

СЛОЖНАЯ СИСТЕМА МОЗГА МЫШИ – СЕЛЕКЦИЯ НА УСПЕШНОСТЬ РЕШЕНИЯ КОГНИТИВНОГО ТЕСТА

© 2023 г. И.И. Полетаева*, #, О.В. Перепелкина*, З.А. Зорина*

*Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1/12, Москва, 119234, Россия

#E-mail: ingapoletaeva@mail.ru

Поступила в редакцию 26.06.2023 г.

После доработки 03.07.2023 г.

Принята к публикации 22.09.2023 г.

Представлены экспериментальные данные по положительным результатам селекционного эксперимента у мышей. Отбор вели на успешное решение когнитивного теста (требующего от животного оперирования правилом «неисчезаемости» предметов) и на не-решение этого теста. Полученные данные показали, что у мышей линии, селектированной на успешное решение теста, были достоверно лучше выражены краткосрочная рабочая память, а также показатели тестов на новизну и на внимание. Это позволяет предполагать, что межлинейные различия касаются не только способности к решению данного теста, а связаны с более четко выраженными «исполнительными функциями».

Ключевые слова: когнитивные способности животных, элементарная логическая задача, генетика поведения, селекция, лабораторные мыши.

DOI: 10.31857/S0006302923050265, EDN: NAWPTG:

Работа посвящается памяти Г.В. Гурского

Мозг — сложная система, причем некоторые полагают, что это «самая сложная» система организма. Особенно высока сложность мозга человека. В связи с этим большое значение имеют исследования когнитивных способностей на лабораторных животных, поскольку эти объекты и проще по строению, и позволяют оценивать большое число нейрофизиологических признаков, связанных с когнитивными способностями. Вторая половина XX века и начало XXI века ознаменованы накоплением данных (часто уникальных) о возможностях центральной нервной системы (ЦНС) и когнитивных способностях животных многих видов — от дрозофилы [1], муравьев [2], грызунов [3] до человекообразных обезьян [4] (возможности мозга человека здесь не рассматриваются).

Анализ современных исследований способностей животных решать сложные «интеллектуальные» задачи (например, сложные задачи на пространственную ориентацию и др.) показывает, что основное внимание в настоящее время привлечено к созданию моделей (чаще всего, генетических моделей) заболеваний мозга человека [5, 6] и др. В то же время биологические основы функционирования мозга в нормальных услови-

ях в публикациях последних лет — это, преимущественно, сообщения об отличии групп животных «нормального контроля» («дикого типа») от показателей тестов животных либо с измененным геномом, либо с особенностями физиологического состояния вследствие разрушений мозга или действия фармакологических агентов.

Изменчивость признаков поведения, которую обнаруживают животные практически во всех используемых тестах (и, как мы знаем, в «обычном» поведении), имеет генетическую и средовую составляющие, а также составляющую, связанную с генотип-средовыми взаимодействиями. Выполнение животным тех или иных актов поведения (как в лабораторных тестах, так и в природе) основано их на врожденной основе и их сложной модуляции при накоплении опыта. Взаимодействие генотипических и средовых влияний — это важный элемент понимания механизмов поведения, а для этого, однако, важно учитывать это соотношение («врожденного» и «приобретенного») в репертуаре поведения конкретной группы животных (см. напр., [7]).

Важным моментом в оценке относительной роли «врожденного» и «приобретенного» в адаптивных поведенческих реакциях является следу-

ющее. Основные элементы врожденных (инстинктивных) движений (спонтанных или проявляющихся в ответ на определенные сигналы) – это так называемые «фиксированные комплексы действий» (ФКД) – видоспецифические последовательности движений.

Эти ФКД проявляются у всех особей вида в «готовом» виде, без научения, они имеют специфическую, выполняемую «стереотипно» форму, практически не видоизменяясь в течение жизни (например, движения умыкания или вертикальные стойки грызунов). Однако консервативность и стереотипность ФКД находятся в видимом противоречии с принципом пластичности и изменчивости поведения, которому есть огромное число подтверждений (как в лабораторных исследованиях, так и в наблюдениях натуралистов). Наиболее сложным по своему механизму является поведение животного при научении, а также при решении элементарных логических задач, которое складывается из врожденных реакций, выполнение которых «обусловлено» текущей средой ситуаций.

Однако существует и путь выхода из такого кажущегося противоречия – изменчивыми оказываются не сами, иногда сложные, движения (т.е. их конкретная форма), а пороги их инициации. А эти пороги, в свою очередь, могут испытывать модулирующее влияние ряда факторов (температура, сезон, мотивационный и гормональный фон, общая возбудимость, уровень сенсорной стимуляции и т. д.), обнаруживая значимый уровень как межпопуляционной, так и индивидуальной изменчивости. К таким факторам относятся и генотип.

На важное значение частоты проявления ФКД (стереотипных по паттерну) первым еще в 1967 г. обратил внимание выдающийся английский этолог А. Меннинг, анализируя генетические различия в половом поведении дрозофилы [8]. По его мнению, генетическая изменчивость поведения в большой степени определяется изменчивостью порогов провокации и, соответственно, изменениями частоты выполнения важных для адаптации животного ФКД, это может также лежать в основе микроэволюционных изменений поведения. Иными словами, эти «единицы поведения» в силу разных причин могут проявляться чаще или реже (т.е. провоцироваться «легче» или «труднее»).

Анализ наблюдений за поведением насекомых, грызунов и других представителей животного царства дает много материала, подтверждающего правильность высказанной Меннингом гипотезы. Например, в знаменитой работе [9] о генетической основе гигиенического поведения пчел было показано, что колонии пчел различаются по устойчивости к инфекции *Varroa destruc-*

tor. В устойчивых к заболеванию колониях рабочие пчелы, обнаружив (видимо, по запаху) ячейки с пораженными болезнью личинками, вскрывают их и выбрасывают больных личинок из улья. Классический генетический эксперимент позволил выявить эффект двух генов, один из которых «отвечает» за поведение «вскрытия ячейки» (специфические движения, ФКД), а второй – за удаление зараженных личинок из вскрытых ячеек (другие, иные по «рисунку» ФКД). Однако впоследствии выяснилось, что в колониях, подверженных инфекции, рабочие пчелы также обнаруживают ФКД этих двух типов. Иначе говоря, они выполняют два типа движений «гигиенического» поведения, но эти движения (в силу каких-то причин) проявляются у них очень редко и поэтому оказываются неэффективными в плане устранения инфекции. Иными словами, у них высок порог инициации этих движений. У пчел колоний с гигиеническим поведением эти движения иницируются легче, т.е. у них генетически детерминирован более низкий порог инициации. Еще один пример того, как генотип может модулировать проявление поведения именно в связи с уровнем возбудимости ЦНС, дали эксперименты по наследованию пассивно-оборонительного поведения у собак [10].

Таким образом, инстинктивное поведение и условия его экспрессии зависят от генетически детерминированных особенностей мозговых структур, обеспечивающих активацию соответствующих нервных цепей (и, по-видимому, от числа нейронов в ряде структур мозга [11], а также от гормонального фона и благоприятных или, наоборот, вредных для животного внешних условий). Основные свойства сенсомоторных механизмов поведения и реактивности ЦНС на стимулы predeterminedены в развивающейся нервной системе, они в разной степени зависят от контактов между нейронами, а в своем фенотипическом проявлении обнаруживают существенных «врожденный» компонент.

В то же время на другом конце виртуальной шкалы («врожденное-приобретенное», см. работу [12]) находятся феномены поведения, почти полностью зависящие (и в формировании, и в инициации) от индивидуального опыта животного, хотя в своем проявлении также зависящие от врожденных стереотипных действий, а также от уровня развития ЦНС данного вида. Это, в частности, пластические изменения поведения при процессах обучения разной сложности. Они также связаны со структурными особенностями ЦНС, детерминированными генотипом, но связь имеет очень сложный характер, поскольку в этих случаях имеет место сложное взаимодействие врожденных компонентов поведения с реакцией мозга на внешние воздействия (осуществляющееся во многих случаях на основе эпигенетических

механизмов). Примером могут быть различия между двумя линиями крыс, селективированными в начале 1920 г. Р. Трайном, различия между которыми (по данным более поздних исследований) имеют иногда противоречивый характер и связаны также с особенностями гормонального фона крыс этих линий. Усложнение поведения (в эволюционном ряду) в этом случае идет по пути усложнения потенциалов, т.е. *возможностей* носителей данной ЦНС проявить поведение, базирующееся на решении, например, новых задач. А. Меннинг пишет, что в нормальных условиях ни у обезьяны, ни у крысы нет поведения, связанного с решением сложной задачи инструментального научения, т.е. выбору определенного сочетания стимулов, подкрепляемого пищей. Однако ЦНС обезьян обладает *потенциями* к решению подобной задачи, а ЦНС крысы обладает этим в значительно меньшей степени (см. [8]). Наличие или отсутствие таких «потенций» — это свидетельство способности животных данного вида к решению «когнитивных» задач без опыта их решения в прошлом.

Исследование мозговых механизмов решения таких задач животными разного уровня развития (т.е. задач, с которыми животное сталкивается впервые и, следовательно, не имеет опыта их решения) — это и актуальная задача нейробиологии, и важный в практическом отношении вопрос биологических основ когнитивного поведения человека [13]. В этом плане важны данные по генетическим различиям в проявлении когнитивных способностей животных. Следует отметить, что в современной нейробиологической литературе под термином «когнитивный», как правило, понимается проявление пластичности поведения, т.е. его изменчивости в связи с формированием индивидуального опыта. Однако в более узком понимании данного термина — это способность особи решить впервые встреченную задачу на основе способности к улавливанию закономерностей, связывающих предметы и явления в конкретной ситуации, которую Л.В. Крушинский [14] назвал «элементарной рассудочной деятельностью». На примере способности животных ряда видов к экстраполяции направления движения стимула, скрывшегося из поля зрения, Крушинский и его коллеги показали важность структурной сложности ЦНС животных разных видов, а также (для крыс, мышей и серебристо-черных лисиц) были продемонстрированы генотипические различия в экспрессии этого признака (см. работы [14, 15]).

Очевидно, что накопление знаний о когнитивных способностях животных вызвало потребность к их обобщению. По аналогии с представлением, выдвинутым психологом К. Сперманом [16] о факторе общего интеллекта (g-factor), в большом числе исследований на грызунах было

показано, что при использовании «батареи тестов», требующих от животного научения, иногда весьма сложного, у них можно обнаружить значимую корреляцию успешности их выполнения. Такой комплекс способностей также получил название g-фактор (работы [17–21] и др.). Следующим шагом в интерпретации этих данных было предположение о существовании у животного (как и у человека) совокупности способностей, которые были названы «исполнительные функции» (executive functions). В их число входят «когнитивная пластичность», рабочая память, способность к предвидению, внимание, тормозный контроль и др. Совокупная экспрессия высоких показателей этих «способностей» определяет успешность целенаправленного поведения [22, 23]. При этом исследования нейрофизиологии мозга на крысах показали, например, участие в реализации таких способностей структур переднего мозга [24].

Предметом настоящего исследования был анализ результатов селекции лабораторных мышей на способность к решению когнитивного теста на неисчезаемость (по Ж. Пиаже: объект, ранее воспринимавшийся, продолжает существовать, даже если его в данный момент не видно). Для решения такой элементарной логической задачи животному необходимо и понимание логики конкретной ситуации, и внимание, и рабочая память [25].

В работе представлены данные по результатам отбора лабораторных мышей на высокие и низкие показатели решения когнитивного теста (основанного на врожденной реакции мыши избегать яркое освещение). Исходной популяцией для отбора были мыши линии ЭКС (F20), селективной ранее [26] на успешность решения задачи на экстраполяцию направления движения стимула, скрывшегося из поля зрения. Отметим, что селекционный эксперимент на способность к экстраполяции дал неустойчивые результаты, и можно считать, что успешной селекции на решение теста на экстраполяцию не произошло. Это могут быть разные причины, анализ которых дан в разделе «Обсуждение». В настоящем эксперименте признаками для отбора были показатели успешности (линия «плюс») или неудачи (линия «минус») выполнения мышами теста на поиск входа в укрытие (ПВУ) в его наиболее «трудных» предъявлениях (см. ниже). Данный тест (в англоязычной литературе — puzzle-box test [20]) основан на стремлении животного спрятаться в темноте из ярко освещенной части экспериментальной камеры, когда путь в темноту закрыт препятствием, которое необходимо преодолеть. Этот тест является «когнитивным» тестом *per se*, поскольку для его выполнения не требуется предварительного научения, а его решение — это решение элементарной логической задачи. Его

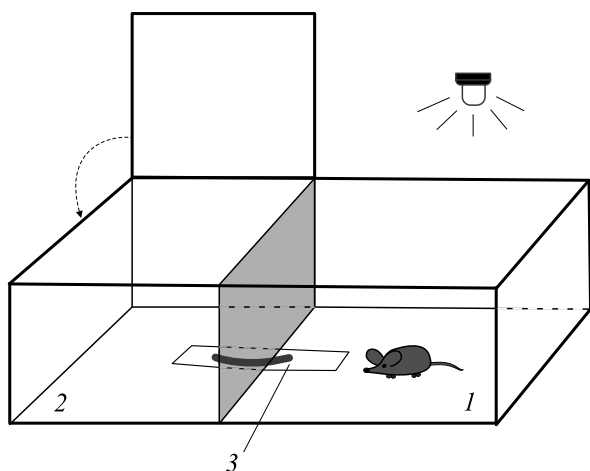


Рис. 1. Схема экспериментальной установки теста на поиск входа в укрытие: 1 — освещенная часть камеры, 2 — темная часть камеры, 3 — углубленный в пол лаз.

описание представлено в разделе «Материалы и методы». В добавление к оценкам способности к решению этого теста на ПВУ мы оценили проявления краткосрочной рабочей памяти и внимания к новым предметам у этих животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные. Как упоминалось выше, исходной популяцией для настоящего селекционного эксперимента были мыши 20-го поколения селекции мышей (линия ЭКС) на успешность решения задачи на экстраполяцию. Поведение мышей линии ЭКС сравнивали с таковым мышей неселектированной генетически гетерогенной популяции (КоЭКС). На основе F20 линии ЭКС был начат новый селекционный эксперимент (получено 7 поколений) с отбором на успешность решения теста ПВУ (линия «плюс») и на «не-решение» этого теста (линия «минус»). Суммарно было протестировано более 500 мышей (самцов и самок).

Мышей содержали в пластиковых клетках размером $42 \times 21.5 \times 15$ см по 6–8 особей в каждой с естественной сменой освещенности и температурой в пределах $19\text{--}22^\circ\text{C}$. Они получали стандартный корм (ООО «Лабораторкорм», Москва) и питьевую воду *ad lib*.

Тест на поиск входа в укрытие. Начальный вариант этого теста был впервые предложен как часть батареи тестов для оценки у мышей общего фактора *g* [21, 22]. В нашем варианте теста число предъявлений разных его этапов было укорочено до четырех (сложность которых возрастала от первого к третьему), а тестирование можно было провести в течение одного опытного дня (в отличие от трех дней в изначальном варианте М. Голсуорси и др.). Экспериментальная пластиковая камера состоит из двух отделений — ярко освещенного, размером $30 \times 28 \times 27.7$ см, и темного, размером $14 \times 28 \times 27.5$ см (рис. 1, 2).

Мышь, помещенная в ярко освещенную часть экспериментальной камеры, стремится убежать и спрятаться в ее темной части, куда ведет углубленный в пол лаз (глубина — 1.5 см, ширина — 4.5 см, длина — 11.5 см). В первой пробе теста лаз открыт, во второй его маскируют чистой стружкой, насыпая ее вровень с уровнем пола, а в третьей и четвертой пробах (которые наиболее трудны мышам) лаз прикрывают и блокируют легкой пробкой из пластика и картона, которую животное может отодвинуть или вынуть зубами из углубленного лаза. На решение первой и второй проб животному дается по 180 с, на решение третьей и четвертой проб — по 240 с. После перехода животного в темную часть камеры, его оставляют в ней на 15–20 с, после чего отсаживают в отдельную клетку и через 45–60 с предъявляют следующую пробу. Регистрируется латентный период перехода мыши в темноту, а также ряд показателей поведения, предшествовавших этому — это латентный период первого подхода мыши к лазу, число подходов до решения теста, число вертикальных стоек, эпизодов груминга и замираний, а также число болюсов дефекации. В случаях с лазом, закрытым пробкой, при отсутствии решения



Рис. 2. Тест ПВУ: 1 — лаз открыт; 2 — лаз замаскирован стружкой, мышь ее раскапывает; 3 — мышь «в раздумье», увидев «пробку», скрывающую лаз.

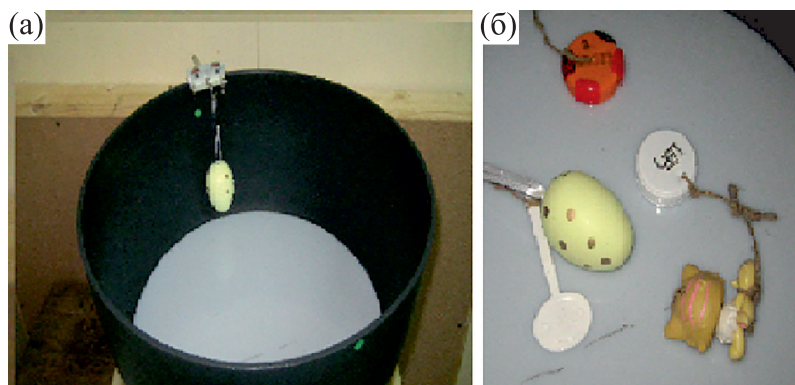


Рис. 3. Тест на внимание: (а) — вид камеры с подвешенным на уровне глаз мыши предметом (муляж куриного яйца); (б) — набор использованных предметов, на которых мышь могла фиксировать внимание.

теста отмечали также наличие или отсутствие у мыши движений «манипулирования» пробкой, т.е. попыток (безуспешных) проникнуть в темноту — захватов пробки зубами и ее приподнимания.

Критерии отбора. Критериями отбора для сублинии «плюс» было успешное решение теста в его наиболее «трудном» варианте (обеих проб теста с «пробкой»), а для сублинии «минус» — отсутствие такого решения. Поскольку практически все мыши решали первую и вторую пробы теста на ПВУ и выполняли реакцию достаточно быстро, критерием для селекции на успешное решение теста (линия «плюс») было решение третьего и четвертого предъявлений теста в течение времени не дольше, чем 60–90 с. В качестве родителей для следующего поколения линии «минус» отбирали животных, которые не решили этот тест при третьем и четвертом его предъявлениях. Мышей для получения потомства (один самец и одна-две самки) содержали в более маленьких клетках ($30 \times 10.5 \times 9$ см), беременных самок отсаживали в отдельные клетки такого же размера, в которых их содержали с потомством до прекращения материнского вскармливания (30-е–34-е сутки жизни). После этого мышатам наносили ушные метки и помещали по 6–9 особей (самцов и самок отдельно) в более крупные клетки.

Тестирование поведения мышей начинали в возрасте 2.5–3.0 мес. Каждый из использованных тестов проводил всегда один и тот же экспериментатор. Ранее было показано, что проведение тестирования разными лицами (в том числе и разного пола) влияет на показатели тестов у животных одного и того же генотипа [27, 28].

Тест приподнятого крестообразного лабиринта. Установка располагалась на высоте 29 см над поверхностью стола, длина открытых и закрытых рукавов — 21 см, ширина открытых рукавов — 5 см, закрытых — 5.5 см, высота стенок закрытых рукавов — 18 см. Мышь помещали на 3 мин в центр приподнятого крестообразного лабиринта.

Регистрировали (вручную) время пребывания мыши на открытой части лабиринта (открытые рукава и центр), число выходов из темных рукавов на свет, число стоек в темных рукавах, а также число переходов из одного темного рукава в другой.

Тест на внимание. Данный тест проводили в круглой камере из черного пластика, диаметром 36 см и высотой 22 см (рис. 3а). По внутренней стенке камеры по ее периметру перемещали подвешенный и закрепленный по краю камеры один из пяти предметов, располагавшийся на уровне головы животного (рис. 3б). Перемещение предмета начинали в момент, когда голова мыши была обращена к предмету (в среднем через 10–15 с после помещения животного в установку). Каждый предмет демонстрировали только в течение одного «круга» его движения, что занимало в среднем 40 с. Фиксировали (вручную) время первого подхода к предмету (латентный период), число таких подходов (приближений мыши к стенке под предметом), число стоек, эпизодов груминга и замираний, а также число болюсов дефекации. В качестве предметов, которые должны были привлекать внимание животных (рис. 3б) были: 1 — светлоокрашенный муляж куриного яйца, 2 — белая пластиковая лопатка (диаметром 2 см), 3 — белый пластиковый диск (диаметром 2.5 см), 4 — темно-окрашенный (цветной) диск (диаметром 3 см) и 5 — пластиковая игрушка неправильной формы (2×2.5 см). Порядок предъявления предметов разным животным был случайным, а при обработке выделяли реакции животных каждой группы на предмет, показанный первым, и предмет, показанный последним.

Статистическая обработка. Статистическую оценку достоверности различий между группами животных для величин латентных периодов решения тестов проводили с помощью одно- и двухфакторного анализа ANOVA (с последующей оценкой post hoc по методу LSD Фишера). Досто-

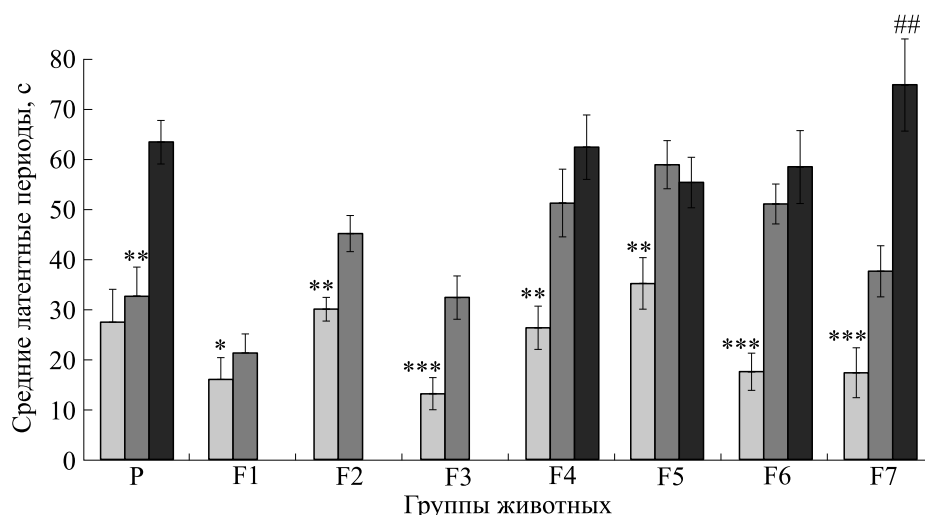


Рис. 4. Средние латентные периоды перехода в темное отделение камеры в тесте на поиск входа в укрытие мышами разных групп, когда лаз замаскирован стружкой. По оси ординат — средние латентные периоды, с; по оси абсцисс — группы животных: P — мыши «родительских» пар, выбранных для последующей селекции линий «плюс» и «минус»; F1–F7 — мыши последовательных поколений селекции и контрольной группы КоЭКС (неселектируемой генетически гетерогенной популяции). Светло-серые столбцы — мыши линии «плюс», темно-серые столбцы — линии «минус», черные столбцы — мыши популяции КоЭКС; *, **, *** — достоверное отличие от показателей линии минус и от контрольной группы, #, ## — достоверные различия между группой линии «минус» и КоЭКС при $p < 0.01$ (post hoc тест LSD Фишера, однофакторный анализ ANOVA).

верность различий между долями мышей каждой группы, решивших и не решивших тест ПВУ, определяли с помощью метода ф Фишера для альтернативных долей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Решение теста на поиск входа в укрытие. Приводятся результаты решения теста ПВУ, предъявленного мышам генетических групп. Это были мыши последовательных поколений селекции на решение и не решение когнитивного теста, а также (в F6 и F7) мыши контрольной неселектированной популяции КоЭКС ($n = 34$) [26, 27].

На рис. 4 представлены данные по средним величинам латентного периода решения теста ПВУ при его первых двух предъявлениях (когда лаз открыт и лаз замаскирован стружкой) в поколениях F1–F7, а также мышей родительского поколения линии ЭКС F20. Практически мыши всех тестируемых групп успешно, но с разными результатами по длительности латентного периода, переходили в темное отделение камеры. Обращает на себя внимание довольно быстрое решение теста при лазе, замаскированном стружкой. По нашим наблюдениям, наличие стружки, закрывающей лаз, вызывает быструю «позитивную» реакцию (поскольку это, видимо, относится к репертуару врожденных стереотипов поведения), однако практически во всех случаях мыши, селективируемые на «не решение» теста ПВУ, переходили в

темное отделение камеры при маскировке лаза стружкой более медленно, чем мыши «плюс».

Таким образом, выполнение теста ПВУ в первых двух пробах (лаз открыт и замаскирован стружкой) было успешным у мышей всех групп и достаточно быстрым, тогда как различия между «плюс»- и «минус»-группами мышей этих поколений четко обнаруживались в предъявлениях теста. В предъявлениях теста, когда лаз был закрыт пробкой, выявились различия в успешности решения теста (рис. 5), что может быть ответом на отбор в этих поколениях. Решение теста ПВУ мышами КоЭКС в третьей и четвертой пробах теста, когда «лаз» в темное отделение камеры закрыт пробкой, было значительно менее успешным, чем у мышей обеих линий селекции.

Наблюдения за поведением мышей показали, что в случаях, когда лаз был замаскирован пробкой, а решения теста не произошло, в большинстве случаев мыши обеих линий стараются зацепить или толкнуть пробку, т.е. обнаруживают «манипулирование» этим объектом, это наблюдалось и у мышей F20 (исходной популяции для селекционного эксперимента). Это поведение можно рассматривать как свидетельство того, что мышь пытается пройти через лаз, но не может преодолеть это препятствие, т.е. обнаруживает «понимание» неискренности искомого объекта. Мышей, которые не «манипулировали» пробкой, было очень мало. Например, в F3 в сублинии «плюс» было одно такое животное (из 83), в сублинии «минус» — два животных (из 73). В то же

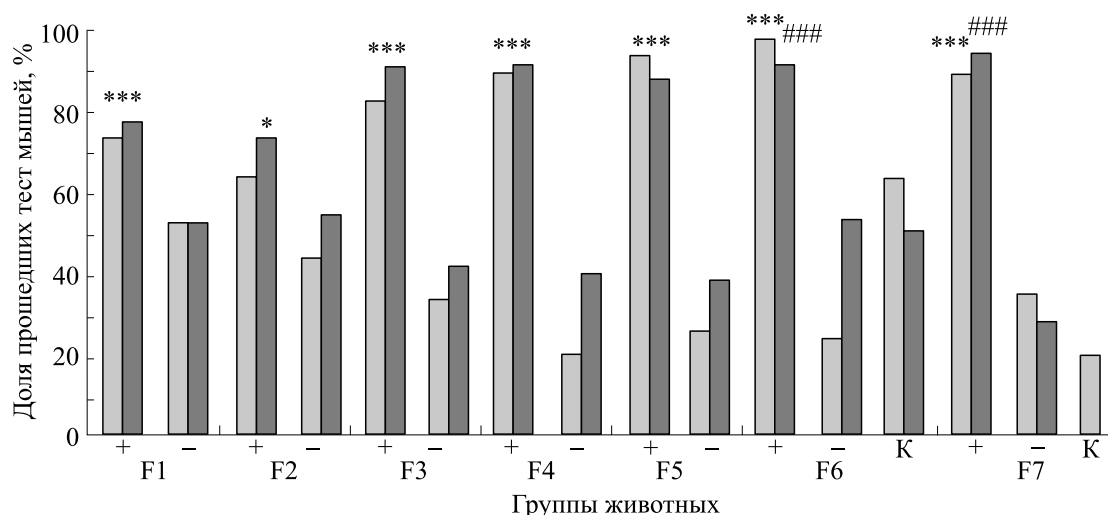


Рис. 5. Доли мышей (ось ординат, %) поколений селекции F1–F7 («+» и «-»), и мышей контрольной популяции («К»), успешно решивших тест ПВУ (стадии 3 и 4 теста, светло-серые и темно-серые столбцы соответственно, когда лаз закрыт пробкой), *** — достоверное отличие от доли линии «минус» при $p < 0.001$, ### — достоверное отличие от группы «К», $p < 0.001$ (ф-тест Фишера для оценки достоверности различий альтернативных долей).

время среди контрольных мышей КоЭКС (тестированных в те же сроки, что и мыши F3), «не манипулировавших» пробкой животных было 8 из 34. Различия в успешности решения «трудных» этапов теста ПВУ, выраженные достаточно четко, начиная с F3, могут служить свидетельством эффективности отбора по этим контрастным признакам. Следует напомнить, что обе сублинии происходили из линии ЭКС, в 20 поколениях которой проводили отбор на успешное решение когнитивного теста на экстраполяцию направления движения [27]. Сложности экспериментов такого рода известны [28, 29].

Сравнение времени решения теста при первом и втором предъявлении теста с лазером, замаскированным пробкой позволило увидеть дополнительно различия между линиями «плюс» и «минус». Доли мышей, у которых латентный период решения второго предъявления пробки был короче, чем при первом ее предъявлении, в линии «плюс» были больше, чем в линии «минус» (рис. 6). Это можно интерпретировать как более четкое проявление краткосрочной рабочей памяти у мышей линии «плюс», что находится в соответствии с их более успешным решением теста ПВУ на стадии предъявления лаза, закрытого «пробкой».

Тест на внимание с движущимися предметами. В решении этого теста (впервые использованного в данной работе) также выявились межлинейные различия, хотя следует отметить, что они были более четкими в шестом поколении селекции (см. рис. 7).

ОБСУЖДЕНИЕ

Генетические основы решения животными тестов на элементарную рассудочную деятельность (на примере теста на экстраполяцию) анализировались Л.В. Крушинским и его коллегами ранее [14, 29]. Это были сравнительные исследования выполнения теста на экстраполяцию серебристо-черными лисицами разных генотипов (на базе ИЦиГ в Новосибирске), а также попытка селекции крыс на способность к экстраполяции на основе популяции гибридов диких крыс-пасюков и крыс лабораторной линии Крушинского—Молодкиной. Селекция крыс была прекращена на уровне F4, поскольку практически все животные этого поколения обнаружили столь высокий уровень тревожности в обстановке эксперимента, что определить их способность к решению теста на экстраполяцию не представлялось возможным. Ввиду этого селекция мышей на способность к решению теста на экстраполяцию (т.е. создание линии ЭКС), начатая значительно позднее, проводилась с отбором производителей не только по высоким показателям решения теста на экстраполяцию, но и по проявлению тревожности в обстановке этого эксперимента. Иными словами, в селекцию не брали животных, которые медленно и очень осторожно пили молоко через центральное отверстие (откуда начиналось движение поилки с молоком, которую следовало отыскать, перемещаясь в направлении ее исчезновения). Для формирования производителей для получения следующего поколения мышей линии ЭКС не брали также тех животных, которые обнаруживали признаки испуга при начале движения поилки, когда животное отскакивало

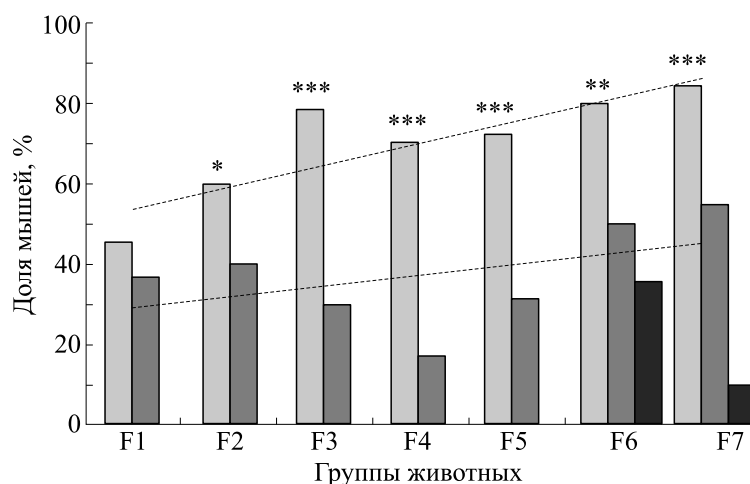


Рис. 6. Доли мышей ряда поколений селекции и контрольных мышей КоЭКС групп, у которых латентный период решения теста на поиск входа в укрытие при втором предъявлении лаза, закрытого пробкой, стал короче, чем при первом предъявлении этой задачи. Светло-серые столбики — мыши линии «плюс», темно-серые столбики — мыши линии «минус», черные столбики — мыши контрольной неселектированной популяции КоЭКС; *, **, *** — достоверное отличие от показателей групп линии «минус» и контрольной популяции при $p < 0.05$, 0.01 и 0.001 (ф-тест Фишера для оценки достоверности различий альтернативных долей).

от центрального отверстия, не успев проследить начало движения поилки [26].

У мышей первых поколений селекции линии ЭКС было отмечено некоторое превышение доли правильных решений теста на экстраполяцию над случайным 50%-м уровнем [26], однако в последующих поколениях (начиная с F9–F10) такое превышение стало обнаруживаться нерегулярно. Можно полагать, что селекция на способность к экстраполяции не была успешной (и у крыс, и у мышей) из-за сложности этого признака [25, 26]. Мы полагаем также, что отбор на этот когнитивный признак мог сопровождаться усилением функции глутаматергической системы в ЦНС, поскольку роль этой системы в обеспечении пластических изменений поведения была показана в большом числе исследований [30–32]. Однако при отборе на высокие показатели решения данного теста изменения в глутаматергической системе могли проявиться не только в структурах переднего мозга, важных для проявления когнитивных способностей, но и в других структурах. Существуют свидетельства участия в реализации реакции страха и тревоги глутаматных рецепторов нейронов дорсальной части центрального серого вещества (см., например, работы [33, 34]).

Логическая структура теста и на экстраполяцию, и на ПВУ предполагает, что для успешного решения животное должно оперировать закономерностью «неисчезаемости», т.е. понимать, что исчезнувший (из поля зрения) объект (поилка с молоком или замаскированный лаз) продолжают существовать, и их можно искать. Данные настоящей работы показывают, что мыши линий

«плюс» и «минус» обладали в определенной степени «пониманием» принципа неисчезаемости, что и проявилось в том, что подавляющее большинство мышей, даже не решивших стадии теста с пробками, пытались проникнуть в лаз, толкая и приподнимая пробку. Можно сделать заключение, что селекция на успешное и не успешное решение теста ПВУ в его варианте с пробкой выявила различия не только в решении теста, но и в способности животного «добиться» конкретного решения задачи. Это обстоятельство заставляет предположить, что различия между новыми линиями затронули проявление так называемых «исполнительных функций» (executive function) [20, 25, 35].

Успешность выполнения теста, т.е. реализация «исполнительных функций» у мышей разного генотипа была показана в одной из первых работ с использованием данного теста [21]. 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, только в скорости реализации решения. Мыши «плюс»-групп переходили в темноту с меньшим латентным периодом (рис. 4). С целью предварительной оценки возможных межлинейных различий в экспрессии именно «исполнительных функций» мышам двух поколений селекции (F6 и F7) был предъявлен тест на внимание, т.е. на прослеживание движения предмета (не исчезавшим из поля зрения).

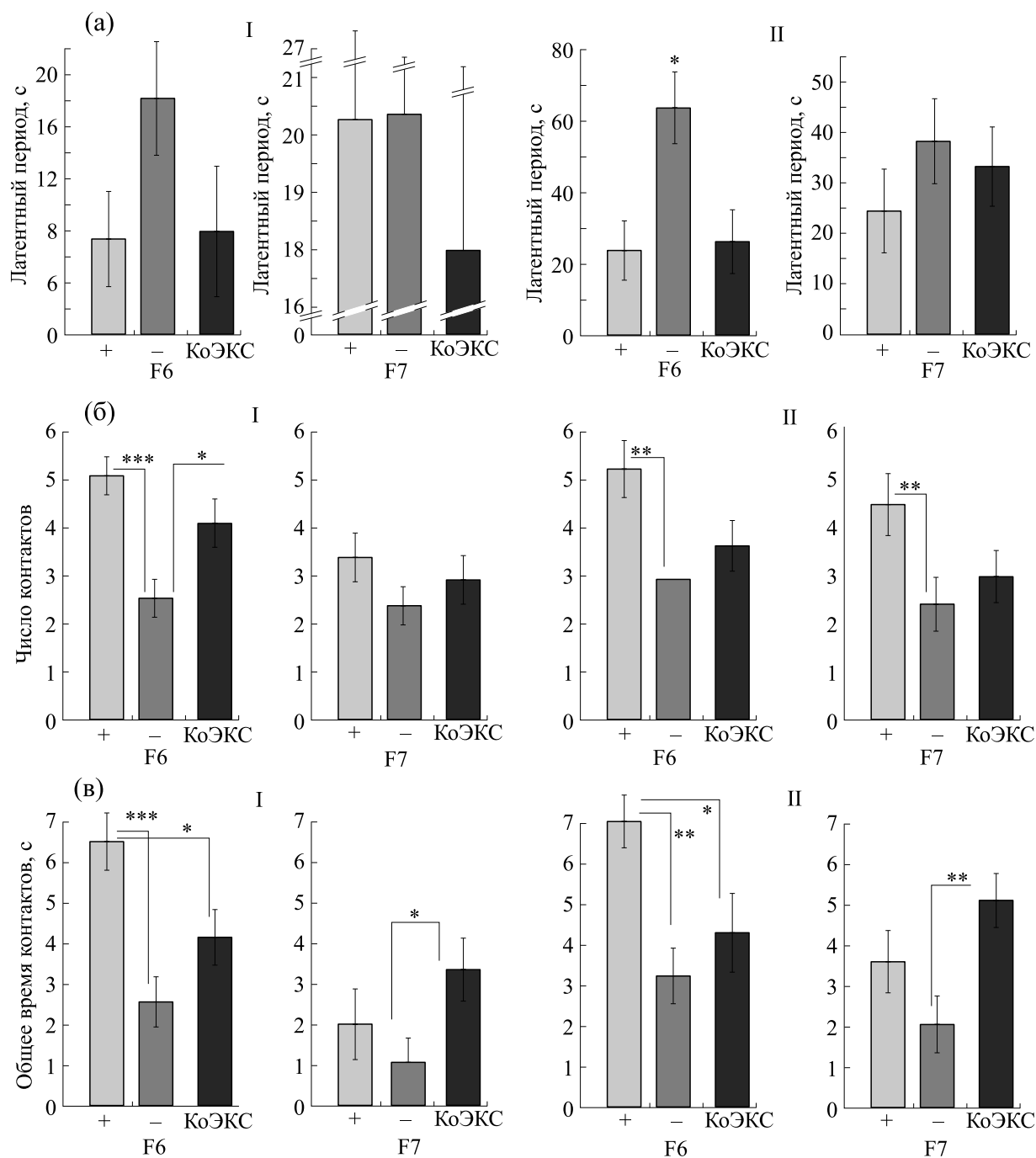


Рис. 7. Реакции мышей-самцов (средние значения $\pm$ ошибка среднего) групп F6 и F7 на движущиеся в поле зрения новые предметы (тест на внимание): (а) – латентный период первого подхода к предмету, (б) – число контактов с предметом за 40 с движения предмета по кругу, (в) – общее время контактов с предметом. I – Предмет, предъявленный первым, II – предмет, предъявленный последним; светло серые столбики – линия «плюс», темно серые столбики – линия «минус», черные столбики – контрольная популяция KoЭКС. *, **, *** – достоверные различия при $p < 0.05$, 0.01 и 0.001 соответственно (однофакторный анализ ANOVA, фактор «генотип», post hoc LSD-тест по Фишеру).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Следует отметить, что в литературе по анализу когнитивного поведения лабораторных грызунов (т.е. их способности к решению элементарных логических задач) аналогов представленного ис-

следования нет. В настоящее время основное внимание нейрогенетиков, занимает анализ модуляции экспрессии большого числа генов у генетически измененных животных, и подобный список работ насчитывает многие десятки исследо-

ваний. Особенно много получено данных, принципиально важных для исследования генеза заболеваний ЦНС человека (например, работы [35–37] и др.). Но селекционные эксперименты, в которых проводился бы отбор по экспрессии когнитивных признаков, практически не проводятся, хотя экспериментальный подход с использованием «батареи тестов» [20, 38–40] используется уже достаточно давно. В целом эта область нейробиологии, несмотря на большой прогресс в выявлении важных для когнитивного поведения структур мозга, многих сигнальных путей и групп специфических нейронов, остается пока недостаточно исследованной. Оценивая различия в результатах анализа поведения лабораторных грызунов, точнее, его аспектов, сходных с темой настоящей работы, следует также помнить о большом числе часто неконтролируемых переменных, которые могут влиять даже на «знак» получаемых межлинейных или межгрупповых различий (важность соблюдения единой последовательности тестов, учитывать влияния признаков конкретного экспериментатора, например, в работе [28], и др.).

Таким образом, в работе описаны достоверные различия в решении элементарной логической задачи, т.е. различия в экспрессии «исполнительных функций» у мышей, которые прошли семь поколений селекции на «успешность» и «неуспешность» решения теста на «неисчезаемость».

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках Государственной программы № ААА-А16-116021660055-1.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. S. M. Tomchik and R. L. Davis, *Nature*, **453** (7199), 1192 (2008).
2. Z. Reznikova, *Anim. Cogn.*, **23** (6), 1143- (2020). DOI: 10.1007/s10071-020-01423-x
3. Behavioral Genetics of the Mouse, Ed. by W. E. Crusio, F. Sluyter, R. T. Gerlai, and S. Pietropaolo, *Genetics of Behavioral Phenotypes* (Cambridge University Press, 2013), v. 1, pp. 357.
4. А. Зорина и А. А. Смирнова, *О чем рассказали «говорящие обезьяны. Способны ли высшие животные оперировать символами?* (Изд-во «Языки славянской культуры», 2008).
5. E. I. Rogaev, *Front. Genet.*, **3** (3), ID 00045 (2012). DOI: 10.3389/fgene.2012.00045
6. A. Fernández-Blanco and M. Dierssen, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 9039 (2020). DOI: 10.3390/ijms21239039
7. M. Mameli and P. Bateson, *Phil. Trans. R. Soc. B*, **366**, 436 (2011). DOI: 10.1098/rstb.2010.0174
8. A. Manning, In: *Psychobiology: Biological basis of behavior*, Ed. by J. McGough (Acad Press, N-Y, London, 1971), pp. 1–52.
9. W. C. Rothenbuhler, *Am. Zool.*, **4**, 111 (1964)
10. И. И. Полетаева, *Природа*, № 8, 150 (1999).
11. R. W. Williams, R. C. Strom, and D. Goldowitz, *J. Neurosci.*, **18** (1), 138 (1998).
12. P. Bateson and M. Mameli, *Dev. Psychobiol.*, **49** (8), 818 (2007). DOI: 10.1002/dev.20277
13. B. Anderson, *Am. J. Ment. Retard.*, **99** (1), 50 (1994).
14. Л. В. Крушинский, *Элементарная рассудочная деятельность* (Изд-во МГУ, М., 1976).
15. I. I. Poletaeva and Z. A. Zorina, *Russ. J. Cogn. Sci.*, **1** (3), 31 (2014).
16. A. R. Jensen, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **702** (1), 103 (1993). DOI: 10.1111/j.1749-6632.1993.tb17244.x
17. B. Anderson, In *Novartis Found Symp., discussion 90-5*, **233**, 79 (2000).
18. L. D. Matzel and S. Kolata, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **34** (1), 23 (2010). DOI: 10.1016/j.neubiorev.2009.07.002
19. S. Kolata, K. Light, H. C. Grossman, et al., *Learn. Mem.*, **14** (1), 22 (2007). DOI: 10.1101/lm.408507
20. M. J. Galsworthy, J. L. Paya-Cano, L. Liu, et al., *Behav. Genet.*, **35** (5), 675 (2005). DOI: 10.1007/s10519-005-3423-9
21. N. M. Ben Abdallah, J. Fuss, M. Trusel, et al., *Exp. Neurol.*, **227** (1), 42 (2011). DOI: 10.1016/j.expneurol.2010.09.008
22. S. Kolata, K. Light, and L. D. Matzel, *Intelligence*, **36**, 619 (2008), DOI: 10.1016/j.intell.2007.12.001
23. S. R. O. Nilsson, J. Alsioä, E. M. Somerville, and P. G. Clifton, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **56**, 1 (2015). DOI: 10.1016/j.neubiorev.2015.06.015
24. B. Kolisnyk, M. A. Al-Onaizi, P. H. F. Hirata, et al., *J. Neurosci.*, **33** (37), 14908 (2013).
25. О. В. Перепелкина и И. И. Полетаева, *Докл. РАН*, **499**, 322 (2021).
26. О. В. Перепелкина, Н. В. Маркина, В. А. Голибродо и др., *Журн. высш. нерв деятельности им. И.П. Павлова*, **61** (6), 742 (2011).
27. K. S. Van Driel and J. C. Talling, *Behav. Brain Res.*, **159** (2), 243 (2005). DOI: 10.1016/j.bbr.2004.11.005
28. P. Georgiou, T. M. Zanos, X. Mou, et al., *Nat. Neurosci.*, **25** (9), 1191 (2022). DOI: 10.1038/s41593-022-01146-x
29. И. И. Полетаева и З. А. Зорина, в сб. *Формирование поведения животных в норме и патологии: к 100-летию со дня рождения Л. В. Крушинского (1911–1984)*, Сост. И. И. Полетаева и З. А. Зорина (ЯСК, М., 2013), сс. 2–8.
30. R. M. O'Connor, B. C. Finger, P. J. Flor, and J. F. Cryan, *Eur. J. Pharmacol.*, **639** (1–3), 123 (2010). DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.02.059

31. J. L. Brigman, E. M. Powell, G. Mittleman, and J. W. Young, *Physiol. Behav.*, **107** (5), 666 (2012). DOI: 10.1016/j.physbeh.2011.12.024
32. D. A. Hamilton and J. L. Brigman, *Genes, Brain and Behavior*, **14**, 4 (2015).
33. A. E. Reimer, A. R. De Oliveira, and M. L. Brandao, *Neuroscience*, **219**, 72 (2012).
34. R. R. Rozeske, D. Jercog, N. Karalis, et al., *Neuron*, **97** (4), 898 (2018). DOI: 10.1016/j.neuron.2017.12.044
35. J. Talpos and M. Shoaib, *Handbook Exp. Pharmacol.*, **228**, 191 (2015). DOI: 10.1007/978-3-319-16522-6_6
36. L. Giménez-Llort, S. N. Schiffmann, T. Shmidt, et al., *Neurobiol. Learn. Mem.*, **87** (1), 42 (2007). DOI: 10.1016/j.nlm.2006.05.004
37. Q. Li, S. Y. Chan, K. K. Wong, et al., *Behav. Genet.*, **46** (4), 529–537 (2016).
38. J. R. Homberg, E. J. Kyzar, M. Nguyen, et al., *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **65**, 292 (2016). DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.013
39. C. Locurto, A. Benoit, C. Crowley, and A. Miele, *J. Comp. Psychol.*, **120** (4), 378 (2006).
40. H. M. Ene, N. Z. Kara., N. Barak, et al., *Acta Neuropsychiatr.*, **28** (2), 85 (2016). DOI: 10.1017/neu.2015.53

A Complex System of the Mouse Brain – Selection for Successful Solution of a Cognitive Test

I.I. Poletaeva*, O.V. Perepelkina*, and Z.A. Zorina*

**Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119234 Russia*

The study provides a review of experimental research on selection of mice that yields positive results. The selection of mice was high (the task required mice to understand that an object which has become invisible, still exists and could be found) and poor performance in a cognitive test. The results obtained revealed better short term memory in mice, selected for high performance scores, and that these mice also showed higher performance in tests for novelty and attention. This suggests that differences between mice used in the experiment are associated not only with cognitive abilities in tests, but also with more pronounced “executive functions”.

Keywords: animal cognitive abilities, elementary logic task, behavior genetics, selection, laboratory mice