

УДК 599:575:591:513.5

## СЕЛЕКЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ НА УСПЕШНОСТЬ КОГНИТИВНОГО ТЕСТА И НА НЕСПОСОБНОСТЬ К ЕГО РЕШЕНИЮ

© 2021 г. О. В. Перепелкина<sup>1,\*</sup>, И. И. Полетаева<sup>1</sup>

Представлено академиком РАН К.В. Анохиным

Поступило 17.03.2021 г.

После доработки 27.03.2021 г.

Принято к публикации 27.03.2021 г.

На основе линии мышей ЭКС, исходно селектированной на способность к экстраполяции, было получено 3 поколения мышей, селектированных на успешное решение теста на неисчезаемость (“плюс”-сублиния) и на отсутствие такого решения (“минус”-сублиния). Успешность решения теста, требующая не только оперирования правилом неисчезаемости по Ж. Пиаже, но и выполнения сложного действия (исполнительная функция) было достоверно выше у плюс-сублинии, что является уникальным примером успешной селекции на когнитивный признак.

*Ключевые слова:* элементарная логическая задача, селекционный эксперимент, тест на поиск входа в укрытие, правило неисчезаемости, лабораторные мыши

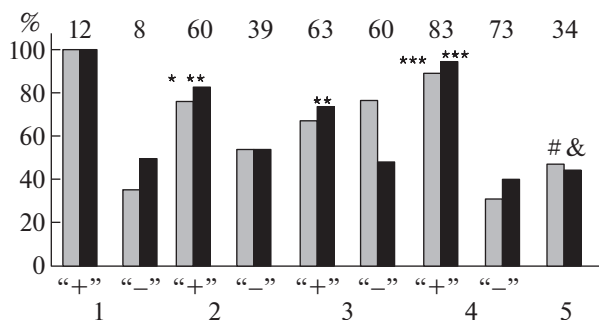
DOI: 10.31857/S268673892104017X

В современной литературе существует большое число экспериментальных данных о роли генотипа в формировании когнитивных способностей животных [1–3]. Однако почти всегда речь при этом идет о различиях в выполнении когнитивных тестов за счет модуляции функции конкретных генов, определяющих отдельные свойства нейронных сетей (напр., [4–6] и др.). Отметим также, что в большей части таких работ термин “когнитивное” поведение подразумевает широкий спектр пластических функций, опирающихся главным образом на разные формы ассоциативного обучения [7, 8]. В настоящей работе в развитие представлений Л.В. Крушинского под когнитивными способностями животных понимается их способность улавливать закономерности, связывающие предметы и явления окружающего мира и строить на этой основе свое дальнейшее поведение [9]. Для анализа нейробиологических основ подобных когнитивных способностей и оценки взаимосвязи признаков поведения, в которых такие способности проявляются, требуется

создание адекватных генетических моделей, в частности, линий животных, которые различались бы по данным когнитивным способностям. В статье представлены принципиально новые данные по первым поколениям искусственного отбора на высокие и низкие показатели решения когнитивного теста, выявляющего такого рода когнитивную способность у лабораторных мышей. Данный селекционный эксперимент был основан на разной успешности выполнения мышами теста на поиск входа в укрытие (ПВУ), построенного на стремлении животного спрятаться в темноте от яркого света. Эта задача (в англоязычной литературе – puzzle-box test) представляет собой тест на когнитивную способность *per se*, поскольку ее решение – это решение элементарной логической задачи, не требующее предварительного научения. В представленных экспериментах тест состоял из 4 предъявлений задачи (проб теста) нарастающей сложности. Исходный вариант теста был впервые предложен как часть батареи тестов для оценки у мышей фактора g. Фактор g, или фактор общего интеллекта, был введен в экспериментальную психологию Ч. Спирменом, который показал, что результаты ряда тестов на познавательные способности человека коррелируют между собой. В настоящее время в экспериментах на животных фактор g рассматривают

<sup>1</sup> Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\*e-mail: ingapoletaeva@mail.ru



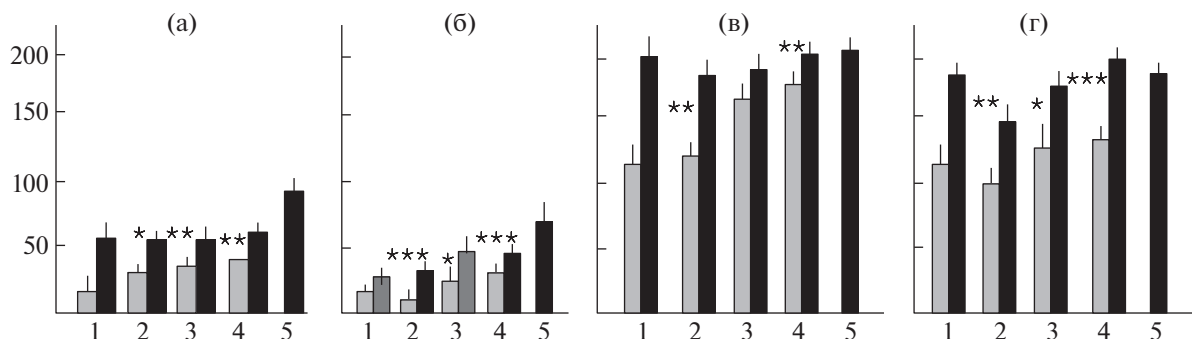
**Рис. 1.** Доля (в %, ось ординат) успешных решений теста на поиск входа в укрытие мышами F20 линии ЭКС (родители F1) (1), F1–F3 новых сублиний (“plus” и “minus” группы – 2–4), и мышами неселектированной контрольной популяции F23 (5) в предъявлениях теста, когда лаз в темное отделение камеры был закрыт пробкой. Серые столбики – 1-е предъявление теста с пробкой, черные – 2-е. \*, \*\*, \*\*\* – значимо отличается от такой же доли в “минус” сублинии того же поколения при  $p < 0.05, 0.01$  и  $0.001$ , соответственно (метод ф оценки различий альтернативных долей по Фишеру). #, & – отличия долей мышей, решивших эти пробы теста, от показателей “+” групп F1–F3 (с разными уровнями значимости, детали не представлены). Цифры над столбиками – число тестированных мышей каждой группы.

как интегральный показатель когнитивных способностей, вычисляемый на основе статистической обработки данных большой батареи тестов [10]. Логическая структура теста ПВУ основана на наличии у животного способности к улавливанию правила “неисчезаемости” в трактовке Ж. Пиаже [11]. Мышь, помещенная в ярко освещенную часть экспериментальной камеры ( $30 \times 28 \times 27.5$  см), стремится спрятаться в ее темной части ( $14 \times 28 \times 27.5$  см), куда ведет углубленный в пол узкий лаз. В первой пробе лаз в темную часть камеры открыт, и животное может туда перейти без препятствий. Во второй пробе лаз в темную часть камеры маскируют чистой стружкой, насыпая ее вровень с полом, а в 3-й и 4-й пробах (которые наиболее трудны для решения) лаз блокируют легкой пробкой из пластика и картона, которую мышь может отодвинуть или вынуть зубами из углубленного лаза [11]. На решение 1-й и 2-й проб животному дается 180 с, на решение 3-й и 4-й проб – 240 с. После перехода в темную часть камеры мышь оставляют в ней на 15–20 с, после чего отсаживают в отдельную клетку, и через 45–60 с предъявляют следующую пробу. Регистрировали латентный период (ЛП) перехода мыши в темный отсек (а также факт решения или нерешения данного этапа теста). В случаях с лазом, закрытым пробкой, регистрировали у животного наличие или отсутствие у животного движений “манипулирования” пробкой, т.е. попыток проникнуть в темноту – захват пробки зубами, ее приподнимание. В случае отсутствия решения этого этапа теста в течение 240 с наличие или отсутствие такого манипулирования было важным для оценки поведения признаком (см. ниже).

Критериями отбора для “плюс” сублинии было успешное решение теста в его наиболее “трудном” варианте, когда лаз был закрыт пробкой (см. ниже), а для “минус” сублинии – отсутствие

такого решения. В качестве исходной популяции для отбора были использованы мыши 20-го поколения селекции линии ЭКС [11]. Линия мышей ЭКС была получена в ходе проводившегося селекционного эксперимента на высокую способность к решению теста на экстраполяцию направления движения стимула, исчезнувшего из поля зрения. В первых поколениях этого эксперимента в селектируемой линии ЭКС было отмечено превышение доли правильных решений теста на экстраполяцию над случайным 50% уровнем [11], которое в последующих поколениях (с F9–10) стало обнаруживаться нерегулярно. В настоящей работе описаны результаты теста ПВУ, полученные у нескольких групп животных – у мышей ЭКС F20, составивших пары для получения потомства F1 данного селекционного эксперимента ( $n = 20$ ), у мышей F1–F3 (сублинии “плюс” и “минус”,  $n = 378$ ), а также у мышей контрольной неселектированной популяции КоЭКС ( $n = 34$ ) (которая служила группой сравнения в селекции на высокие показатели решения теста на экстраполяцию [11]).

Выполнение теста ПВУ в первых двух пробах (лаз открыт и лаз замаскирован стружкой) было практически одинаковым у мышей групп “плюс” и “минус” и достаточно быстрым – на рис. 2 приведены средние ЛП решения этих проб. Различия между “плюс” и “минус” группами мышей этих поколений четко обнаруживались в пробах, когда лаз был закрыт пробкой, т.е. в 3-м и 4-м его предъявлениях (рис. 1 и 2), что может быть ответом на отбор в этих поколениях. За исключением мышей “+” в F2, показатели решения теста в 4-й пробе (т.е. доля мышей, решивших тест) были выше, а средние величины ЛП – короче, чем в 3-й пробе, что свидетельствует об использовании животными памяти о предыдущем решении.



**Рис. 2.** Средние ( $\pm$  ошибка средней арифм.) ЛП перехода мышей в темноту при решении последовательных проб теста (на поиск входа в укрытие) у мышей разных групп (см. рис. 1). а – лаз открыт, б – лаз замаскирован стружкой, в и г – лаз закрыт пробкой. Серые столбики – мыши сублинии “плюс”, черные – мыши сублинии “минус”. 1–5 – как на рис. 1. \*, \*\*, \*\*\* – статистически значимо отличается от соответствующей величины в “минус” сублинии того же поколения при  $p < 0.05, 0.01$  и  $0.001$  соответственно (однофакторный ANOVA с post hoc тестом по Фишеру).

Решение теста ПВУ мышами КоЭКС в 3-й и 4-й пробах теста, когда “лаз” в темное отделение камеры закрыт пробкой, было значительно менее успешным, чем у мышей трех селекционных поколений (в F2 и F3, в том числе и для сублинии “минус”).

Наблюдения за поведением мышей в случаях, когда лаз был замаскирован пробкой, а решения теста не произошло, показали, что в большинстве случаев животные стараются зацепить зубами или толкнуть пробку, т.е. обнаруживают “манипулирование” этим объектом, что наблюдалось и у мышей F20, и у животных селектированных сублиний. Это поведение можно рассматривать как свидетельство того, что мышь пытается пройти через лаз, но не может преодолеть препятствие. Мышей, которые не “манипулировали” пробкой, было очень мало – в F3 в сублинии “плюс” было одно такое животное из 83, в сублинии “минус” – два из 73. В то же время среди контрольных мышей КоЭКС (тестируемых в те же сроки, что и мышей F3), “не манипулировавших” пробкой животных было 8 из 34. Различия в успешности решения “трудных” этапов теста ПВУ, наиболее четко выраженные в последнем из тестируемых поколений, в F3, могут служить свидетельством позитивной роли отбора по этим контрастным признакам. Следует напомнить, что обе сублинии происходили из линии ЭКС, которая в течение 20 поколений формировалась из потомства животных, успешно решивших когнитивный тест на экстраполяцию направления движения [11]. Логическая структура теста на экстраполяцию предполагает, что для его успешного решения животное должно понимать, что исчезающий из поля зрения объект (поилка с молоком) продолжает существовать, и его можно искать. Таким образом, мыши обеих новых сублиний обладали в определенной степени пониманием принципа

неисчезаемости, что и проявилось в том, что подавляющее большинство мышей пытались проникнуть в лаз, толкая и приподнимая пробку (т.е. “манипулируя” ею). Селекция на успешное и не успешное решение теста ПВУ в его варианте с пробкой выявила, таким образом, различия не в когнитивных способностях, как таковых, а в способности добиться конкретного решения, т.е. в проявлении так называемых “исполнительных функций” (executive function) у этих животных [12, 13]. Успешность выполнения теста, т.е. проявление “исполнительных функций” у мышей разного генотипа была показана в одной из первых работ с использованием данного теста [13]. При выполнении теста ПВУ при открытом лазе, а также при лазе, замаскированном стружкой, различия в проявлении исполнительных функций обнаруживались не в успешности решения этих этапов, а видимо, в ЛП реализации решения (с более быстрой реализацией попадания в темноту у мышей “плюс” групп) (рис. 2а, 2б). Поведение мышей двух сублиний сравнивали также в тесте на гипонеофагию, в котором животному предлагали новую пищу (сыр) в новой (но не пугающей) обстановке. Показатели этого теста, оценивающие реакцию на новое (являющейся также компонентом когнитивных способностей животных), были более четко выражены у мышей “плюс” групп (данные не представлены). Следует отметить, что в литературе по анализу когнитивного поведения лабораторных грызунов (т.е. по их способности к решению элементарных логических задач) аналогов представленного исследования нет. В настоящее время основное внимание исследователей как в области нейрогенетики в целом, так и в части роли генотипа в экспрессии когнитивных признаков, занимает анализ модуляции экспрессии большого числа генов у генетически измененных животных, и подобный спи-

сок работ насчитывает многие десятки исследований. Особенно много таких данных получено в исследованиях геноза заболеваний центральной нервной системы [14–16 и др.], а экспериментальный подход с использованием батареи когнитивных тестов в этих задачах достаточно популярен [10, 17, 18 и др.]. Однако селекционных экспериментов практически не проводится и, в целом, эта область нейробиологии, несмотря на большой прогресс в выявлении важных для когнитивных функций структур мозга, сигнальных путей и групп специфических нейронов, остается пока недостаточно исследованной.

Таким образом, в данном исследовании впервые продемонстрированы достоверные различия в решении элементарной логической задачи, т.е. различия в экспрессии “исполнительных функций” у мышей, которые прошли 3 поколения селекции на “успешность” и “не-успешность” решения теста на “неисчезаемость”.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Протокол исследования был одобрен Комиссией по биоэтике МГУ на заседании № 49 от 18.06.2014.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121032500080-8), поддержана РФФИ (грант № 20-015-00287) и госпрограммой N AAA-A16-116021660055-1.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Graybeal C., Bachu M., Mozhui K., et al.* Strains and stressors: an analysis of touchscreen learning in genetically diverse mouse strains // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 2.
2. *Saez I., Set E., Hsu M.* From genes to behavior: placing cognitive models in the context of biological pathways // *Front. Neurosci.* 2014. V. 8. P. 336.
3. *Sauce B., Matzel L. D.* The paradox of intelligence: Heritability and malleability coexist in hidden gene-environment interplay // *Psychol. Bull.* 2018. V. 144. № 1. P. 26–47.
4. *Bainbridge N.K., Koselke L.R., Jeon J., et al.* Learning and memory impairments in a congenic C57BL/6 strain of mice that lacks the M2 muscarinic acetylcholine receptor subtype // *Behav. Brain Res.* 2008. V. 190. № 1. P. 50–58.
5. *Too L.K., Li K.M., Suarna C., et al.* Deletion of TDO2, IDO-1 and IDO-2 differentially affects mouse behavior and cognitive function // *Behav. Brain Res.* 2016. V. 312. P. 102–117.
6. *Nolan S.O., Lugo J.N.* Reversal learning paradigm reveals deficits in cognitive flexibility in the Fmr1 knockout male mouse // *F1000Res.* 2018. V. 7. P. 711.
7. *Granseth B., Andersson F.K., Lindström S.H.* The initial stage of reversal learning is impaired in mice hemizygous for the vesicular glutamate transporter (VGluT1) // *Genes Brain Behav.* 2015. V. 14. № 6. P. 477–485.
8. *Manning E.E., Dombrovski A.Y., Torregrossa M.M., et al.* Impaired instrumental reversal learning is associated with increased medial prefrontal cortex activity in Sapap3 knockout mouse model of compulsive behavior // *Neuropsychopharmacology.* 2019. V. 44. № 8. P. 1494–1504.
9. *Перепелкина О.В., Лильн И.Г., Маркина Н.В. и др.* Первый опыт селекции лабораторных мышей на высокую способность к экстраполяции. В кн.: *Формирование поведения животных в норме и патологии: К 100-летию со дня рождения Л.В. Крушинского (1911–1984).* М.: Языки славянских культур С. 263–296.
10. *Galsworthy M.J., Paya-Cano J.L., Liu L., et al.* Assessing reliability, heritability and general cognitive ability in a battery of cognitive tasks for laboratory mice // *Behav. Genet.* 2005. V. 35. № 5. P. 675–692.
11. *Перепелкина О.В., Тарасова А.Ю., Огиенко Н.А. и др.* Вес мозга и когнитивные способности лабораторной мыши // *Успехи современной биологии* // 2019. Т. 139. № 5. С. 434–445.
12. *Yegla B., Foster T.C., Kumar A.* Behavior model for assessing decline in executive function during aging and neurodegenerative diseases // *Methods Mol. Biol.* 2019. V. 2011. P. 441–449.
13. *Ben Abdallah N.M., Fuss J., Trusel M., et al.* The puzzle box as a simple and efficient behavioral test for exploring impairments of general cognition and executive functions in mouse models of schizophrenia // *Exp. Neurol.* 2011. V. 227. № 1. P. 42–52.
14. *Giménez-Llort L., Schiffmann S.N., Schmidt T., et al.* Working memory deficits in transgenic rats overexpressing human adenosine A2A receptors in the brain // *Neurobiol. Learn. Mem.* 2007. V. 87. № 1. P. 42–56.
15. *Li Q., Chan S.Y., Wong K.K., et al.* Tspyl2 Loss-of-function causes neurodevelopmental brain and behavior abnormalities in mice // *Behav. Genet.* 2016. V. 46. № 4. P. 529–537.
16. *Hunsaker M.R.* The importance of considering all attributes of memory in behavioral endophenotyping of mouse models of genetic disease // *Behav. Neurosci.* 2012. V. 126. № 3. P. 371–380.
17. *Locurto C., Benoit A., Crowley C., et al.* The structure of individual differences in batteries of rapid acquisition tasks in mice // *J. Comp. Psychol.* 2006. V. 120. № 4. P. 378–388.
18. *Ene H.M., Kara N.Z., Barak N., et al.* Effects of repeated asenapine in a battery of tests for anxiety-like behaviours in mice // *Acta Neuropsychiatr.* 2016. V. 28. № 2. P. 85–91.

## SELECTION OF LABORATORY MICE FOR THE COGNITIVE TASK SUCCESSFUL SOLUTION AND FOR THE INABILITY TO SOLVE IT

**O. V. Perepelkina<sup>a,#</sup> and I. I. Poletaeva<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> *Biology Department, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

<sup>#</sup>*e-mail: ingapoletaeva@mail.ru*

Presented by Academician of the RAS K.V. Anokhin

Using the selected mouse strain Ex as the founding population (selection for extrapolation ability) three selection generations of mice were obtained, which were selected for successful solution of object permanence test (“plus” sub-strain) and for lack of such solution (“minus” sub-strain). The successful solution required not only the ability to operate the object permanence rule (by J. Piaget), but the performance of complicated action (executive function) was significantly higher in plus-substrain, and this is the unique example of successful selection for cognitive trait.

*Keywords:* elementary logic task, selection experiment, puzzle-box, object permanence rule, laboratory mice