

Тест «Экстраполяционное избавление» применяют для изучения когнитивных функций животных в острой стрессогенной ситуации.

Процедура тестирования крыс

В начале тестирования крысу опускают (хвостом вниз) внутрь высокого и узкого прозрачного цилиндра, нижним концом погруженного в воду на глубину 2 см. Минимальную глубину воды подбирают с учетом размеров животного, так, чтобы крыса могла касаться дна только концом хвоста (его дистальной третью). На внутренней поверхности емкости с водой, в которую погружен цилиндр, находится трап, по которому животное, совершившие подныривание, может выбраться из воды.

Чтобы избавиться из стрессогенной ситуации в ТЭИ, животное должно совершить цепочку действий: 1. покинуть ограничительный цилиндр, поднырнув под его нижним краем 2. найти трап, подвешенный на бортик емкости; 3. по трапу выбраться из воды.

Длительность тестирования (от момента посадки в цилиндр до момента подныривания) составляет 2 минуты.

При тестировании регистрируют:

1. латентный период прыжковой активности или карабканья после посадки в цилиндр;
2. время, затраченное животным на прыжки или карабканье внутри цилиндра;
3. длительность иммобильности (если эта форма поведения выражена);
4. латентный период подныривания;
5. латентный период вылезания на трап

Обработка данных

Паттерн поведения крыс в цилиндре складывается из 2 показателей: латентный период прыжкового поведения (ЛП прыжков) и латентный период подныривания (ЛП подныривания). Отношение этих показателей (ЛП прыжков / ЛП подныривания) отражает скорость принятия правильного решения (т. е. подныривания) с учетом локомоторной реактивности животного в ответ на попадание в воду. Данный показатель получил название «Коэффициент эффективности» (Кэфф.). График распределения данного показателя для крыс при первом помещении их в ТЭИ не является нормальным, поэтому при статистической обработке данных рекомендуется использовать непараметрические критерии.

Требования к животным

Важно отметить, что поведение подныривания в ТЭИ характерно только для х крыс старше 7 недель, в то время как врожденная локомоция к нырянию имеется уже у 3-недельных крысят (Бондаренко Нина.А. 2012). Однако, крысята линии Вистар, матери которых, а впоследствии и они сами, пили сильно минерализованную воду, не проявили

способности к подныриванию в ТЭИ даже в возрасте 9 недель (данные не опубликованы). Это наблюдение может служить подтверждением возможности использования ТЭИ для оценки дефектов развития у крыс.

Когнитивные механизмы поведения подныривания крыс в ТЭИ-1

Исследования показали, что подныривание у крыс при их первом помещении в ТЭИ (ТЭИ-1) является компонентом исследовательского, «внимательного» поведения (Бондаренко Нина А. 2017), направленного на формирование когнитивной карты среды (Бондаренко Нина А. 2012; 2013; 2016). Предварительный опыт животного относительно возможности (или невозможности) спасения из воды вне цилиндра определяет, будут животные стремиться выйти из цилиндра посредством подныривания, или нет (Бондаренко Н.А. 2013). В терминах теории принятия решений (Gallivan JP e.a., 2018) такое поведение может быть описано как «целенаправленный выбор действия с учетом его прогнозируемой эффективности». Прогностическое («экстраполяционное») поведение животных по-видимому обуславливает возможность экстренного формирования цепочки действий, основанной на соподчинении целей («Где потенциально может находиться спасительный трап?» и «Как выйти из цилиндра?») (Бондаренко Нина.А. 2014).

Индивидуальные различия поведения крыс в ТЭИ-1

Паттерн поведения белых беспородных крыс в ТЭИ-1 зависит от температуры воды. В сильно стрессогенной ситуации (температура воды 16⁰С) большинство животных демонстрируют высокую прыжковую активность (Кэфф. < 0.5). При снижении стрессогенности ситуации (температура воды 24⁰С или 32⁰С) процент таких животных достоверно уменьшается (Бондаренко Нина А., 2015). Предварительная экспозиция к острому и хроническому стрессу способствует усилению прыжкового поведения в ТЭИ (Бондаренко Николай А. 1982; Бондаренко О.Н., Бондаренко Н.А., Манухина Е.Б. 1999; Пшенникова М.Г. и др., 1999). Адаптация к стрессу, а также вещества со стресс протективной активностью и бензодиазепиновые анксиолитики (в низких, не седативных дозах), вызывают ослабление прыжкового поведения. Полученные данные указывают на связь показателя Кэфф. с факторами «эмоциональная реактивность» и «тревожность» (Бондаренко Николай А. 1982; Бондаренко Нина А., Бондаренко Николай А. 2014).

Нарушение способности к подныриванию у крыс в ТЭИ-1

Способность к подныриванию у крыс в ТЭИ-1 нарушают неспецифические агонисты дофаминовых рецепторов (апоморфин, амфетамин, л-ДОФА) (Бондаренко Нина А. 1992). Антипсихотики галоперидол и трифторперазин, (в отличие от атипичных антипсихотиков сульпирида и клозапина, а также антидепрессанта имипрамина и анксиолитика феназепам), предупреждают вызванное л-ДОФА возникновение когнитивной патологии в ТЭИ. (Бондаренко Нина А., Бондаренко Н.А. 1985.)

Обучение крыс в ТЭИ

При повторных помещениях крыс в установку ТЭИ (ТЭИ-1, ТЭИ-2, ТЭИ-3, ТЭИ-4 с интервалом от 30 минут до 14 суток) животные быстро оптимизируют свое поведение. Сокращается латентный период подныривания, уменьшается число безуспешных попыток выпрыгивания/вылезания из воды, совершенствуется моторика подныривания и карабкания по трапу из воды. Такое быстрое многоступенчатое последовательное

обучение по-видимому не является оперантным, а происходит с участием функции «эпизодического контроля» (Бондаренко Нина А., 2013, 2021).

Обнаружены индивидуальные различия динамики обучения крыс в ТЭИ. Крысы с высокой эмоциональной реактивностью, которые много прыгают в ТЭИ-1 (Кэфф <0.5), улучшают свое поведение в ТЭИ-2. По-видимому, высокая «цена» решения поисковой задачи в ТЭИ-1 для этих животных приводит к включению механизмов контекстного обучения, облегчая тем самым решение задачи в ТЭИ-2. Низкоэмоциональные крысы, которые мало прыгают в ТЭИ-1(Кэфф.>0.5), впоследствии много прыгают в ТЭИ-2. По-видимому, малая «цена» их успешной адаптации в ТЭИ-1 является оптимальной для формирования неспецифической сенситизации к аверсивным факторам, сходной по некоторым признакам с ПТСР человека (Бондаренко Нина А., 2018). Таким образом, паттерн поведения крыс в ТЭИ-2 коррелирует с их поведения в ТЭИ-1 (коэффициент корреляции Спирмена равен 0.94). В ТЭИ-3 и ТЭИ-4 поведение животных всех типов становится одинаково высокоэффективным (Бондаренко Нина А. 2015).

Нарушение способности к подныриванию у крыс в ТЭИ-2

Способность к подныриванию у крыс в ТЭИ-2 нарушают вещества – неспецифические агонисты дофаминовых рецепторов (апоморфин, амфетамин, л-ДОФА) Антипсихотики разных классов избирательно предупреждают развитие когнитивной патологии в ТЭИ-2, вызванной введением л-ДОФА (Бондаренко Нина А. 1990;1992).

Влияние геометрии среды на поведение подныривание у крыс

Поведение подныривания в ТЭИ критически зависит от диаметра цилиндра (Бондаренко Нина А. 2013) Поэтому его подбирают в соответствии с размерами животного. (<https://www.openscience.ru/index.php?page=articles&article=004>).

Подныривание у крыс возникает не только в узком цилиндре, но и при накрывании плавающей крысы воронкой (тест инстинктивной аверсии, ТИА). В отличие от ТЭИ, поведение подныривания в ТИА реализуется без участия когнитивных функций. (Бондаренко Нина.А. 2012; 2014). Апоморфин дозозависимо нарушает способность крыс к подныриванию в ТИА, а галоперидол, клозапин, сульпирид, тиаприд и дилепт (в низких дозах) предупреждают эту патологию. Однако анти апоморфиновые эффекты антипсихотиков в ТИА имеют свою специфику и отличаются от наблюдаемых при антагонизме с л-ДОФА в ТЭИ (Бондаренко Н.А. с соавт., 2017).

Крысы также демонстрируют поведение подныривания в установке, где цилиндр заменен на перевернутый вверх дном «стакан» (тест ТЭИ1-Ст). Л-ДОФА нарушает данную форму поведения, а антипсихотики галоперидол и сульпирид (в низких дозах) препятствуют этому эффекту.

Таким образом, галоперидол был равно эффективен в отношении эффекта л_ДОФА у наивных крыс в ТЭИ-1, ТЭИ-2 и ТЭИ-Ст. Сульпирид проявлял свою активность только у обученных животных в ТЭИ-2 и наивных животных в ТЭИ-Ст.. Полученные результаты демонстрируют возможность использования батареи тестов (ТЭИ1, ТЭИ2, ТИА, ТЭИ1-Ст) в доклинических исследованиях для поиска веществ, предположительно способных улучшать когнитивные функции больных шизофренией, а также изучения механизмов их действия (Бондаренко Нина А. 2024).

Взаимодействие ТЭИ с другими тестами

Предварительная экспозиция крыс к тесту «неизбегаемое плавание» существенно ухудшает способность животных к подныриванию в ТЭИ. Обратная процедура (ТЭИ-НП), не влияет на поведение животных. Эти данные могут быть интерпретированы в терминах «выученная беспомощность» и «Иммунизация против выученной беспомощности» (Бондаренко Нина А. 1992, 2013).

Использование ТЭИ для тестирования мышей

Установка ТЭИ для мышей является уменьшенной копией установки ТЭИ для крыс и представляет собой стеклянный цилиндр, диаметром 2,5см и длиной 10см, нижним концом на 5мм погруженный в емкость с водой (температура воды 22⁰С, глубина столба воды 15см). Предварительные исследования показали, что лабораторные мыши имеют повышенную реактивность на захват рукой. Поэтому мы разработали специальную процедуру помещения их в ТЭИ. Мышей берут за основание хвоста и опускают в емкость с водой, а затем быстро накрывают переднюю часть туловища животного стеклянным цилиндром, погружая его на необходимую глубину. Животных извлекают из установки сразу после подныривания (а при отсутствии подныривания - через 2 минуты после начала тестирования). В этих условиях способность к извлечению в ТЭИ демонстрируют 90% мышей линии BALB/С. Среди мышей других линий (С57В1/6, СС57/у, СВА и DBA) такая способность проявляется в среднем лишь у 10% животных. Феназепам (0.25мг/кг в.б.) не изменяет, а буспирон (1.0 мг/кг в.б.), так же как и двухнедельное содержание животных в виварии в условиях повышенной температуры воздуха (32⁰С), достоверно увеличивают процент подныривающих животных линии С57В1/6. Учитывая, что психотропное действие буспилона опосредовано его влиянием на серотониновые (5-НТ-1А) рецепторы мозга, играющие важную роль в механизме терморегуляции, полученные данные позволяют предположить наличие у мышей тесной взаимосвязи когнитивных и гомеостатических функций (Бондаренко Нина А. 2011).

В отличие от «классической» установки ТЭИ, у большинства мышей линий С57В1/6, BALB\с и DBA наблюдается поведение подныривания в модифицированной установке ТЭИ (ТЭИ-Ст.) Оно (так же, как и поведение подныривания у крыс в ТЭИ) зависит от температуры воды (Бондаренко Нина А. 2019).

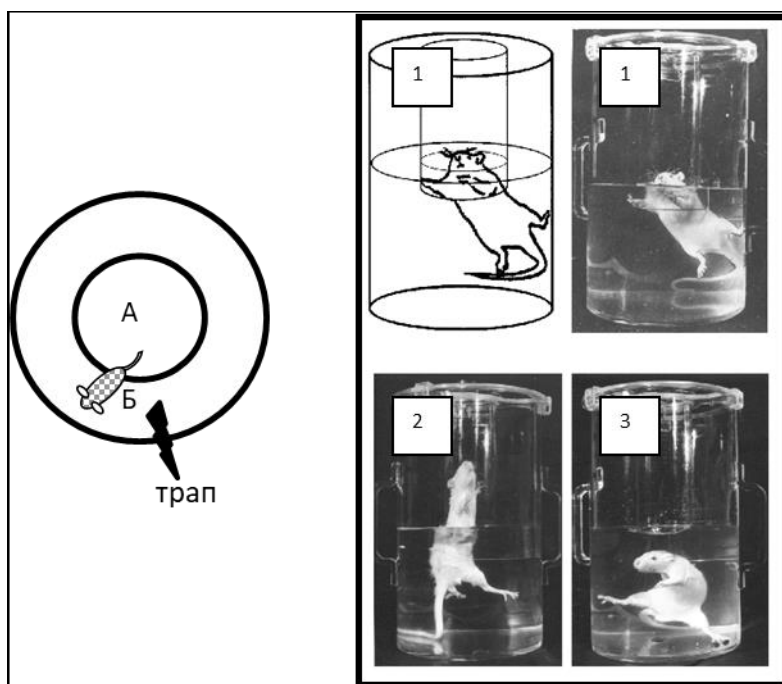


Рис. 1. Тест экстраполяционного избавления (ТЭИ):

A – цилиндр;

Б – внешнее пространство;

1 – исходное положение животного;

2 – попытка животного выпрыгнуть из цилиндра;

3 – подныривание под нижним краем цилиндра.

Обработка данных

Паттерн поведения крыс в ТЭИ складывается из 2 показателей: латентный период прыжкового поведения (ЛП прыжков) и латентный период подныривания (ЛП подныривания). Отношение этих показателей (ЛП прыжков / ЛП подныривания) отражает скорость принятия правильного решения (т.е. подныривания) с учетом локомоторной реактивности животного в ответ на попадание в воду. Данный показатель получил название «Коэффициент эффективности» (Кэфф). График распределения данного показателя не является нормальным, поэтому при статистической обработке данных рекомендуется использовать непараметрические критерии.

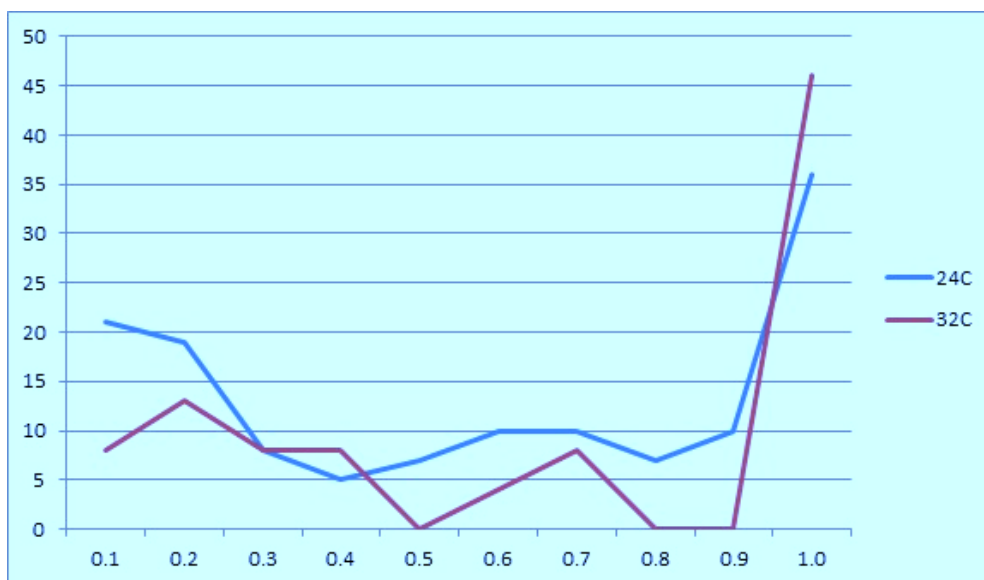


График распределения показателя «коэффициент эффективности» (Кэфф)

Кэфф. = ЛП прыжков / ЛП подныривания

24⁰С: n = 292 крысы 32⁰С: n= 24 крысы

Абсцисса: Кэфф. Ордината: % крыс в выборке с таким Кэфф.

Литература

Bondarenko Nina. A. (2017). Anxiety and the problem of “inattentive” animals in water maze tests. *The Russian Journal of Cognitive Science*, 4(4), 45–51.

Gallivan JP, Chapman CS, Wolpert DM, Flanagan JR (2018) Decision-making in sensorimotor control. *Nat Rev Neurosci* 19:519–534. 10.1038/s41583-018-0045-9. <https://cogjournal.org/eng/4/4/BondarenkoRJCS2017.html>

Бондаренко Николай. А. 1982. Изучение стресс-протективного действия психотропных средств и нейропептидов в зависимости от индивидуальной реактивности животных. / Бондаренко Николай. А.// Дис. на соиск. учен. степ. к биол. н.

Бондаренко Нина А. Изменение когнитивных функций лабораторных мышей, содержащихся в условиях повышенной температуры. Териофауна России и сопредельных территорий. Материалы международного совещания, 1-4 февраля 2011 г., Москва. М., Товарищество научных изданий КМК, 2011.

Бондаренко Нина А. 1990. Избирательное влияние нейрорептидов на дофаминзависимое нарушение поведения крыс в тесте экстраполяционного избегания. БЭБиМ, 1990, №11, стр. 506-508

Бондаренко Нина А. 2012. / Реакции-двойники в поведении крыс. Всероссийская конференция поведению животных. Сборник тезисов. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2012.

Бондаренко Нина А. 2013. Изучение возможности формирования целенаправленного поведения у крыс с «одной пробы» в тесте «Экстраполяционное избегание». // Эволюционная и сравнительная психология в России: традиции и перспективы / Под ред. А.Н. Харитоновой. – М.: Изд-во «Институт психологии РАН», 2013. с. 122-130.

Бондаренко Нина А. 2014. «ГДЕ?» и «КАК?» в целенаправленном поисковом поведении крыс//Шестая международная конференция по когнитивной науке: Тезисы докладов. Калининград, 23–27 июня 2014 г.

Бондаренко Нина А. 2015. Чему учатся крысы с разной эмоциональной реактивностью в тесте «экстраполяционное избегание»? Когнитивная наука в Москве: новые исследования. Материалы конференции 16 июня 2015г. Под ред.Е.В. Печенковой, М.В. Фаликман. – М.: ООО «Буки Веди», ИППиП. 2015.

Бондаренко Нина А. 2018. ПТСР-подобная симптоматика возникает у крыс после однократной экспозиции к тесту «Экстраполяционное избегание». ВОСЬМАЯ МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ПО КОГНИТИВНОЙ НАУКЕ Светлогорск, 18–21 октября 2018 года. Тезисы докладов. Ответственные редакторы: А.К. Крылов, В.Д. Соловьев.

Бондаренко Нина А. 2019. Смещение внимания (attention bias) на потенциально авersive стимулы у мышей линии C57Bl/6 в тесте «экстраполяционное избегание» Ориентация и навигация животных. Тезисы II научной конференции. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2019. с.9.

Бондаренко Нина А. 2021. Быстрое многоступенчатое последовательное обучение с отложенной обратной связью у крыс в тесте «Экстраполяционное избегание». Когнитивная наука в Москве: новые исследования. Материалы конференции 23–24 июня 2021 г. Под ред. Е.В. Печенковой, М.В. Фаликман, А.Я. Койфман. М.: «Буки Веди», ИППиП. 2021 г. – 556 стр.

Бондаренко Нина А. 2024. Батарея трансляционных тестов для поиска и изучения механизма действия прокогнитивных нейрорептидов в доклинических исследованиях тезисы докладов на конференцию «Достижения и перспективы фундаментальной

физиологии: к столетию кафедры физиологии человека и животных МГУ» Москва, 29-30 ноября 2024 г. (в печати).

Бондаренко Нина А., Бондаренко Н.А. 1985. Нарушение поведения крыс, вызванное Мадопаром, и его фармакологическая коррекция //Фармакология и токсикология, 1985, 4, с.31-34.

Бондаренко Нина А., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Дурнев А.Д. 2017. Новая трансляционная модель когнитивного дефицита при шизофрении Молекулярная медицина 2017 т.15, №5, стр. 58-64.

Бондаренко Нина А., Бондаренко Николай А..2014. Индивидуальные различия поведения крыс в тесте «Экстраполяционное извлечение»: возможность выявления «тревожного» фенотипа. Тезисы Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождению академика АМН ССР Артура Викторовича Вальдмана ИННОВАЦИИ В ФАРМАКОЛОГИИ: ОТ ТЕОРИИ К ПРАКТИКЕ 27-28 октября 2014 г, Санкт-Петербург. С. 28-30.

Бондаренко Нина А. 2016. Пространственное обучение крыс «с одной пробы»: возможно ли это? Седьмая международная конференция по когнитивной науке Светлогорск, 20-24 июня 2016 г. страницы: 165-166.

Бондаренко О.Н., Бондаренко Нина.А., Манухина Е.Б. 1999. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели у крыс // Бюл. экспер. биол. и медицины. – 1999. – № 8. – С. 157–160.

Бондаренко, Нина А. 1992. Поиск нейролептиков на основе анализа дофаминзависимого нарушения когнитивных функций/ Бондаренко, Нина А. // Дис. на соиск. учен. степ. к. биол. н.

Пшенникова М.Г., Бондаренко Нина.А., Шимкович М.В., Бондаренко О.Н., Малышев И.Ю. 1999. Различия в поведении и устойчивости к язвенному поражению желудка крыс линии Август и Вистар, адаптированных и не адаптированных к гипоксии. БЭБиМ 1999, Т 128, №12, стр. 638.