

# Обоснование и разработка методики оценки долговременной и кратковременной памяти свиней на основе условного рефлекса добывания пищи в лабиринте

О.И. Алешина\*, А.В. Коновалов, М.С. Вахвияйнен, А.А. Кряжевских, Н.Г. Венгерович

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны Российской Федерации», Санкт-Петербург, Россия

\* E-mail: [gniiivm\\_15@mil.ru](mailto:gniiivm_15@mil.ru)

**Резюме.** На основании проведенного анализа литературы показано, что свиньи являются оптимальным биообъектом из числа лабораторных животных для оценки когнитивных нарушений, вызванных различными фармацевтическими субстанциями лекарственных средств. Установлено, что свиньи обладают рядом преимуществ по сравнению с грызунами и приматами (физиологические показатели структурно-анатомические особенности, удобство и относительная дешевизна содержания), что позволяет рассматривать их в качестве удобного объекта для широкого спектра доклинических исследований, в том числе для изучения когнитивных способностей. Разработана и апробирована методика для оценки долговременной и кратковременной памяти свиней, основанная на формировании поиска пищевого вознаграждения в разновидности Т-образного лабиринта. Определены критерии, позволяющие оценить особенности процесса запоминания, хранения и воспроизведения информации. Проведен анализ работоспособности методики, связанной с воспроизведением выработанного у свиней навыка (оценка долговременной памяти) и сохранением памятного следа об изменившемся месте пищевого подкрепления (оценка оперативной памяти и перехода информации в долговременную память). Апробацию и проверку работоспособности методики проводили при внутривенном введении в качестве амнезирующего агента скополамина в дозе 0,28 мг/кг.

**Ключевые слова:** свиньи, память, сложное пищевое поведение, лабиринт, скополамин

**Благодарности.** Работа выполнена без спонсорской поддержки.

**Для цитирования:** Алешина О.И., Коновалов А.В., Вахвияйнен М.С., Кряжевских А.А., Венгерович Н.Г. Обоснование и разработка методики оценки долговременной и кратковременной памяти свиней на основе условного рефлекса добывания пищи в лабиринте. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022; 3. 60–67. <https://doi.org/10.57034/2618723X-2022-03-07>.

Original article

## Justification and development of methods for the assessment of long-term and short-term memory of pigs based on the conditioned reflex of food acquisition in the maze

O.I. Aleshina\*, A.V. Konovalov, M.S. Vahviyainen, A.A. Kryazhevskikh, N.G. Vengerovich

Federal State Budgetary Institution State Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

\* E-mail: [gniiivm\\_15@mil.ru](mailto:gniiivm_15@mil.ru)

**Abstract.** According to the analysis of scientific literature, it has been shown that pigs are the optimal biological object among laboratory animals for the assessment of cognitive impairment caused by various pharmaceutical substances of medicinal agents. It has been established that pigs have a number of advantages compared to rodents and pri-

©, 2022

mates (physiological indicators, structural and anatomical features, convenience and relative cheapness of keeping), which allows one to consider them as a convenient object for a wide range of preclinical studies, including the study of cognitive abilities. A technique has been developed and tested for assessing long-term and short-term memory of pigs, based on the formation of a search for food rewards in a T-shaped maze modification. Criteria allowing to evaluate features of memorization processes, storage and reproduction of information have been defined. The assessment of efficiency of the methodology for the evaluation of a skill developed in pigs (a long-term memory assessment) and the preservation of a memory trace about a changed place of food reinforcement (assessment of working memory and the transition of information to long-term memory) has been made. Testing and checking the technique efficiency has been carried out with intravenous administration of an amnesic agent scopolamine at a dose of 0,28 mg/kg.

**Keywords:** pigs, memory, complex eating behavior, maze, scopolamine

**Acknowledgements.** The study was performed without external funding.

**For citation:** Aleshina O.I., Konovalov A.V., Vahviyainen M.S., Kryazhevskikh A.A., Vengerovich N.G. Justification and development of methods for the assessment of long-term and short-term memory of pigs based on the conditioned reflex of food acquisition in the maze. *Laboratory Animals for Science*. 2022; 3. 60–67. <https://doi.org/10.57034/2618723X-2022-03-07>.

## Введение

Когнитивные расстройства, возникающие вследствие токсических воздействий, нейродегенеративных и сосудистых заболеваний головного мозга, травм и других патологических процессов с вовлечением ЦНС, распространены среди современного населения и требуют разработки препаратов, препятствующих когнитивному снижению [1]. Кроме того, многие лекарственные препараты могут вызывать негативные побочные эффекты в виде ухудшения памяти, замедления мышления, дефицита внимания, отсутствие или наличие которых необходимо установить в рамках доклинических исследований безопасности и эффективности.

При проведении доклинических исследований новых лекарственных препаратов, способных влиять на когнитивные способности, актуален вопрос подбора релевантных методик оценки психических процессов и выбора биообъекта для определения не только простых поведенческих реакций, но и процессов функционирования нервной системы.

Обучение и память — сложные психические процессы, требующие участия высших функций мозга, а не просто получения серии вызванных ответов или соответствующего рефлекторного поведения [2]. При выборе моделей для исследования когнитивных функций при разработке и доклинической оценке новых лекарственных препаратов следует отдавать предпочтение наиболее подходящим методикам и тщательному выбору биообъекта, позволяющим получить достоверные, статистически значимые результаты, допускающие возможность адекватного переноса полученных экспериментальных данных на людей (трансляционные исследования) [3].

В настоящее время в практике доклинических исследований существует большое количество методических подходов по оценке таких сложных психических процессов, как внимание, память, обучение, тревожность, агрессия, однако они в первую очередь ориентированы на использование грызунов и в меньшей степени приматов, видов, которые традиционно считаются наиболее

приемлемыми для переноса полученных данных для исследования на людях [4].

Цель исследования — обоснование возможности использования свиней в качестве модельного объекта с высокой трансляционностью с целью расширения спектра доступных методик для когнитивных и поведенческих исследований.

Задачи исследования.

1. Экспериментальная оценка возможности использования свиней мясных пород в когнитивных и поведенческих исследованиях.
2. Разработка на основе ближайших аналогов методики для оценки долговременной и кратковременной памяти свиней и ее апробация.

**Состояние проблемы.** Традиционно в поведенческих исследованиях принято использовать грызунов в основном благодаря наличию множества проверенных тестов и моделей [5, 6], а также легкости и дешевизне затрат, связанных с содержанием, по сравнению с более крупными животными. Однако на основе экспериментов по обучению крыс в разных типах лабиринтов основоположник когнитивного подхода к изучению поведения животных Э. Толмен пришел к выводу, что схема стимул—реакция недостаточна для описания сложного поведения, поскольку отвечает на вопрос, касающийся только совокупности элементарных откликов на стимулы. С точки зрения Э. Толмена, в процессе обучения животное приобретает знания обо всех деталях ситуации, сохраняет их в форме внутренних представлений и может использовать. В процессе обучения у животных формируется так называемая когнитивная карта или мысленный план всех характеристик лабиринта, а затем по нему они строят свое поведение. Мысленный план может воспроизводиться еще какое-то время даже при отсутствии подкрепления. Аналогичной точки зрения придерживался и И.С. Бериташвили, основатель российской нейрофизиологической школы, который показал, что поведение собак, поставленных в ситуацию решения задачи, определяется не действующими в данный момент времени стимулами, а мысленными представлениями о них.

Преимущества использования свиней, в том числе мини-пиггов, как модели в биомедицин-

ских исследованиях, признаны еще в 70-х годах прошлого века на основании того факта, что они способны быстро усваивать классические обусловленные задачи по методикам Б.Ф. Скиннера. В последнее 10-летие наблюдается возрождение интереса к свинье как модели для изучения сложных психических процессов. Однако, несмотря на увеличение количества публикаций о когнитивных способностях свиней [7], опыт и знания относительно этого вида в качестве модельного биообъекта все еще ограничены. Использование свиней в научных целях составляет примерно 1% от общего числа животных различных видов [8]. Свиньи и мини-пиги имеют ряд преимуществ, которые делают их привлекательными для использования в исследованиях, в том числе вместе с другими видами лабораторных животных, особенно если конечная цель исследования включает экстраполяцию экспериментальных результатов на человека. По размерам органов, их массе и физиологии свиньи ближе к человеку, чем грызуны [8–10]. Относительно большой мозг свиней делает его пригодным для визуализации при инструментальных исследованиях, использовании МРТ и составлении функционально-когнитивной карты мозга [11, 12]. По данным зоологов и психофизиологов, свиньи способны различать несколько разнонаправленных стимулов при одновременном предъявлении в рамках одной задачи (запах, цвет, звук, вкус, форма) и выбирать правильный раздражитель для получения вознаграждения. По современным представлениям, использование свиньи как модели может заполнить пробел между доклиническими исследованиями на грызунах и клиническими испытаниями на людях [13–15], так как этот вид находится в промежуточном положении между приматами (трансляционность 63–71%) и грызунами (трансляционность 43%) [8, 16]. Они подходят для широкого спектра биомедицинских исследований, изучения эффектов психотропных препаратов, скрининга рецепторных профилей лекарств *in vivo*, а также для моделирования различных неврологических синдромов, например, паркинсонизма, вызванного черепно-мозговой травмой [17, 18].

Экспериментальные модели, разработанные для свиней, можно использовать для оценки влияния факторов образа жизни (стресса, злоупотребления алкоголем и наркотическими средствами, диабета, заболеваний головного мозга человека и др.) [10, 19, 20]. Еще одно важное преимущество заключается в том, что свиньи требуют меньших финансовых затрат на их приобретение и содержание по сравнению с приматами.

Проблема недостаточно широкого использования свиней в биомедицинских исследованиях поведения заключается на сегодняшний день в отсутствии хорошо стандартизированных и проверенных методик, чувствительных к изучаемым параметрам, в том числе тестов на обучение и память [4].

В зарубежной литературе встречается описание различных методик по пространственному

обучению и оценке памяти животных с использованием различных типов лабиринтов, так называемые лабиринты последовательного выбора или свободного выбора. Лабиринты последовательного выбора, как правило, состоят из фиксированной стартовой позиции и фиксированной цели (кормушка с пищевым подкреплением, «награда»), при этом животное должно выучить один правильный маршрут к цели, избегая неверных альтернатив, таких как заход в тупики или повторное посещение уже проверенных отсеков или рукавов. В отличие от лабиринтов последовательного выбора задача свободного выбора [21, 22] совсем иная — «награды» можно найти в разных местах, а животное может свободно посещать все рукава или отсеки в любом порядке. Наиболее эффективным поведением считается однократное посещение только места с «наградой». В лабиринтах свободного выбора животные должны запомнить список мест, которые уже посещали, чтобы избежать повторного просмотра. Этот список посещений хранится в рабочей (оперативной, кратковременной) памяти и является актуальным только в рамках конкретного исследования. Информация о расположении фиксированного места, где можно найти «награду», и кратчайший путь к нему содержится в долговременной памяти и не зависит от конкретного испытания [23]. В лабиринтах свободного выбора можно одновременно оценивать рабочую и долговременную память. Как и большинство вариантов Т- и Y-лабиринтов, применяемых в исследованиях на других видах животных, лабиринты для свиней не основаны на ориентации в пространстве, в котором они находятся, их следует рассматривать не как вариант пространственных, а как оперантные (или в некоторых случаях социальные) задачи.

В литературе [24] встречается описание экспериментальных исследований памяти свиней с применением различных конфигураций лабиринтов при использовании инструментального обучения или оперантного обусловливания по Скиннеру с положительным и/или отрицательным пищевым подкреплением. Описанные методики позволяют изучать различные аспекты памяти, ее восприимчивость к нарушению под воздействием различных факторов (влияние изменений среды содержания, стресс, боль, переключение внимания на другие стимулы). Ведется разработка методик исследования обучения и памяти для свиней, в которых можно контролировать и измерять несколько факторов, что в настоящее время является стандартной практикой для других видов животных. К таким методикам можно отнести многокомнатный лабиринт, который позволяет изучить тонкие нарушения обучения и памяти, либо сложный Т-образный лабиринт, где нужно найти «награду» в одном отсеке при первой попытке и в противоположном отсеке при второй попытке, в этом случае количество правильных выборов в течение нескольких тестирований будет характеризовать кратковременную память [20]. При этом внутримышечное введение холино-

литика скополамина в дозе 0,4 мг/кг животным, которые до введения успешно выполняли задачу, приводит к увеличению количества ошибок при выполнении тестовой задачи и снижению скорости ее выполнения, что наглядно показывает, как тестирование в лабиринте позволяет оценить показатели памяти [21].

При разработке поведенческих методик для свиней необходимо учитывать, что они должны соответствовать определенным критериям:

- 1) здоровые животные должны иметь возможность освоить и выполнить задачу;
- 2) выполняемая задача должна позволять провести детальный анализ поведения свиней в различных поведенческих аспектах (когнитивных, сенсорных, двигательных или мотивационных) [25];
- 3) задача должна быть максимально свободной от стресса (как для экспериментального животного, так и для экспериментатора), кроме случаев, когда измерение воздействия стресса является целью исследования;
- 4) задача должна соответствовать экологически естественному для данного вида поведению с целью предотвратить сложности из-за несоответствия задачи, выполняемой в эксперименте, поведенческим особенностям вида [26];
- 5) задача должна быть стандартизирована для внутрилабораторной и межлабораторной воспроизводимости [27];
- 6) задача должна быть по возможности автоматизирована, чтобы устранить зависимость от наблюдателя и позволять проводить точный анализ изучаемого показателя;
- 7) задания должны позволять исследовать развитие изучаемого эффекта во времени и предпочтительно подходить для повторных испытаний [28];
- 8) задача должна быть сложной и достаточно чувствительной, чтобы фиксировать тонкие различия в когнитивных способностях [29].

Для повышения мотивации животных к выполнению задачи и повышению ценности пищевой награды при выполнении тестирования часто применяют пищевую депривацию в виде уменьшения количества ежедневного рациона, хотя это не всегда необходимо [20, 30–32].

## Материал и методы

Методика, разработанная на основе разновидностей Т-образного лабиринта для крыс и собак, предназначена для исследования влияния лекарственных препаратов и фармакологически активных веществ на долговременную и кратковременную память свиней, а также на их способность усваивать и выполнять программу.

В основе методики лежит формирование у свиней мысленного представления о пространственной структуре лабиринта, в который помещают животное, и о расположении в нем кормушки с подкреплением. Во время обучения у животных вырабатывали условный пищевой навык — сви-

ня учится безошибочно заходить в отсек, где есть пищевая награда, воздерживаясь от посещения других отсеков. Критерием закрепления условного рефлекса в долговременной памяти считали безошибочное достижение свиньей пищевой приманки по кратчайшему пути.

В основе оценки влияния исследуемых препаратов на кратковременную память лежат механизм срыва закрепленного рефлекса и формирование нового опыта при негативном болевом подкреплении в зоне расположения привычной кормушки. Критерием формирования нового навыка считали выбор новой кормушки при игнорировании старой.

Апробирование методики проводили на свиньях-самцах породы Ландрас, полученных из племзавода «Пламя», ООО (г. Гатчина), в возрасте 3,4–4 мес, массой 35–45 кг. Животных содержали в помещении вивария в индивидуальных боксах размером 2,0×1,5 м с мелко решетчатым полом при 8-часовом режиме освещения и температуре 18–22 °С, поддержании влажности не более 75% и соответствующей кратности воздухообмена. Дверь бокса представляла собой решетку с встроенной кормушкой, что позволяло сохранять животным визуальный и вокализационный контакт с соседями. Кормление животных проводили 2 раза в сутки комбикормом маркировки СК-5 (Тосненский комбикормовый завод) в соответствии с нормами кормления, предварительно замоченным в воде в соотношении 1:3. Доступ к воде *ad-libitum* осуществляли с помощью сосковых автоматических поилок. Дополнительный подстил и обогащение среды не использовали. Уборку боксов проводили ежедневно. Для привыкания животных к экспериментаторам ежедневно осуществляли хендлинг, который включал тактильный контакт в виде почесывания и поглаживания, вознаграждение (кусочки яблок, мармелад).

Дизайн исследования одобрен комитетом по этике биомедицинских исследований ГНИИИ ВМ МО РФ (протокол №15 заседания комитета по этике ГНИИИ ВМ МО РФ от 17.07.20).

Тестирование проводили в лабораторных условиях при температуре 18–24 °С, относительной влажности 40–80% и постоянном освещении. Посторонний шум и воздействие прочих раздражителей сводили к минимуму, не допускали присутствия посторонних, не занятых в эксперименте сотрудников. За несколько дней до начала эксперимента животных подвергали режиму пищевой депривации, при котором ежедневный объем корма был сокращен на 20%, при этом вода находилась в свободном доступе.

Для апробации и оценки работоспособности методики использовали внутривенное введение в краевую ушную вену скополамина в дозе 0,28 мг/кг, полученной в результате аллометрического переноса максимальной эффективной дозы по нарушению памяти, установленной в предварительных экспериментах на крысах. Сравнение показателей контрольной ( $n=8$ ) и экспериментальной групп ( $n=16$ ) проводили с использова-

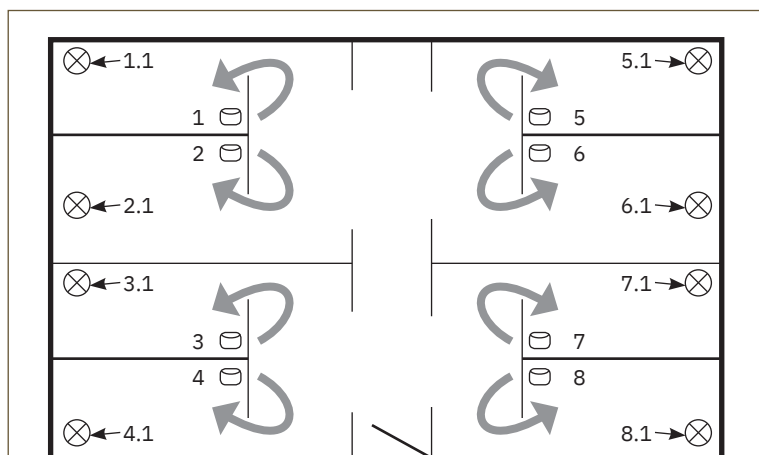
нием непараметрического критерия Краскела–Уоллиса. Дескриптивные показатели статистики представлены как среднее и стандартное отклонение ( $M \pm SD$ )

Помещение лабиринта представляет собой комнату размером 7×7 м с четырьмя одинаковыми отсеками размером 3×3 м, содержащими T-образную ширму, за которой спрятана пищевая награда (8 вариантов размещения, для каждой свиньи индивидуальное). Из клеток постоянного содержания свиней до комнаты с отсеками и кормушками ведет коридор длиной 25 м с двумя поворотами, время пробежки по которому учитывается при выполнении тестирования. Схема лабиринта представлена на рис. 1.

В качестве приманки с целью формирования навыка использовали небольшое количество (примерно 300 г) размоченного комбикорма для ежедневного кормления, для формирования нового навыка после срыва — 1 пакетик (85 г) влажного кошачьего корма «Sensory Smell» (Royal Canin, Франция). Перемещение из боксов содержания до лабиринта свиньи осуществляли самостоятельно, возвращение из лабиринта в бокс поощрялось кусочком яблока.

Методика оценки когнитивных способностей включает 4 этапа, на каждом из которых можно получить ценную информацию о действии исследуемого препарата (по приведенным критериям) на отдельные аспекты процесса запоминания и воспроизведения в зависимости от задачи исследования:

*I этап — 1–10-е сутки.* Выработка пищевого навыка. Этап основан на обучении свиней доходить кратчайшим путем от бокса постоянного содержания по коридору до комнаты с отсеками и ширмами к месту с пищевой наградой. Исследуемый показатель — скорость формирования навыка, то есть количество повторов (дней обучения) до устойчивого воспроизведения пищевого навыка в заданных условиях.



**Рис. 1.** Схема лабиринта с расположением кормушек с пищевой наградой для оценки долговременной и кратковременной памяти: 1–8 – места расположения кормушек для формирования навыка; 1.1–8.1 – места расположения альтернативных кормушек для варианта исследования оперативной памяти

Предварительно животных несколько дней обучали выходить из бокса и взаимодействовать с экспериментатором. Для формирования навыка животное заманивали (включая прохождение по коридору) в помещение лабиринта, предоставляя свободу перемещения по отсекам лабиринта в поисках пищи. После съедания приманки животных возвращали в место постоянного содержания. Выработку пищевого навыка у свиней проводили в течение 5–10 дней до безошибочной пробежки до места расположения кормушки за минимальное время. Свиней, не желающих выходить из клеток, взаимодействовать с экспериментатором или заходить в комнату с лабиринтом, исключали из дальнейшего обучения и участия в эксперименте. После окончания сеанса тестирования с одним животным помещение лабиринта тщательно мыли, чтобы исключить следы его пребывания, которые могли повлиять на поведение следующего животного [влажная обработка пола разбавленным раствором тетрамина (ЗАО «Петроспирт», Россия)].

*II этап — 11-е сутки.* Оценка исходного уровня условно-рефлекторной деятельности. Выполнение фонового тестирования.

*III этап — 11–15-е сутки.* Оценка влияния исследуемого препарата на условно-рефлекторную деятельность свиней по добытию пищи в лабиринте в различные временные промежутки после его введения. Животных выпускали из боксов и оценивали суммарное время пробежки до комнаты с лабиринтом и время прохода по лабиринту до кормушки, а также количество ошибок (за ошибку считали заход в отсек, где нет подкрепления). Оцениваемые показатели этапа: выполнение задания или отказ, скорость выполнения задания, количество ошибок при выполнении задания.

Полученные результаты сравнивали с аналогичным показателем при фоновом тестировании для каждого экспериментального животного и с показателями контрольной группы.

*IV этап — 15–20-е сутки.* Оценка влияния исследуемых препаратов на оперативную (кратковременную) память свиней после их введения. Тестирование проводили на животных со сформированным навыком добытия еды в лабиринте. Для оценки влияния исследуемых препаратов на кратковременную память в день тестирования животных лишают закрепившегося навыка путем негативного болевого воздействия в привычной кормушке (несколько игл от инсулинового шприца, закрепленных на дне пустой привычной кормушки), одновременно обучают тому, что пищевое подкрепление расположено в другой кормушке на расстоянии 1,5 м от привычной. Подобное болевое воздействие не приводит к травмированию, однако является более значимым, чем ограничение доступа к привычной кормушке либо изменение вкуса приманки, что позволяет за короткий промежуток времени переориентировать животное на новое место расположения приманки, более привлекательной по вкусу. Новый навык формировали за 4 подхода с перерывом в 10 мин. Критерием выполнения теста после введения исследуемых

**Таблица 1.**

Результаты тестирования животных ( $n=4$ ) в лабиринте после внутривенного введения скополамина ( $M\pm SD$ )

| Группа                               | Длительность выполнения теста, с<br>(количество особей с ошибкой/общее количество в группе) |                    |                   |                  |
|--------------------------------------|---|--------------------|-------------------|------------------|
|                                      | Фоновое тестирование  | Время тестирования |                   |                  |
|                                      |   | 5 мин              | 60 мин            | 24 ч             |
| Контрольная группа                   | 37,5±6,46 (0/8)   | 45,0±9,49 (0/8)    | 36,3±8,10 (0/8)   | 39,0±8,52 (0/8)  |
| Группа оценки долговременной памяти  | 36,5±4,66 (0/8)   | 300,0±0,00* (8/8)  | 300,0±0,00* (8/8) | 40,0±8,45 (0/8)  |
| Группа оценки кратковременной памяти | 37,0±5,94 (0/8)   | 300,0±0,00* (8/8)  | 300,0±0,00* (8/8) | 47,0±10,42 (8/8) |

Примечание. \* Различия со значениями группы контроля и фонового тестирования значимы при  $p=0,01$ .

препаратов считали безошибочный выбор новой кормушки с пищевым подкреплением. За ошибку считали выбор старого места пищевого подкрепления. Для оценки длительности нарушения памяти, вызванной исследуемыми препаратами, тестирование можно проводить в разные временные промежутки с контрольным испытанием через сутки. Полученные результаты сравнивают с аналогичными результатами контрольной группы.

## Результаты исследования

Апробацию работоспособности методики и оценку ее валидности проводили при внутривенном введении скополамина (Scopolamine hydrochloride, Sigma-Aldrich) в дозе 0,28 мг/кг. Оценивали его влияние на долговременную и оперативную память. Контрольной группе вводили физиологический раствор (натрия хлорид 0,9%, ООО «Мосфарм», Россия) в аналогичном объеме. Результаты представлены в табл. 1.

К оцениваемым критериям разработанной методики можно отнести следующие, указанные ниже.

Во-первых, скорость формирования навыка по поиску пищевого подкрепления в определенном месте (количество тренировочных дней до безошибочного выполнения задачи за кратчайшее время) позволяет оценить ноотропное действие лекарственных средств либо выявить их негативное (побочное, нежелательное) влияние, например, при курсовом применении.

Во-вторых, скорость выполнения задачи при сформированном навыке на фоне введения исследуемого лекарственного препарата (субстанции) помогает выявить возможное влияние исследуемых препаратов на двигательный и мотивационный компонент поведенческого акта (если данные факты не были выявлены ранее на других видах животных либо при исследовании препаратов в других дозах).

В-третьих, факт выполнения задачи при сформированном навыке либо при получении новой информации о пищевом подкреплении в альтернативном месте на фоне введения исследуемого лекарственного препарата (субстанции) позволяет оценить действие исследуемого препарата на воспроизведение информации из долговременной или кратковременной памяти. При отсроченном

тестировании через сутки можно оценить восстановление доступа к информации в долговременной памяти и влияние препарата на консолидацию памятного следа о новых условиях.

В-четвертых, количество ошибок при выполнении тестирования в обоих вариантах — дополнительный критерий, позволяющий подтвердить (заподозрить) негативное влияние исследуемых препаратов на когнитивные процессы.

Тестирование проводили через 5, 60 мин и 1 сут после введения скополамина.

Животные, получавшие внутривенно скополамин в дозе 0,28 мг/кг, в первые сутки наблюдения не смогли выполнить тест ни по поиску привычной кормушки, ни альтернативной, так как не вспомнили дорогу до комнаты с лабиринтом. При тестировании спустя сутки животные экспериментальных групп безошибочно находили кормушку в привычном им месте, что оценивали как выполнение теста при оценке долговременной памяти, однако информация о болевом подкреплении в ней в долговременной памяти не закрепилась, что считали ошибочным выполнением теста группой, где оценивалась кратковременная память. Контрольные животные безошибочно выбирали новое место в течение исследования и через 24 ч.

## Заключение

Как показывает анализ источников литературы и настоящее исследование, свиньи представляются подходящим биообъектом для оценки когнитивных нарушений, в том числе под воздействием лекарственных препаратов. По затратам на приобретение и содержание свиньи значительно дешевле приматов, по размерам органов, их массе и физиологии свиньи достаточно близки к человеку в отличие от грызунов, что позволяет экстраполировать полученные данные на человека с большей достоверностью. Как показала практическая работа с животными, свиньи активно контактируют с экспериментаторами и легко усваивают когнитивные и пространственные задачи, способны различать несколько разнонаправленных стимулов при одновременном предъявлении в рамках одной задачи. Разработанная на основании ближайших аналогов Т-образного лабиринта методика, основанная на формировании сложного

поискового поведения, обусловленного пищевым подкреплением с решением поставленной задачи, позволяет проводить оценку долговременной и кратковременной памяти свиней, а также процессов консолидации памятного следа.

Валидность разработанной методики подтверждена при внутривенном введении скополамина, препарата с доказанным негативным влиянием на когнитивные процессы. При применении скополамина в дозе 0,28 мг/кг показано нарушение воспроизведения как сформированного навыка, так и вновь полученного. Подтвержден срыв процесса перехода вновь приобретенной информации в долговременную память при сохранении ранее приобретенного навыка.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ушкалова Е.А. Фармакотерапия когнитивных нарушений различного генеза: современное состояние и перспективные направления // РМЖ. Неврология. Психиатрия. 2014. №22: С. 1613. URL: [https://www.rmj.ru/articles/nevrologiya/Farmakoterapiya\\_kognitivnyh\\_narusheniya\\_razlichnogo\\_geneza\\_sovremennoe\\_sostoyanie\\_i\\_perspektivnye\\_napravleniya/](https://www.rmj.ru/articles/nevrologiya/Farmakoterapiya_kognitivnyh_narusheniya_razlichnogo_geneza_sovremennoe_sostoyanie_i_perspektivnye_napravleniya/) (дата обращения: 04.2022).
2. Held S., Baumgartner J., Kilbride A. et al. Foraging behaviour in domestic pigs (*Sus scrofa*): remembering and prioritizing food sites of different value // *Anim. Cogn.* 2005. Vol. 8. P. 114–121.
3. Markou A. Removing obstacles in neuroscience drug discovery: The future path for animal models // *Geyer Neuropsychopharmacology*. 2009. Vol. 34. P. 74–89.
4. van der Staay F.J. Animal models of behavioral dysfunctions: basic concepts and classifications, and an evaluation strategy // *Brain Res.Rev.* 2006. Vol. 52. N. 1. P. 131–159.
5. Нотова С.В., Казакова Т. В., Маршинская О.В. Современные методы и оборудование для оценки поведения лабораторных животных (обзор) // *Животноводство и кормопроизводство*. 2018. Т. 101. №1. С. 106–115. [Notova S.V., Kazakova T.V., Marshinskaya O.V. Modern methods and equipment for assessing the behavior of laboratory animals (review) // *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo*. 2018. Vol. 101. N. 1. P. 106–115 (In Russ.)].
6. Kornum B.R., Thygesen K.S., Nielsen T.R. The effect of the inter-phase delay interval in the spontaneous object recognition test for pigs // *Behav. Brain Res.* 2007. Vol. 181. P. 210–217. doi: 10.1016/j.bbr.2007.04.007.
7. Ferguson S.A., Gopee N.V., Paule M.G. Female Mini-pig performance of temporal response differentiation, incremental repeated acquisition, progressive ratio operant tasks // *Behav. Processes*. 2009. Vol. 80. N. 1. P. 28–34. doi: 10.1016/j.beproc.2008.08.00.
8. Макарова М.Н., Матичин А.А., Матичина А.А. и др. Принципы выбора животных для научных исследований. Сообщение 1. Выбор модельных организмов на основании филогенетических связей // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022. №2. С. 58–70. [Makarova M.N., Matichin A.A., Matichina A.A. i dr. Printsipy vybora zhivotnykh dlya nauchnykh issledovaniy. Soobshchenie 1. Vybora model'nykh organizmov na osnovanii filogeneticheskikh svyazey // *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy*. 2022. N. 2. P. 58–70 (In Russ.)]. doi: 10.29296/2618723X-2022-02-07.
9. Leenaars C.H., Kouwenaa C., Stafleu F.R. et al. Animal to human translation: A systematic scoping review of reported concordance rates // *Journal of translational medicine*. 2019. Vol. 17. N. 1. P. 1–22. doi: 10.1186/s1296701919762.
10. Беляева Е.В., Устенко Ж.Ю., Гушин А.Я. Методика вскрытия и извлечения органов лабораторных животных. Сообщение 6: карликовые свиньи // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2019. №4. С. 55–77. [Belyaeva E.V., Ustenko Zh.Yu., Gushchin A.Ya. Metodika vskrytiya i izvlecheniya organov laboratornykh zhivotnykh. Soobshchenie 6: karlikovye svin'i // *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy*. 2019. N. 4. P. 55–77 (In Russ.)]. doi: 10.29296/2618723X-2019-04-08.
11. Schook L., Beattie C., Beever J. Swine in biomedical research: creating the building blocks of animal models // *Anim Biotechnol*. 2005. Vol. 16. P. 183–190.
12. Arnfred S.M., Lind N.M., Hansen A.K. et al. Prepulse inhibition of the acoustic startle eye-blink in the Gottingen minipig // *Behav. Brain Res.* 2004. Vol. 151. P. 295–301.
13. Danielsen E.H., Smith D.F., Andersen F. et al. FDOPA metabolism in the adult porcine brain: influence of tracer circulation time and VOI selection on estimates of striatal DOPA decarboxylation // *J. Neurosci Methods*. 2001. Vol. 111. P. 157–168. doi: 10.1016/s0165-0270(01)00453-8.
14. de Groot J., Boersma W., van der Staay F.J. et al. Development of domestic animal models for the study of the ontogeny of human disease. 2005. P. 117–128. [In: Coe DHC (ed) *Perinatal programming: early life determinants of adult health & disease*. Taylor & Francis, London].
15. Nunoya T., Shibuya K., Saitoh T. et al. Use of miniature pig for biomedical research, with reference to toxicologic studies // *JTP*. 2007. Vol. 20. P. 125–132. doi: 10.1293/tox.20.125.
16. Vodička P., Smetana K., Dvořánková B. The miniature pig as an animal model in biomedical research // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005. Vol. 1049. P. 161–171. doi: 10.1196/annals.1334.015.
17. Lind N.M., Arnfred S.M., Hemmingsen R.P. Prepulse inhibition of the acoustic startle reflex in pigs and its disruption by D-amphetamine // *Behav Brain Res.* 2004. Vol. 155. P. 217–222.
18. Mikkelsen M., Moller A., Jensen L.H. MPTP-Induced parkinsonism in Minipigs: a behavioral, biochemical, and histological study // *Neurotoxicol Teratol*. 1999. Vol. 21. P. 169–175.
19. Swindle M.M., Makin A., Herron A.J., Ciubb Jr.F.J., Frazier K.S. Swine as models in biomedical. Research and Toxicology Testing // *Veterinary Pathology*. 2012. Vol. 49. N. 2. P. 344–356.
20. Nielsen T.R., Kornum B.R., Moustgaard A. A novel spatial delayed non-match to sample (DNMS) task in the Gottingen Minipig // *Behav Brain Res.* 2009. Vol. 196. P. 93–98.
21. Bouger P.C., van der Staay F.J. Rats with scopolamine- or MK-801-induced spatial discrimination deficits in the cone field task: animal models for impaired spatial orientation performance // *Neuropsychopharmacology*. 2005. Vol. 15. P. 331–346.
22. Lachman S.J., Brown C.R. Behavior in a free choice multiple path elimination problem // *J. Psychol*. 1957. Vol. 43. P. 27–40.
23. Olton D.S., Samuelson R.J. Remembrance of places passed: spatial memory in rats // *J. Exp. Psychol*. 1976. Vol. 2. P. 97–116.
24. Rescorla R.A. Behavioral studies of pavlovian conditioning // *Ann. Rev. Neurosci*. 1988. Vol. 11. P. 329–352.
25. Wainwright P.E., Colombo J. Nutrition and the development

- of cognitive functions: interpretation of behavioural studies in animals and human infants // *Am. J. Clin. Nutr.* 2006. Vol. 84. P. 961–970. doi: 10.1093/ajcn/84.5.961.
26. Koolhaas J.M., de Boer S.F., Buwalda B. Stress and adaptation — toward ecologically relevant animal models // *Curr. Dir. Psychol. Sci.* 2006. Vol. 15. P. 109–112.
27. van der Staay F.J., Arndt S.S., Nordquist R.E. The standardization-generalization dilemma: a way out // *Genes Brain Behav.* 2010. Vol. 9. P. 849–855. doi: 10.1111/j.1601-183X.2010.00628.x.
28. van der Staay F.J. Assessment of age-associated cognitive deficits in rats: a tricky business // *Neurosci Biobehav Rev.* 2002. Vol. 26. P. 753–759.
29. Friess S.H., Ichord R.N., Owens K. Neurobehavioural functional deficits following closed head injury in the neonatal pig // *Exp Neurol.* 2007. Vol. 204. P. 234–243. doi: 10.1016/j.expneurol.2006.10.010.
30. Arts J.W.M., van der Staay F.J., Ekel E.D. Working and reference memory of pigs in the spatial hole board discrimination task // *Behav. Brain Res.* 2009. Vol. 205. P. 303–306. doi: 10.1016/j.bbr.2009.06.014.
31. Kirsch I., Lynn S.J., Vigorito M. et al. The role of cognition in classical and operant conditioning // *J. Clin. Psychol.* 2004. Vol. 60. P. 369–392. doi: 10.1002/jclp.10251.
32. Laughlin K., Mendl M. Costs of acquiring and forgetting information affect spatial memory and its susceptibility to interference // *Anim. Behav.* 2004. Vol. 68. P. 97–103. doi: 10.1016/j.anbehav.2003.10.019.

### Информация об авторах

*О.И. Алешина*, кандидат биологических наук, научный сотрудник, gniiivm\_15@mil.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0323-9511>

*А.В. Коновалов*, заместитель начальника научно-исследовательского испытательного отдела

*М.С. Вахвияйнен*, младший научный сотрудник

*А.А. Кряжевских*, лаборант-исследователь

*Н.Г. Венгерович*, доктор медицинских наук, начальник научно-исследовательского испытательного отдела,

<https://orcid.org/0000-0003-3219-341X>

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны Российской Федерации», 195043, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая д. 4

### Information about the authors

*O.I. Aleshina*, PhD of biological sciences, researcher, gniiivm\_15@mil.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0323-9511>

*A.V. Konovalov*, Deputy Head of the Research and Testing Department

*M.S. Vahviyainen*, junior research

*A.A. Kryazhevskikh*, research laboratory assistant

*N.G. Vengerovich*, MD of medical sciences, Deputy Head of Research and Testing Department, <https://orcid.org/0000-0003-3219-341X>

Federal State Budgetary Institution State Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 195043, Russia, St. Petersburg, 4 Lesoparkovaya st.

### Вклад авторов в написание статьи

**О.И. Алешина, А.В. Коновалов** — существенный вклад в концепцию или дизайн работы, написание текста, согласие нести ответственность за все аспекты работы, надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи.

**М.С. Вахвияйнен, А.А. Кряжевских** — существенный вклад в дизайн работы, сбор, анализ и интерпретация результатов работы.

**Н.Г. Венгерович** — критический пересмотр содержания текста, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

### Authors contribution

**O.I. Aleshina, A.V. Konovalov** — significant contribution to the conception or a design of the study, writing, agreement to be responsible for all aspects of the work, proper study and resolution of issues related to the validity of the data and the integrity of all parts of the paper.

**M.S. Vahviyainen, A.A. Kryazhevskikh** — substantial contribution of the work, collecting, analyzing, and interpreting the results of the study.

**N.G. Vengerovich** — critical revision of the text content, approval of the final version of the articles for publication.

### Сведения о конфликте интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Дата поступления рукописи в редакцию: 29.06.2022

Дата рецензии статьи: 17.08.2022

Дата принятия статьи к публикации: 24.08.2022

Received: 29.06.2022

Reviewed: 17.08.2022

Accepted for publication: 24.08.2022