

Статья принята в печать в журнал «Обзоры клинической фармакологии и лекарственной терапии» 20 ноября 2021 года, главным редактором, профессором, д.м.н. П.Д. Шабановым.

**Моделирование социального поведения с использованием зебраданио (*Danio rerio*)
в тестах социального взаимодействия и предпочтения**

2021 г. Д.С. Галстян^{1,2}, Т.О. Колесникова³,
Ю.М. Косицын¹, К.Н. Забегалов³, М.А. Губайдуллина³, Г.О. Маслов^{3,5}
К.А. Демин^{1,3,4}, А.В. Калуев^{1,3,4,5,6,7,8*}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

³Научно-технологический университет «Сириус», Сочи, Россия

⁴Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова,
Санкт-Петербург, Россия

⁵Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

⁶Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁷Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины, Новосибирск, Россия

⁸Московский физико-технический институт, Москва, Россия

* avkalueff@gmail.com

Поступила в редакцию xx.xx.2021 г.

После доработки xx.xx.2021 г.

Принята к публикации xx.xx.2021 г.

Аннотация.

Социальное взаимодействие между особями одного вида – важный фактор нормального развития индивида в сообществе, нарушение которого является проявлением многих психических расстройств. Для рыб зебраданио описаны несколько методов диагностики нарушения социального поведения, включая тесты на социальное предпочтение и социальное взаимодействие, используемые для моделирования широкого спектра социальных фенотипов, потенциально значимых для изучения депрессии, патологической агрессии, шизофрении, аутизма и других заболеваний мозга.

Abstract.

Social interactions between conspecifics are an important factor in normal development of an individual in a community, and their deficits correlate with multiple psychiatric disorders. Several methods for assessing social behavior and its deficits have been described for zebrafish, and include tests for social preference and social interaction. These tests are commonly used to

model a wide range of social phenotypes that are potentially relevant to studying depression, pathological aggression, schizophrenia, autism, and other brain diseases.

Ключевые слова: зебраданио, социальное взаимодействие, социальное предпочтение, групповое поведение.

Keywords: zebrafish, social interaction, social preference, group behavior.

Введение

Взаимодействие между особями одного вида является главной составляющей социального поведения и фактором нормального развития индивида в сообществе. Нарушения взаимодействия с окружающими и социальная изоляция могут быть следствием многих психических расстройств (1). В трансляционной диагностике расстройств ЦНС у животных используется тест социального взаимодействия (social interaction test), результат которого отражает фенотипические проявления патогенеза, базирующийся на реципрокном изменении поведения зебраданио вследствие присутствия и действий других сородичей. Могут использоваться различные модификации теста, различающиеся по количеству предъявляемых стимулов и их качеству (2).

Для оценки группового поведения рыб ранее были описаны несколько методов, включая тесты на социальное предпочтение и на социальное взаимодействие (Рис. 1-2). Изначально, этот тест широко использовался для грызунов, однако позднее был адаптирован и для водных позвоночных. Во время тестирования, две особи помещаются в одну клетку, не содержащую никаких других стимулов, и оценивается частота и продолжительность избегания животного-стимула (тестера), замирания, подходов к тестеру, обнюхиваний, преследования, атаки, автогруминга и исследовательской активности тестируемого животного. Данный тест чувствителен к нарушениям социального поведения и часто используется для оценки животных в моделях аутизма и шизофрении (3). У зебраданио, к 14 дню мальки уже способны формировать плотные косяки. К 21 дню социальные взаимодействия обусловлены социальными сигналами, которые особи посылают друг другу с помощью характерных паттернов плавания. К 30 дню после вылупления зебраданио полностью формирует комплекс социальных паттернов, необходимых для установления контакта с сородичами (4).

Основные параметры, анализируемые в тесте, и процедура тестирования

Тестовая установка для зебраданио представляет собой прозрачный пластиковый контейнер, разделенный перегородками на 3 зоны: центральная зона, содержащая

тестируемое животное, один пустой отсек, и один отсек, содержащий незнакомую рыбу. Перегородки между зонами могут быть как непроницаемыми, и в этом случае тестируемое животное получает только визуальный стимул, или иметь отверстия, обеспечивающие дополнительные ольфакторные стимулы, важные для вызова социальных реакций у зебр аданио (5). В некоторых модификациях данного теста используются камеры с двумя отсеками и перегородкой, которая может менять свою проницаемость и позволять рыбам видеть сородича во время тестовой сессии, но не во время адаптационного периода (6).

В тесте социального взаимодействия для зебр аданио оцениваются следующие параметры: общая пройденная дистанция экспериментального животного, расстояние до перегородки, % времени взаимодействия (отношение времени, проведенном возле перегородки к общему времени теста), время, проведенное возле перегородки (зона 5-6 см) и число заходов в зону возле перегородки. Также, при автоматизированной обработке, анализ траекторий движения опытной и тестовой рыбы (тестера) необходим для выявления четких фенотипов социальных взаимодействий. Тестирование обычно проводят в два этапа:

- 1) Габитуация в течение 10 мин, когда тестовому животному позволяют исследовать аквариум, без предъявления стимула;
- 2) Тестирование в течение 10 мин, когда тестовому животному предъявляют сородича или его изображение и фиксируют его поведение.

Кроме социальных взаимодействий двух незнакомых особей, можно выделить такую категорию социального поведения, как половое поведение. Для самок и самцов характерны определенные паттерны поведения, подразделяемые на соответствующие стадии. Для самок к этим паттернам можно отнести приближение (подплывание), сопровождение, присутствие рядом, преследование и откладка яиц. У самцов половое поведение включает погоню, позицию «нос-хвост» (самец подплывает к самке сзади и касается ее хвоста), плавание кругами (самка оказывается внутри круга), поведение подрагивания, когда самец совершает мелкие дрожательные движения телом и плавание зигзагом (7). Таким образом, социальные взаимодействия во время спаривания также могут быть оценены количественно вручную или с помощью компьютерной обработки.

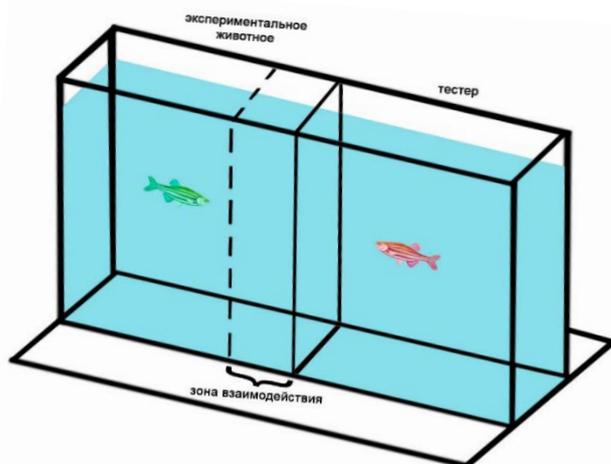


Рисунок 1. Пример теста социального взаимодействия зебр аданио

Наряду с социальным взаимодействием, также описано узнавание особью знакомых сородичей (социальное узнавание, *social recognition*). Экспериментальные животные, имеющие доступ к ольфакторным и визуальным сигналам от сородича, быстрее определяют, является ли он знакомым или незнакомцем. Установка для тестирования состоит из трех отсеков - центрального и двух боковых. Все отсеки разделены перегородками, не имеющими отверстий. Поведенческий тест состоит из трех этапов:

- 1) Габитуация в течение 15 мин.
- 2) Обучение. На данном этапе животному предлагали взаимодействовать с двумя незнакомыми рыбами, находящимися в боковых отсеках, в течение 20 мин. Оценивается время, проведенное возле перегородок с незнакомцами. Незнакомые животные имеют то же происхождение, возраст и размер, что и тестируемые рыбы.
- 3) Тестирование через 24 часа после обучения. На данном этапе одну из рыб в боковом отсеке заменяют на новую, представляющую собой незнакомую особь. Оценивают время, проведенное возле каждого из отсеков со знакомой и незнакомой рыбой.

Тест социального предпочтения (*social preference test*) является еще одним важным тестом социального поведения зебр аданио. В этом тесте животные обычно проводят больше времени рядом с группой зебр аданио (по сравнению с одной рыбой), демонстрируя распознавание/предпочтение родственников и проводя больше времени в процессе социального исследования новых (незнакомых) зебр аданио (8) (Рис. 2 и Табл. 1).

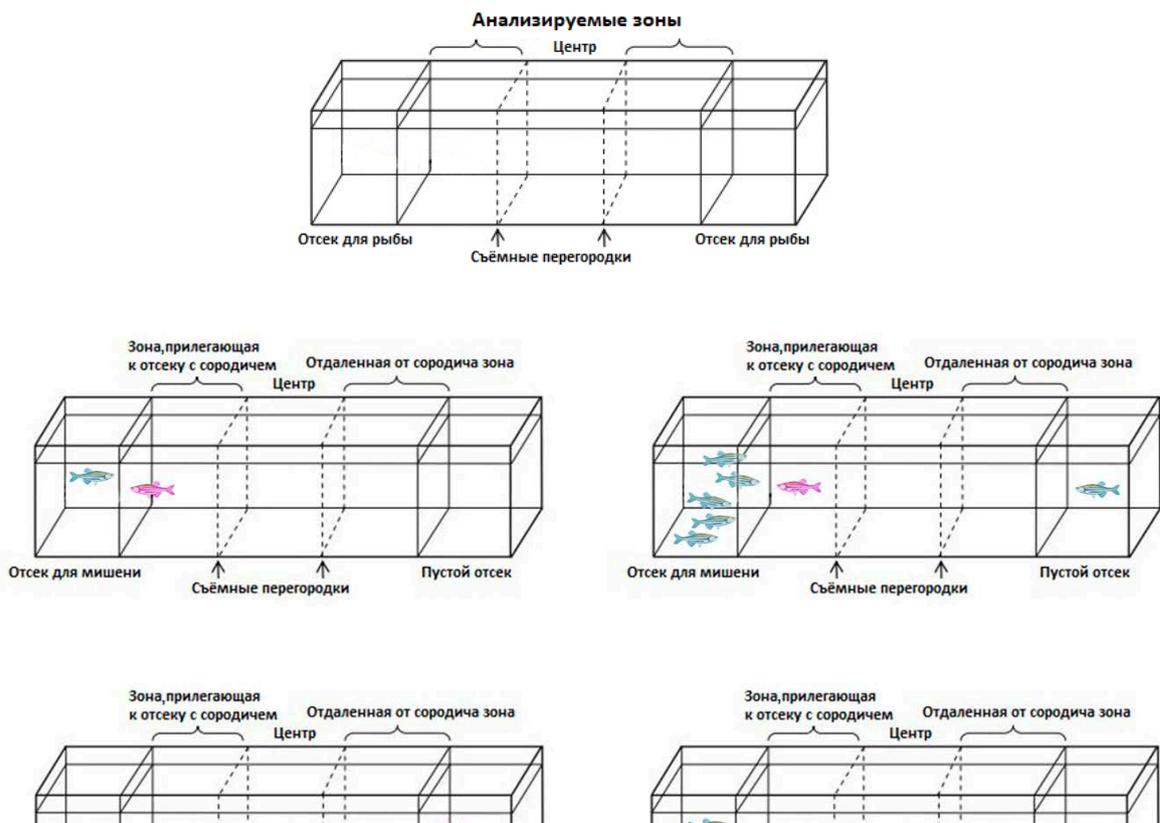


Рисунок 2. Модификации теста социального предпочтения у зебрраданио. Верхняя панель - классический тест для двух зебрраданио (красным цветом выделена экспериментальная рыба). Средняя панель слева – тест для сравнения между группой и одиночной рыбой; справа - тест на взаимодействие зебрраданио с рыбами из своей и чужой популяций (красным отмечены родственные рыбы); нижняя панель - тест на предъявление знакомой и незнакомой рыбы (голубым обозначена знакомая рыба)

В классическом варианте теста используются две особи, которых изолируют друг от друга в 50-см аквариуме из оргстекла, разделенного на 5 ячеек размером 10 x10 см (Рис. 2) (9). Разделительные межъячеечные стекла обеспечивают нахождение рыб в разных частях, но при этом пропускают визуальные сигналы, достаточные для вызова сильных социальных фенотипов. В разделителях могут быть сделаны отверстия для циркуляции воды, что дает дополнительные (обонятельные или вибрационные) сигналы, важные для запуска социальных реакций у зебрраданио.

Таблица 1. Ключевые поведенческие маркеры в тесте социального предпочтения у зебрраданио (10)

Table 1. Key behavioral endpoints in zebrafish social preference test (10)

Поведенческий маркер	Описание
Продолжительность нахождения в зоне, прилегающей к отсеку с сородичем (сек)	Время, проведенное рыбой около сородича
Продолжительность заходов в зону, удаленную от сородича (сек)	Время, проведенное рыбой вдали от сородича
Продолжительность заходов в центральную зону (сек)	Время, проведенное рыбой в центральной части установки
Число заходов в зону, прилегающую к отсеку с сородичем	Количество заходов в зону, прилегающую к отсеку с сородичем
Число заходов в зону, удалённую от отсека с сородичами	Количество заходов в зону, удаленную от отсека с сородичем
Общее число заходов в отсеки	Сумма заходов в прилежащую и удаленную зоны экспериментальной установки

Соотношение числа заходов в зону, прилегающую к сородичам, к удаленной от объекта зоне	Соотношение между количеством заходов в зону, прилегающую к отсеку с сородичем, и заходами в удаленную зону
Соотношение числа заходов в зону, прилегающую к сородичам, к общему числу заходов в отсеки	Соотношение между количеством заходов в зону, прилегающую к отсеку с сородичем, и общими заходами во все экспериментальные зоны

Основные параметры, анализируемые в тесте, и процедура тестирования

Рыба-мишень помещается в отсек для мишени, отделенный перегородкой от остальной части экспериментальной установки (Рис. 2). Зебраданию контрольной группы индивидуально запускаются в центральную часть установки, временно оказавшись обособленными съемными перегородками. После 30-секундной габитуации каждой из групп, эти перегородки аккуратно приподнимаются и производится 6-минутная видеорегистрация поведения контрольной группы в экспериментальной установке. Поведение рыбы оценивают вручную с помощью RealTimer, либо с использованием системы автоматической регистрации поведения EthoVision XT.

В целом, как и тест социального взаимодействия, акватический тест социального предпочтения является удобным и быстрым методом анализа социального поведения зебраданию, и может быть использован для моделирования широкого спектра социальных фенотипов, потенциально значимых для изучения депрессии, патологической агрессии, шизофрении, аутизма и других заболеваний мозга.

Благодарности: Работа поддержана Госзаданием (проект 73026081) Санкт-Петербургскому Государственному Университету.

Литература

1. HOUSE JS, LANDIS KR, UMBERSON D. Social Relationships and Health. J Am Chem Soc. 1970;92:386.
2. Engeszer RE, Ryan MJ, Parichy DM. Learned social preference in zebrafish. Current Biology. 2004;14(10):881-4.
3. Семёнова А, Лопатина О, Салмина А. МОДЕЛИ АУТИЗМА И МЕТОДИКИ ОЦЕНКИ АУТИСТИЧЕСКИ-ПОДОБНОГО ПОВЕДЕНИЯ У ЖИВОТНЫХ. Журнал высшей нервной деятельности им ИП Павлова. 2020;70(2):147-62.
4. Stednitz SJ. The Social Brain of Zebrafish: University of Oregon; 2019.
5. Stewart AM, Nguyen M, Wong K, Poudel MK, Kalueff AV. Developing zebrafish models of autism spectrum disorder (ASD). Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 2014;50:27-36.

6. Stednitz SJ, McDermott EM, Ncube D, Tallafuss A, Eisen JS, Washbourne P. Forebrain control of behaviorally driven social orienting in zebrafish. *Current Biology*. 2018;28(15):2445-51. e3.
7. Orger MB, de Polavieja GG. Zebrafish behavior: opportunities and challenges. *Annual review of neuroscience*. 2017;40:125-47.
8. Saverino C, Gerlai R. The social zebrafish: behavioral responses to conspecific, heterospecific, and computer animated fish. *Behav Brain Res*. 2008;191(1):77-87.
9. Kalueff AV, Stewart AM. *Zebrafish protocols for neurobehavioral research*: Humana Press New York; 2012.
10. Grossman L, Stewart A, Gaikwad S, Utterback E, Wu N, DiLeo J, et al. Effects of piracetam on behavior and memory in adult zebrafish. *Brain research bulletin*. 2011;85(1-2):58-63.