффективность новой экспериментальной модели, ориентированной на анализ индивидуальных различий в исследовательском поведении лабораторных грызунов (мыши, крысы) и позволяющей тестировать степень конфликта между потребностью животного в получении новой информации (выход из экологически предпочитаемого темного, замкнутого укрытия в “открытое поле”) и потребностью “самосохранения”, которое инициирует оценку новой ситуации с точки зрения потенциальной опасности для организма (реакция тревоги). Экспериментальная модель предполагает автоматическое видео и компьютерное протоколирование поведения с последующей обработкой данных с помощью специально разработанного программного пакета – BehaviorVision AM.
2. Исследования половых и индивидуально-типологических различий в поведении лабораторных грызунов (мыши, крысы) выявили: а) среди самок крыс и мышей преобладают особи с низкой и средней общей активностью поведения, среди самок – животные с высокой и средней активностью; б) более высокую исследовательскую активность, меньшую тревожность самок крыс и мышей в сравнении с самцами; в) более высокий уровень варибельности большинства поведенческих показателей у самцов крыс и мышей по сравнению с самками; г) значительно большую выраженность пространственно-моторной асимметрии перемещения у самцов грызунов по сравнению с самками.
3. Анализ межвидовых различий в поведении мышей и крыс выявил, что лабораторные мыши по наиболее ключевым показателям исследовательской активности (продолжительность пребывания в светлом отсеке; количество вертикальных стоек climbing и их длительность; число заходов в центр светлого отсека; продолжительность пребывания в центре) достоверно превосходят крыс.
4. Предложена количественная оценка степени активности поведения, направленного на преодоление стрессорной ситуации (coping style, coping strategy). В качестве базовых поведенческих показателей для оценки уровня активности копинговой стратегии рассматриваются: обратное значение латентного периода первого выхода из “укрытия”; средняя скорость и среднее ускорение перемещения за первую минуту.
5. Установлено, что лабораторные мыши, склонные к пассивной копинговой стратегии, в ситуации неконтролируемого стресса (искусственное приживание

злокачественной опухоли), более устойчивы к патогенному воздействию, чем животные, склонные к активному реагированию.

6. Показана возможность использования неинвазивной оценки функционального состояния животных в сочетании с поведенческими методами исследования. Как поведенческие, так и интегративные показатели функционального состояния крыс при действии диазепама указывают на эффекты, зависящие от пола животных.

## **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Саркисов Г.Т., Саркисян Р.Ш., Карапетян Л.М., *Акопян Н.Э.*, Саркисян Ж.С., Мадатова И.Р. Индивидуальные особенности поведения мышей в тесте “чёрно-белая камера”. // Биологический журнал Армении. 2010; 1(62), С. 23–29.
2. Саркисов Г.Т., Саркисян Р.Ш., Манукян А.М., Карапетян Л.М., *Акопян Н.Э.* Безконтактная оценка интегративного состояния животных. Эволюционный аспект. // Материалы Международной научной конференции “Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа”. 26–29 сентября 2011, Ереван, С. 272–276.
3. Sargsyan R.Sh., Karamyan G.G., Sargisov G.T., Vardanyan V.T., Nikoghosyan A.H., Manukyan A.M., Sargsyan V.R., *Hakobyan N.E.*, Karapetyan L.M. Distatnt evaluation of organism’s integrative state. // VII International Congress “Neuroscience for Medicine and Psychology”. 3-13 June 2011, Sudak, Crimea, Ukraine, P. 373–374.
4. Саркисов Г.Т., Саркисян Р.Ш., Манукян А.М., Карапетян Л.М., *Акопян Н.Э.* Исследование индивидуальных различий у животных с помощью видеотрекинга поведения. // Межд. Конф. “Физиологические механизмы регуляции деятельности организма”. 10–13 октября 2012, Ереван, С. 280–283.
5. Sarkisov G.T., Sarkisyan R.Sh., Manukyan A.M., Karapetyan L.M., *Hakobyan N.E.* Video tracking of behaviour as a tool to evaluate individual differences in animals. // IX International Congress “Neuroscience for Medicine and Psychology”, 7–13 June 2013, Sudak, Crimea, Ukraine, P. 279.
6. Sarkisov G.T., Sarkisyan R.Sh., *Hakobyan N.E.*, Manukyan A.M., Karapetyan L.M. Assessment of individual differences in behavior of laboratory animals in a “free choice of novelty”. // X International Congress “Neuroscience for Medicine and Psychology”, 2–12 June 2014, Sudak, Crimea, Rusia, P. 286–287.
7. Саркисов Г.Т., *Акопян Н.Э.*, Манукян А.М., Карапетян Л.М., Коваль И.Н., Туманян В.А., Саркисян Ж.С. К проблеме исследования индивидуальных различий поведения лабораторных животных. // Материалы Международной научной конференции “Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа-2”. 23–26 сентября 2014, Ереван, С. 339–341.
8. Акопян Н. Э. Проявление половых различий при исследовании спонтанного поведения крыс в условиях новизны. // Биологический журнал Армении. 2014; 1(66), С. 36–40.

## ՆԱԻՐԱ ԷՄԻԼԻ ՀԱԿՈՒՅՑԱՆ

### «ՆՈՐՈՒՅԹԻ ԱԶՏԱ ԸՆՏՐՈՒԹՅԱՆ» ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒԹՅԱՆ ԿԵՆՏՐԱՆԻՆԵՐԻ ՎՐԱՔԱԳՑԻ ԱՆՀԱՏԱԿԱՆ-ՏԻՊԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԱԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆԸ

#### ԱՍՓՈՓԱԳԻՐ

*Հանգուցային բառեր՝ մուկ, առնետ, անհատական առանձնահատկություններ, հետազոտական վարքագիծ, սեռային տարբերություններ:*

Ներկայումս լաբորատոր կենդանիների վարքի անհատական առանձնահատկությունների գնահատման մեթոդաբանության մշակումը հանդիսանում է նեյրոկենսաբանության արդիական հարցերից մեկը: Լաբորատոր կենդանիների (մկների, առնետների) հետազոտման համար այս կամ այն չափով կիրառվող փորձարարական մոդելների մեծամասնությունը հիմնվում է նորույթի պայմաններում կենդանիների հետազոտական վարքի վերլուծության վրա:

Մեր ուսումնասիրություններում ուշադրությունը շեշտադրվել է «նորույթի ազատ ընտրության» պայմաններում վարքի թեստավորման սխեմայի վրա, երբ փորձարարական կենդանին ունի ընտրության հնարավորություն հետազոտել նորը, թե ոչ:

Կիրառվող հետազոտական վարքագծի փորձարարական մոդելը, (ստեղծված ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության և հիդրոէկոլոգիայի ԳԿ կենդանիների վարքագծի ֆիզիոլոգիայի լաբորատորիայում) հանդիսանում է երկու արդիական թեստերի «սև-սպիտակ խցիկի» և «բաց դաշտի» համադրումը:

Մեր աշխատանքներում փորձաքննվել է փորձարարական մոդել, որը հնարավորություն է տալիս գնահատել կենդանու նոր ինֆորմացիայի պահանջի (ելք էկոլոգիապես նախընտրելի մուկ խցիկից) և ինքնապահպանության պահանջի, որը նախաձեռնում է նոր իրավիճակի գնահատում օրգանիզմի համար պոտենցիալ վտանգի առումով (տագնապի ռեակցիա), միջև կոնֆլիկտի աստիճանը:

Փորձարարական մոդելը թույլ է տալիս փորձարկման ընթացքում իրականացնել վարքագծի ավտոմատ վիդեո և համակարգչային արձանագրում և հետագա տվյալների մշակում հատուկ կազմված ծրագրային փաթեթի միջոցով՝ BehaviorVision AM:

Կատարված ուսումնասիրությունները բացահայտել են, որ կիրառվող «հետազոտական վարքագծի փորձարարական մոդել» թեստը բավականին արդյունավետ է լաբորատոր կրծողների վարքագծի սեռային, տիպաբանական և միջտեսակային տարբերությունների գնահատման համար:

Սթրեսորի («նորույթի») ազդեցության պայմաններում սպիտակ առնետների և մկների հետազոտական վարքագծի սեռային տարբերությունների ուսումնասիրությունը բացահայտել է, որ էգերը ավելի ակտիվ են և ավելի քիչ են հակված իրավիճակային տագնապայնության, քան արուները: Ընդ որում արուների մոտ հայտնաբերվել է վարքագծային բնութագրերի վարիաբեկության ավելի բարձր մակարդակ՝ էգերի համեմատ: Արու առնետներն ու մկները նախընտրում են աջակողմյան տեղաշարժումներ: Ելնելով հետազոտական ակտիվության դրսևորման առանձնահատկություններից կենդանիների յուրաքանչյուր խմբում իրականացվել է

դասակարգում: Հաշվարկվել է առնետների և մկների հիմնական ակտիվությունը (ՀԱ), ինչը թույլ տվեց հետազոտված կենդանիներին բաժանել 3 խմբերի՝ համապատասխանաբար ցածր, միջին և բարձր ՀԱ: Արդյունքների վերլուծությունը ցույց է տվել, որ արու առնետների և մկների խմբում գերակշռում են ցածր ՀԱ օժտված առանձնյակներ, այն դեպքում, երբ էգերի խմբում ընդհակառակը, կենդանիների մեծ մասը դրսևորում է բարձր ՀԱ:

Հետազոտական վարքագծի փորձարարական մոդելի պայմաններում կենդանիների փորձարկումների տվյալների վերլուծությունը բացահայտել է առնետների և մկների հետազոտական վարքագծի զգալի տարբերություններ: Մասնավորապես ցույց է տրվել, որ լաբորատոր մկները հետազոտական գործունեության առավել առանցքային ցուցանիշներով հաստատապես գերազանցում են առնետներին:

Ներյոկենսաբանական ուսումնասիրությունների հեռանկարային ուղղություն կարելի է համարել կենդանի օրգանիզմների վարքագծի անհատական առանձնահատկությունների և ախտածին ազդեցությունների միջև կապի խնդիրը: Նշված պրոբլեմի սահմաններում փորձարարական ուսումնասիրությունները հաճախ հիմնվում են օրգանիզմի արձագանքման տիպի դասակարգման վրա, որը ուղղված է սթրեսային իրավիճակի հաղթահարմանը (coping strategy, coping style) (ակտիվ և պասիվ կոպինգային ռազմավարություն) [Boisy, 1995; Mendl, Deag, 1995; Жыков, 1997; 2007]: Այստեղ առավել վիճահարույց է կենդանիների կոպինգային վարքագծի ակտիվության աստիճանի գնահատման խնդիրը: Հենց «նորոյթի ազատ ընտրության» պայմաններում սխեմայով փորձարարական մոդելի կիրառումը, մեր կարծիքով, թույլ է տալիս աղեկվատ գնահատել կոպինգի ակտիվության աստիճանը, ըստ այնպիսի ցուցանիշների, ինչպիսիք են կենդանու բաց տարածություն առաջին ելքի լատենսիան, հետազոտության սկզբում շարժման արագությունը և արագացումը: Կենդանու սթրեսային վիճակի հաղթահարման այս կամ այն ձևի հետ մեկտեղ անհրաժեշտ է որոշել նաև այդ վիճակի վերահսկելիության աստիճանը, քանի որ կոպինգային ռազմավարության արդյունավետությունը պայմանավորված է նրանով, թե որքանով է իրավիճակը վերահսկելի կամ անվերահսկելի [Benus et al., 1991; Castanon, Mormede, 1994; Жыков, 1997]:

Այսպիսով, մեր ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ կենդանիները (մկները), որոնք հակված են պասիվ կոպինգային ռազմավարության, անվերահսկելի սթրեսի պայմաններում (չարորակ ուռուցքի պատվաստում), ավելի դիմացկուն են ախտածին ազդեցության նկատմամբ, քան ակտիվ արձագանքմանը հակված կենդանիները: Կատարված ուսումնասիրությունները ցույց են տալիս, «Բիոսկոպ» սարքավորումային համալիրի բավականին բարձր զգայունությունը առնետների սեռային տարբերությունների և նրանց, դիագնոստիկ ազդեցությամբ պայմանավորված, ֆունկցիոնալ վիճակի փոփոխությունների հանդեպ:

Ընդհանուր առմամբ, տրանկվիլիզատորի ազդեցության ուսումնասիրությունները առնետների վարքագծային դրսևորումների վրա կենդանիների ինտեգրատիվ վիճակի ոչ ինվազիվ գնահատման հետ համատեղ հաստատում են տարբեր բնույթի անքսիոտրոպ պրեպարատների ազդեցությամբ դրսևորվող սեռային տարբերությունների վերաբերյալ դրույթները:

**“THE STUDY OF INDIVIDUAL-TYOLOGICAL CHARACTERISTICS  
OF ANIMAL BEHAVIOR IN TERMS OF “FREE CHOICE OF NOVELTY”**

**SUMMARY**

*Keywords: mouse, rat, individual differences, exploratory behavior, sexual differences.*

At present, one of the actual problems of neurobiology is the development of methods for effective assessment of individual differences in the behavior of the laboratory animals. Most experimental models in one way or another used for the typology laboratory rodents (mice, rats) are focused on the analysis of the exploratory behavior of the animal in terms of novelty.

Our studies focus on the pattern of behavior in the testing situation of "free choice novelty," in which an experimental animal has a choice - to explore the new things or not.

The used experimental model of exploratory behavior, developed at the Laboratory of Physiology of animal behavior Scientific Center of Zoology and Hydroecology NAS RA is a hybrid of two popular tests - "black-and-white camera" and "open field".

Our research tested an experimental model that allows to test the degree of conflict between the needs of an animal in the new information (the output of environmentally preferred dark, enclosed shelter in the "open field") and the need for "self-preservation", which triggers the assessment of the new situation from the perspective of a potential danger for the organism (alarm reaction).

The experimental set-up allows carrying out automatic video and computer logging of behavior during the testing with subsequent data processing using a specifically designed software package - BehaviorVision AM.

Thus, our studies suggest that the used test of experimental model of exploratory behavior is quite effective in the analysis of sexual, typological and interspecific differences in the behavior of laboratory rodents.

The studying of sexual differences in exploratory behavior of white rats and mice in terms of the stressor ("novelty") found that females are more active and less prone to situational anxiety than males. It found a higher level of variability of behavioral characteristics in males compared with females. It is also shown that the degree of spatial asymmetry in males was significantly higher compared to females. Male rats and mice prefer dextral motion. Was also carried out the ranking of animals in each group considering the activity's behavioral parameters. Evaluated basal activity (BA) of rats and mice allowed us to divide the tested animals into 3 groups: with low,

medium and high BA. The Analysis of the results revealed that among male rats and mice dominated animals with low BA, while among females, in contrast, most animals exhibit high BA. Experimental result`s analysis conducted in terms experimental model of exploratory behavior revealed some differences in exploratory behavior of rats and mice. In particular it is shown that laboratory mice on most key indicators of research activity were significantly superior to rats.

The perspective direction of neurobiological research can be considered as the problem of the relationship between the individual characteristics of the behavior of living organisms and resistance to pathogenic influences.

Experimental studies in the framework of the mentioned problem are often based on classification of behavior by type of the response of the organism to coping with the situation of stress (coping strategy, coping style) - active and passive coping strategy [Boisy, 1995; Mendl, Deag, 1995; Жуков, 1997; 2007]. The most discussion problem is the issue of how to assess the extent of activity of coping behavior of animals. The use of experimental models in a "free choice novelty" allowed adequate, in our view, to evaluate the degree of activity of coping based on such parameters of behavior as the first exit latency of the animal in the open space, velocity and acceleration of movement at the beginning of the test.

Along with the assessment of the propensity of the animal to a particular style of overcoming the stressful situation is necessary to determine the degree of controllability of the situation - the effectiveness of coping strategies depends on whether the situation is controlled or uncontrolled [Benus et al., 1991; Castanon, Mormede, 1994; Жуков, 1997].

Thus, our studies have shown that animals (mice) that are inclined to passive coping strategies in a situation of uncontrollable stress (artificial engraftment of sarcoma) are more resistant to the pathogenic effects than animals that tend to actively respond.

Conducted studies have shown relatively high sensitivity apparatus complex "Bioscope" to sex differences in rats and to the change of their functional state, caused by the action of diazepam.

In general, studies of the influence of the tranquilizer in rats` behaviors in conjunction with the non-invasive assessment of integrative state of animals reasserts the sex differences in the different nature anxiogenic effects.

