

УДК 57.026

## МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОЦИАЛЬНОГО СТАТУСА САМЦОВ КРЫС В ТРИАДАХ

Иванов Д.Г., Семёнов Н.А., Зайцева М.С.

ФГУП «НЦ «Сигнал», Москва

e-mail: dg1983@rambler.ru

В работе предложена методика определения социального статуса крыс в триадах. Животным, содержащимся в клетках по трое, ограничивали доступ к воде. Через 24 часа, в клетку ставили поилку с водой и регистрировали питьевое и конкурентное поведение крыс. Для определения социального статуса число раз, когда животное отгоняло других крыс от поилки, делили на общее число агонистических контактов этой крысы. В итоге, в триадах крыс были выделены доминанты, субдоминанты и субординанты. Результаты определения социального статуса животных были подтверждены методом дискриминантного анализа, валидизированы при тестировании поведения животного в актометре и исследования крысами незнакомого предмета.

**Ключевые слова:** социальный статус, методика, крысы

## THE METHOD OF MAIL RAT SOCIAL STATUS DETERMINATION IN TRIADS

Ivanov D.G., Semenov A.N., Zaytseva M.S.

FGUP "RC "Signal", Moscow

e-mail: dg1983@rambler.ru

In work, the method of mail rat social status determination in triads was developed. The access to water of rat housing three per cage was restricted for 24 hours. Then bottle with water was placed in cage and drinking and competition rat behavior was observed. For rat social status determinate we had divide the number of cases when rat repelled of mates from nipple by number total agonistic contacts for this rat. As result dominants, subdominants, subordinates rat was determinate in triads. The results of social status determination were validated by discriminant analysis and investigation rat behavior in actometr and new object research test.

**Key words:** social status, method, rat

### Введение

Социальная иерархия – система взаимоотношений особей в группе (или диаде), возникающая при их потребности в одних и тех же ресурсах и определяющая доступ каждого члена группы (диады) к этим ресурсам. Место особи в социальной иерархии называется социальным статусом [1].

Социальная иерархия самцов формируется путем побед и поражений при агонистических контактах между животными и может приводить к развитию стресса и депрессии у субординантных особей и закреплять агрессивное поведение доминантов. Наиболее ярко это продемонстрировано в работах Н.Н. Кудрявцевой с соавт. при исследовании закрепления опыта побед и поражений в диадах мышей [2], а также при групповом содержании крыс с одним доминирующим самцом [10].

В связи с тем, что место особей в иерархии влияет на результаты экспериментальных исследований [9], может возникать необходимость определения социального статуса животных, содержащихся в группе. Целью нашей работы было разработать методику для определения социального статуса белых лабораторных крыс.

### Материалы и методы

Эксперимент проводился на белых беспородных крысах-самцах, прошедших двухнедельный карантин. Животные содержались в клетках 1291Н Eurostandart Type III H, Tecniplast, Италия по трое: одно животное в возрасте 5 месяцев массой 350-400 г и два животных 4-месячного возраста массой 200-220 г, при естественном световом дне, на стандартном корме, со свободным доступом к пище и воде (кроме дней перед тестированием социального статуса). Поведение животных исследовали с 9.00 до 12.00.

По плану эксперимента, 7 суток после формирования групп животных не беспокоили, на 8-е сутки определяли социальный статус, на 12-е сутки исследовали поведение крыс в актометре, на 14-е сутки тестировали исследование крысами незнакомого предмета, на 15-е сутки повторно определяли социальный статус.

Социальный статус определяли в условиях конкурентного доступа за воду. У крыс за 24 часа до теста убрали поилку. После этого в кормовой короб домашней клетки по центру ставили поилку с водой и в течение 8 минут регистрировали латентное время первого подхода, число подходов к поилке, длительность консуматорного питьевого поведения. Для каждого животного регистрировали число раз, которые животное отгоняло других крыс от поилки (А), и число раз, когда отгоняли его (Б). Рассчитывали вероятность доминирующего поведения (ВДП), как  $ВДП = A / (A + B)$ . По вероятности доминирующего поведения, животных разделяли на доминантов –  $ВДП \geq 0,65$ ; субдоминантов –  $0,35 < ВДП < 0,65$  и субординантов –  $ВДП \leq 0,35$ . Статистическую значимость классификации проверяли методом дискриминантного анализа [6].

Исследовательское поведение животных наблюдали в клетке 1291Н Туре III Н без подстилки. Клетку накрывали смотровой крышкой. Перед каждым тестированием клетку протирали спиртовым раствором. Тестирование длительностью 10 минут начинали сразу после помещения животного в тестовую среду. Активность животных регистрировали актометром Multy-Varimex, Colombus Instruments, США. Инфракрасные датчики были установлены на штативе по 5 в два ряда на высоте 3 см и 14,2 см от дна клетки. Расстояние между соседними датчиками в ряду составляло 6,5 см. Число пересечений лучей датчиков нижнего ряда рассматривали как горизонтальную двигательную активность (ГДА), число пересечений лучей датчиков верхнего ряда – вертикальную двигательную активность (ВДА). Длительность реакций замирания и груминга регистрировали секундомером. По окончании тестирования подсчитывали число фекальных болюсов.

Исследование животными незнакомого предмета наблюдали в домашней клетке. На время теста животных пересаживали в аналогичную клетку на чистый подстил. Перед началом теста крыс по одной сажали в домашнюю клетку и давали адаптироваться 5 минут. Тест начинали, помещая в центр клетки флакон объемом 100 мл из белого стекла, закрытого ребристой синей крышкой и заполненный для утяжеления водой. Перед каждым тестом флакон дезодорировали спиртом. В течение 10 минут тестирования регистрировали латентное время первого подхода, длительность исследования объекта, среднюю длительность исследования за подход, длительность замирания и груминга.

Результаты представляли в виде среднего арифметического и ошибки среднего. Для множественных сравнений использованием U-критерия Манна-Уитни с корректировкой по методу FDR-контроля [7], при принятом уровне значимости 5%. Значения уровней статистической значимости отличий парных сравнений выстраивали в ряд по возрастанию. Параллельно этому ряду строили ряд критических значений уровня значимости, первым членом которого был приня-

тый уровень значимости деленный на число сравнений ( $p = 0,05/3 = 0,016$ ); вторым членом – число, в два раза большее ( $p = 0,033$ ), чем первый член ряда; третьим – число, в три раза большее ( $p = 0,050$ ). Статистически значимыми считали отличия, при которых уровень значимости парного сравнения был меньше уровня значимости, соответствующего по месту в ряду критических значений (рассчитанное критическое значение  $p$  указывали в нижнем индексе). Для оценки корреляции между показателем первого и второго тестирования социального статуса применяли критерий Спирмена.

### Результаты

Через 7 суток после начала эксперимента среднее значение и стандартное отклонение ВДП составили  $0,52 \pm 0,23$ , распределение ВДП соответствовало нормальному ( $Z = 0,776$ ,  $p = 0,583$ ,  $n = 24$ ). В одной клетке из 9 крыс не контактировали друг с другом, и ВДП определить не удалось. У 4-х крыс наблюдалось  $ВДП \geq 0,65$  – доминанты, у 6-ти крыс –  $ВДП \leq 0,36$  – субординанты, у 14 крыс ВДП варьировала от 0,36 до 0,64 – субдоминанты. Методом дискриминантного анализа были построены две функции, одна со значением 8,6 и дискриминантной способностью 88,4%, другая со значением 1,1 и дискриминантной способностью 11,6%.  $\lambda$ -Вилкса для 2-х функций равна 0,049 ( $\chi^2 = 58,8$ ,  $p < 0,001$ ). Классификация на основе математической модели не обнаружила ошибок в первоначальной классификации, предсказательная ценность модели составила 100%.

Среднее значение ВДП доминантов было больше, чем у субдоминантов,  $p_{0,033} = 0,003$  и субординантов,  $p_{0,050} = 0,008$  (табл. 1).

Таблица 1

Масса тела, вероятность доминантного поведения и питьевое поведение животных с различным социальным статусом в группах по трое

Показатель	Доминант (n = 4)	Субдоминант (n = 13)	Субординант (n = 7)
Масса тела, г	357,5±17,7	289,8±11,2 <sup>a</sup>	264,7±6,8 <sup>a</sup>
Вероятность доминантного поведения	0,94±0,04	0,52±0,02 <sup>a</sup>	0,28±0,03 <sup>a,b</sup>
Латентное время подхода, с	9,8±3,7	39,6±13,1	92,9±21,6 <sup>a</sup>
Число подходов	2,8±0,8	8,4±0,6 <sup>a</sup>	6,4±0,6 <sup>a</sup>
Длительность питьевого поведения, с	422,3±21,9	292,3±13,8 <sup>a</sup>	239,9±37,7 <sup>a</sup>

a – отличие от значений показателя у доминанта; b – отличие от значений показателя у субдоминанта.

У субдоминантов значение ВДП было больше, по сравнению с субординантами ( $p_{0,016} < 0,001$ ). Латентное время первого подхода к поилке у доминантов, субдоминантов и субординантов, между группами не отличалось. Число подходов доминантных животных к поилке было меньше, чем у суб-

доминантов ( $p_{0,016} = 0,003$ ) и субординантов ( $p_{0,033} = 0,007$ ). Длительность питьевого поведения доминантов была больше по сравнению с субдоминантами ( $p_{0,016} = 0,003$ ) и субординантами ( $p_{0,033} = 0,023$ ). Число подходов и длительность питьевого поведения субдоминантов и субординантов не от-

личались ( $p_{0,050} = 0,057$ ,  $p_{0,050} = 0,191$ ). Масса тела доминантов была больше, чем у субдоминантов ( $p_{0,033} = 0,020$ ) и субординантов ( $p_{0,016} = 0,008$ ), масса тела субдоминантов и субординантов не отличалась ( $p_{0,050} = 0,088$ ).

Тестирование поведения животных в актометре (табл. 2) не обнаружило различий ГДА и ВДА между доминантами, субдоминантами и субординантами. Поведение субординантов в клетке актометра было более эмоциональным по сравнению доминантами в виде большей длительности груминга ( $p_{0,016} = 0,008$ ) и большего числа оставленных фекальных болюсов ( $p_{0,033} = 0,031$ ).

Число фекальных болюсов у доминантов и субдоминантов не отличалось. Длительность груминга у субдоминантов по

сравнению с доминантами была больше ( $p_{0,033} = 0,017$ ). Средняя длительность груминга субординантов не отличалась от субдоминантов, хотя число фекальных болюсов у субординантов было больше, чем у субдоминантов ( $p_{0,016} = 0,001$ ). Отличия длительности замирания между группами обнаружено не было.

Доминанты обнаружили большую длительность исследования незнакомого предмета за подход (табл. 3) по сравнению с субдоминантами ( $p_{0,016} = 0,013$ ) и субординантами ( $p_{0,033} = 0,014$ ). Общая длительность исследования предмета в группах не отличалась статистически значимо. Средняя длительность исследования незнакомого предмета за подход у субдоминантов и субординантов не отличалась ( $p_{0,050} = 0,968$ ).

**Таблица 2**

Поведение животных в клетке актометра Multy-Varimex

Показатель	Социальный статус		
	Доминант (n = 4)	Субдоминант (n = 13)	Субординант (n = 7)
Горизонтальная двигательная активность	292,3±71,2	275,5±27,3	284,0±27,7
Вертикальная двигательная активность	150,8±23,6	146,8±16,4	131,1±15,7
Длительность груминга, с	41,5±8,4	119,5±17,2 <sup>а</sup>	131,7±22,0 <sup>а</sup>
Длительность замираний, с	157,5±60,6	149,6±22,8	154,0±34,9
Число фекальных болюсов	0,5±0,5	0,2±0,2	2,9±0,6 <sup>а,б</sup>

а – отличие от значений показателя у доминанта; б – отличие от значений показателя у субдоминанта.

**Таблица 3**

Исследование животными незнакомого предмета

Показатель	Социальный статус		
	Доминант (n = 4)	Субдоминант (n = 13)	Субординант (n = 7)
Латентное время подхода, с	0,5±0,5	17,7±10,4	21,7±8,9 <sup>а</sup>
Длительность исследования, с	147,5±41,6	86,7±17,5	84,7±12,8
Средняя длительность исследования за подход, с	13,6±1,4	7,3±0,9 <sup>а</sup>	7,5±0,8 <sup>а</sup>
Длительность груминга, с	195,5±81,9	120,8±23,8	134,4±31,3
Длительность замираний, с	2,0±1,2	22,8±10,1	11,7±6,1

а – отличие от значений показателя у доминанта.

Латентное время первого подхода к предмету у доминантов было меньше, чем у субординантов ( $p_{0,016} = 0,010$ ). Отличия показателя между доминантами и субдоминантами ( $p_{0,033} = 0,120$ ), субдоминантами и субординантами ( $p_{0,050} = 0,263$ ) не были статистически значимыми. Значения длительности груминга и замираний между группами не отличались.

При повторном тестировании социального статуса на 15-е сутки эксперимента об-

наружены статистически значимые корреляции между значениями ВДП ( $r = 0,691$ ,  $p < 0,001$ ) и длительностью консуматорного питьевого поведения ( $r = 0,446$ ,  $p = 0,020$ ). Изменение социальной иерархии по значениям ВДП произошло в 3-х клетках из 8-ми. В одной клетке субдоминант стал доминантом, а доминант – субординантом. В другой, где первоначально было зарегистрировано два субдоминанта и субординант, выделился доминант из субдоминантов. В тре-

тэй клетке два доминанта перешли в статус субдоминантов. Данные повторного тестирования указывают на отсутствие абсолютной стабильности иерархии крыс в триадах.

### Обсуждение

В структуре социальной иерархии крыс выделяют доминирующих  $\alpha$ -особей, имеющих свободный доступ к пищевым, пространственным ресурсам и размножению; субдоминантных  $\beta$ -особей, живущими рядом с доминантами и получающими доступ к ресурсам вторыми; и субординантных  $\omega$ -особей, которые подвергаются атакам со стороны  $\alpha$ -особей, но по мере старения доминирующих крыс, могут занять их место в группе [1]. Так как социальная иерархия устанавливается в агрессивных столкновениях, для побед в которых важную роль играет масса тела, можно было ожидать, что 5-ти месячные животные с большей массой будут доминировать во всех клетках. Однако, хотя в проведенном исследовании масса тела доминантов была больше чем у субдоминантов и субординантов, масса тела и возраст крысы не были критичными для ее социального статуса. Показатели питьевого поведения животных в диадах или группах не всегда отражают их социальный статус [8]. Поэтому социальный статус крыс можно выявить, применив подход Шелдеруппа-Эббе, который предложил регистрировать агонистические контакты кур в группе в виде матрицы доминирования, отражающей социальную иерархию [4].

Известно, что доминанты имеют более низкую тревожность и реагируют на изменения в окружающей среде быстрее остальных членов группы [4]. Субординанты позже подходят к незнакомому объекту и меньше исследуют его [3]. В проведенном нами эксперименте тревожное поведение субординантов характеризовалось повышением числа фекальных болюсов – показателя пассивной реакции на аверсивную обстановку, связанного с невозможностью ее избежать и повышением длительности груминга – показателя фрустрации [5]. Субдоминанты на незнакомую обстановку реагировали только повышением длительности груминга. Эти данные подтверждают

правильность классификации животных на основе показателя доминирования.

Предложенный метод определения социального статуса крыс относительно нетрудоемкий, не требует какого-либо оборудования и оперирования животных по сравнению с [9, 11], позволяет получать быстрый результат. Однако, при его применении необходимо учитывать, что водная депривация животных является стрессогенным фактором.

### Заключение

Регистрация агонистических контактов у поилки и питьевого поведение самцов крыс, подвергавшихся 24 часовой питьевой депривации, в группах по трое позволяет выделить доминантов, субдоминантов и субординантов. Результаты разделения подтверждаются при тестировании исследовательского поведения животных и воспроизводятся при повторном тестировании.

### Список литературы

1. Жуков Д.А. Биологические основы поведения. Гуманитарные механизмы. СПб.: Юридический центр Пресс, 2004. 457 с.
2. Кудрявцева Н.Н. Агонистическое поведение: модель, эксперимент, перспективы // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 1999. Т. 85. № 1. С. 67-83.
3. Липина Т.В., Кудрявцева Н.Н. Изменение исследовательского поведения у самцов мышей линии CBA/Lac под влиянием позитивного и негативного опыта социальных взаимодействий // Журнал Высшей Нервной Деятельности. 2008. Т. 58. № 2. С. 194-201.
4. Менинг О. Поведение животных. М.: Мир, 1982. 360 с.
5. Наследов А.Д. Математические методы психологического исследования. СПб.: Речь, 2007. 392 с.
6. Симонов П.В. Эмоциональный мозг. М.: Наука, 1981. 216 с.
7. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // J. R. Statist. Soc. B. 1995. 57 (1): 289-300.
8. Eaton J.M., Dess N.K., Chapman C.D. Sweet Success, Bitter Defeat: A Taste Phenotype Predicts Social Status in Selectively Bred Rats // PLoS ONE. 2012. № 7(10): e46606. doi:10.1371/journal.pone.0046606.
9. Antidepressant activity of memory-enhancing drugs in the reduction of submissive behavior model / R.J. Knapp, R. Goldenberg, C. Shuck et al. // European Journal of Pharmacology. 2002. № 440. P. 27-35.
10. Chronic Subordinate Colony Housing (CSC) as a Model of Chronic Psychosocial Stress in Male Rats / K.D. Nyuyki, D.I. Beiderbeck, M. Lukas et al. // PLoS ONE. 2012. № 7(12): e52371. doi:10.1371/journal.pone.0052371.
11. Wesson D.W. Sniffing Behavior Communicates Social Hierarchy // Current Biology. 2013. Vol. 23. № 7: dx.doi.org/10.1016/j.cub.2013.02.012.