

УДК 57.024:616–092.4

## ПОВЕДЕНЧЕСКОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В СОВРЕМЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

**Балакин Г.Ю., Синельникова В.А., Поляков Н.К., Андреев О.А.**

*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения РФ, Волгоград, e-mail: post@volgmed.ru*

В данной статье описаны различные методы поведенческого фенотипирования, их особенности, а также специализированное оборудование, применяемое в каждом из них. Поведенческое фенотипирование помогает выявить различные отклонения в функционировании центральной нервной системы у трансгенных и нокаутных генотипов, начиная с моторно-двигательных реакций и заканчивая особенностями эмоционально-психической сферы. Также совокупность данных методов используется при тестировании различных лекарственных препаратов на лабораторных животных. Разделение поведения на моторные и сенсорные, эмоциональные, социальные и «интеллектуальные» компоненты является во многом условным, но необходимым для дифференцировки их друг от друга. В связи с этим целью данной работы было осветить, описать, изучить и классифицировать множество методов поведенческого фенотипирования. Данная работа может помочь молодым исследователям правильно подобрать методы для того или иного эксперимента, корректно применить их и может стать опорой для адекватного анализа результатов различных исследований на животных.

**Ключевые слова:** поведенческое фенотипирование, биологические исследования, поведенческие тесты, моторная активность, сенсорная функция, эмоциональное поведение

## BEHAVIORAL PHENOTYPE TESTS AND THEIR APPLICATION IN MODERN BIOLOGICAL RESEARCH

**Balakin G.Y., Sinelnikova V.A., Polyakov Y.A., Andreyuk A.O.**

*Volgograd Medical State University, Volgograd, e-mail: post@volgmed.ru*

This article describes the various methods of behavioral phenotyping, their features, as well as specialized equipment used in each of them. Behavioral phenotyping helps to identify various abnormalities in the functioning of the central nervous system in transgenic and knockout genotypes, ranging from motor-motor responses to the features of the emotional-mental sphere. Also, the combination of these methods is used when testing various drugs in laboratory animals. The separation of behavior into motor and sensory, emotional, social and "intellectual" components is in many respects conditional, but necessary for their differentiation from each other. In this regard, the purpose of this work was to illuminate, describe, study and classify a variety of methods of behavioral phenotyping. This work can help young researchers to choose the right methods for this or that experiment, apply them correctly, and can be the basis for an adequate analysis of the results of various animal studies.

**Keywords:** behavioral phenotyping, biological research, behavioral tests, motor activity, sensory function, emotional behavior

Поведенческое фенотипирование – процедура комплексной оценки поведенческих характеристик лабораторных животных. Она помогает выявить различные отклонения в функционировании центральной нервной системы у трансгенных и нокаутных генотипов, начиная с моторно-двигательных реакций и заканчивая особенностями эмоционально-психической сферы. Также совокупность данных методов используется при тестировании различных лекарственных препаратов на лабораторных животных, а также при оценке их безопасности [1]. Разделение поведения на моторные и сенсорные, эмоциональные, социальные и «интеллектуальные» компоненты является во многом условным, но необходимым для дифференцировки их друг от друга. Реально эти поведенческие паттерны представляют пересекающиеся множества, где в каждом присутствуют компоненты всех остальных. В эксперименте предваритель-

ное тестирование моторных и сенсорных функций позволяет избежать фальшивых положительных и отрицательных результатов при предъявлении более сложных поведенческих задач, например, с обучением, при котором используются сенсорные стимулы и в ходе выполнения участвует моторика. Все эти тесты преследуют единую цель всесторонней проверки функционирования нервной системы. Разные лаборатории используют вариативные наборы поведенческих тестов.

Цели: осветить, описать, изучить и классифицировать имеющиеся методы поведенческого фенотипирования, их особенности, а также специализированное оборудование, применяемое в каждом из них.

Актуальность: данный обзор поможет молодым исследователям правильно подобрать методы для того или иного эксперимента, корректно применить их и может стать опорой для адекватного анализа ре-

зультатов различных исследований на животных.

### **1. Методы исследования поведенческих реакций, требования к модели поведения**

Исследование поведенческих реакций осуществляется при помощи группы методов, как правило инструментальных:

1. Методы оценки индивидуальной (моторной) активности;
2. Методы оценки сенсорных функций;
3. Методы оценки эмоционального поведения;
4. Методы оценки когнитивных функций;
5. Методы исследования социального поведения.

Существует несколько принципов выбора экспериментальной модели поведения. Первый принцип – чувствительность к проводимым манипуляциям. Это подразумевает наличие четких поведенческих изменений в ответ на действие внешних или внутренних факторов. Вторым, не менее важным принципом, является валидность. Это обоснованность и пригодность выбранной модели для адекватного моделирования соответствующей патологии [2].

Также важными критериями выбора модели являются ее релевантность и надежность. Релевантность – это соответствие и сходство воздействия и поведенческой реакции животного таковым в естественных условиях; надежность – повторяемость результатов у разных экспериментаторов при разных условиях. В современном мире одним из обязательных критериев выбора тест-модели поведения является этичность. Этичность касается как выбора теста, так и выбора модельного объекта – животного.

Процедура тестирования поведенческой модели подразумевает подготовительный этап и непосредственно тестирование. Не менее чем за 1 час до проведения эксперимента животных следует поместить в тихое и слабоосвещенное помещение. При этом исключаются перегруппировка животных, кормление, и активные манипуляции с ними, при этом необходимо учитывать общее состояние животных [3, 4, 5].

### **2. Тесты и аппаратура для фиксации результатов тестирования**

Регистрирующее оборудование. Эта категория оборудования включает в себя приборы для ручной и автоматической фиксации поведенческих реакций. К таковым относятся аналоговые и цифровые приборы, снабженные различными датчиками, позволяющими зафиксировать поведенческий акт, а также тесты, снабженные системами автоматической фиксации.

Оборудование для видеотрекинга. Системы видеотрекинга представляют собой системы цифровой фиксации поведенческих реакций животных. Они позволяют регистрировать активность исследуемых животных, траектории их движения, поведенческие акты и другие параметры [6].

Инфракрасный монитор активности. Представляет собой двухмерную квадратную раму и систему инфракрасных лучей для детектирования движений животного.

Для проведения тестов используется различное оборудование, побуждающее животное к тому или иному поведенческому акту, который в свою очередь регистрируется при помощи приведенного выше оборудования или снабженное собственной системой автоматической фиксации. К таковому относится оборудование, позволяющее оценить координацию, моторную активность, способность к обучению, память, а также провести оценку эмоционального поведения животных.

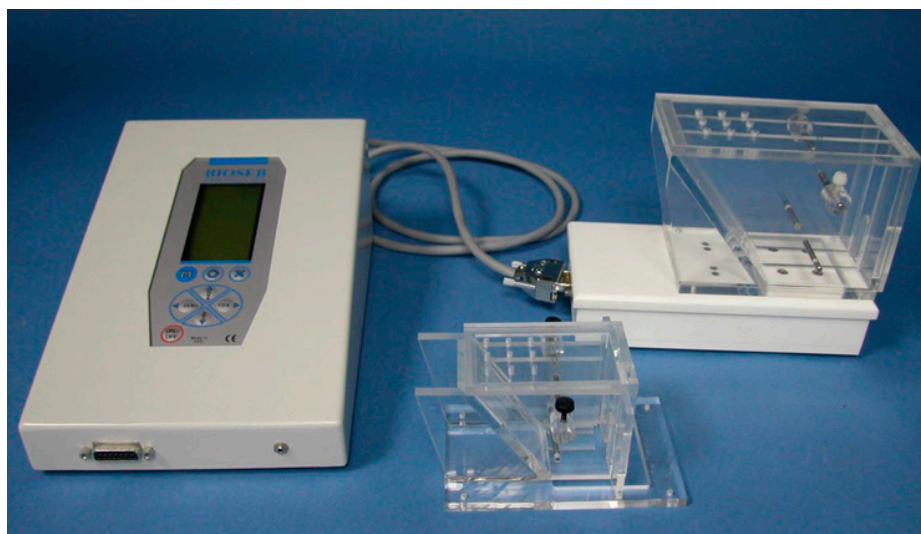
#### *Тесты оценки сенсорных функций*

В таковых используются приборы для регистрации слуховых, зрительных, обонятельных и болевых реакций. Измерение подёргиваний хвостом: хвост животного подвергается воздействию источника тепла, животное подергивает хвостом, ощущая дискомфорт. Время от начала стимуляции до ответной реакции измеряется автоматически.

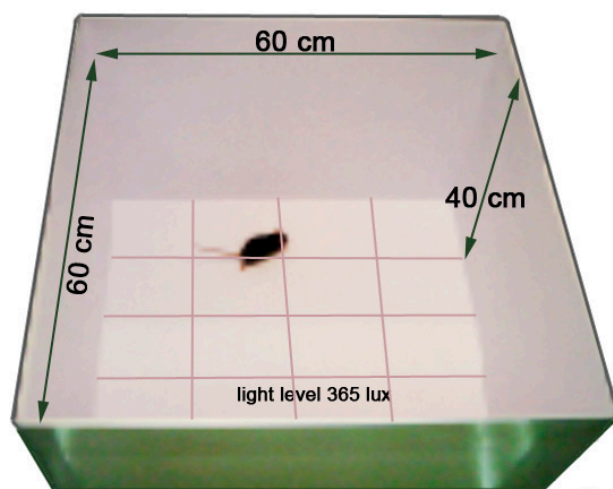
Тест «горячая пластина». Тест оценивает болевой рефлекс при контакте подушечек лап с горячей поверхностью, время до отдергивания конечности фиксируется. Давление на конечность, тест Рэндэлла и Селитто: тест для определения порога болевой чувствительности посредством равномерно увеличивающегося давления на лапу животного. Тест инвалидности: тест для изучения болевой чувствительности у грызунов в отсутствие внешнего болевого стимула. Основан на регистрации спонтанных изменений положения тела животного (рис. 1).

#### *Тесты для оценки координации и моторной функции*

Открытое поле. Установка представляет открытую арену, дно которой размечено равными квадратами (рис. 2). В центр помещается животное. Тест основан на регистрации количества пересеченных квадратов разметки в течение определенного промежутка времени. Данный метод позволяет оценивать моторную активность, координацию и исследовательскую активность. Данный тест используется в совокупности с системами видеофиксации [7].



*Рис. 1. Тест инвалидности компании PanLab*



*Рис. 2. Тест открытое поле*

Ротарод. Животные помещаются на вращающийся валик, скорость вращения и ускорение которого контролируются экспериментатором (рис. 3). Время удержания животного на валике фиксируется автоматически.

Ротометр. На изучаемое животное надевают упряжку, которая подсоединяется к датчику вращения при помощи эластичной ленты. Животное помещается в прозрачный контейнер, после чего ротаметр записывает число частичных и полных по-

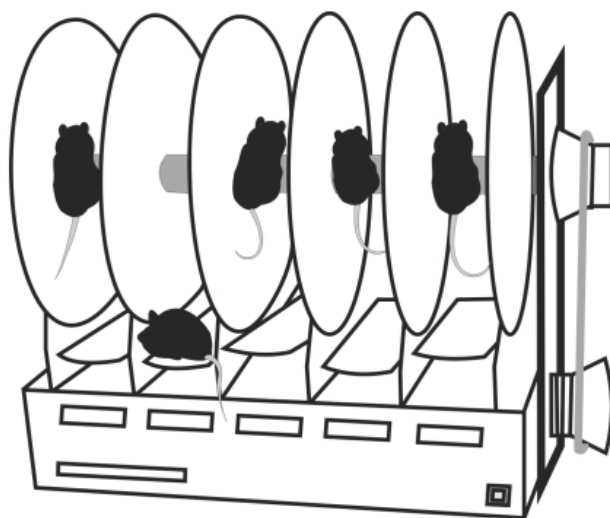


Рис. 3. Ротарод

воротом по направлению часовой и против часовой стрелки во время исследования животным его окружения [8].

Прибор измерения силы хватки. Животное держат за хвост и позволяют ухватиться за рамку прибора, который затем регистрирует максимальную силу хватки, развиваемую животным (рис. 4).

зунов. Представляет собой колесо, которое устанавливается в клетку, может быть снабжено датчиками для фиксации времени, скорости и других параметров вращения колеса [3].

*Тесты для оценки обучения, памяти и внимания*

Ящик для изучения реакции пассивного избегания. Оценка реакции пассивного

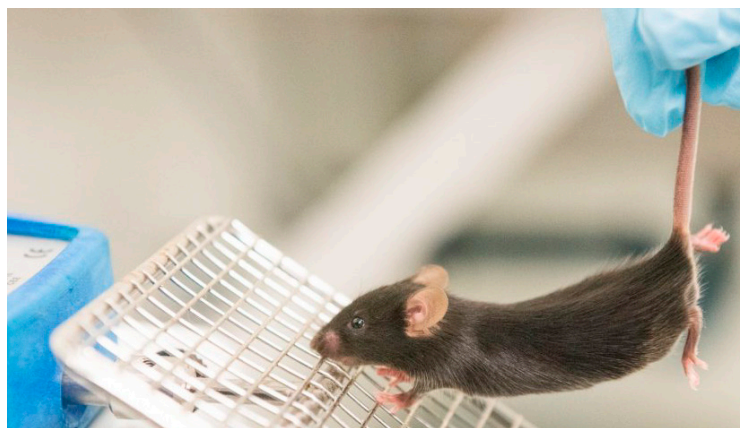


Рис. 4. Прибор измерения силы хватки

Беговая дорожка. Представляет собой ленту, движущуюся с задаваемой скоростью и наклоном. Животные принуждаются к бегу с помощью ударов электрического тока, осуществляемых при помощи электрода, расположенного в конце дорожки.

Беговое колесо. Устройство для оценки добровольной двигательной активности гры-

избегания является способом изучения памяти грызунов. Ящик состоит из большого ярко освещенного отделения белого цвета и небольшого слабо освещенного отделения черного цвета, вход в которое сопровождается слабым ударом тока [4].

Челночный ящик. Используется для изучения активных и пассивных реакций из-

бегания. Состоит из двух отделений одинакового размера и оборудован генераторами звуковых и зрительных раздражителей. Положение животного регистрируется автоматически для определения числа перемещений между отделениями [9].

Радиальный лабиринт. Восьмилинейный радиальный лабиринт используется для изучения пространственной и непространственной памяти, ассоциированной с различными типами мотивации.

Устройство для самостимуляции. Модульная конструкция для проведения экспериментов, связанных с поощрением и зависимостью.

Ящик для изучения места предпочтения. Ящик состоит из двух соединенных коридором отделений, различающихся рисунком на стенах, текстурой пола и размером. Время, проведенное в каждом из отделений, фиксируется автоматически.

#### *Тесты для оценки эмоциональной активности*

Черно-белый ящик. Тест основан на предпочтительном нахождении животного в одном из отделений ящика: небольшом слабо освещенном отделении черного цвета или ярко освещенном большом отделении белого цвета [3].

Приподнятый крестообразный лабиринт. Данный тест представляет собой 2 открытые и 2 закрытые дорожки, крестообразно сочлененные и приподнятые над уровнем пола. Тест основан на конфликте между страхом открытого пространства и стремлением исследовать незнакомое окружение [9].

Конфликтная ситуация по Вогелю. Используется для оценки степени тревожности грызунов. В этом тесте попытка пить предварительно лишеного воды животного сопровождается ударом электрического тока. При этом измеряется число попыток пить и число ударов тока.

Принудительное плавание. Животные помещаются в цилиндрические емкости с водой, из которых они не в состоянии выбраться. Время, в течение которого животное неподвижно висит в воде, т.е. проявляет симптомы депрессии, фиксируется видеосистемой [6].

Подвешивание за хвост. Животное подвешивается за хвост, после чего с помощью датчиков-преобразователей усиливается регистрируется сила, энергия и мощность движений мыши, пытающейся избежать подвешивания.

#### **Заключение**

Таким образом, были приведены и классифицированы имеющиеся методы поведенческого фенотипирования, освещены основные требования к моделям поведения, описаны тесты и аппаратура для фиксации результатов тестирования для каждого из приведенных методов.

#### **Список литературы**

1. Букатин М.В., Бугаева Л.И., Кузубова Е.А., Спасов А.А. Влияние эноксифола на поведенческую активность крыс-самцов // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2012. – № 1 (41). – С. 93–95.
2. Сендрякова В.Н., Кокаева И.К., Трохов К.А., Букатин М.В. Проблемы моделирования гнойной раны у крыс // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 8. – С. 38.
3. Амикишиева А.В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование // Вестник ВОГиС. – 2009. – Т. 13. – № 3. – С. 529–542.
4. Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Казакова Л.Х., Алимкина О.В., Касинская Н.В. Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине // Биомедицина. – 2012. – № 4. – С. 15–21.
5. Bukatin M.V., Ovchinnikova O.Y., Krivitskaya A.N., Chernikov M.V., Samburov A.V., Sendrjakova V.N. Technique of the integral estimation the general condition of laboratory animals in medical and biologic experiments // Международный журнал экспериментального образования. – 2010. – № 6. – С. 40.
6. Конушин А., Ветров Д., Воронин П., Синдеев М., Ломакина-Румянцева Е. Система видеонаблюдения за поведением лабораторных животных с автоматической сегментацией на поведенческие акты // ГрафиКон'2008: труды 18-й Международной конференции по компьютерной графике и зрению. – М., 2008. – С. 199–205.
7. Пермяков А.А., Елисева Е.В., Юдицкий А.Д., Исакова Л.С. Поведенческие реакции у экспериментальных животных с различной прогностической устойчивостью к стрессу в тесте «открытое поле» // Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле». – 2013. – № 3. – С. 83–90.
8. Etemadzadeh E., Koskinen L., Kaakkola S. Computerized rotometer apparatus for recording circling behavior. Methods and findings in experimental and clinical pharmacology. – 1989. – Т. 11. – № 6. – С. 399–407.
9. Самотруева М.А., Теплый Д.Л., Тюренков И.Н. Экспериментальные модели поведения // Естественные науки. – 2009. – Т. 27. – № 2. – С. 140–152.