

**НОВАЯ МОДИФИКАЦИЯ АППАРАТА «ЧЕЛНОЧНАЯ КАМЕРА»**

В.В. Немец<sup>1</sup>, младший научный сотрудник,  
А.И. Николаев<sup>1</sup>, кандидат химических наук, старший научный сотрудник,  
А.Б. Пшенов<sup>1</sup>, начальник хозяйственно-технического отдела,  
В.Е. Соболев<sup>1</sup>, доктор биологических наук,  
Е.П. Виноградова<sup>2</sup>, кандидат биологических наук,  
доцент кафедры высшей нервной деятельности и психофизиологии  
<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии  
и экологии человека ФМБА России  
Россия, 188663, Ленинградская область, Всеволожский район, г.п. Кузьмолловский,  
ст. Капитолово, корп. 93  
<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет,  
Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7–9  
e-mail: seva\_nemets@list.ru

**Резюме.** Сотрудниками НИИ ГПЭЧ ФМБА России проведена разработка, сборка и апробация модифицированного аппарата «челночная камера», для реализации методики «условный рефлекс активного избегания» (УРАИ). Данная методика предназначена для динамики обучения лабораторных животных (крыс) в условиях электроболевого стресса. Несмотря на то, что этот метод был изобретен более 40 лет назад, он до сих пор – один из самых эффективных способов оценки когнитивных способностей грызунов в условиях стресса. В зарубежных странах существуют различные модификации аппарата, адаптированные под разные тест-системы (крысы, мыши). Однако эти модификации сложны в изготовлении, эксплуатации, имеют высокую стоимость. Поэтому многие исследователи вынуждены отдавать предпочтение другим методикам, которые зачастую не отвечают целям и задачам эксперимента, или вынуждены отказаться от проведения когнитивных тестов.

Новая отечественная модификация, по сравнению с западными моделями, более проста в использовании, не требует специального программного обеспечения, автономна, обладает большой механической прочностью, обеспечивает надежные и повторяемые результаты при реализации методики УРАИ. Преимуществом данного аппарата является его адаптированность к биологическому объекту – лабораторной крысе. Авторы усовершенствовали механизм подачи электроболевого стимула для увеличения эффективности стрессорного обучения. В качестве условного сигнала используется звуковой импульс в частотах, характерных для слухового анализатора грызунов (2–4 кГц). Согласно данным литературы, сигналы высокой частоты служат у животных сигналом тревоги, что совпадает с характером применения экспериментальной установки, мотивируя животное эффективно выполнять задачу теста (перебегание на другую сторону экспериментальной установки). Плавная регулировка силы тока (в пределах 0–3 мА с точностью 0,1 мА) позволяет осуществлять тестирование животных по разным сценариям (на высоких и низких токах), регулируя уровень мотивации животного с обязательным учетом личностных особенностей стрессоустойчивости животных.

Ориентировочная стоимость отечественного аппарата намного ниже западных аналогов, что дает ему преимущество на рынке поведенческого оборудования. Изготовленная модификация прибора успешно показала себя в экспериментах, демонстрируя более высокие показатели обучения с достоверно более низким количеством реакций «замирания», чем базовая версия. Поэтому прибор можно рекомендовать для дальнейшего применения в психофизиологических и нейрофармакологических исследованиях.

Цель работы – разработка, сборка и апробация новой модификации отечественного аппарата «челночная камера» для выполнения теста УРАИ.

**Ключевые слова:** аппарат УРАИ, челночная камера, условный рефлекс, стресс, обучение, лабораторные исследования, методика УРАИ.

Для цитирования: Немец В.В., Николаев А.И., Пшенов А.Б., Соболев В.Е., Виноградова Е.П. Новая модификация аппарата «челночная камера». Лабораторные животные для научных исследований. 2018; 1. DOI: 10.29926/2618723X-2018-01-09

#### A NEW MODIFICATION OF THE SHUTTLE BOX DEVICE

Nemets V.V.<sup>1</sup>, Nikolaev A.I.<sup>1</sup>, Pshenov A.B.<sup>1</sup>, Sobolev V.E.<sup>1</sup>, Vinogradova E.P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology (RIHOPHE),  
St. Petersburg, 188663, Russia;

<sup>2</sup>Saint Petersburg state University, 7–9, University emb., St. Petersburg, 119034, Russia,  
e-mail: seva\_nemets@list.ru

**Summary.** Employees of RIHOPHE carried out the development and assembly of a modified shuttle box device, intended for the implementation of the URAI test (conditioned reflex of active avoidance). This method allows to study the dynamics of training of rodents in conditions of electrobolic stress. Despite the fact that this method was invented more than 40 years ago, it is still one of the most effective methods for assessing cognitive abilities of rodents under stress conditions. In foreign countries, many modifications of the apparatus have been developed, adapted for various test systems (rats, mice), however, these modifications are difficult to manufacture, operate, have a high cost, so many researchers are forced to give preference to other techniques that often do not meet the goals and tasks of the experiment, or are forced to abandon the conduct of cognitive tests.

The new domestic version, in comparison with other models, is more simple to use, does not require special software, is autonomous, has great mechanical strength, provides reliable and repeatable results when implementing the URAI technique. The advantage of this device is its adaptation to a biological object – a laboratory rat. The authors have improved the principle of giving an electroball stimulus to increase the effectiveness of stress training. As a conditional signal, a sound pulse is used in the frequencies characteristic of the auditory rodent analyzer (2–4 kHz). In the literature it is shown that high frequency signals serve as an alarm signal in animals, which coincides with the nature of the application of the experimental setup, motivating the animal to effectively perform the test task (running to the other side of the experimental cage). Smooth regulation of the current (within the range of 0–3 mA with an accuracy of 0.1 mA) makes it possible to test animals in different scenarios (at high and low currents) by regulating the level of motivation of the animal, which is necessary, given the personal characteristics of the animal's stress resistance.

The estimated cost of the domestic device is much lower than the other counterparts, which gives it an advantage in the market of behavioral equipment. The made modification of the device successfully proved itself in experiments, demonstrating higher learning rates with a significantly lower number of «freezing» reactions than the basic version. Thus, it can be recommended for further use of psychophysiological and neuropharmacological studies.

**Key words:** shuttle box, URAI test, conditioned reflex, new modification, stress training, rat training, neurobiology.

**For citation:** Nemets V.V., Nikolaev A.I., Pshenov A.B., Sobolev V.E., Vinogradova E.P. A new modification of the shuttle box device. Laboratory Animals for Science. 2018; 1. DOI: 10.29926/2618723X-2018-01-09

### Описание методики «условный рефлекс активного избегания» (УРАИ)

Одним из важнейших показателей нормального функционирования центральной нервной системы (ЦНС) лабораторных животных является их способность к обучению. В настоящее время существуют разнообразные методики для оценки этих способностей, но в лабораторных условиях наиболее удобным считается метод выработки условных рефлексов, либо классических, разработанных И.П. Павловым, либо инструментальных (по Б. Скиннеру) [1]. В предлагаемой нами

методике выработки инструментального условного рефлекса у грызунов в качестве условного стимула использовался звуковой сигнал, безусловного – болевое раздражение, вызываемое действием электрического тока, которое животное получало в случае неуспешного выполнения теста (переход на другую сторону установки после подачи условного сигнала – звука).

Известно, что умеренные кратковременные стрессы активируют когнитивную познавательную деятельность. В состоянии стресса животное эффективнее запоминает окружающую обстановку, выстраивает причинно-следственные связи [2].

На начальных этапах выработки условного рефлекса животное воспринимает болевые сигналы как аверсивные. В результате этого у многих крыс снижается двигательная и исследовательская активность, в то же время увеличивается длительность реакции «замирания». Через несколько сочетаний действия звукового и электроболевого стимулов у одних животных начинает преобладать активная стратегия поведения, которая проявляется в реакции «бегства», у других возникает реакция «замирания». Следует отметить, что реакция «бегства» может проявляться в 2 вариантах: избавлении и избегании. Реакция «избавления» – это уход на безопасную половину камеры при действии тока (безусловного стимула). Реакция «избегания» – это уход на безопасную половину камеры при действии звука (условный стимул). Как следует из данных литературы, выраженность этих реакций зависит как от генетически детерминированных особенностей животных – их стратегии поведения [3], так и от силы воздействия. Слишком слабое воздействие (сила тока  $<0,1$  мА) не может обеспечить животное достаточным уровнем мотивации для решения задачи теста, напротив, сверхсильные воздействия ( $>1,5$  мА) препятствуют выполнению задачи обучения [4].

Согласно литературе, для возникновения первой реакции «избегания» требуется 10–20 предъявлений. Для обучения в челночной камере на 1-й и 2-й день типичны 50% реакций «избегания» на 1-е сутки, 85% – на 2-е сутки [4]. Однако эти данные могут значительно варьироваться. При использовании токов 0,4 мА данный показатель составляет 7% в 1-й день и 13% – во 2-й, 20% – в 3-й и 47% – на 5-й день обучения. Эксперимент проводят 5–7 дней. На каждое животное приходится по 30–50 предъявлений комбинации звук/ток в сутки. Интервал между предъявлениями варьирует от 10 до 30 с в зависимости от уровня стрессированности животного. При использовании слабых токов можно проследить динамику обучения животных по дням. При действии тока силой 0,6–0,8 мА количество реакций «избегания» увеличивается до 30% на 1-й день и 60% – на 3-й и 5-й дни [5]. При реализации обучения на высоких токах, не происходит значительного увеличения данных реакций у самцов и самок крыс (не более 10% – на 3-й день) [6] и у других грызунов [7, 8, 9]. Наш аппарат позволяет реализовывать все эти схемы обучения, за счет возможности точной регулировки силы тока экспериментатором.

### Схема аппарата «челночная камера»

Аппарат представляет собой коробку из плексигласа, подключенную к блоку управления. Коробка разделена на 2 равных отсека перегородкой с переходным отверстием, через которое животное может свободно перемещаться из одной в

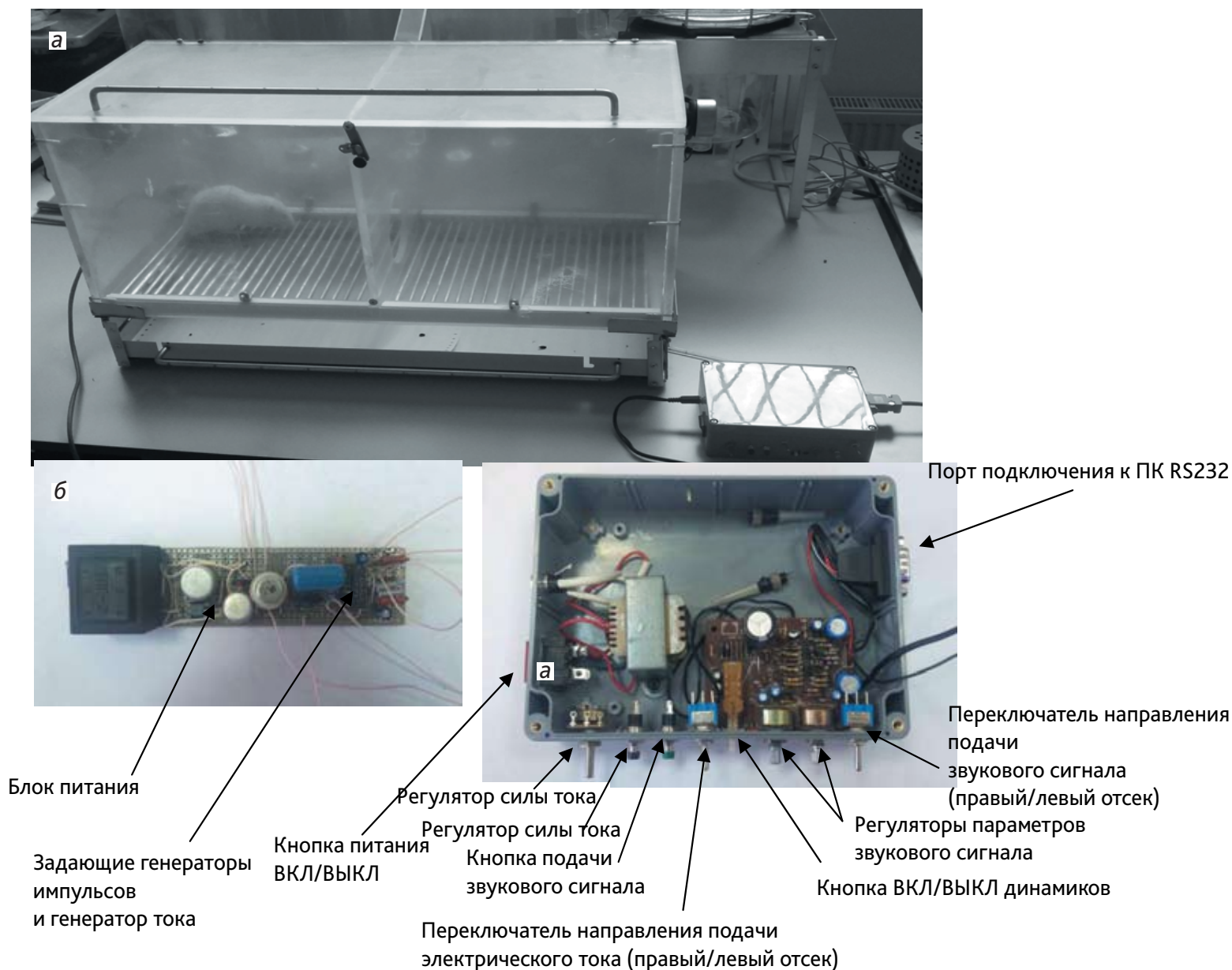


Рис. 1. Аппарат «челночная камера»: а – внешний вид; б – блок управления

другой отсеки. Верхняя панель ограничивает вертикальное перемещение и тем самым позволяет животному сконцентрироваться на решении задачи путем «перебегания». При открытой или недостаточно прочной верхней панели животное будет совершать прыжки, что может привести к возможному закреплению неправильного навыка.

Задающий генератор (см. рис. 1, б), выполнен на 2 элементах 2ИЛИ-НЕ микросхемы К561ЛЕ5. Импульсы тока длительностью 135 мс и периодичностью 2 имп/с подают на вход генератора тока и затем, по выбору экспериментатора, на электроды одного из двух отсеков камеры. Транзисторный генератор тока обеспечивает стабильную силу тока в импульсе при любом электрическом сопротивлении в пределах  $0 \div 30$  кОм. С помощью ручки регулятора на лицевой



панели электронного блока управления, можно устанавливать любую силу тока, подаваемого на электроды, в пределах 0–3 мА с точностью 0,1 мА. Звуковой сигнал частотой 2÷4кГц, создаваемый задающим генератором, выполненным на 2 оставшихся элементах 2ИЛИ-НЕ микросхемы К561ЛЕ5, подается (по выбору экспериментатора) на один из двух входов стереофонического усилителя мощности звуковой частоты и затем на один из динамиков, установленных в отсеках камеры.

### Материал и методы

В эксперименте принимали участие половозрелые животные-самцы (n=70). Животных содержали в виварии, в стандартных условиях с полным доступом к воде и корму. Работа с лабораторными животными осуществлялась согласно протоколу исследований в соответствии с Женевской конвенцией 1985 г. «Международные принципы биомедицинских исследований с использованием животных» и Хельсинкской декларацией 2000 г. о гуманном отношении к животным.

Было проведено 2 серии экспериментов. Тестирование выполнили по стандартной методике теста УРАИ последовательно в течение 2 дней [4]. Для каждого животного производили по 35 предъявлений в день с интервалами между ними 10–30 с. Сила тока – более 3 мА не использовалась из гуманных соображений. После тестирования животные были возвращены в стоковую популяцию вивария.

Для проверки достоверности полученных результатов использовали двусторонний t-критерий Стьюдента для независимых выборок.

### Преимущества данной модификации перед аналогами

1. В процессе выработки условного рефлекса важно обеспечить стабильность силы тока, воздействующего на животное. Это осуществляется особой схемой расположения электродов, препятствующей самопроизвольному шунтированию цепи фрагментами болюсов и мочевыми испражнениями. Для предотвращения загрязнения электродов на них надеты трубки из нержавеющей стали, свободно вращающиеся в процессе очистки.

2. Один из существенных недостатков базовой версии аппарата, выполненной с использованием постоянного тока со сходными характеристиками, – трудность в подборе оптимального болевого воздействия на животных из-за нестабильных значений тока (рис. 2). У крыс наблюдалась либо недостаточная мотивация к движению, т.е. снижались показатели обучения (уменьшалось число реакций «избегания») из-за слабого болевого воздействия, либо наоборот из-за сильной боли – увеличение количества реакций «замирания». Эту проблему удалось решить в конструкции новой модификации, применив пере-

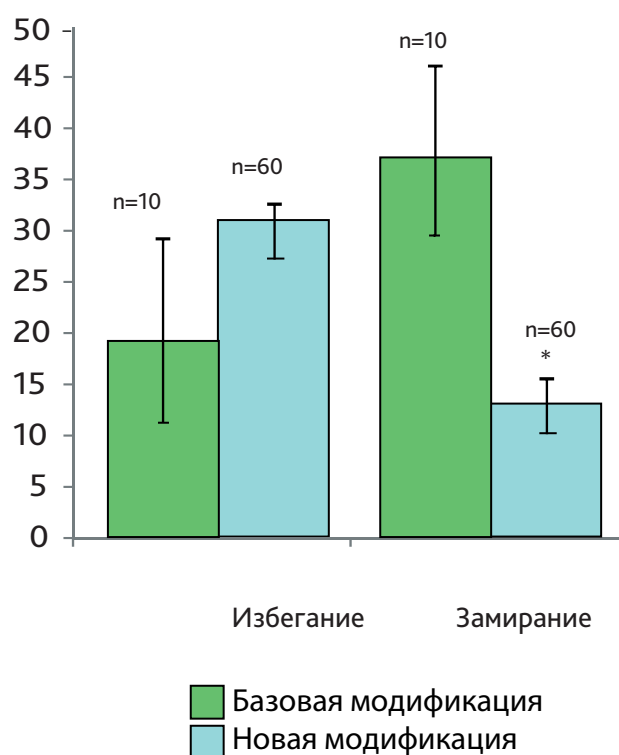


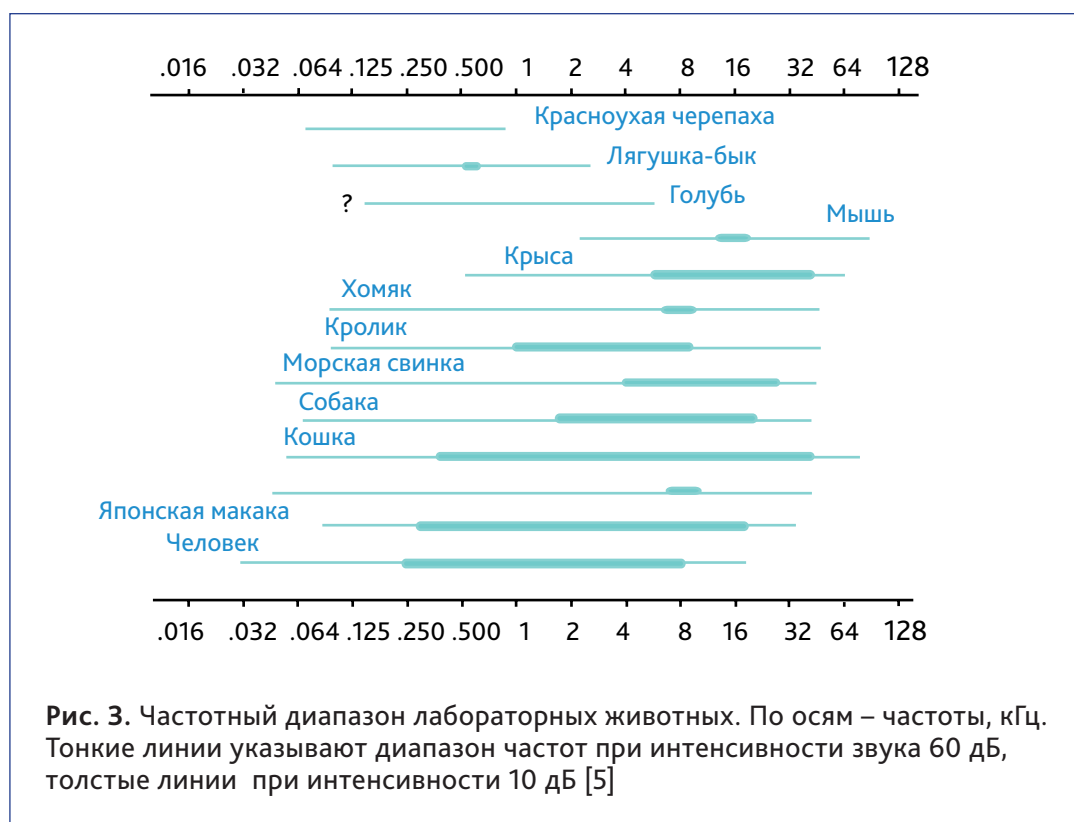
Рис. 2. Сравнительный анализ числа реакций «избегания» и «замирания» с использованием аппаратов базовой и новой модификаций при действии тока 0,8 мА, в % на 2-й день выработки УРАИ у лабораторных крыс (масса 250–300 г). Различия статистически значимы \* $p < 0,05$

менный пульсирующий ток (2 имп/с). При таком воздействии у животных наблюдались проявления болевой реакции (вокализация, пилоэрекция шерсти, агрессивные стойки, сужение глазной щели, эрекция хвоста, скрежет зубов) даже при действии тока ниже 1 мА.

3. Плавная регулировка силы тока позволяет реализовывать различные схемы обучения (при малых и больших токах), подбирая индивидуальные значения интенсивности болевого воздействия, исходя из персональных различий электропроводимости кожи и болевого порога животных.

4. В качестве условного сигнала применяли звуковое раздражение. Во многих западных и зарубежных аналогах используют звук частотой 1÷2 кГц. Мы использовали частоту 2÷4кГц, так как в этих интервалах лабораторные крысы отчетливо слышат даже низкоинтенсивные звуки (рис. 3). Кроме того, сигналы высокой частоты животные воспринимают как сигнал тревоги, что совпадает с характером применения экспериментальной установки.

5. Аппарат может работать в ручном режиме, однако предусмотрено управление внешними сигналами, подаваемыми программно от подключенного к нему персонального компьютера.



6. Ориентировочная стоимость отечественного аппарата – 50 000 руб., что намного ниже зарубежных аналогов.

Предлагаемая модификация прибора успешно показала себя в экспериментах, демонстрируя более высокие показатели обучения животных с достоверно более низким числом реакций «замирания», чем базовая версия. На основании результатов эксперимента приор можно рекомендовать для применения при проведении психофизиологических и нейрофармакологических исследований.

### Литература

1. Skinner B.F. Two types of conditioned reflex: a reply to Konorski and Miller. J. Gen. Psychol. 1937 Vol. 16: 272–9.
2. Kim B.K Impact of Several Types of Stresses on Short-term Memory and Apoptosis in the Hippocampus of Rats/ B.K Kim et. all. Int. Neurourol J. 2013. Sep; Vol. 17; 3: 114–20.
3. Vinogradova E.P. Passive avoidance conditioning in KHA and KLA rats. D.A. Zhukov, E.P. Vinogradova. Ross Fiziol. Zh. Im. I.M. Sechenova. 1998. Jan-Feb, Vol. 84;1–2; 131–2. Russian.
4. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Бурешова О., Хьюстон Д.. – М.: Высшая школа, 1991: 399.
5. Heffner H.E. Hearing ranges of laboratory animals/ H.E. Heffner et all. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. 2007 Jan.; Vol. 46, 1; 20–2. Review. PubMed PMID: 17203911
6. Abraham A, Gruss M. Stress inoculation facilitates active avoidance learning of the semi-precocial rodent *Octodon degus*/ A. Abraham, M.Gruss. Behav Brain Res. 2010. Dec 1; Vol. 213: 2: 293–303.

7. Avcu P et al.. Avoidance as expectancy in rats: sex and strain differences in acquisition. P. Avcu, X. Jiao, Front Behav Neurosci. 2014. Oct 6; Vol. 8: 334.

8. Sokolowski J.D. et al. Effects of dopamine depletions in the medial prefrontal cortex on active avoidance and escape in the rat. J.D. Sokolowski, L.D. Mc Cullough, J.D. Salamone. Brain Res. 1994. Jul 18; Vol. 651; 1–2: 293–9.

9. Mc Allister W. R., & McAllister D. E. Behavioral measurement of conditioned fear. In F. R. Brush (Ed.). Aversive conditioning and learning 1971. New York: Academic Press: 105–79.