

На правах рукописи



Голибродо Василиса Антоновна

**ИССЛЕДОВАНИЕ КОГНИТИВНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ ЛАБОРАТОРНЫХ
МЫШЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ**

03.03.06. – Нейробиология

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Москва - 2014

Работа выполнена в лаборатории физиологии и генетики поведения кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Научный руководитель:

Полетаева Инга Игоревна

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и генетики поведения кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Официальные оппоненты:

Степанчиков Михаил Юрьевич

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория функциональной биохимии нервной системы, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии» Российской Академии Наук.

Зарайская Ирина Юрьевна

кандидат биологических наук, заведующая лабораторией системогенеза поведения, отдел системной нейробиологии и функциональной нейрхимии, Научно-Исследовательский Институт Нормальной Физиологии им. П.К. Анохина.

Ведущая организация:

Институт Цитологии и Генетики Сибирского отделения Российской Академии Наук, г. Новосибирск.

Защита диссертации состоится 09 февраля 2015 года в 15:30 на заседании диссертационного ученого совета Д 501.001.93 при биологическом факультете МГУ имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, Воробьевы горы, д. 1, стр. 12, ауд. М-1.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова и на сайте <http://www.bio.msu.ru/>.

Автореферат разослан 28 декабря 2014 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук



Умарова Б.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В настоящее время активно исследуются когнитивные способности животных и человека, но в изучении нейрогенетического аспекта этой проблемы имеется много нерешенных вопросов. Сам термин «когнитивные способности» животных понимается исследователями по-разному. В это понятие можно включать не только способность к решению логических задач (Зорина, Полетаева, 2002–2009), но и более простые функции, отражающие пластичность мозга — способность к обучению, исследовательское поведение и даже привыкание. Если же под термином «когнитивные способности» подразумевать способность животных оперировать простейшими законами окружающей среды (Крушинский, 1977, 1986, 2009), то оказывается, что собственно генетических исследований, проведенных с использованием традиционных методов генетики, немного. К ним можно отнести, например, исследование межлинейных различий в этих способностях (Крушинский и др., 1986; Перепелкина и др., 2006), оценку межлинейных различий в способности животных к формированию пространственных представлений и памяти, а также выявление участия в этих процессах отдельных генетических элементов (Перепелкина и др., 2013).

В начале 1970-х годов в лаборатории физиологии и генетики поведения (по инициативе Л.В. Крушинского) была сделана попытка провести селекцию крыс на высокие показатели решения теста на экстраполяцию направления движения стимула, исчезнувшего из поля зрения животного (относящегося к категории тестов на элементарную рассудочную деятельность). Однако уже на ранних этапах селекции было обнаружено, что крысы-потомки особей с высокими показателями решения этого теста обнаруживали чрезвычайно высокий уровень тревожности (боязнь обстановки теста), затруднявший возможность проведения с ними дальнейших экспериментов. В настоящее время в той же лаборатории ведется селекция линии мышей (линия ЭКС) на высокие показатели решения задачи на экстраполяцию с одновременным отбором животных, которые не обнаруживают признаков боязни обстановки данного теста. Сам процесс формирования такой линии мышей путем искусственного отбора представляет собой перспективный инструмент для исследования поведения животных, в частности, для выяснения связи между особенностями когнитивного поведения и реакциями организма на неблагоприятные воздействия, которые на уровне общей организации мозга грызунов могут оказаться связанными между собой и могут обнаружить сложный характер взаимодействия.

Ранее было продемонстрировано, что фенотипическая изменчивость и в склонности к проявлению состояния тревоги, и в способности к экстраполяции имеют определенный генетический компонент (Крушинский и др., 1975). Возможно, что в ходе селекционного эксперимента можно выявить различия и сходства в размахе и «знаке» изменений признаков в ответе на селекцию на эти два признака поведения. Оба они (способность к решению элементарной логической задачи и тревожность), важны для адаптации и отдельных особей, и популяций.

Выполнение настоящей диссертационной работы было актуальным, поскольку в экспериментах на животных требовалось выявить возможность селекции мышей на «когнитивный» признак с целью формирования линии, имеющей высокие показатели решения задачи на экстраполяцию. Полученные данные о малой эффективности такой селекции на собственно анализируемый признак и выявление особенностей когнитивного поведения мышей этой линии в других тестах тем более актуальны, что позволяют рассматривать поведение животных интегрально, оценивая взаимное

влияние когнитивных способностей и тревожности. Значительная доля усилий, которые тратятся в настоящее время в психиатрии на поиск лечения тревожных расстройств, показывает, что создание новых лабораторных моделей, в которых можно анализировать взаимовлияние когнитивных способностей и тревожности, весьма актуально (Waters et al., 2014). Изменения в поведении животных селектируемой линии по ходу искусственного отбора позволяют говорить, во-первых, о сложности генетического определения изучаемого признака — способности к экстраполяции, а, во-вторых, о важной роли уровня тревожности животных при решении ими когнитивных задач, а также о неоднородности состояния тревоги у лабораторных грызунов. Эти вопросы актуальны для психиатрии и неврологии, поскольку неоднородность и сложная природа тревожных расстройств у человека ставит задачу поиска новых лекарственных соединений, тестирование которых в ходе предклинических испытаний требует создания новых лабораторных моделей. Существование генетического компонента когнитивных способностей животных способствует созданию таких моделей.

Целью настоящей работы было дать характеристику возможных изменений поведения мышей (локомоторная активность, способность к обучению, исследовательское поведение, реакция на новизну) в процессе искусственного отбора на когнитивный признак — способность к экстраполяции — при сравнении их показателей с поведением мышей неселектированной контрольной популяции.

Достижение поставленной цели требовало решить ряд конкретных **экспериментальных задач**, т.е. было необходимо:

1. тестировать способность к решению элементарной логической задачи (тест на экстраполяцию) мышей селектируемой линии (ЭКС) и контрольной (неселектируемой) популяции КоЭКС в последовательных поколениях предпринятого селекционного эксперимента;
2. оценить ряд показателей поведения мышей ЭКС и КоЭКС в ходе селекционного эксперимента (способность к обучению, уровень тревожности, уровень исследовательской активности и боязни новизны);
3. исследовать возможные различия в поведении мышей ЭКС и КоЭКС при решении другого когнитивного теста — на «поиск входа в укрытие»;
4. оценить возможные различия в уровне нейрогенеза мышей линии ЭКС в сопоставлении с контролем;
5. провести анализ динамики исследуемых показателей с течением селекции;
6. провести анализ признаков поведения (способность к экстраполяции, уровень тревожности и боязни новизны) у мышей-нокауты по гену NCX2 (ген, кодирующий белок «натрий-кальциевый обменник») в сопоставлении с поведением контрольных мышей «дикого типа».

Научная новизна работы. Изменения, которые происходят в поведении грызунов при их селекции не на способность к обучению, а на способность к решению элементарной логической задачи, никогда не изучались. Такие когнитивные способности, как формирование пространственных представлений у лабораторных крыс и мышей, интенсивно исследуются с выявлением роли отдельных генетических элементов в их реализации, однако экспериментов по использованию классических генетических подходов (в данном случае искусственного отбора на контрастные значения признака) для исследования генетической основы этого поведения, практически не проводилось. Настоящая работа является первой попыткой такого рода. Также впервые проанализированы соотношения способностей лабораторных

мышей к решению элементарной логической задачи и выраженности у них тревожности (разных типов), а также исследовательской активности и реакции на новую обстановку.

Теоретическая и практическая значимость работы. Исследование генетико-физиологических основ когнитивных способностей грызунов имеет общепсихологическое теоретическое значение как один из подходов к анализу самой сложной функции мозга — когнитивного поведения. Взаимодействие проявлений тревожности, исследовательской активности, нефилии и неофагии в текущем поведении лабораторных животных и при решении ими элементарных логических задач дает информацию о «структуре» сложных форм поведения, которая должна лежать в основе разработки простых моделей когнитивного поведения человека. Исследование этих взаимоотношений важно для оценки эффективности новых психотропных фармакологических агентов, а также для исследования эффективности так называемых когнитивных «энхансеров». Планы исследователей-медиков по использованию соединений, предположительно усиливающих психические функции человека, важны и актуальны, но реализация их требует отработки этих подходов на лабораторных моделях. В этом аспекте знания о генетических и физиологических особенностях организации когнитивного поведения у лабораторных животных имеют большое практическое значение.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Впервые исследовано поведение лабораторных мышей в последовательных поколениях искусственного отбора на высокие показатели когнитивного признака (способности к экстраполяции направления движения стимула, исчезающего из поля зрения животного), с одновременным отбором против проявлений тревожности.
2. В первых поколениях селекции мыши селективируемой линии ЭКС обнаружено успешное решение теста на экстраполяцию (в отличие от контроля, популяции КоЭКС), а уровень тревожности мышей ЭКС (по данным теста приподнятого крестообразного лабиринта) был ниже, чем в контроле.
3. Начиная с F9 показатели способности к экстраполяции у мышей ЭКС стали устойчивыми, а уровень тревожности по тесту ПКЛ стал таким же, как в контроле.
4. Мыши, селективируемые на способность к экстраполяции, достоверно успешнее, чем контрольные, решают другой когнитивный тест — на «поиск входа в укрытие», а также успешнее обучаются пищедобывательному навыку;
5. У мышей ЭКС уровень боязни новизны (по результатам тестов «открытое поле» и на уровень гипонеофагии) оказался ниже по сравнению с контролем, также как и уровень исследовательской активности.
6. Выявленные изменения в когнитивном поведении и уровне тревожности мышей исследованных групп свидетельствуют о существовании генетической компоненты изменчивости этого признака. Постулируется зависимость проявления этого признака от поведения тревоги.

Апробация работы. Данные, полученные в диссертации, были представлены в качестве докладов или стендовых сообщений на XVII, XVIII, XIX Международных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2010, 2011, 2012 год, соответственно); на XXI съезде физиологического общества имени И.П. Павлова (Москва–Калуга, 2010); на Седьмом международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак,

Украина, 2011); на XV, XVI, XVIII научной школе-конференции молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии (Москва, 2011, 2012, 2014 год, соответственно); на 13th Annual Meeting of the International Behavioral and Neural Genetics Society (Rome, Italy, 2011); на V Всероссийской конференции по поведению животных (Москва, 2012); на Пятой международной конференции по когнитивной науке (Калининград, 2012); на 15th Annual Meeting The International Behavioural & Neural Genetics Society (Leuven, Belgium, 2013); на Третьей научной конференции «Поведение и поведенческая экология млекопитающих» (Черноголовка, 2014); на 9th FENS FORUM (Milan, Italy, 2014).

Материалы диссертации были апробированы на заседании кафедры высшей нервной деятельности Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова 30 сентября 2014 года.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 4 статьи, из них 2 — в изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура и объем работы. Диссертация включает в себя следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Выводы и Список цитируемой литературы (271 источник). Работа изложена на 179 страницах, содержит 32 оригинальных рисунка и 19 таблиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные животные и ведение селекции. В экспериментах были использованы животные следующих генотипов: мыши разных поколений селектированной линии ЭКС и контрольной неселектированной популяции КоЭКС; мыши-мутанты с нокаутом гена, кодирующего белок «натрий-кальцевый обменник-2» (NCX2) и контрольные мыши с нормальным генотипом («дикий тип»). Мышей содержали в стандартных пластиковых клетках (33 x 22 x 8 см и 42 x 26 x 15 см; по 5–7 и 10–12 особей соответственно) в условиях естественной смены освещенности и свободного доступа к комбикорму (фирмы МЭСТ или Чара) и воде, за исключением периодов пищевой и питьевой депривации перед тестами на способность к экстраполяции и к обучению, а также перед тестом на гипонеофагию (см. ниже). Все эксперименты проводились в соответствии с Директивой 2010/63 Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г.

Исходной популяцией для проведения селекции на способность к экстраполяции были мыши-гибриды, полученные от скрещивания мышей четырех аутбредных линий (БМ, ММ, RLB и RSB, селектированных на большой и малый вес мозга) (Перепелкина и др., 2006, 2011). В свою очередь, данные линии были выведены из популяции гибридов от скрещивания 7 инбредных линий мышей (CBA/Lac/Sto, C3H/He, C57BL/6J, CC57BR/MvRap, DBA/2J, A/He, BALB/c). Для получения мышей следующего поколения отбирали животных, поведение которых отвечало следующим требованиям (критериям отбора). Они должны были 1) правильно решить тест на экстраполяцию при его первом предъявлении; 2) решить этот тест правильно в 5–6 предъявлениях из 6, т.е. суммарная доля правильных решений данного теста должна была быть не ниже 85%; 3) у этих животных не должно было обнаруживаться проявлений страха и тревоги при выполнении теста на экстраполяцию (т.е. животные не должны были отказываться от выполнения теста и не обнаруживать «нулевых» решений, см. ниже). Тестирование животных проводили после достижения ими 3 мес. возраста. После проведения лабораторных тестов проводился подбор пар производителей для получения мышей следующего

поколения. Одного самца сажали с 1–2 самками, беременных самок отсаживали в отдельную клетку, регистрировали дату рождения и число детенышей в помете. В возрасте 4–5 недель мышата получали индивидуальные метки, и их рассаживали по полу.

Тестирование поведения животных. Способность к экстраполяции направления движения пищевого стимула оценивали в специальной камере (рис. 1) после 18 часов питьевой и пищевой депривации. Тест «поиск входа в укрытие» (burrowing task, Galsworthy et al., 2002) проводили в пластиковой камере, разделенной на две части, темную (14 x 28 x 27.5 см) и освещенную (30 x 28 x 27,5 см), соединенные друг с другом углублением-«лазом». Ширина и глубина этого «лаза» — 4,5 x 1,5 см, длина — 11,5 см. В этом тесте животное осуществляло реакцию избегания, испытывая боязнь ярко освещенного нового пространства. Тест проводили в течение 2 дней, предъявляя задачу 8 раз, из которых в 1-й день в течение 2 попыток лаз был открыт, а в 2 следующих пробах он был присыпан стружкой вровень с полом. На следующий день пробу повторяли с лазом, присыпанным вровень с полом, а затем лаз закрывали легкой пластиковой пробкой, которую следовало либо отодвинуть, либо вынуть зубами (2 таких пробы). В последней пробе всю стенку камеры, в которой был лаз, засыпали стружкой на высоту 5–6 см. Успешность решения теста оценивали по времени, требующемуся для перехода мыши в темное отделение (критерий — не более 240 с для решения варианта теста с «пробкой» и 180 с — для остальных попыток). Т-образный лабиринт (обучение инструментальному пищевому навыку) состоял из стартового отсека и центрального рукава (размеры 6 x 6 см и 20 x 6 см) и двух 2 боковых рукавов (20 x 6 см), в конце одного из которых помещали каплю молока. После сеанса приучения отмечали время захода голодной мыши (18 ч депривации) в подкрепляемый боковой отсек. Выполнение 80% безошибочных заходов в этот отсек в течение эксперимента или семь таких "правильных" побегов подряд было критерием обученности. Проводили 3 ежедневных опыта, по 10 предъявлений в каждом. В тесте приподнятый крестообразный лабиринт в течение 3 мин оценивали число выходов мыши в светлые рукава, время в светлых рукавах, а также число «свешиваний» с открытых рукавов, переходов «темный рукав-темный рукав», выглядываний из темных рукавов, вертикальных стоек, число эпизодов груминга, уровень дефекации. Определение уровня гипонеофагии (боязни новой пищи). Мышь, предварительно лишенную пищи (но не воды) на 18 часов, помещали в небольшую цилиндрической формы камеру (диаметр 40 см, высота стенок 25 см), в центре которой размещали мелкую пластиковую чашечку с новой пищей (сыр в виде мелких «кубиков», 3 x 3 x 3 мм). В течение 10 мин наблюдения вручную отмечали время, которое мышь проводила за едой, число подходов животного к пище, а по окончании теста — вес съеденной пищи. Тест «открытое поле» (круглая арена, d=80 см, сторона квадрата — 8 см, 16 отверстий-«норок», освещение лампой 40 Вт), длительность теста — 5 мин «фоновое» тестирования и 5 мин после помещения в центр арены нового предмета (перевернутая фаянсовая чашка, высотой 8 см с верхним диаметром 9 см, нижним — 7 см). В полуавтоматическом режиме (РС программа М.Г. Плескачевой) регистрировали двигательную активность животного в центральной и периферической зонах (число пересеченных квадратов), вертикальную активность (число стоек), число заглядываний в «норки», число и длительность эпизодов груминга, число дефекаций, число и длительность эпизодов взаимодействия с предметом.

Число животных, использованных в работе, указано в табл. 1.

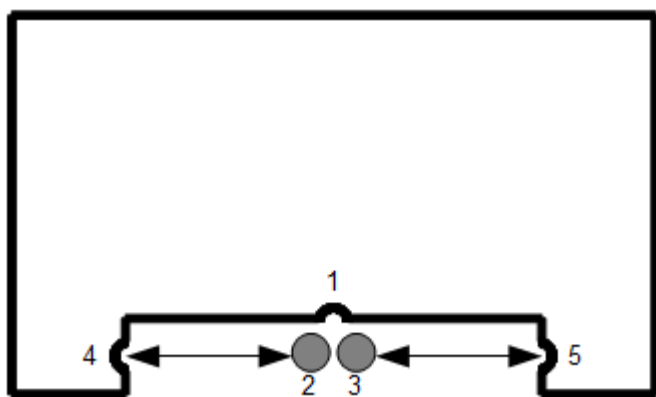


Рис. 1. Схема установки для тестирования способности к экстраполяции. В камере мышь начинала пить молоко через центральное отверстие (1), после чего поилку (2 или 3) перемещали вправо или влево, и она скрывалась из поля зрения, придвигаясь вплотную к одному из боковых отверстий (4 или 5). Правильное решение - подход мыши к боковому отверстию, в направлении

которого переместилась поилка. Если при первом предъявлении теста животное не подошло к центральной поилке в течение 3 мин, либо отказалось это делать в течение теста, то в протоколе фиксировали «отказ» от решения. Если животное после того, как поилка исчезла из поля зрения, не подходило ни к одному из боковых отверстий в течение 2 мин, то фиксировали «0». Контрольная поилка («уравновешивание» запаха молока) двигалась в противоположном направлении, оставаясь недостижимой. Тест предъявляли 6 раз, а направление движения поилки чередовали в квазислучайном порядке. Результаты оценивали по доле (в %) правильных решений при первом предъявлении теста, а также по доле правильных решений суммарно за 6 предъявлений теста и их отличию от случайного уровня.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Способность к экстраполяции направления движения раздражителя.

Наиболее показательными в аспекте способности к решению элементарной логической задачи являются данные первого ее предъявления, поскольку у животного нет опыта решения этой задачи. В то же время выполнение этого теста, в особенности при его первом предъявлении, может быть осложнено повышенной боязнью новой обстановки опыта. В первых поколениях селекции на высокие показатели теста на экстраполяцию доля правильных решений при первом предъявлении теста у мышей ЭКС была выше случайного уровня начиная с 3-го поколения (отличия от КоЭКС недостоверны, рис. 2), тогда как у мышей КоЭКС — только в поколениях с 4-го по 6-е.

Данные по решению этого теста при первом предъявлении в поколениях F8–F12 представлены на рис. 3. Половые различия в начальных поколениях селекции были невелики, однако, начиная с F8, половые различия стали более четко выраженными, и далее данные по ним приводятся отдельно. Гистограмма показывает неустойчивый характер выполнения теста мышами обеих групп — доля правильных решений теста была выше 50% случайного уровня у мышей-самок обеих групп в 9-м поколении, и у самцов ЭКС 10-го поколения, причем в этом случае данная величина достоверно отличалась не только от показателей самок ЭКС, но и от самцов КоЭКС, что по ходу селекции произошло в первый раз. В F11 все показатели решения теста у всех четырех групп мышей не отличались от случайного уровня (возможно в связи какой-то неконтролируемой переменной в содержании животных), а в 12-м поколении доля правильных решений у самцов ЭКС была выше случайного уровня и достоверно выше соответствующего показателя мышей КоЭКС.

Таблица 1

Число животных, использованных в различных экспериментах в работе.

F	ЭКС						КоЭКС					
	Э	П	О	ПКЛ	ГФ	ОП	Э	П	О	ПКЛ	ГФ	ОП
1	99 (♂ и ♀)						43 (♂ ♀)					
2	154 (♂ и ♀)						47 (♂ ♀)					
3	145 (♂ и ♀)						43 (♂ ♀)					
4	112 (♂ и ♀)			16♂ 14♀			61 (♂ ♀)			12♂ 9♀		
F5	128 (♂ и ♀)						51 (♂ ♀)					
6	158 (♂ ♀)		34♂	36♂		30♂	73 (♂ ♀)		32♂	32♂		32♂
7	148 (♂ ♀)						123 (♂ ♀)					
8	24♂ 29♀			14♂	14♂		39♂ 25♀			14♂	14♂	
9	45♂ 62♀	42 (♂ ♀)		25♂ 27♀	20♂ 29♀		44♂ 44♀	39 (♂ ♀)		17♂ 55♀	22♂ 21♀	
10	107♂ 57♀	19♂		34♂ 36♀	23♂ 19♀		54♂ 52♀	15♂		53♂ 13♀	16♂ 17♀	
11	54♂ 53♀	44♂		21♂ 24♀	21♂ 11♀		43♂ 45♀	29♂		19♂ 19♀	14♂ 20♀	
12	42♂ 39♀	36♂	19♂	34♂ 16♀		13♂ 15♀	29♂ 57♀	34♂	20♂	36♂ 16♀		16♂ 15♀

Обозначения: F — поколение. Э — тест на способность к экстраполяции; П — тест на поиск входа в укрытие; О — обучение пищедобывательному навыку; ПКЛ — приподнятый крестообразный лабиринт; ГФ — тест на гипонеофагию; ОП — тест «открытое поле».

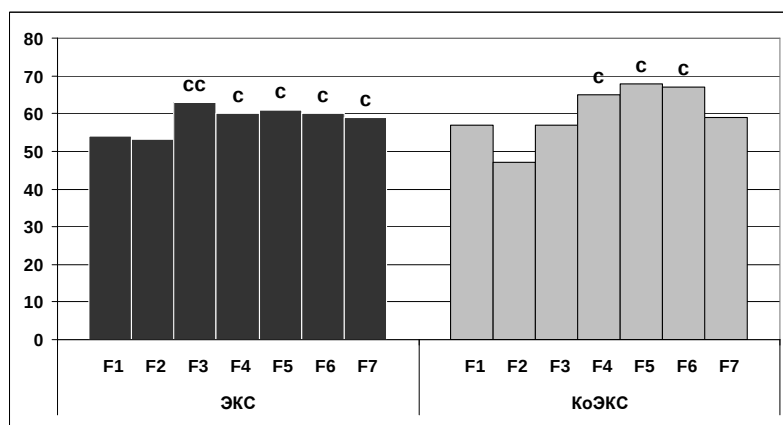


Рис. 2. Доли (% , ось ординат) правильных решений теста на экстраполяцию направления движения при его первом предъявлении в начальных поколениях селекции (F1–F7). Слева — мыши ЭКС, справа — мыши КоЭКС. ^c, ^{cc} — доля правильных решений достоверно отличается от 50%-ного случайного уровня при $p \leq 0,05$ и $0,01$, соответственно.

Таким образом, данные по решению задачи на экстраполяцию мышами, селектируемыми на высокие показатели этого признака, показывают слабый ответ на отбор. Это может отражать и высокую сложность генетического определения этого признака, и, связанную с ней, его высокую лабильность — изменчивость в связи со многими неконтролируемыми переменными (сезон, особенности кормления, метеобстановка и др.).

Как было сказано выше, настоящий селекционный эксперимент проводили с использованием не только критерия «высокие показатели решения теста на экстраполяцию», но также с учетом еще одного важного показателя поведения мыши

в камере для определения этой способности. В размножение брали тех успешно решивших тест животных, которые быстро подходили к центральному отверстию и решали задачу без «отказов» и «нулевых решений». Оказалось, что отбор против таких проявлений неophobia (боязни новизны) был эффективным, что проиллюстрировано на рис. 4. Число «отказов» от решения задачи было ниже у мышей ЭКС как в начале селекции, так и в 11–12 поколениях. По числу «нулевых решений» к 12-му поколению различия частично «сгладились» и их доля у ЭКС и КоЭКС не различалась.

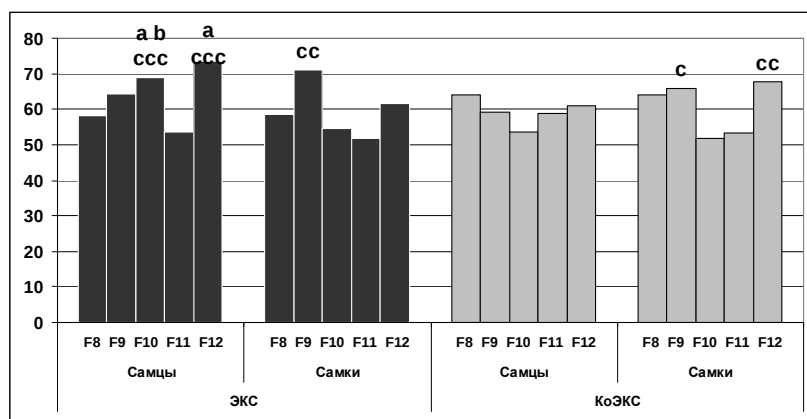


Рис. 3. Доли правильных решений теста на экстраполяцию направления движения (% , ось ординат) при первом его предъявлении в 8–12 поколениях селекции на высокие показатели этого теста (ЭКС, слева) и в контрольной популяции (КоЭКС, справа).
^a — достоверное отличие от показателя КоЭКС при $p=0,05$.
^b — достоверное отличие от

самок этой группы соответствующего поколения при $p=0,05$. ^c, ^{cc}, ^{ccc} — достоверно отличается от 50%-ного случайного уровня при $p \leq 0,05$; 0,01 и 0,001, соответственно.

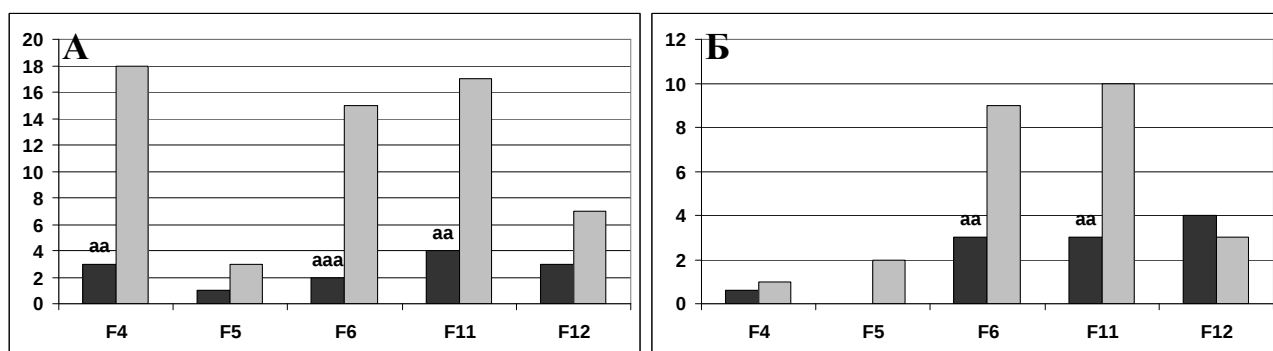


Рис. 4. Доля «отказов» от решения теста на экстраполяцию (А) и доля «нулевых» решений (Б) у мышей ЭКС и КоЭКС в 4, 5, 6, 11, 12 поколениях селекции на способность к экстраполяции. Темными столбиками обозначена линия ЭКС, светлыми — КоЭКС. ^{aa}, ^{aaa} — достоверно отличается от показателя КоЭКС при $p \leq 0,01$ и 0,001, соответственно.

Таким образом, предварительный итог селекции мышей на когнитивный признак заключается в следующем. Способность к экстраполяции направления движения стимула — показатели селектируемого признака у линии ЭКС — обнаруживала в поколениях селекции незначительное и неустойчивое преобладание над уровнем случайного выполнения этого теста. Иными словами, отбор мышей на высокие показатели решения теста на экстраполяцию (при одновременном отборе против проявлений тревожности, см. ниже) не привел к достоверному и устойчивому повышению доли правильных решений этого теста у мышей ЭКС.

Тест на поиск входа в укрытие («подкоп»). Время выполнения практически всех этапов теста было достоверно ниже у мышей ЭКС¹ (для F9 и F12 — рис. 5). Еще одним способом оценки успешности решения задачи на поиск входа в укрытие является сопоставление доли животных разных групп, успешно решивших тот или иной этап теста. В таблице 2 приведены доли мышей ЭКС и КоЭКС F9–F12 поколений селекции, которые успешно решили хотя бы одно из двух предъявлений наиболее трудного этапа теста — этапа с «пробкой», закрывающей лаз (которую нужно было либо вытащить, либо отодвинуть).

Таким образом, анализ решения теста на поиск входа в укрытие показал, что во всех тестируемых поколениях мыши ЭКС решают данный тест достоверно успешнее.

Обучение пищедобывательному навыку в Т-образном лабиринте. Мышей-самцов ЭКС и КоЭКС (в F6 и F12) обучали пищедобывательному навыку в Т-образном лабиринте. В F6 показатель усвоения навыка у мышей ЭКС (доля животных, достигших условного критерия обученности) за 3 дня опытов был ниже, чем у КоЭКС (29,41% у ЭКС и 46,88% у КоЭКС). В то же время, в F12 соотношение долей мышей, достигших условного критерия обученности (68,42% у ЭКС и 45% у КоЭКС) было иным. Иными словами, на этом этапе селекции мыши ЭКС обучались более успешно, чем КоЭКС, у которых этот показатель не изменился по сравнению с F6. В F6 мыши ЭКС достоверно быстрее подходили к кормушке (табл. 3). В F12 таких различий не выявлено, быстрота выполнения навыка мышами ЭКС по сравнению с животными F6 не изменилась. В то же время мыши КоЭКС в F12 «бегали быстрее» по сравнению с контрольными мышами КоЭКС F6.

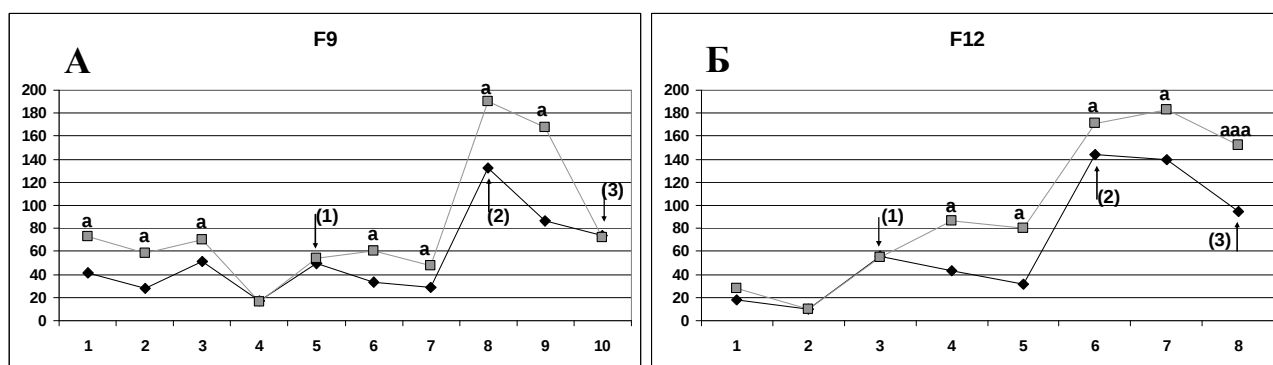


Рис. 5. Среднее время решения последовательных этапов теста на поиск входа в укрытие мышами ЭКС и КоЭКС (данные по самцам и самкам суммированы). По оси ординат — время в с. Черными ромбами обозначена линия ЭКС, серыми квадратами — линия КоЭКС. (1) — попытка с лазом, присыпанным опилками вровень с полом; (2) — попытка с пробкой, закрывающей лаз; (3) — попытка с лазом, засыпанным горой опилок. ^a, ^{aaa} — достоверно отличается от показателя ЭКС при $p \leq 0,05$ и $0,0008$, соответственно.

¹ В F9 тест на поиск входа в укрытие предъявлялся в варианте, описанном в оригинальной статье (Ben-Abdallah et al., 2011), т.е. его проводили в течение 3 дней, и он включал 10 этапов. При тестировании последующих поколений (10-12) протокол был упрощен за счет сокращения начальных этапов. В этих поколениях тест предъявляли в течение 2 дней, и он состоял из 8 этапов (см. Методы).

Таблица 2

Доля животных, решивших тест на поиск входа в укрытие (оценивалось решение теста в хотя бы одном из двух предъявлений «пробки»). n — число животных.

Поколение	Доля животных (%)	
	ЭКС	КоЭКС
F9	76,2 ^{aaa}	28,2
F10	100 ^{aaa}	46,7
F11	68,2 ^a	41,4
F12	91,7 ^{aaa}	26,4

^a, ^{aaa} — достоверно отличается от показателя КоЭКС при $p \leq 0,05$ и $0,001$, соответственно.

Таблица 3

Латентные периоды (средние $\pm$ ош. средн.) подхода мышами ЭКС и Ко-ЭКС к концу подкрепляемого бокового рукава Т-образного лабиринта за период обучения (3 дня).

Поколение	F6			F12		
	День 1	День 2	День 3	День 1	День 2	День 3
ЭКС	11,78 $\pm$ 1,93 ^a	8 $\pm$ 0,92 ^{aa}	5,48 $\pm$ 0,42 ^{aaa}	9,55 $\pm$ 1,71	9,93 $\pm$ 2,51	10,3 $\pm$ 2,94
КоЭКС	18,57 $\pm$ 2,46	15,62 $\pm$ 2,54	16,38 $\pm$ 2,84	13,78 $\pm$ 2,5	10,44 $\pm$ 1,79	10,26 $\pm$ 2,13

^a, ^{aa}, ^{aaa} — достоверно отличается от показателя ЭКС при $p \leq 0,03$; $0,005$ и $0,0002$, соответственно.

Таким образом, сравнение мышей 6-го и 12-го поколений по способности к усвоению инструментального навыка показало улучшение обучаемости у мышей ЭКС с течением селекции.

Уровень тревожности в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ).

Тестирование поведения мышей в ПКЛ проводилось в F4 и F6, а также с F8 по F12. Экспериментальные данные, полученные на мышах ЭКС и КоЭКС в серии поколений селекции, были обработаны с помощью дисперсионного трехфакторного анализа (ANOVA), с факторами «поколение», «линия» и «пол». Высокодостоверными оказались влияния факторов «генотип» и «поколение». Фактор «поколение» был значимым для показателей времени в светлых рукавах ПКЛ и числа выходов в них, но не для числа эпизодов груминга (время: $F=52,88$, $p=0,0000001$; выходы: $F=74,74$, $p=0,0000001$, груминг: $F=0,97$, $p=0,42$). Высокодостоверным было также взаимодействие факторов «генотип» и «поколение» (время: $F=14,43$, $p=0,000004$; выходы: $F=16,84$, $p=0,000000001$, груминг: $F=9,8$, $p=0,0000001$), что отражает обнаруженное и описанное ниже непостоянство «знака» различий некоторых показателей поведения в ПКЛ. Несмотря на то, что половые различия по многим показателям теста ПКЛ были обнаружены, ANOVA не выявил достоверного влияния этого фактора, а взаимодействие его с факторами «поколение» и «генотип» свидетельствует о непостоянстве «знака» этих различий.

В начальных поколениях селекции уровень тревожности мышей ЭКС был ниже по сравнению с неселектируемой популяцией — у них были выше показатели времени, проведенного в светлых рукавах ПКЛ и числа выходов в них. Табл. 4 показывает, что в последующих поколениях (F8–F12) произошло, во-первых, снижение абсолютных величин этих параметров у мышей обеих линий, чему трудно

дать объяснение, а, во-вторых, ослабление выраженности межлинейных различий. Число эпизодов груминга (которое также считается показателем тревожности мышей и крыс в новой обстановке) в F4 и F6 было достоверно ниже у мышей ЭКС, однако уже в F9 данный показатель был ниже у КоЭКС, а в F12 эти «инвертированные» по сравнению с начальными поколениями различия были достоверными (табл. 4). Данные по числу Т-Т переходов приведены в диссертации.

Таким образом, анализ данных по поведению мышей ЭКС и КоЭКС в тесте ПКЛ также свидетельствует о том, что картина межлинейных различий на начальных этапах селекции и на уровне F9-F12 изменилась. Обнаружились неустойчивые и разнонаправленные половые различия.

Таблица 4

Значения (средние±ош. средн.) показателей теста ПКЛ у мышей ЭКС и КоЭКС.

		Время, с		Число выходов		Груминг	
		ЭКС	КоЭКС	ЭКС	КоЭКС	ЭКС	КоЭКС
F4	♂	51,31±6,08 ^a	30,42±7,25	4,5±0,51	2,92±0,63	1,88±0,34	2,42±0,77
	♀	50±6,58 ^{aa}	15±5,29	5,43±0,61 ^{aaa}	1,44±0,65	1,07±0,27 ^{aaa}	3,67±0,53
F6	♂	29,83±3,44 ^{aaa}	14,22±2,3	3,08±0,32 ^{aaa}	1,44±0,26	1,36±0,23 ^{aaa}	4,06±0,43
F8	♂	12,21±1,62	19±4,08	1,78±0,28	1,78±0,43	1,92±0,32	1,64±0,26
F9	♂	8,72±1,73 ^{bb}	8,88±1,93	0,64±0,17 ^b	0,76±0,24	2,88±0,4 ^{a b}	1,59±0,32
	♀	18,44±4,08 ^a	11,11±1,45	1,3±0,3	0,82±0,14	1,81±0,33	1,56±0,18
F10	♂	8,03±1,4 ^a	6,55±0,79	0,56±0,15	0,25±0,08	2,65±0,26 ^a	1,83±0,18
	♀	5,58±1,22	8,15±3,05	0,28±0,09	0,46±0,22	2,17±0,32	1,62±0,29
F11	♂	8±1,85	13,95±4,24	0,57±0,22	1,11±0,35	2,62±0,33	1,95±0,4
	♀	12,17±2,63	15,26±4,66	0,79±0,23	1,05±0,28	2,08±0,25	1,42±0,26
F12	♂	5,91±1,03	7,39±1,15	0,32±0,12	0,39±0,13	2,74±0,24 ^{aaa b}	1,5±0,18
	♀	7,81±2,09	7,13±1,59	0,69±0,35	0,44±0,2	3,75±0,45 ^{aaa}	1,38±0,3

Время — время, проведенное в светлых рукавах, с; число выходов — число выходов в светлые рукава; груминг — число эпизодов груминга. ^a, ^{aa}, ^{aaa} — достоверно отличается от показателя КоЭКС при $p \leq 0,04$; 0,001 и 0,0009, соответственно. ^b, ^{bb} — достоверно отличается от показателя самок соответствующего поколения при $p \leq 0,03$ и 0,008, соответственно. Значения вероятности указаны по post hoc LSD анализу (по Фишеру).

Тест на боязнь новизны (гипонеофагия) Реакция животного на новую пищу в новой обстановке отражает и боязнь (осторожность) животного при попадании в незнакомое место, и боязнь новой пищи (что характерно для грызунов, у которых практически нет рвотного рефлекса, и они должны полагаться на осторожность при контакте с новой пищей, Deason, 2012). Однако для голодного животного, попавшего в такую ситуацию, характерно и проявление исследовательского поведения. Баланс этих двух тенденций при экспозиции мыши новой пище в новой (но не пугающей) обстановке и определяет показатели ее поведения. По всем трем показателям теста на гипонеофагию были обнаружены межлинейные и половые различия. Данные трехфакторного дисперсионного анализа (ANOVA с факторами «генотип», «пол» и «поколение») представлены в табл. 5. Влияние фактора «генотип» оказалось наиболее значимым, поскольку проявилось в высокодостоверных межлинейных различиях для всех трех показателей теста. Влияние фактора «пол» было значимым только для показателя «вес съеденной пищи», а фактора «поколение» — для веса съеденной пищи и для времени, занятого поеданием пищи. Выявленные в экспериментах половые различия были непостоянными в разных поколениях селекции, что отразилось в достоверности взаимодействия факторов «пол» и «поколение» для всех трех показателей теста. Взаимодействие факторов «генотип» и «пол» не было

достоверным, хотя в отдельных поколениях межлинейные различия либо отсутствовали, либо были обратными по знаку (взаимодействие «генотипа» и «поколения» для веса съеденного сыра могло быть связано с сезоном года).

Было обнаружено, что число подходов к пище за 10 мин теста (рис. 6А) было устойчиво выше у мышей ЭКС, однако с вариациями (как видно из рис. 6А — незначительными) в связи с влиянием пола (табл. 5). Время, занятое поеданием новой пищи в новой обстановке (рис. 6Б), также было достоверно больше у мышей ЭКС (за исключением его значения у самок F11). Отметим, что и у самцов мышей КоЭКС этого поколения данный показатель был достоверно ниже, чем у самок. Стоит отметить, что в показателях теста на экстраполяцию у мышей этого поколения не было преобладания доли правильных решений над 50% случайным уровнем. Межлинейные различия по весу пищи, съеденной за 10 мин теста, оказались не столь устойчивыми, как для двух других показателей. В F10 вес съеденной пищи не различался у самцов ЭКС и КоЭКС, тогда как у самок КоЭКС в F11 он был выше, чем у самок ЭКС и самцов КоЭКС (рис. 6В). Как говорилось выше, половые различия по этому показателю были достоверными во всех поколениях, но разными по знаку, что выразилось в достоверных значениях статистических показателей взаимодействия факторов (табл. 5).

Таблица 5

Трехфакторный ANOVA для теста на гипонеофагию у мышей ЭКС и КоЭКС. Поколения с 9-го по 11-е. F — значение критерия Фишера, p — значение вероятности.

Факторы и тип взаимодействий между ними	Df*	Показатели теста на гипонеофагию					
		Число подходов к кормушке		Время, занятое поеданием пищи		Вес съеденной пищи	
		F	p	F	p	F	p
Генотип	1	119,17	0,0000001	47,04	0,0000000001	19,12	0,00002
Пол	1	0,23	0,63	0,58	0,45	5,17	0,02
Поколение	2	1,02	0,36	3,50	0,03	7,49	0,001
Генотип x Пол	1	0,77	0,38	0,87	0,35	0,04	0,84
Генотип x Поколение	2	1,01	0,36	1,94	0,15	3,22	0,04
Пол x Поколение	2	3,37	0,04	4,43	0,01	8,04	0,0004
Генотип x Пол x Поколение	2	1,35	0,26	2,26	0,11	9,79	0,0001

* — число степеней свободы

Суммируя данные по показателям тревожности по ПКЛ и по гипонеофагии следует напомнить, что в начальных поколениях тревожность мышей ЭКС в ПКЛ была достоверно ниже, чем в контроле, но в последующих поколениях эти различия не сохранились. В то же время боязнь новой пищи в тех же поколениях была устойчиво выражена ниже у ЭКС — по данным ANOVA для этого теста (табл. 5) наиболее сильное влияние было у фактора «генотип». Влияние фактора «поколение» было достоверным для показателя «вес съеденной пищи», как были, соответственно взаимодействия этого фактора с двумя другими. Это влияние фактора «поколение» можно увидеть и на гистограммах (рис. 6Б и 6В), где видно иной характер различий между группами. Поколение мышей F11 (и ЭКС, и КоЭКС), по всей видимости, находилось под влиянием какого-то общего для них средового фактора (не идентифицированного нами), поскольку данные по этим мышам отличались и от предыдущего, и от последующего поколений.

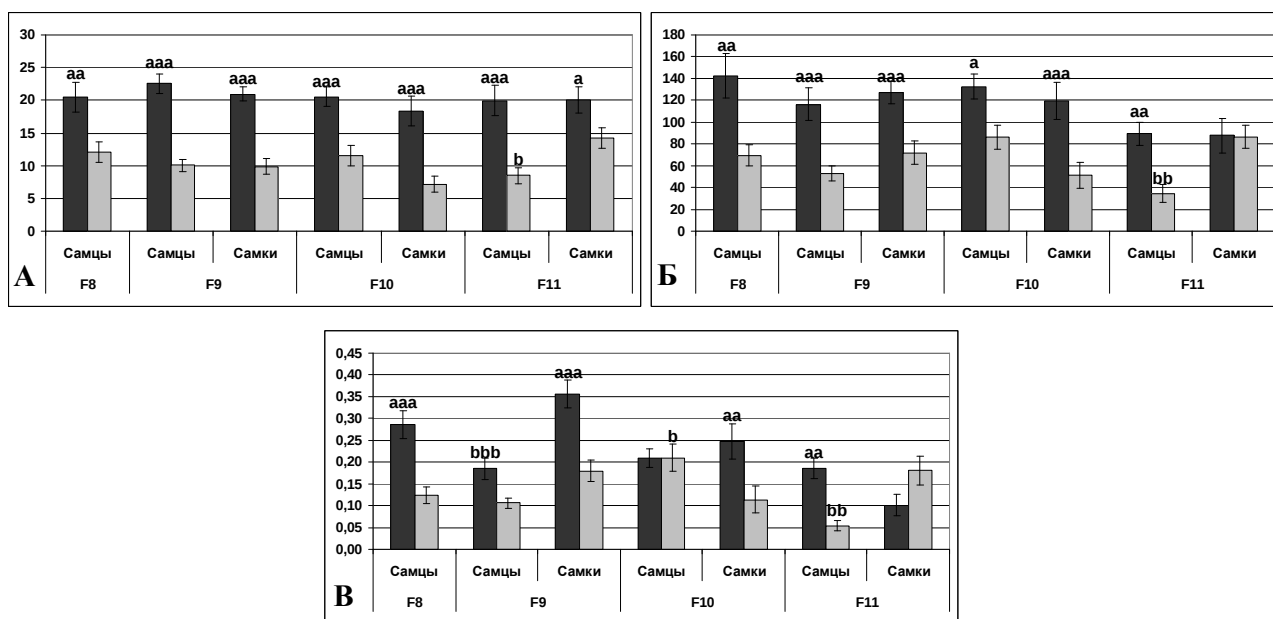


Рис. 6. Число подходов к новой пище (А), время поедания новой пищи (Б) и вес съеденной пищи (В) в тесте на гипонеофагию у мышей ЭКС и КоЭКС последовательных поколений селекции (средние значения $\pm$ ош. средн.). По оси ординат: на А — число подходов к пище, на Б — время в с, на В — вес пищи в гр. Темные столбики — мыши ЭКС, светлые — мыши КоЭКС. ^a, ^{aa}, ^{aaa} — достоверно отличается от показателя КоЭКС при $p \leq 0,03$; $0,005$ и $0,0007$, соответственно. ^b, ^{bb}, ^{bbb} — достоверно отличается от показателя самок соответствующего поколения при $p \leq 0,04$; $0,003$ и $0,000008$, соответственно. Значения вероятности указаны по post hoc LSD анализу (по Фишеру).

Исследовательская активность мышей ЭКС и КоЭКС в тесте «открытое поле». Эксперименты в установке «открытое поле» проводили у мышей двух поколений — F6 и F12. В обоих поколениях опыт имел два этапа: «фоновое тестирование» и тестирование с новым предметом, помещенным в центр арены, что позволяло оценить реакцию животных на новый элемент обстановки.

У мышей ЭКС двигательная активность на периферии открытого поля была выше по сравнению с КоЭКС как в фоновом тестировании, так и в тесте с новым предметом в центре. Активность в центре «открытого поля» была также выше у ЭКС в обоих вариантах теста (табл. 6). Эти межлинейные различия были достоверны для самок как в F6, так и в F12. В то же время, если у самцов ЭКС в F6 уровень локомоции в центре арены был выше, чем у КоЭКС (в F6 самок не тестировали), то в F12 самцы ЭКС двигались достоверно меньше самок своего генотипа и не отличались по этому показателю от самцов КоЭКС. Следует отметить, что после помещения нового предмета в центр арены у мышей ЭКС двигательная активность на периферии снизилась, поскольку мыши больше времени проводили в центре, около предмета. Число квадратов, пересеченных в центре арены, возросло (у самцов F6 и самок F12 различия достоверны). Это служит дополнительным подтверждением того, что мыши ЭКС активно изучали новый предмет (см. ниже).

Показатели исследовательской активности в «открытом поле» (число стоек и заглядываний в «норки») были выше у мышей ЭКС (для самцов F6 и самок F12 достоверно) (табл. 6) в обоих вариантах теста. Длительность эпизодов груминга (как показателя тревожности) была выше у мышей КоЭКС (табл. 6), что наблюдалось только в F6. Следует отметить, что и число, и длительность эпизодов груминга как у

ЭКС, так и у КоЭКС увеличивались при помещении на арену нового предмета. Таким образом, появление в центре арены нового незнакомого объекта провоцирует у животных обеих генетических групп некоторое усиление тревожности.

Собственно реакцию на новый предмет в наших экспериментах мы оценивали по числу контактов с ним, что позволило охарактеризовать группы самцов и самок мышей ЭКС и КоЭКС по выраженности этой реакции. Число контактов с новым предметом было достоверно выше у мышей ЭКС в обоих тестируемых поколениях (в F6 у самцов, в F12 у самок, рис. 7). У самцов ЭКС в F12 отличий от КоЭКС не было, что может быть связано с их более высокой тревожностью (по сравнению с самками этого генотипа). Данные половые различия в F12 проявляются в показателях двигательной и исследовательской активности (см. табл. 6).

Таким образом, в тесте «открытое поле» у мышей ЭКС была выше и двигательная, и исследовательская активность. Уровень тревожности в «открытом поле» был выше у КоЭКС в F6, что согласуется с данными по тестированию этих мышей в ПКЛ (см. выше). В F12 столь явных различий в уровне тревожности (по числу и длительности эпизодов груминга) не наблюдается, что согласуется с повышением уровня тревожности у мышей ЭКС на момент данного поколения селекции. В то же время уровень двигательной активности мышей ЭКС от F6 к F12 стал выше.

Оценка поведения мышей-нокауты по NCX2 (ген, кодирующий белок «натрий-кальцевый обменник»). В работе было также проанализировано поведение мышей-нокауты по гену NCX2 (кодирующему белок «натрий-кальцевый обменник») и мышей «дикого типа» (WT) той же популяции. Ранее (Jeon et. al., 2003) было обнаружено, что мыши-нокауты лучше обучаются в лабиринте Морриса и условно-рефлекторной реакции страха. Эти данные стали предпосылкой для более подробного анализа их поведения в различных тестах. Число животных (самцы), использованных в разных тестах, указано в табл. 7. Данные были получены в 3 сериях экспериментов на самцах КО и WT. У животных группы 1 (КО, n=13, WT, n=11) проводили тесты на экстраполяцию, ПКЛ, гипонеофагию и обучение инструментальному навыку, с группами 2 (КО, n=6, WT, n=5) и 3 (КО, n=16, WT, N=14) проводили только тесты на экстраполяцию и ПКЛ.

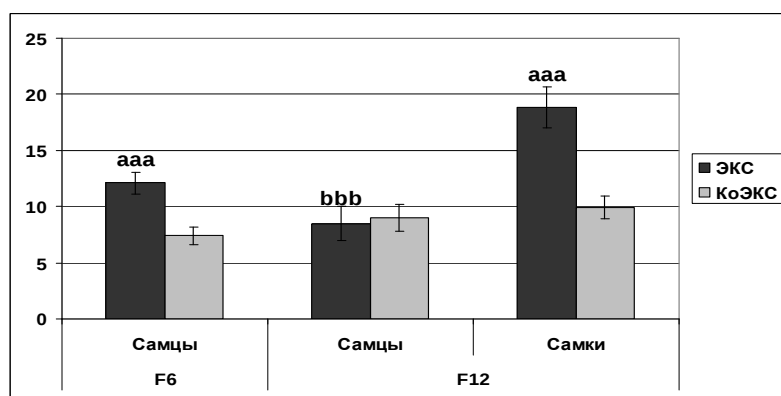
В тесте на способность к экстраполяции во всех трех случаях мышам давали по 18 предъявлений теста на экстраполяцию (в течение 3 опытных дней). Эксперименты проводились в разные сезоны года с животными разных поколений и с участием независимых исследователей. Если по данным первого предъявления теста на экстраполяцию различий не выявлялось, а доли правильных решений не отличались от 50% случайного уровня, то по результатам 18 предъявлений теста по данным «кривых накопления» показатели мышей-нокауты по NCX2 были выше. На рис 8А представлены кривые для одного из экспериментов, остальные данные представлены в диссертации.

Таблица 6

Значения (средние $\pm$ ош. ср.) показателей двигательной, исследовательской активности и тревожности в тесте «открытое поле» у мышей ЭКС и КоЭКС в фоновом тестировании и тестировании с новым предметом в центре.

Фоновое тестирование							
Показатель «открытого поля»	Генотип	F6		F12			
		Самцы	p	Самцы	p*	Самки	p*
Активность на периферии	ЭКС	194,5±10,25 ^{ddd}	0,02	215,85±37,24 ^b	0,81	286,31±17,63 ^{ddd}	0,06
	КоЭКС	158,90±10,46 ^{ddd}		223,67±23,32 ^{dd}		226,67±8,61 ^{ddd}	
Активность в центре	ЭКС	36,17±3,79 ^d	0,0002	24,31±6,4 ^{bbb}	0,42	51,94±6,31 ^{ddd}	0,04
	КоЭКС	19,38±2,26		31,67±6,86		34,27±5,13	
Число стоек	ЭКС	27,57±2,95	0,003	25,69±5,97	0,20	28,31±3,8	0,91
	КоЭКС	16,78±2,02		16,47±4,25		27,53±5,63	
Число загляды- ваний в "норки"	ЭКС	9,3±1,29	0,001	6,62±1,36 ^{bbb}	0,69	13,44±1,11	0,00002
	КоЭКС	4,19±0,65		5,93±1,03		5,8±1,2	
Число эпизодов груминга	ЭКС	4,03±0,56 ^{dd}	0,01	8,85±1,56	0,25	7,88±1,24	0,25
	КоЭКС	6,38±0,72 ^d		6,93±0,96		6,07±0,7	
Тестирование с новым предметом							
Показатель «открытого поля»	Генотип	F6		F12			
		Самцы	p	Самцы	p*	Самки	p*
Активность на периферии	ЭКС	139,83±9,77	0,007	182,62±14,39	0,15	176,13±11,31	0,0003
	КоЭКС	103,38±8,75		154,2±18,87 ^b		104,27±5,81	
Активность в центре	ЭКС	45,13±3,25	0,00002	41,15±6,85 ^{bbb}	0,5	86,13±8,28	0,000008
	КоЭКС	25,72±2,7		47,8±6,96		40±3,87	
Число стоек	ЭКС	33,57±2,36	0,0002	36±4,38	0,01	29,56±3,21	0,07
	КоЭКС	21,75±1,84		23,47±3,08		21,07±2,86	
Число загляды- ваний в "норки"	ЭКС	13,07±1,38	0,00006	6,23±1,13 ^{bb}	0,57	12,06±1,47	0,000004
	КоЭКС	6,25±0,81		7,27±1,47 ^b		3,2±0,66	
Число эпизодов груминга	ЭКС	6,4±0,69	0,03	9,38±0,87	0,14	8,19±1,08	0,97
	КоЭКС	8,84±0,84		7,2±0,96		8,13±1,08	

p — значение вероятности, однофакторный ANOVA (фактор «линия»). p* — значение вероятности по post hoc LSD анализу (по Фишеру). Жирным курсивом выделены достоверные межлинейные различия. ^b, ^{bb}, ^{bbb} — достоверно отличается от показателя самок соответствующего поколения при $p \leq 0,03$; 0,003 и 0,0001, соответственно; ^d, ^{dd}, ^{ddd} — достоверно отличается от соответствующего показателя после тестирования с незнакомым предметом в центре при $p \leq 0,04$; 0,009 и 0,0007, соответственно.



при $p=0,000005$. Значения вероятности указаны по post hoc LSD анализу (по Фишеру).

Рис. 7. Тест «открытое поле», число контактов с новым предметом в центре арены (ось ординат) за 5 минут опыта (средние значения $\pm$ ош. средн.). ^{aaa} — достоверно отличается от показателя КоЭКС при $p \leq 0,0002$. ^{bbb} — достоверно отличается от показателя самок соответствующего поколения

Небольшая группа мышей-самцов NCX2 и «дикого типа» была обучена пищедобывательному навыку в Т-образном лабиринте. Число животных, достигших критерия обученности, оказалось выше у мышей-нокаутов (КО — 7 животных из 10; у контрольных мышей — 3 мыши из 8), однако из-за небольшого размера выборки эти различия недостоверны. Мыши нокауты по NCX2 быстрее подходили к корму, но различия недостоверны. На рис. 8Б представлены кривые накопления показателей обучения пищедобывательному навыку у мышей этих двух групп. Характер различий между кривыми свидетельствует о том, что мыши-нокауты обучались навыку успешнее, чем мыши WT.

Показатели тревожности в тесте ПКЛ у мышей-нокаутов по гену NCX2, в целом, были выше, чем у мышей WT. Достоверных различий по сравнению с контрольными мышами выявлено не было, однако в двух из трех тестируемых групп мышей число выходов в светлые рукава и время, проведенное в них, были выше у мышей WT, что может быть указанием на менее выраженную тревожность мышей с нормальным генотипом. Стоит отметить, что общий уровень активности мышей обеих групп в данном тесте была невысока. В тоже время все три показателя теста на гипонеофагию были достоверно ниже у мышей NCX2 по сравнению с мышами дикого типа (число подходов: мыши-КО $17,3 \pm 1,19$, WT $10,8 \pm 1,88$, $p=0,06$; время еды: мыши-КО $187,3 \pm 15,5$ с, WT $76,5 \pm 13,16$ с, $p=0,00009$; вес съеденной пищи: мыши-КО $0,47 \pm 0,03$ г, WT $0,21 \pm 0,04$ г, $p=0,0001$). Эти данные следует (по принятым представлениям) интерпретировать как более низкую тревожность мышей-нокаутов (но можно и предположить, что у них выше реакция на новизну).

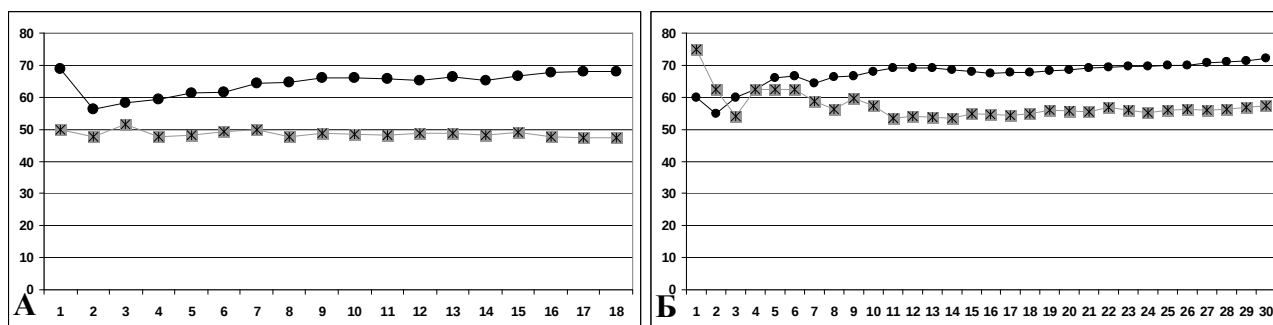


Рис. 8. Кривые накопления доли правильных решений теста на экстраполяцию при 18 предъявлениях теста мышам NCX2 и мышам «дикого типа» (А) и кривые накопления «правильных» подходов к корму в Т-образном лабиринте у мышей-нокаутов NCX2 и мышей «дикого типа» по данным 3 дней обучения (30 побегов) (Б). По оси ординат — доля (в %) правильных решений по отношению к общему числу побегов. Кружками обозначены мыши-нокауты NCX2, квадратами со звездочкой — мыши «дикого типа».

Таким образом, мыши-нокауты NCX2 продемонстрировали более успешное решение теста на экстраполяцию (выявленное только за 18 предъявлений теста), более успешное обучение пищедобывательному навыку в Т-образном лабиринте по сравнению с мышами WT, и у них был достоверно ниже уровень боязни новизны. В то же время по данным ПКЛ тревожность у них была выше. Данные, полученные в этой серии экспериментов, свидетельствуют о более высокой способности к обучению мышей-нокаутов. Это совпадает с данными полученными ранее, в которых обучение тестировали в двух других тестах (водный лабиринт Морриса и УР страха) (Jeon et al., 2003). Эти результаты подтверждают и полученные на мышах ЭКС и

КоЭКС данные о том, что различия по когнитивному признаку не обязательно оказываются отрицательно скоррелированными с показателями тревожности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование способности к экстраполяции у лабораторных мышей, которое проводилось ранее в лаборатории физиологии и генетики поведения, показало, что в целом у большинства линий и возрастных групп мышей и крыс не обнаруживается достоверного отличия доли правильных решений этого теста при его первом предъявлении от 50% уровня, характерного для случайного выполнения теста. Однако у ряда групп мышей доля правильных решений этого теста при его первом предъявлении оказалась достоверно выше случайного уровня. Это были, в частности, мыши с хромосомными перестройками, вовлекающими хромосому 17 (Полетаева, Романова, 2013), а также представители отдельных стоков мышей C57BL/6J и мыши генетически гетерогенной популяции, полученной от скрещивания нескольких инбредных линий (Астаурова, Попова, 1989).

В связи с этим, задачей настоящего исследования было провести искусственный отбор на высокие значения решения теста на экстраполяцию. Поскольку особенностью количественной оценки этого признака является выявление доли правильных решений теста (в сопоставлении в 50% случайным уровнем его выполнения) показатели решения теста в каждом поколении могли служить оценкой ответа данной популяции на отбор.

Такая «прямолинейная» оценка успешности селекционного эксперимента показала, что на ранних этапах селекции мыши селектируемой линии ЭКС действительно решали задачу успешно в достоверном большинстве случаев, тогда как в контрольной популяции мышей, разводившейся рандомбредно, такое превышение наблюдалось не во всех поколениях. Следует отметить, что относительно высокие показатели решения теста на экстраполяцию мышами гетерогенной популяции подтверждают полученные ранее данные (Астаурова, Попова, 1989). Объяснением этих высоких показателей мышей КоЭКС может быть именно ее высокая генетическая гетерогенность с гетерозиготностью по многим локусам, которые у инбредных линий могут быть представлены рецессивными аллелями.

В дальнейших поколениях селекции (F9–F12) доля правильных решений теста не всегда превышала случайный уровень. Слабый и неустойчивый по своему проявлению ответ на отбор мышей по признаку «высокая способность к экстраполяции» оказался неожиданным фактом и, по всей видимости, однозначной трактовки этих результатов пока нет. Можно предположить, что этот признак очень сложен по его генетическому определению, и что его развитие находится под влиянием так называемых неаллельных взаимодействий.

Следует проанализировать полученные результаты и с точки зрения роли разных физиологических процессов, участвующих в осуществлении когнитивного поведения животного. Обход ширмы в «правильном» направлении — это внешне легко измеряемый признак. Однако он имеет непростую структуру, и в основе его лежит сложный физиологический механизм. Для анализа поведения животного при решении теста на экстраполяцию важно учитывать ряд факторов. Во-первых, мышь должна быстро запомнить направление, в котором исчезла пища (т.е. от животного требуется «задействовать» механизм *декларативной* памяти). Во-вторых, для последующего успешного решения теста важно, что корм передвинулся от центрального отверстия в *определенную* сторону (участвуют пространственные

представления, связанные с *декларативной* памятью). В-третьих, направление движения корма (а также принятие решения о направлении собственного перемещения) вовлекает процессы, связанные с *процедурной* памятью. Таким образом, процесс решения данной задачи неизбежным образом сложен, поскольку в нем должны участвовать процессы формирования следа памяти разных категорий.

Можно также констатировать, что трудность решения задачи на экстраполяцию заключается не только в необходимости включать в работу два вида памяти, но и в необходимости выполнения еще нескольких условий-требований. Можно перечислить некоторые из таких требований. Это необходимость проявления животным достаточного *уровня внимания* к изменениям среды в данном тесте, отсутствие у него *страха обстановки опыта*, а также наличие у животного способности *понять*, что ему самому надо переместиться в направлении, в котором исчезла пища (т.е. нужна способность усвоить «логику» теста, т.е. собственно когнитивный элемент задачи). По всей видимости, важным компонентом нейрофизиологической системы, обеспечивающей подобное решение, является также и оптимальный уровень проявления исследовательского поведения (см. также ниже).

Наличие компонента, требующего от животного проявления когнитивных способностей, свойственно и другому использованному в работе тесту — тесту на поиск входа в укрытие. Как и в случае теста на экстраполяцию (когда нужно понимать, что скрывшийся корм где-то существует и его можно найти) животное должно *понимать*, что спасительный лаз продолжает существовать, даже если его не видно, и что его можно обнаружить.

Сходство двух использованных тестов по наличию в них «когнитивной составляющей» заставляет проанализировать разную успешность их выполнения мышами селектированной линии. Мы предполагаем, что в отличие от теста на экстраполяцию, тест на поиск входа в укрытие «статичен», т.е. его структура требует включения аппарата процедурной памяти в минимальной степени и альтернативного выбора животному делать не нужно. Это, возможно, является основой для объяснения того, что различия между мышами ЭКС и КоЭКС в успешности решения этого теста были выражены более отчетливо, по сравнению с тестом на экстраполяцию. На основании данных по тесту на поиск входа в укрытие мы предполагаем, что искусственный отбор на высокие показатели способности к экстраполяции все-таки изменил каким-то образом потенциальные возможности мышей селектируемой линии решать когнитивные тесты, хотя в проявлении такого сложного признака, как способность к экстраполяции, эти изменения проявлялись неустойчиво.

Таким образом, превосходство мышей ЭКС над контрольными животными в решении теста на поиск входа в укрытие можно трактовать как свидетельство успешной селекции на когнитивные способности мышей линии ЭКС.

При тестировании поведения мышей и крыс в любом лабораторном исследовании одним из важных его аспектов является исследовательское поведение этих животных. В тестах, использованных в нашей работе, исследовательскую активность мышей ЭКС и КоЭКС можно было сопоставлять по числу стоек в тесте «открытое поле», и в ПКЛ, а также по реакции этих животных на новый предмет в тесте «открытое поле» и на новую пищу в тесте на гипонеофагию. В тесте «открытое поле», как при «фоновом» тестировании, так и после помещения в центр арены нового предмета, у мышей ЭКС был выявлен повышенный уровень исследовательской активности. Это стремление животных селектируемой линии

исследовать новый предмет, помещенный в уже исследованную ими арену «открытого поля», может также быть индикатором их более четко выраженной исследовательской активности. По современным представлениям, отсутствие страха обстановки эксперимента способствует проявлению исследовательского поведения (Kazlauskas et al., 2005, Ainge et al., 2006, Glenn et al., 2008, Mathiasen, DiCamillo, 2010 и др.). Более четко выраженная реакция мышей ЭКС на новую пищу в новой обстановке, обнаруженная в опытах на гипонеофагию, находится в соответствии с этим. В то же время «рисунки» различий в показателях тревожности в ПКЛ говорит о более сложном характере связи между тревожностью и когнитивными способностями.

Как уже упоминалось, в данном селекционном эксперименте в дальнейшем размножение брали мышей, у которых, наряду с высокими показателями теста на способность к экстраполяции, не было боязни новой обстановки этого опыта. Для того чтобы можно было оценить влияние такого отбора на тревожность мышей, был использован достаточно популярный тест ПКЛ, введенный в практику психофармакологических исследований (Pellow et al., 1985), а его генетический контроль достаточно прост, поскольку при селекции различия обнаруживаются в первых поколениях (Liebsch et al., 1998). Наши данные показали, что на ранних этапах селекции у мышей, которых отбирали на *низкий уровень тревожности в экстраполяционной камере*, уровень тревожности, по данным теста ПКЛ, также был ниже. Однако в нашей работе тестирование мышей ЭКС и КоЭКС в F9–F12 показало, что обнаруженные в ранних поколениях различия в тревожности (по данным ПКЛ) не сохранились. Однако полученные нами данные по неустойчивости в характере различий по показателям тревожности не уникальны. В целом ряде работ отмечается разнонаправленность межлинейных различий в поведении, полученных в тесте ПКЛ и в тесте «открытое поле» (Clement et al., 2002, Horváth et al., 2013, Slattey, Cryan, 2014). Предполагают также, что различие этих показателей может быть связано с состояниями, разными по их нейрофизиологическим и нейрохимическим механизмам (Wieronska et al., 2004, Santos et al., 2006, Blanchard, 2008, Brandao et al., 2008). Взятые вместе, эти данные показывают, что — сложный и динамически меняющийся показатель. В нашем случае уровень тревожности (страха) в тесте ПКЛ на начальных этапах селекции совпадал с показателем «отказов» и «нулевых» решений в тесте на экстраполяцию, но затем это соответствие нарушилось. Эти данные надо сопоставить с данными по гипонеофагии.

У мышей селектируемой линии ЭКС в поколениях, когда различия в тревожности по данным ПКЛ не наблюдались, уровень гипонеофагии был устойчиво ниже, чем в контроле. Отметим, что тест на экстраполяцию и тест на гипонеофагию основаны на стремлении снизить пищевую мотивацию, тогда как тест ПКЛ (как и тест на поиск входа в укрытие) связан с наличием с оборонительной мотивацией. Мы предполагаем, что снижение гипонеофагии причинно связано с особенностями отбора мышей — отбором против проявлений неофобии (и боязни новой пищи, в частности) — в разведение не брали мышей с отказами и нулевыми решениями, т.е. не брали тех, кто обнаруживал боязнь и обстановки опыта, и новой пищи (молока). Поскольку отсутствие нулевых решений и отказов были вторым критерием отбора, то такая «повышенная осторожность» в этом тесте у мышей ЭКС стала четко слабее в дальнейших поколениях. Эти изменения в поведении, по всей видимости, получили отражение и в результатах теста на новизну — и в тесте на гипонеофагию, и в тестах на новый предмет в «открытом поле».

Наблюдаемые несовпадения характера различий между ЭКС и КоЭКС в тесте ПКЛ и в тесте на гипонеофагию позволяют предположить, что поведение тревожности и/или осторожности, которое животное обнаруживает в этих тестах, имеет значительно больше различий, чем принято традиционно считать. Мы позволяем себе выдвинуть предположение, что состояние тревожности, которое оценивается у животных в разных тестах, неоднородно по своим нейрофизиологическим механизмам, т.е. является проявлением несколько различающихся состояний животного.

Мы высказываем осторожное предположение, что в тесте ПКЛ регистрируется поведение тревоги-страха, вызванное помещением животного на ярко освещенную и открытую площадку, приподнятую над уровнем пола, и это поведение отличается от того состояния «осторожности», которое можно наблюдать у мышей как в тесте на способность к экстраполяции, так и в тесте на гипонеофагию. Именно ослабление этого вида тревожности у мышей ЭКС можно видеть в тесте на боязнь новой пищи. Возможно, конечно, что оба этих вида тревожности (различие между которыми мы предполагаем) тесно связаны друг с другом, и для проявления когнитивных способностей грызунов имеет значение их определенное соотношение.

Сравнение поведения в ПКЛ в тесте на гипонеофагию у мышей ЭКС и КоЭКС двух групп, одна из которых была в эксперименте впервые, т.е. не имела опыта других тестов, а другую тестировали после теста на экстраполяцию, обнаружило сложную картину (данные приводятся в диссертации). Обнаружилось, что у мышей ЭКС, тестируемых в ПКЛ после опыта на экстраполяцию, тревожность в тесте ПКЛ была выше. В случае теста на гипонеофагию влияние теста на экстраполяцию оказал влияние только на мышей ЭКС — в группе, тестируемой после опыта на экстраполяцию, показатели этого теста стали ниже, т.е. после пребывания в опыте на экстраполяцию их «осторожность» в данном тесте стала выше. Это также говорит в пользу предположения о различных видах тревожности, выявляемых разными тестами. Поскольку эксперименты с мышами в когнитивном тесте (экстраполяция) несколько повышали тревожность «обоих типов», следует заключить, что последовательность тестирования животных в этой батарее тестов влияла на их показатели. Отметим, что помимо этих специальных экспериментов, последовательность проведения опытов при выполнении всей работы всегда была идентичной.

Следует также отметить, что тестирование другой пары мышей с различающимся генотипом — мышей-нокаут по гену NCX-2 и мышей WT, также выявило некоторое превосходство мышей-нокаут в тестах на экстраполяцию при многократных предъявлениях (также обнаружена тенденция к решению пробы с «пробкой» в тесте на поиск входа в укрытие, требующая дальнейшего исследования). В то же время четких различий в уровне тревожности, которые могли бы объяснить такие различия, эксперименты не показали. Эти результаты можно трактовать как «позитивное» влияние выключения данного гена на пластичность реакций ЦНС (Jeon et al., 2003). Это совпадает с обнаруженными ранее у этих мышей различиями, которые выразились в более четко выраженной LTP на срезах гиппокампа, в более успешном обучении навыку пассивного избегания, а также в более успешном усвоении пространственного навыка в водном лабиринте Морриса. Иными словами, эта серия экспериментов также продемонстрировала участие генотипа в формировании простых когнитивных признаков у мышей.

Таким образом, селекция на когнитивный признак не обнаружила быстрого ответа на отбор. Однако данные свидетельствуют, что ответом на отбор стало более успешное, чем в контроле, выполнение мышами линии ЭКС другого когнитивного теста (на поиск входа в укрытие), улучшение их способности к обучению мышей селектируемой линии и большая склонность этих животных к новизне («открытое поле» с предметом и сниженная гипонеофагия).

Можно предполагать, что для проявления когнитивных способностей, в частности способности к экстраполяции, необходимо определенное соотношение разных видов тревожности. Наши данные только косвенно свидетельствуют о неоднородности состояний тревоги у мышей, проявлявшихся в разных тестах, но сопоставление с данными литературы показывает, что у подобного предположения есть определенные основания. В диссертации, в частности, представлены данные, которые свидетельствуют об отсутствии различий между ЭКС и КоЭКС в уровне нейрогенеза взрослого мозга.

Полученные результаты по изменениям поведения мышей как результат искусственного отбора на когнитивный признак и на сниженную «осторожность» в этом тесте отражают сложность соотношений между когнитивными способностями и тревожностью, в основе которых может лежать и сложность соответствующих нейрохимических механизмов, в частности ГАМКергических. ГАМК-ергическая система (уровни ферментов синтеза и деградации, ГАМК-рецепторы разных типов и их распределение по отделам мозга) участвует и в определении когнитивных способностей животных. Возможно, что «включенность» ГАМК-ергических нейронов в системы, обеспечивающие и когнитивное поведение (Arolfo, Brioni, 1991, Di Scala et al., 1991, Burk et al., 1999, Muhler, 2007, Prut et al., 2010, Jacobson et al., 2007, Rabinowitz et al., 2014, Zhu et al., 2014, z Li et al., 2014 и др.), и тревожность (Smith et al., 2012, Shen et al., 2012 и др.), может быть причиной сложных изменений, которые произошли в поведении животных в нашем селекционном эксперименте.

ВЫВОДЫ

1. Исследовано поведение лабораторных мышей в последовательных поколениях искусственного отбора на высокие показатели теста на способность к экстраполяции направления движения стимула, исчезающего из поля зрения животного, с одновременным отбором против проявлений тревожности, а также поведение мышей-нокаутов по гену NCX2 (натрий-кальциевый обменник-2).
2. В первых поколениях селекции мыши селектируемой линии ЭКС решали тест в достоверном большинстве случаев (в отличие от контроля, популяции КоЭКС), а уровень их тревожности (по данным теста приподнятого крестообразного лабиринта) был ниже.
3. Начиная с 9-го поколения селекции теста на экстраполяцию у мышей селектируемой линии стали неустойчивыми и доля правильных решений не всегда превышала 50% случайный уровень, а «направление» различий в уровне тревожности между ЭКС и КоЭКС также было разным.
4. В 9-12 поколениях селекции у мышей ЭКС были выявлены более высокие по сравнению с контрольной популяцией показатели решения другого когнитивного теста – поиска входа в укрытие (тест на «неисчезаемость»).

5. У мышей селектируемой линии ЭКС был выявлен более высокий уровень исследовательской активности и реакция на новизну, о чем свидетельствуют данные тестов «открытого поля» и на гипонеофагию.
6. Мыши ЭКС в F12 более успешно, чем мыши контрольной популяции КоЭКС обучались пищедобывательному навыку.
7. Мыши-нокауты по гену NCX2 лучше решали когнитивные тесты (на способность к экстраполяции и на поиск входа в укрытие) и обнаружили пониженный уровень неофагофобии по сравнению с мышами «дикого типа».
8. Некоторое улучшение способности к решению когнитивного теста на экстраполяцию у мышей ЭКС по ходу селекции, их достоверно более успешное, чем у контроля, решение когнитивного теста на поиск входа в укрытие и обучение пищедобывательному навыку, а также сходные особенности в когнитивных тестах у мышей-нокауты по гену NCX-2 свидетельствуют о существовании генетической компоненты изменчивости этого признака. Постулируется зависимость проявления этого признака от поведения тревоги.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю Полетаевой И.И. за терпение, ценные советы и помощь в работе. Также огромная благодарность Перепелкиной О.В. за неоценимую помощь в работе, Тимошенко Т.В. за помощь в освоении ряда методик, М.Г. Плескачевой за предоставление компьютерной программы для обработки данных, всем сотрудникам лаборатории физиологии и генетики поведения кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ за ценные советы и внимание к работе.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах из списка ВАК РФ

1. Перепелкина О.В., Маркина Н.В., Голибродо В.А., Лильп И.Г., Полетаева И.И. Селекция мышей на высокий уровень способности к экстраполяции при низком уровне тревожности // Журнал ВНД. 2011. Том 61, № 6, с. 742-749
2. Голибродо В.А., Перепелкина О.В., Лильп И.Г., Полетаева И.И. Поведение мышей, селективированных на когнитивный признак, в тесте на гипонеофагию // Журнал ВНД. 2014. Том 64Б №6, с. 639-645.

Другие издания

1. Перепелкина О.В., Лильп И.Г., Маркина Н.В., Голибродо В.А. Первый опыт селекции мышей на высокую способность к экстраполяции // В сб. Формирование поведения животных в норме и патологии. М.: 2013, с. 263-294.
2. Olga V. Perepelkina, Vassilissa A. Golibrodov, Irina G. Lilp, Inga I. Poletaeva. Selection of Laboratory Mice for the High Scores of Logic Task Solutions: The Correlated Changes in Behavior // Advances in Bioscience and Biotechnology. 2014. Vol. 5. P. 294-300.

Тезисы конференций

1. Голибродо В.А. Анализ поведения мышей первых поколений селекции на когнитивный признак // Ломоносов – 2011: XVIII Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых; секция «Биология» Тез.докл. Москва, МГУ

им. М.В. Ломоносова, биологический факультет. 11-15 апреля 2011 г. М.: МАКС Пресс. 2011. С. 203-204.

2. Голибродо В.А. Способность к решению теста на экстраполяцию и уровень тревожности мышей на начальных этапах селекции мышей на высокие показатели данного теста // Ломоносов – 2010: XVII Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых; секция «Биология» Тез.докл. Москва, МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет. 12-15 апреля 2010 г. М.: МАКС Пресс. 2010. С. 220-221.

3. Голибродо В.А., Перепелкина О.В., Полетаева И.И. Изменения в поведении мышей на первых этапах селекции на высокие показатели решения когнитивного теста (способность к экстраполяции) // XXI съезд физиол. об-ва им. И.П. Павлова, тез. 19-25 сентября, Москва – Калуга, 2010, с.147.

4. Перепелкина О.В., Голибродо В.А., Лилып И.Г., Маркина Н.В., Полетаева И.И. Изменение уровня тревожности и стресс-реактивности в случаях проведения селекции на морфологический или на когнитивный признак. // 7 Межд. междисциплинарный конгресс Нейронаука для медицины и психологии. Судак, Крым, Украина. 3-13 июня 2011. С. 333.

5. Perepelkina O.V., Lilp I.G., Golibrodo V.A., Poletaeva I.I. Selection of mice for high cognitive scores task (extrapolation scores). Concomitant changes in anxiety level. // 13th Annual Meeting of the International Behavioral and Neural Genetics Society. Rome, Italy. May 10-14 2011. P. 91.

6. Голибродо В.А. Сравнение поведения мышей разных генотипов при повторных предъявлениях когнитивного теста // Ломоносов – 2012: XIX Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых; секция «Биология» Тез.докл. Москва, МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет. 9-13 апреля 2012 г. М.: МАКС Пресс. 2010. С. 206-207.

7. Голибродо В.А., Перепелкина О.В., Полетаева И.И. Анализ поведения мышей, селектированных на когнитивный признак, в тесте на неофагофобию // XVI научная школа-конференция молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии. 23-24 октября 2012 г, Москва, ИВНД. С. 41.

8. Полетаева И.И., Перепелкина О.В., Голибродо В.А. Селекция лабораторных мышей на «когнитивный» признак (решение элементарной логической задачи) // Тез. Докл. V Всероссийская конференция по поведению животных. Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова. 20-23 ноября 2012. Товарищество научных изданий КМК, Москва, 2012, с. 155

9. Голибродо В.А., Перепелкина О.В., Полетаева И.И. Анализ поведения мышей, селектированных на когнитивный признак // XV научная школа-конференция молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии. 12-14 октября 2011 г, Москва, ИВНД. С. 29.

10. Перепелкина О.В., Голибродо В.А., Лилып И.Г., Полетаева И.И. Особенности физиолого-генетического контроля способности лабораторных мышей к решению элементарной логической задачи // Тез. докл. Пятая международная конференция по когнитивной науке. 18-24 июня 2012. Калининград, Россия. Том 2, с. 794-796.

11. Голибродо В.А., Перепелкина О.В., Лилып И.Г., Полетаева И.И. Особенности физиолого-генетического контроля способности лабораторных мышей к решению элементарной логической задачи // Тез. 3 научная конф. Поведение и поведенческая экология млекопитающих. 14-18 апр. 2014. Черноголовка, Россия. С. 29.

12. Poletaeva I.I., Perepelkina O.V., Lilp I.G., Golibrodo V.A. The selection for the cognitive trait. Is it possible? // 15th meeting of IBANGS, Leuven, Belgium. May 20-24, 2013. P. 8.
13. Poletaeva I.I., Perepelkina O.V., Golibrodo V.A., Lilp I.G. Selection of laboratory mice for cognitive trait and low anxiety. Changes in aggression, novelty seeking and learning ability // 9th FENS FORUM. Milan, 2014. Poster N 2859.
14. Голибродо В.А., Перепелкина О.В., Полетаева И.И. Изменение поведения мышей, селектируемых на способность к экстраполяции // XVIII научная школа-конференция молодых ученых по физиологии ВНД и нейрофизиологии. 29-30 октября 2014 г, Москва, ИВНД и нейрофизиологии. С. 16.