

---

---

# Физиология и клеточная биология

---

## PHYSIOLOGY AND CELL BIOLOGY

---

---

УДК 59.084

### ВЛИЯНИЕ РАЗМЕРА ГРУППЫ ПРИ СОДЕРЖАНИИ НА ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ В СТАНДАРТНЫХ ТЕСТАХ

К. П. АВИМОВА<sup>1)</sup>, Д. Б. САНДАКОВ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Исследовано, как условия содержания беспородных лабораторных мышей (одиночное, парное, групповое) влияют на их поведение в стандартных тестах, а также на динамику массы тела и количество кожных повреждений. Отмечено, что в тесте «открытое поле» мыши, содержащиеся в группе, демонстрировали более продолжительное время груминга и эпизодов замирания, а в тесте «норковая камера» они показали наименьшую эффективность исследовательского поведения. В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» мыши, содержащиеся поодиночке и попарно, в закрытых рукавах проводили больше времени, чем в открытых, тогда как у мышей, содержащихся в группе, предпочтения закрытых рукавов не выявлено. В течение 30 дней эксперимента наименьшее количество кожных повреждений наблюдалось у мышей, содержащихся попарно, при этом у всех животных отмечена сходная динамика набора массы тела.

**Ключевые слова:** лабораторные мыши; условия содержания животных; одиночное содержание; групповое содержание; поведенческие тесты; открытое поле; норковая камера; подвешивание за хвост; приподнятый крестообразный лабиринт; социальный стресс.

---

#### Образец цитирования:

Авимова КП, Сандаков ДБ. Влияние размера группы при содержании на поведение мышей в стандартных тестах. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;3:12–23. EDN: OHLDNG

#### For citation:

Avimova KP, Sandakov DB. Influence of group size on mice behaviour in standard tests. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023;3:12–23. Russian. EDN: OHLDNG

---

#### Авторы:

**Ксения Петровна Авимова** – магистрант кафедры биохимии биологического факультета. Научный руководитель – Д. Б. Сандаков.  
**Дмитрий Борисович Сандаков** – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.

#### Authors:

**Kseniya P. Avimova**, master's degree student at the department of biochemistry, faculty of biology.  
[avimova@gmail.com](mailto:avimova@gmail.com)  
<https://orcid.org/0000-0001-8768-4537>  
**Dmitry B. Sandakov**, PhD (biology), docent; associate professor at the department of human and animal physiology, faculty of biology.  
[d.sandakov@mail.ru](mailto:d.sandakov@mail.ru)  
<https://orcid.org/0000-0003-1648-0275>

## INFLUENCE OF GROUP SIZE ON MICE BEHAVIOUR IN STANDARD TESTS

K. P. AVIMOVA<sup>a</sup>, D. B. SANDAKOV<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Belarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: K. P. Avimova (avimova@gmail.com)

The influence of housing conditions (single, pair or group) on mice behaviour in standard tests (open field test, hole-board test, tail suspension test and elevated X-maze test) was studied. Group housing lead to increased time of grooming and freezing episodes in open field test. In hole-board test, group-housed mice demonstrated the least efficiency of exploratory activity. Single- and pair-housed mice were spending more time in closed arms of elevated X-maze (compared with open arms), and group-housed mice didn't show the preference of closed arms. After 30 days under different experimental conditions, the least skin damage level was observed in pair-housed mice. Meanwhile, the dynamics of weight gain was similar in all animals.

**Keywords:** laboratory mice; conditions for housing of animals; single housing; group housing; behavioural tests; open field test; hole-board test; tail suspension test; elevated X-maze test; social stress.

### Введение

В биомедицинской и научной практике широко используются грызуны, в первую очередь мыши и крысы. Условия содержания животных могут сильно отличаться в зависимости от типа учреждения. Существующие руководства по содержанию лабораторных животных (в Европе действуют руководства, основанные на Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях [1]) дают различные рекомендации по количеству особей в группах и площади клетки. Так, согласно руководству по содержанию лабораторных животных Федерации университетов по защите животных (*Universities Federation for Animal Welfare, UFAW*) потребность в жизненном пространстве (минимальная площадь клетки) для мышей при одиночном содержании составляет 330 см<sup>2</sup>, при групповом содержании – 80 см<sup>2</sup> на каждую взрослую особь [2, p. 278].

Известно, что одиночное содержание мышей в лабораторной практике может приводить к аномальному поведению (стереотипиям, гиперактивности и т. п.) [3; 4], дефициту внимания [5]. Так, у содержащихся поодиночке животных наблюдается депрессивное поведение в тестах «принудительное плавание» [6–8] и «подвешивание за хвост» [6] и повышенная тревожность в тестах «приподнятый крестообразный лабиринт» [7] и «приподнятый круговой лабиринт» [8]. Исследовательская активность в тесте «открытое поле» может как повышаться [9], так и понижаться [7]. Отмечается повышенная экспрессия TLR, IL-6 и TNF- $\alpha$  в гиппокампе [10], IL-10, TNF- $\alpha$  и VEGF в плазме крови [11]. Депрессивное состояние и тревожность у грызунов-изолянтов обуславливаются ослаблением окситоцин-индуцированной ГАМК-ергической передачи в миндалевидном теле [8] и сопровождаются снижением активности каталазы и уровня цинка и меди в гиппокампе и префронтальной коре [12], уменьшением содержания серотонина в гиппокампе и повышением его оборота, ростом концентрации 5-гидроксииндолуксусной кислоты [9]. Вместе с тем в некоторых работах (см., например, [13]) демонстрируется противоположный эффект одиночного содержания. Авторы публикации [14] полагают, что это может зависеть от генетического дрефта в разных линиях, а также от условий жизни в питомниках.

Групповое содержание может вызывать стресс и приводить к физиологическим и поведенческим нарушениям, если количество конспецификов в одном пространстве слишком велико или между ними часто происходят конфликты [15]. Стоит отметить, что обычно изучают именно эффект перенаселенности клетки, а не размер и состав группы мышей. Скученное содержание нередко используют как стрессирующий фактор [16] для анализа последствий социального стресса, причем не только у грызунов, но и у других видов (например, гуппи [17]). Стресс из-за слишком высокой плотности животных проявляется в изменении состава кишечной микробиоты у мышей [18] и степных полевок [19], росте уровня цитокинов в кишечнике у мышей [18], а также в иных физиологических реакциях (в частности, в повышении концентрации кортикостерона и серотонина в сыворотке крови [19], уменьшении тимуса и увеличении коры надпочечников [20]) и поведении (например, в большей скорости движения в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт, чем у не стрессированных таким образом мышей, и в предпочтении в отличие от них темной половины в тесте «темно-светлая камера» [18]). Хронический стресс из-за перенаселенности клетки повышает тревожность, но не вызывает депрессии [21; 22]. Социальный

стресс, обусловленный высокой плотностью животных, усиливает агрессию и влияет на работу окситоцин-вазопрессиновой системы [23]. Впрочем, эффект скученного содержания по-разному сказывается на мышах разных линий [24; 25], кроме того, многое зависит от длительности эксперимента (см., например, [26]).

Цель настоящей работы – изучение особенностей поведения мышей в стандартных тестах при одиночном, парном и групповом содержании.

## Материалы и методы исследования

**Экспериментальные животные.** В эксперименте участвовали 18 взрослых самцов беспородных лабораторных мышей, выращенных в виварии биологического факультета БГУ. Экспериментальные протоколы и правила работы с животными утверждены на заседании кафедры физиологии человека и животных биологического факультета БГУ (протокол № 13 от 19 марта 2020 г.).

**Условия содержания.** До начала эксперимента мыши содержались в общих клетках в условиях вивария. В первый день эксперимента мыши были случайно отобраны и рассажены по стандартным пластиковым клеткам (размер дна 20 × 30 см) следующим образом: 6 мышей в клетке – групповое содержание (1 клетка), 2 мыши в клетке – парное содержание (3 клетки), 1 мышь в клетке – одиночное содержание (6 клеток). В результате были сформированы 3 экспериментальные группы по 6 мышей. Во время эксперимента клетки стояли в отдельном помещении, где не было других животных. В течение 30 дней мыши содержались в следующих условиях: кормление *ad libitum*, естественное освещение, смена воды каждые 3 дня, смена субстрата раз в неделю, но не позднее чем за 5 дней до начала поведенческих тестов. Кроме того, раз в 3 дня выполнялись взвешивание и фотографирование животных. На 31–33-й день проводились поведенческие тесты (по одному тесту в день).

**Тест «открытое поле».** Использовалась установка размером 50 × 50 см с высотой стенок 40 см (без крышки), пол которой был разделен на квадраты размером 10 × 10 см. Мыши помещались посередине противоположной от видеокamеры стенки. Продолжительность теста составляла 4 мин. Мыши, державшиеся попарно и в группе, после тестирования помещались в отдельную клетку и возвращались в жилую клетку только после прохождения теста всеми мышами клетки. После каждой мыши установка очищалась от экскрементов, дважды протиралась чистой влажной салфеткой и вытиралась насухо. Анализировались пройденная дистанция, время вертикальной двигательной активности, средняя скорость движения, время пребывания в центре арены, длительность эпизодов неподвижности, продолжительность груминга.

**Тест «норковая камера».** Использовалось стандартное 16-луночное пластиковое поле размером 50 × 50 см (диаметр лунки 3 см), установленное на высоте 1 м от пола. Мышь помещалась в центр поля. Длительность теста составляла 3 мин. Возвращение мышей в клетку и очистка поля проводились так же, как в тесте «открытое поле». При анализе фиксировались количество заглядываний в лунки, количество повторных заглядываний в лунки, число непосещенных лунок.

**Тест «подвешивание за хвост».** С помощью лейкопластыря мыши прикреплялись за хвост к краю стола головой вниз. Длительность теста составляла 6 мин. При анализе фиксировались латентный период первой неподвижности, суммарное время неподвижности, количество эпизодов неподвижности и средняя продолжительность эпизода неподвижности.

**Тест «приподнятый крестообразный лабиринт».** Лабиринт (длина рукава 30 см, ширина рукава 5 см, высота стенки закрытых рукавов 30 см) был закреплен на штативе на высоте 1 м от пола. Длительность теста составляла 5 мин. После каждого животного пол и стенки лабиринта очищались так же, как и другие установки. При проведении теста учитывалось количество заходов в открытые и закрытые рукава, а также время, проведенное в каждом типе рукавов.

**Анализ данных.** Для анализа поведения мышей в тесте «открытое поле» использовалась программа *ANY-maze Video Tracking System 7.10 (Stoelting, США)*<sup>1</sup>. Полученные данные представлены в виде медианы и интерквартильной широты. Для визуализации результатов построены ящичковые диаграммы Тьюки («ящички» показывают интерквартильную широту с медианой, «усы» – размах между 5-м и 95-м перцентилями, точки – потенциальные выбросы [27, р. 60–63]).

Для статистической проверки нулевой гипотезы ( $H_0$ : условия содержания не влияют на результаты поведенческих тестов) вычислялась разность медиан (*difference between medians*) между всеми группами попарно и строились доверительные интервалы (ДИ) для полученных значений (методика описана в работе [28, chap. 5]). Статистически достоверной считали такую разность медиан, 99 % ДИ для которой не включал в себя ноль. Отмечали тенденцию к различиям, если 95 % ДИ для разности медиан не включал в себя ноль.

<sup>1</sup>См.: <https://www.any-maze.com/>.

Делать поправки на множественные сравнения авторы посчитали нецелесообразным [28, chap. 13; 29], выбрав вместо этого более строгий критерий значимости (тождественный  $\alpha = 0,01$ ) и приводя показатель величины эффекта (ДИ).

В случаях, где тестировались парные выборки (при сравнении поведения мышей одной и той же группы на разных минутах, например, в тесте «открытое поле»), не всегда было возможно вычислить 95 % ДИ и 99 % ДИ из-за малого количества испытуемых животных, поэтому проводился тест Вилкоксона для парных выборок. Статистически достоверной считалась разница при уровне значимости  $p < 0,01$ . При значении  $0,01 < p < 0,05$  отмечалась тенденция к различиям. Для определения биологического эффекта вычислялась разность медиан для парных выборок и менее широкие ДИ (предложенные утилитой *wilcox.test*<sup>2</sup>).

Данные в тексте представлены как разность медиан с указанием в скобках соответствующего ДИ (например, 5 (99 % ДИ 3–7) с).

Расчеты проводились в среде R 4.2.0. Для описательных статистик использовалась утилита *quantile*<sup>3</sup> из пакета *stats*<sup>4</sup>, для вычисления ДИ и проведения теста Вилкоксона для парных выборок – утилита *wilcox.test* из того же пакета, для построения графиков – утилита *ggboxplot*<sup>5</sup> из пакета *ggpubr*<sup>6</sup>.

## Результаты

**Изменение массы тела.** Было установлено, что мыши всех экспериментальных групп достоверно набрали массу, причем это не зависело от условий содержания: через 30 дней после рассадки они стали весить на 7,23 (99 % ДИ 5,82–6,83) г больше. Интересно, что при групповом содержании некоторые мыши в первые дни эксперимента теряли вес, но спустя неделю догоняли других животных, и динамика увеличения массы тела соответствовала таковой у остальных групп (рис. 1).

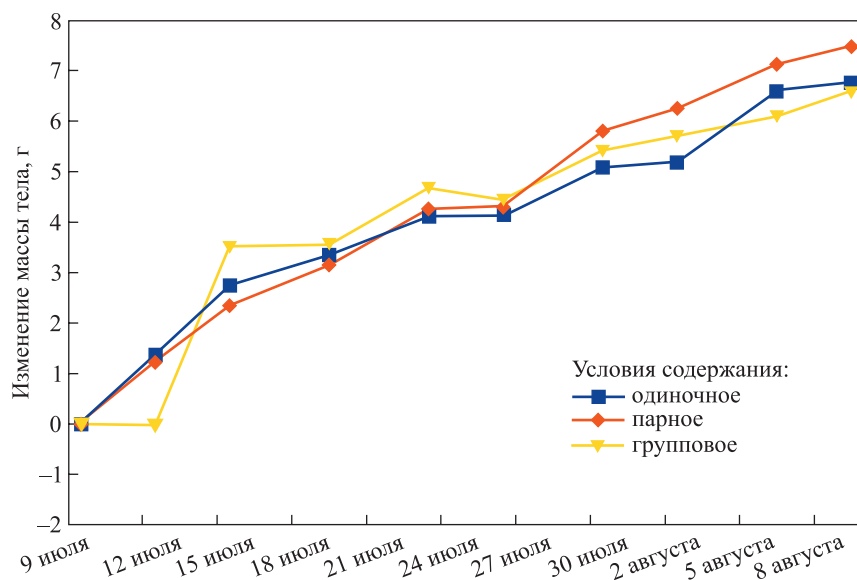


Рис. 1. Динамика массы тела у мышей в течение 30 дней при одиночном, парном и групповом содержании

Fig. 1. Body mass dynamics in mice during 30 days for single, pair and group housing

**Повреждения кожи.** Оценку повреждений кожи мышей проводили раз в 3 дня. На рис. 2 и 3 показано состояние кожного покрова животных на 3-й и 30-й день эксперимента соответственно.

Мыши, содержащиеся попарно, не имели значительных повреждений кожи ни в начале, ни в конце эксперимента. При групповом содержании в первые дни эксперимента у животных было мало повреждений кожи, но затем у некоторых особей они становились больше и (или) появлялись новые отметины. Часть мышей, содержащихся поодиночке, в конце эксперимента также имели повреждения, появившиеся в течение 30 дней.

<sup>2</sup>См.: <https://www.rdocumentation.org/packages/stats/versions/3.6.2/topics/wilcox.test>.

<sup>3</sup>См.: <https://www.rdocumentation.org/packages/stats/versions/3.6.2/topics/quantile>.

<sup>4</sup>См.: <https://www.rdocumentation.org/packages/stats/versions/3.6.2>.

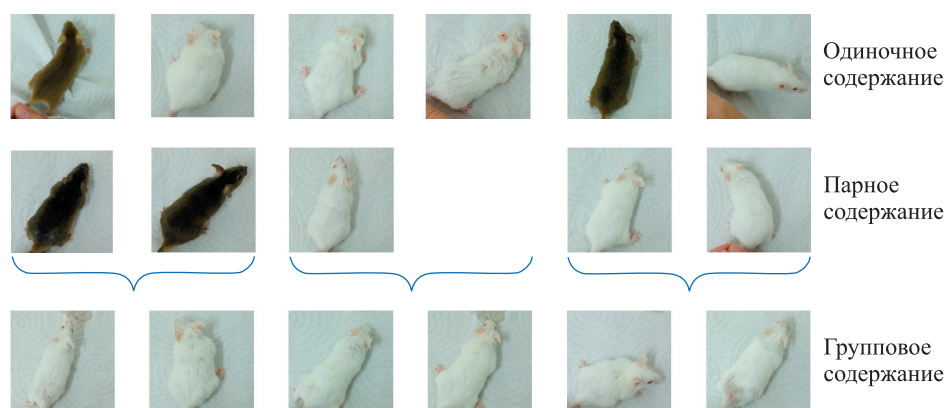
<sup>5</sup>См.: <https://www.rdocumentation.org/packages/ggpubr/versions/0.4.0/topics/ggboxplot>.

<sup>6</sup>См.: <https://www.rdocumentation.org/packages/ggpubr/versions/0.4.0>.





*Рис. 2.* Состояние кожи мышей на 3-й день эксперимента при одиночном, парном и групповом содержании  
*Fig. 2.* Skin condition of mice on the 3<sup>rd</sup> day of the experiment for single, pair and group housing



*Рис. 3.* Состояние кожи мышей на 30-й день эксперимента при одиночном, парном и групповом содержании (фотография одного из самцов парного содержания отсутствует, так как он выбыл из эксперимента до его окончания)  
*Fig. 3.* Skin condition of mice on the 30<sup>th</sup> day of the experiment for single, pair and group housing (a photograph of one of the males in pair housing is missing, as he dropped out of the experiment before its end)

**Поведение в тесте «открытое поле».** Мыши, содержащиеся в группе, были наименее подвижными во время теста, хотя разница с животными остальных экспериментальных групп не достигла статистической значимости. Наиболее подвижными оказались мыши, содержащиеся поодиночке. Мыши, содержащиеся попарно, показали промежуточные результаты (рис. 4).

Эмоциональный статус животных оценивался по продолжительности эпизодов неподвижности и груминга. Мыши, содержащиеся в группе, имели тенденцию к более длительному замиранию, чем мыши, содержащиеся поодиночке: разница продолжительности эпизодов неподвижности между этими экспериментальными группами составила 8 (95 % ДИ 2,4–19,6) с. Кроме того, животные, содержащиеся в группе, значительно больше времени тратили на груминг, чем животные, содержащиеся поодиночке: в данном случае разница достигала 17 (99 % ДИ 4,8–101,1) с.

Суммарное время пребывания в центре арены достоверно не различалось у животных разных экспериментальных групп. Поминутный анализ поведения показал, что на 2-й минуте теста содержащиеся поодиночке мыши проводили в центральной части арены на 6,6 (99 % ДИ 0,5–12,3) с больше, чем содержащиеся попарно мыши. Хотя в остальное время и суммарно содержащиеся поодиночке особи находились в центре дольше, чем содержащиеся попарно особи, эти различия больше нигде не достигают статистической значимости.

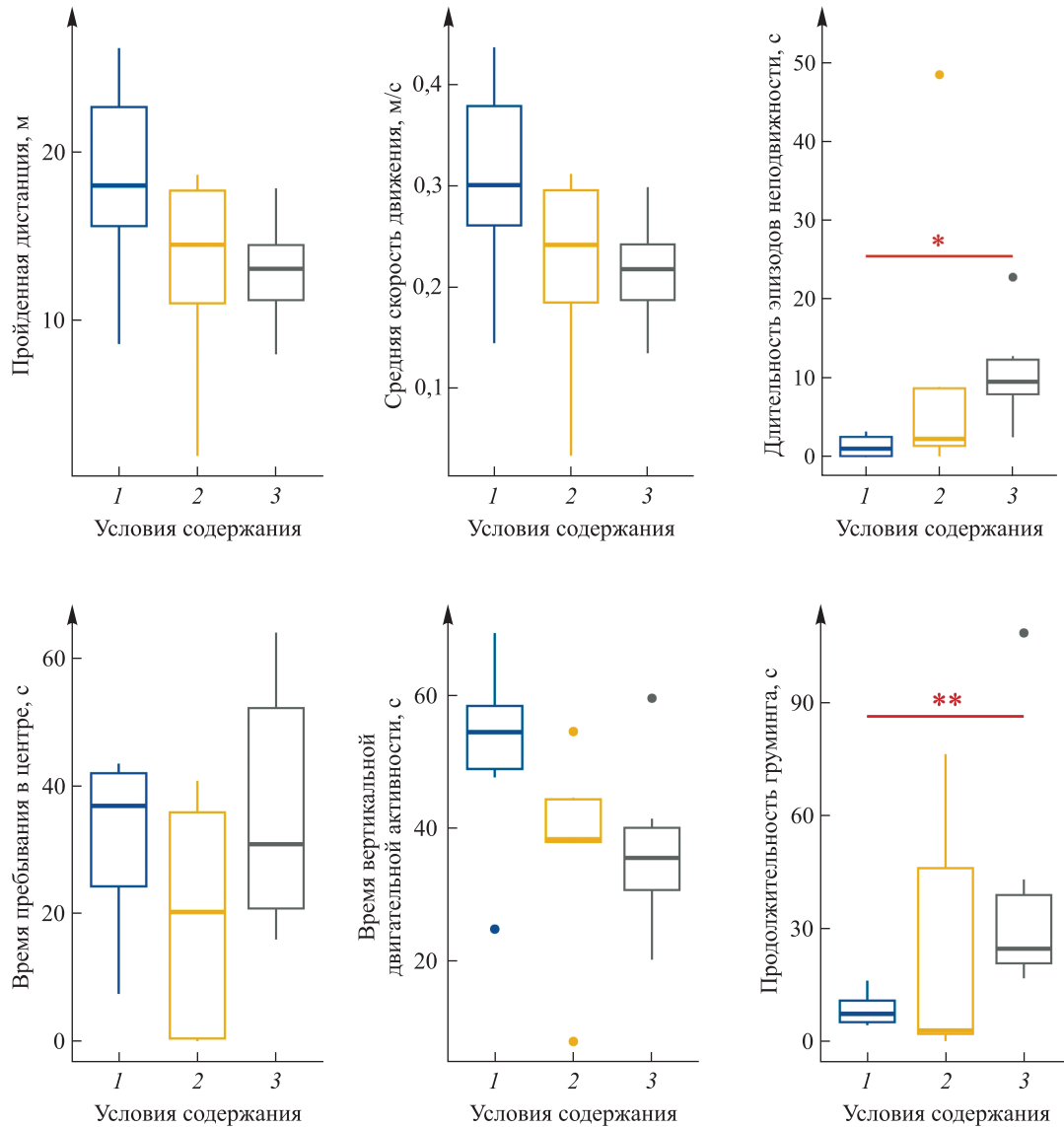


Рис. 4. Поведение мышей в тесте «открытое поле». Условия содержания: 1 – одиночное; 2 – парное; 3 – групповое. Звездочкой обозначена тенденция к различиям ( $0,01 < p < 0,05$ ), двумя звездочками отмечены значимые различия ( $p < 0,01$ )

Fig. 4. Behaviour of mice in the open field test. Housing conditions: 1 – single; 2 – pair; 3 – group. An asterisk indicates a tendency to significance ( $0.01 < p < 0.05$ ), two asterisks indicate significant differences ( $p < 0.01$ )

**Поведение в тесте «норковая камера».** Общий уровень исследовательской активности, о котором можно судить по количеству заглядываний в лунки, достоверно не отличался у мышей при одиночном, парном и групповом содержании (рис. 5). Отмечена тенденция (на уровне значимости менее 0,05, но более 0,01) к снижению эффективности исследовательского поведения у мышей, содержащихся в группе. Об этом свидетельствует более высокое количество необследованных лунок у данных животных (см. рис. 5), разность медиан в экспериментальных группах по указанному показателю составила 4,4 (95 % ДИ 0,0002–8,9000).

**Поведение в тесте «подвешивание за хвост».** Статистически достоверных различий в поведении мышей разных экспериментальных групп не обнаружено (рис. 6). Медианы основных поведенческих параметров были очень близки, за исключением средней продолжительности эпизода неподвижности: у мышей, содержащихся в группе, эпизоды неподвижности оказались заметно более длительными, чем у мышей, содержащихся поодиночке и попарно (см. рис. 6).

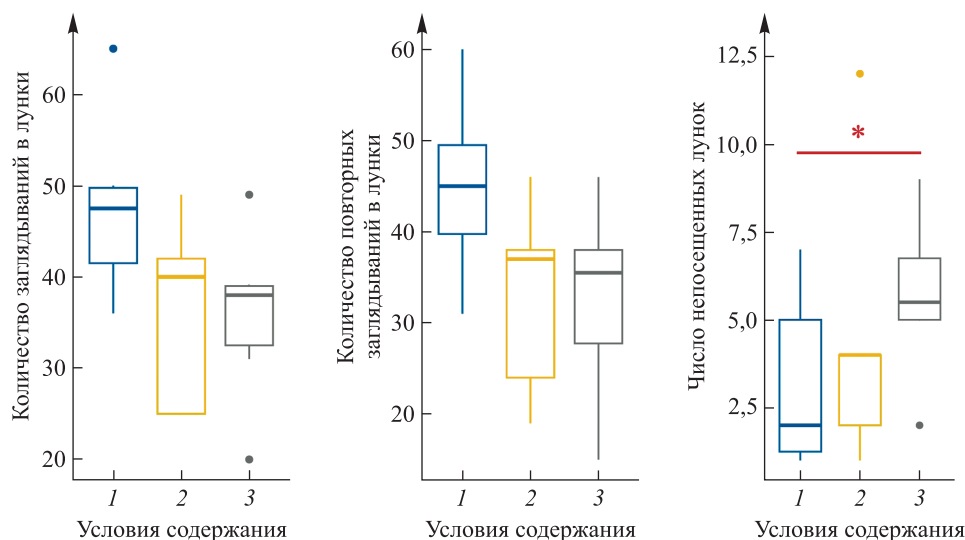


Рис. 5. Поведение мышей в тесте «норковая камера». Условия содержания: 1 – одиночное; 2 – парное; 3 – групповое. Звездочкой обозначена тенденция к различиям ( $0,01 < p < 0,05$ )

Fig. 5. Behaviour of mice in the hole-board test. Housing conditions: 1 – single; 2 – pair; 3 – group. An asterisk indicates a tendency to significance ( $0.01 < p < 0.05$ )

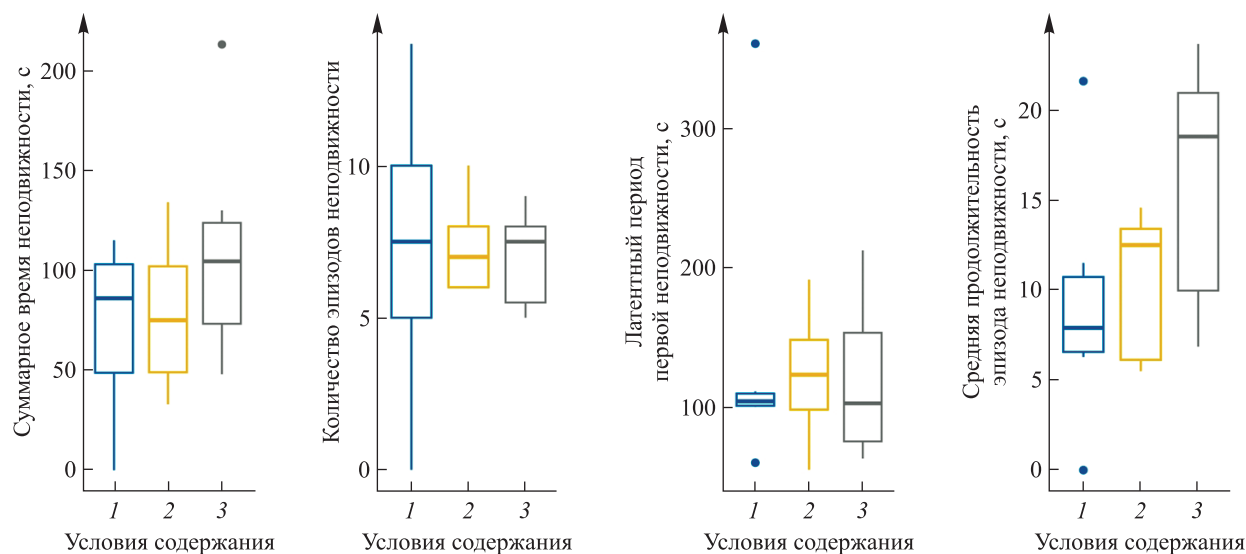


Рис. 6. Поведение мышей в тесте «подвешивание за хвост». Условия содержания: 1 – одиночное; 2 – парное; 3 – групповое

Fig. 6. Behaviour of mice in the tail suspension test. Housing conditions: 1 – single; 2 – pair; 3 – group

**Поведение в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».** Мыши всех экспериментальных групп отдавали предпочтение закрытым рукавам. При исследовании лабиринта все животные не только посещали закрытые рукава чаще, чем открытые (разность медиан составила 7,99 (99 % ДИ 2,99–11,99) раза), но и находились в них на 216 (99 % ДИ 161–255) с дольше (рис. 7).

Тенденция к предпочтению закрытых рукавов лабиринта наиболее выражена у мышей, содержащихся поодиночке: разность медиан (суммарное время пребывания в закрытых и открытых рукавах) составила 255,9 (99 % ДИ 180–300) с (см. рис. 7). Чуть меньше эта тенденция проявляется у мышей, содержащихся попарно: соответствующая разность медиан достигает 232 (99 % ДИ 85–290) с. У мышей, содержащихся в группе, разница между суммарным временем пребывания в закрытых и открытых рукавах составляет всего 162,44 с и не является статистически значимой (99 % ДИ –19...+292) (см. рис. 7).

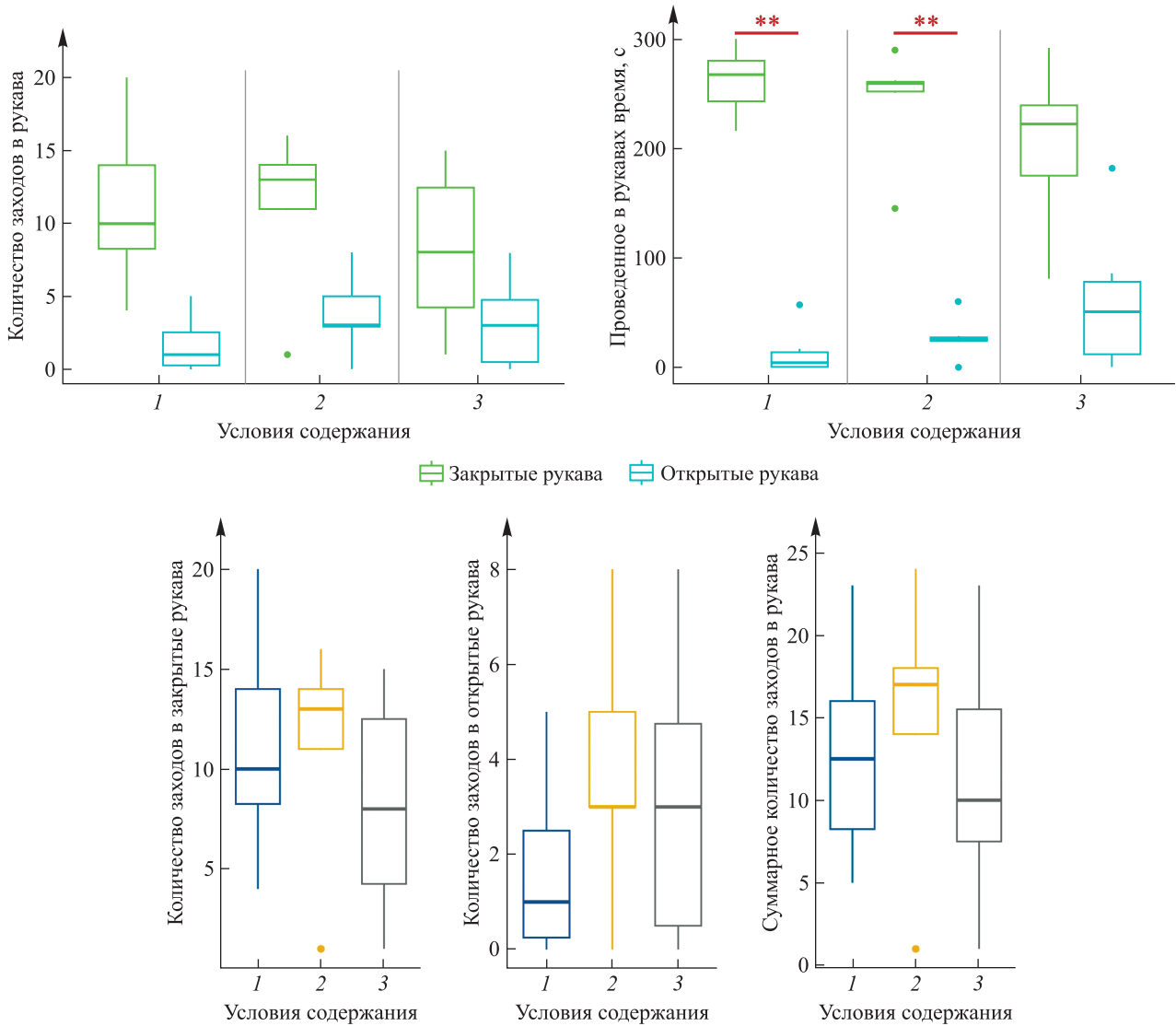


Рис. 7. Поведение мышей в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».  
Условия содержания: 1 – одиночное; 2 – парное; 3 – групповое.  
Двумя звездочками отмечены значимые различия ( $p < 0,01$ )

Fig. 7. Behaviour of mice in the elevated X-maze test.  
Housing conditions: 1 – single; 2 – pair; 3 – group.  
Two asterisks indicate significant differences ( $p < 0.01$ )

Животные всех экспериментальных групп демонстрируют схожий уровень активности в лабиринте, о чем свидетельствуют близкие значения суммарного количества заходов в рукава (см. рис. 7).

## Обсуждение

**Изменение массы тела.** Хотя у всех животных за время эксперимента масса тела увеличилась, в первые несколько дней у мышей, оказавшихся в клетке по 6 особей, масса тела снижалась. Авторы связывают это с социальным стрессом: первые дни после формирования группы мыши тратят на установление стабильной иерархии доминирования [30].

**Повреждения кожи.** Мыши, содержащиеся попарно, дрались мало, а полученные до рассадки по клеткам или в первые дни после этого ранки затянулись. Видимо, социальные отношения установились быстро и оставались стабильными в течение 30 дней. Сходная динамика наблюдалась и у мышей, содержащихся в группе: агонистические столкновения между животными, судя по всему, не приводили к серьезным травмам у большинства особей. Лишь одна из мышей имела обширные залысины в нижней части спины, но нельзя с уверенностью утверждать, что это результат укусов других животных, а не чрезмерного груминга.



Что касается мышей, содержащихся поодиночке, то у некоторых из них повреждения кожи сохранились и через 30 дней. Можно предположить, что это следствие чрезмерного аутогруминга, который может быть связан со стрессом от одиночного содержания и являться признаком депрессии [31].

Чтобы избежать агрессивных столкновений между животными, в литературе рекомендуют использовать неагрессивные линии [32], уделять внимание совместимости животных (содержать вместе только знакомых животных, по возможности сиблингов [33], а также группировать мышей до наступления половой зрелости [34]), но рандомизация при формировании экспериментальных групп может привести к тому, что в одной клетке окажутся враждебные друг другу особи.

Помимо предварительного отбора совместимых животных или исключения агрессивных особей, ряд авторов предлагают модифицировать обстановку в клетках содержания. Новые предметы (например, картонные коробки или трубки) [35], гнездовой материал [36] или перегородки [37] структурируют среду и дают животным возможность проявлять более богатый репертуар видоспецифичного поведения (строить гнезда, прятаться в коробках, исследовать предметы и др. [38]), позволяют им избегать постоянного контакта и уклоняться от конфликтов [37]. С другой стороны, по некоторым данным, обогащение среды (*environmental enrichment*) может усиливать территориальную агрессию мышей [39; 40] и провоцировать социальную нестабильность [40].

**Поведение в тесте «открытое поле».** Установлено, что горизонтальная и вертикальная двигательная активность мышей несколько снижается при переходе от одиночного к парному и от парного к групповому содержанию. Для животных, содержащихся в группе, отмечена достоверно более высокая продолжительность груминга и эпизодов неподвижности.

Известно, что одиночное содержание усиливает исследовательское поведение и вызывает у мышей гиперактивность в условиях новизны (но не в знакомой обстановке) [4]. Вполне возможно, исследовательская мотивация подавляет другое поведение (например, груминг). Мыши, содержащиеся попарно и в группе, находились в более разнообразной среде и поэтому, вероятно, были менее мотивированы изучать новую обстановку. Ресоциализация помогает уменьшить вызванную одиночеством гиперактивность [41] и иные поведенческие и физиологические проявления социальной изоляции [42; 43]. Также известно, что обогащение среды и хендлинг уменьшают (или даже предотвращают [44]) вызванную длительной изоляцией депрессию [45–47]. Несколько противоречивые результаты в оценке двигательной активности можно было бы объяснить тем, что животных регулярно доставали из клеток для взвешивания и фотографирования. Но в таком случае высокая локомоторная активность мышей, содержащихся поодиночке, не обуславливается обедненной средой: манипуляции, хендлинг привносят разнообразие в жизнь животных, поэтому скорее следовало ожидать снижения двигательной активности.

Как правило, груминг в тестовых условиях объясняют привыканием животного к новой обстановке. Обычно при этом животные начинают цепочку действий с самой первой фазы (умывание мордочки) и постепенно переходят на другие части тела [48], но не все исследования это подтверждают. Так, авторы работы [49] в опыте с крысами предположили, что четкая последовательность движений (рострально-каудальная) при груминге проявляется лишь в первые минуты, когда силен стресс новизны, спустя некоторое время груминг становится «неорганизованным» (нешаблонным).

По нашим наблюдениям, некоторые мыши проводили за грумингом значительное время и последовательность действий при этом была рострально-каудальной, но у части животных эпизоды груминга длились всего 1–2 с и включали в себя несколько движений первой фазы, после чего сменялись другой активностью. Таких эпизодов могло быть несколько в течение теста. Авторы склонны считать груминг в первые минуты тестирования смещенной реакцией на стрессовые условия.

В проведенном эксперименте условия содержания мышей не повлияли на время их нахождения в центре арены. Обычно выход в центр и пребывание там считаются показателем тревожности и анализируются при испытаниях анксиолитических препаратов. Хотя медианные значения в разных экспериментальных группах могли существенно отличаться, значимых различий не выявлено, вероятно, из-за большого разброса данных при малом размере выборки.

**Поведение в тесте «норковая камера».** Активнее всего заглядывали в лунки мыши, содержащиеся поодиночке. С одной стороны, это может говорить о высокой двигательной активности животных, а с другой стороны, указывает на то, что именно они испытывали наибольший стресс при тестировании и стремились сбежать с арены. О высоком уровне стресса содержащихся поодиночке мышей косвенно может свидетельствовать и наибольшее количество повторных заглядываний в одни и те же лунки, т. е. снижение эффективности исследовательского поведения.

**Поведение в тесте «подвешивание за хвост».** В этом тесте не обнаружено значимых различий ни по одной из метрик, однако отмечено, что больше времени без движения проводили мыши, содержащиеся в группе. Это опровергает наше начальное предположение о том, что длительная социальная изоляция приводит к повышению депрессивности, и не согласуется с выводами авторов работы [6], а также других исследователей, которые наблюдали депрессивное состояние у грызунов-изолянтов (см., например, [45–47]).

В обзоре [50], посвященном моделям социального стресса, отмечено, что в моделях хронического социального стресса (парадигма «резидент – интродер», ежедневная смена самцов в клетках с самками, система открытой норы) животные проявляют пассивное поведение в тесте «подвешивание за хвост» и в тестах на поведенческое отчаяние (*forced swim test, behavioural despair test*). Авторы работы [51] отмечают, что групповое содержание усиливает неподвижность и чувствительность к антидепрессантам у самцов мышей в вышеназванных тестах, и делают вывод об их чувствительности к условиям содержания. Эти же авторы утверждают, что в естественных условиях мыши не стремятся взаимодействовать друг с другом, не делят территорию с половозрелыми самцами, поэтому социальный стресс, в отличие от изоляции, вызывает у них депрессию. В нашем предыдущем исследовании [52], однако, содержащиеся попарно мыши проводили много времени рядом, хотя в клетках было достаточно места, чтобы избегать контакта. В настоящей работе наблюдалось похожее поведение: мыши, содержащиеся попарно, отдыхали рядом, мыши, содержащиеся в клетке шестером, не находились на равном расстоянии друг от друга, а держались вместе и подальше от доминанта. Агрегацию у мышей отмечали в естественных [53] и лабораторных [54] условиях.

**Поведение в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».** Явное предпочтение мышами закрытых рукавов лабиринта вполне ожидаемо. Как правило, мыши избегают открытых пространств, держась поближе к стенкам. Эта особенность поведения заметна и в тестах «открытое поле» (животные гораздо больше времени проводят на периферии, чем в центре) и «норковая камера» (некоторые животные в попытках найти убежище настойчиво пытаются заглядывать в одну и ту же лунку, даже если спрятаться в ней не удастся).

На время нахождения в открытых и закрытых рукавах влияет уровень тревожности животных. Мыши, содержащиеся поодиночке и попарно, явно предпочитали закрытые рукава открытым, в то время как у мышей, содержащихся в группе, это предпочтение хотя и сохранялось, но было выражено в значительно меньшей степени. Кроме того, именно содержащиеся поодиночке животные проводили в открытых рукавах лабиринта меньше всего времени. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей. Так, авторы публикации [55] показали, что групповое содержание, в отличие от одиночного содержания, помогает снизить тревогу, вызванную социальным поражением. Это выражалось в поведении крыс в тесте «крестообразный лабиринт»: содержащиеся поодиночке животные проводили в закрытых рукавах больше времени, чем содержащиеся попарно животные. В работе [56] исследовалось влияние диазепамов на поведение крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». После применения препарата одиночно содержащиеся крысы проводили в открытых рукавах больше времени по сравнению с контрольной группой, при этом диазепам не повлиял на крыс группового содержания. Применение пентилентетразола (анксиогенный агент) ожидаемо произвело противоположный эффект, причем для животных, содержащихся в группе, он оказался большим, чем для животных, содержащихся поодиночке. Эксперимент, проведенный в рамках работы [57], также показал, что одиночное содержание усиливает тревожное поведение мышей. В противоположность этому авторы публикации [58] пришли к выводу, что изоляция в течение 1–3 нед. не изменила поведения мышей, хотя и слегка ослабила их тревожность.

## Заключение

При одной и той же площади клетки условия содержания мышей (одиночное, парное, групповое) оказывают влияние на некоторые параметры их поведения в стандартных тестах. Мыши, содержащиеся в группе, демонстрировали более продолжительное время груминга и эпизодов замирания в тесте «открытое поле» и наименьшую эффективность исследовательского поведения в тесте «норковая камера». В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» животные, содержащиеся поодиночке и попарно, проводили в закрытых рукавах больше времени, чем в открытых, тогда как у животных, содержащихся в группе, предпочтения закрытых рукавов не выявлено.

В течение 30 дней эксперимента наименьшее количество кожных повреждений отмечено у мышей, содержащихся попарно.

Таким образом, наилучшим способом содержания лабораторных мышей является парное содержание: во-первых, в данном случае животные имеют минимум кожных повреждений, во-вторых, они чаще всего показывают средние результаты в поведенческих тестах.

## Библиографические ссылки / References

1. Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes [Internet]. Strasbourg: Council of Europe; 1991 [cited 2021 January 28]. Available from: <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/conventions/treaty/123>.
2. Hubrecht RC, Kirkwood J. *The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals*. Oxford: Wiley-Blackwell; 2010. 848 p.

3. Jones MA, Mason G, Pillay N. Early social experience influences the development of stereotypic behaviour in captive-born striped mice *Rhabdomys*. *Applied Animal Behaviour Science*. 2010;123(1–2):70–75. DOI: 10.1016/J.APPLANIM.2009.12.009.
4. Sullens DG, Gilley K, Jensen K, Vichaya E, Dolan SL, Sekeres MJ. Social isolation induces hyperactivity and exploration in aged female mice. *PLOS ONE*. 2021;16(2):e0245355. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0245355.
5. Ouchi H, Ono K, Murakami Y, Matsumoto K. Social isolation induces deficit of latent learning performance in mice: a putative animal model of attention deficit/hyperactivity disorder. *Behavioural Brain Research*. 2013;238:146–153. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.10.029.
6. Liu N, Wang Y, An AY, Banker C, Qian Y-H, O'Donnell JM. Single housing-induced effects on cognitive impairment and depression-like behavior in male and female mice involve neuroplasticity-related signaling. *European Journal of Neuroscience*. 2020;52(1):2694–2704. DOI: 10.1111/EJN.14565.
7. Song MK, Lee JH, Kim Y-J. Effect of chronic handling and social isolation on emotion and cognition in adolescent rats. *Physiology & Behavior*. 2021;237:113440. DOI: 10.1016/j.physbeh.2021.113440.
8. Han RT, Kim Y-B, Park E-H, Kim JY, Ryu C, Kim HY, et al. Long-term isolation elicits depression and anxiety-related behaviors by reducing oxytocin-induced GABAergic transmission in central amygdala. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2018;11:246. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00246.
9. Brenes JC, Fornaguera J, Sequeira-Cordero A. Environmental enrichment and physical exercise attenuate the depressive-like effects induced by social isolation stress in rats. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:804. DOI: 10.3389/fphar.2020.00804.
10. Alshammari TK, Alghamdi H, Alkhader LF, Alqahtani Q, Alrasheed NM, Yacoub H, et al. Analysis of the molecular and behavioral effects of acute social isolation on rats. *Behavioural Brain Research*. 2020;377:112191. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.112191.
11. Du Preez A, Law T, Onorato D, Lim YM, Eiben P, Musaelyan K, et al. The type of stress matters: repeated injection and permanent social isolation stress in male mice have a differential effect on anxiety- and depressive-like behaviours, and associated biological alterations: 1. *Translational Psychiatry*. 2020;10(1):1–17. DOI: 10.1038/s41398-020-01000-3.
12. Famitafreshi H, Karimian M. Modulation of catalase, copper and zinc in the hippocampus and the prefrontal cortex in social isolation-induced depression in male rats. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. 2019;79(2):184–192. DOI: 10.21307/ane-2019-016.
13. Vöikar V, Polus A, Vasar E, Rauvala H. Long-term individual housing in C57BL/6J and DBA/2 mice: assessment of behavioral consequences. *Genes, Brain and Behavior*. 2005;4(4):240–252. DOI: 10.1111/J.1601-183X.2004.00106.X.
14. Åhlgren J, Voikar V. Experiments done in Black-6 mice: what does it mean? *Lab Animal*. 2019;48(6):171–180. DOI: 10.1038/s41684-019-0288-8.
15. Love J, Zelikowsky M. Stress varies along the social density continuum. *Frontiers in Systems Neuroscience*. 2020;14:582985. DOI: 10.3389/fnsys.2020.582985/full.
16. Gururajan A, Reif A, Cryan JF, Slattery DA. The future of rodent models in depression research. *Nature Reviews Neuroscience*. 2019;20(11):686–701. DOI: 10.1038/s41583-019-0221-6.
17. Aparna S, Patri M. Benzo[a]pyrene exposure and overcrowding stress impacts anxiety-like behavior and impairs learning and memory in adult zebrafish, *Danio rerio*. *Environmental Toxicology*. 2021;36(3):352–361. DOI: 10.1002/tox.23041.
18. Delaroque C, Chervy M, Gewirtz AT, Chassaing B. Social overcrowding impacts gut microbiota, promoting stress, inflammation, and dysglycemia. *Gut Microbes*. 2021;13(1):2000275. DOI: 10.1080/19490976.2021.2000275.
19. Liu J, Huang S, Li G, Zhao J, Lu W, Zhang Z. High housing density increases stress hormone- or disease-associated fecal microbiota in male Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*). *Hormones and Behavior*. 2020;126:104838. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2020.104838.
20. Reber SO, Obermeier F, Straub RH, Falk W, Neumann ID. Chronic intermittent psychosocial stress (social defeat/overcrowding) in mice increases the severity of an acute DSS-induced colitis and impairs regeneration. *Endocrinology*. 2006;147(10):4968–4976. DOI: 10.1210/EN.2006-0347.
21. Keenan RJ, Chan J, Donnelly PS, Barnham KJ, Jacobson LH. The social defeat/overcrowding murine psychosocial stress model results in a pharmacologically reversible body weight gain but not depression – related behaviours. *Neurobiology of Stress*. 2018;9:176–187. DOI: 10.1016/J.YNSTR.2018.09.008.
22. Lin E-JD, Sun M, Choi EY, Magee D, Stets CW, During MJ. Social overcrowding as a chronic stress model that increases adiposity in mice. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;51:318–330. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2014.10.007.
23. Huang S, Li G, Pan Y, Song M, Zhao J, Wan X, et al. Density-induced social stress alters oxytocin and vasopressin activities in the brain of a small rodent species. *Integrative Zoology*. 2021;16(2):149–159. DOI: 10.1111/1749-4877.12467.
24. Laber K, Veatch LM, Lopez MF, Mulligan JK, Lathers DM. Effects of housing density on weight gain, immune function, behavior, and plasma corticosterone concentrations in BALB/c and C57BL/6 mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 2008;47(2):16–23.
25. Lee Y-A, Obora T, Bondonny L, Toniolo A, Miville J, Yamaguchi Y, et al. The effects of housing density on social interactions and their correlations with serotonin in rodents and primates. *Scientific Reports*. 2018;8(1):3497. DOI: 10.1038/s41598-018-21353-6.
26. Whittaker AL, Howarth GS, Hickman DL. Effects of space allocation and housing density on measures of wellbeing in laboratory mice: a review. *Laboratory Animals*. 2012;46(1):3–13. DOI: 10.1258/la.2011.011049.
27. Chambers JM, Cleveland WS, Kleiner B, Tukey PA. *Graphical methods for data analysis*. 1<sup>st</sup> edition. Belmont: Wadsworth International Group; 1983. 395 p. DOI: 10.1201/9781351072304.
28. Altman DG, Machin D, Bryant TN, Gardner MJ, editors. *Statistics with confidence: confidence intervals and statistical guidelines*. 2<sup>nd</sup> edition. London: BMJ Books; 2000. 240 p.
29. Nakagawa S. A farewell to Bonferroni: the problems of low statistical power and publication bias. *Behavioral Ecology*. 2004;15(6):1044–1045. DOI: 10.1093/BEHECO/ARH107.
30. Fan Z, Zhu H, Zhou T, Wang S, Wu Y, Hu H. Using the tube test to measure social hierarchy in mice. *Nature Protocols*. 2019;14(3):819–831. DOI: 10.1038/s41596-018-0116-4.
31. Smolinsky AN, Bergner CL, LaPorte JL, Kalueff AV. Analysis of grooming behavior and its utility in studying animal stress, anxiety, and depression. In: Gould TD, editor. *Mood and anxiety related phenotypes in mice*. Totowa: Humana Press; 2009. p. 21–36 (Neuromethods; volume 42). DOI: 10.1007/978-1-60761-303-9\_2.
32. Weber EM, Zidar J, Ewaldsson B, Askevik K, Udén E, Svensk E, et al. Aggression in group-housed male mice: a systematic review. *Animals*. 2023;13(1):143. DOI: 10.3390/ani13010143.
33. Bartolomucci A, Palanza P, Parmigiani S. Group housed mice: are they really stressed? *Ethology Ecology & Evolution*. 2010;14(4):341–350. DOI: 10.1080/08927014.2002.9522735.



34. Annas A, Bengtsson C, Törnqvist E. Group housing of male CD1 mice: reflections from toxicity studies. *Laboratory Animals*. 2013;47(2):127–129. DOI: 10.1177/0023677213476278.
35. Ambrose N, Morton DB. The use of cage enrichment to reduce male mouse aggression. *Journal of Applied Animal Welfare Science*. 2000;3(2):117–125. DOI: 10.1207/S15327604JAWS0302\_4.
36. Van de Weerd HA, Van Loo PLP, Van Zutphen LFM, Koolhaas JM, Baumans V. Preferences for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. *Laboratory Animals*. 1997;31(2):133–143. DOI: 10.1258/002367797780600152.
37. Tallent BR, Law LM, Rowe RK, Lifshitz J. Partial cage division significantly reduces aggressive behavior in male laboratory mice. *Laboratory Animals*. 2018;52(4):384–393. DOI: 10.1177/0023677217753464.
38. Nevison CM, Hurst JL, Barnard CJ. Strain-specific effects of cage enrichment in male laboratory mice (*Mus musculus*). *Animal Welfare*. 1999;8(4):361–379. DOI: 10.1017/S0962728600021989.
39. Haemisch A, Gärtner K. Effects of cage enrichment on territorial aggression and stress physiology in male laboratory mice. *Acta Physiologica Scandinavica, Supplement*. 1997;640:73–76. PMID: 9401611.
40. Haemisch A, Voss T, Gärtner K. Effects of environmental enrichment on aggressive behavior, dominance hierarchies, and endocrine states in male DBA/2J mice. *Physiology & Behavior*. 1994;56(5):1041–1048. DOI: 10.1016/0031-9384(94)90341-7.
41. Gentsch C, Lichtsteiner M, Frischknecht HR, Feer H, Siegfried B. Isolation-induced locomotor hyperactivity and hypoalgesia in rats are prevented by handling and reversed by resocialization. *Physiology & Behavior*. 1988;43(1):13–16. DOI: 10.1016/0031-9384(88)90091-1.
42. Rivera DS, Lindsay CB, Oliva CA, Codocedo JF, Bozinovic F, Inestrosa NC. Effects of long-lasting social isolation and re-socialization on cognitive performance and brain activity: a longitudinal study in *Octodon degus*. *Scientific Reports*. 2020;10(1):18315. DOI: 10.1038/s41598-020-75026-4.
43. Rivera DS, Lindsay CB, Oliva CA, Bozinovic F, Inestrosa NC. «Live together, die alone»: the effect of re-socialization on behavioural performance and social-affective brain-related proteins after a long-term chronic social isolation stress. *Neurobiology of Stress*. 2021;14:100289. DOI: 10.1016/j.ynstr.2020.100289.
44. Stanisavljević A, Perić I, Gass P, Inta D, Lang UE, Borgwardt S, et al. Fluoxetine modulates neuronal activity in stress-related limbic areas of adult rats subjected to the chronic social isolation. *Brain Research Bulletin*. 2020;163:95–108. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2020.07.021.
45. Filipović D, Novak B, Xiao J, Yan Y, Yeoh K, Turck CW. Chronic fluoxetine treatment of socially isolated rats modulates prefrontal cortex proteome. *Neuroscience*. 2022;501:52–71. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2022.08.011.
46. Garzón J, Del Río J. Hyperactivity induced in rats by long-term isolation: further studies on a new animal model for the detection of antidepressants. *European Journal of Pharmacology*. 1981;74(4):287–294. DOI: 10.1016/0014-2999(81)90047-9.
47. Guarnieri LO, Pereira-Caixeta AR, Medeiros DC, Aquino NSS, Szawka RE, Mendes EMAM, et al. Pro-neurogenic effect of fluoxetine in the olfactory bulb is concomitant to improvements in social memory and depressive-like behavior of socially isolated mice. *Translational Psychiatry*. 2020;10(1):33. DOI: 10.1038/s41398-020-0701-5.
48. Rojas-Carvajal M, Fornaguera J, Mora-Gallegos A, Brenes JC. Testing experience and environmental enrichment potentiated open-field habituation and grooming behaviour in rats. *Animal Behaviour*. 2018;137:225–235. DOI: 10.1016/j.anbehav.2018.01.018.
49. Komorowska J, Pellis SM. Regulatory mechanisms underlying novelty-induced grooming in the laboratory rat. *Behavioural Processes*. 2004;67(2):287–293. DOI: 10.1016/j.beproc.2004.05.001.
50. Chaouloff F. Social stress models in depression research: what do they tell us? *Cell and Tissue Research*. 2013;354(1):179–190. DOI: 10.1007/s00441-013-1606-x.
51. Karolewicz B, Paul IA. Group housing of mice increases immobility and antidepressant sensitivity in the forced swim and tail suspension tests. *European Journal of Pharmacology*. 2001;415(2–3):197–201. DOI: 10.1016/S0014-2999(01)00830-5.
52. Avimova KP, Sandakov DB. The influence of the stereotypic forms of activity in mice behaviour in standard behavioural tests. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2021;3:47–58. Russian. DOI: 10.33581/2521-1722-2021-3-47-58.
53. Lidicker WZ. Social behaviour and density regulation in house mice living in large enclosures. *The Journal of Animal Ecology*. 1976;45(3):677. DOI: 10.2307/3575.
54. Van Loo PLP, de Groot AC, Van Zutphen BFM, Baumans V. Do male mice prefer or avoid each other's company? Influence of hierarchy, kinship, and familiarity. *Journal of Applied Animal Welfare Science*. 2010;4(2):91–103. DOI: 10.1207/S15327604JAWS0402\_1.
55. Nakayasu T, Ishii K. Effects of pair-housing after social defeat experience on elevated plus-maze behavior in rats. *Behavioural Processes*. 2008;78(3):477–480. DOI: 10.1016/J.BEPROC.2008.02.007.
56. Da Silva NL, Ferreira VMM, De Padua Carobrez A, Morato GS. Individual housing from rearing modifies the performance of young rats on the elevated plus-maze apparatus. *Physiology & Behavior*. 1996;60(6):1391–1396. DOI: 10.1016/S0031-9384(96)00254-5.
57. Pasquarelli N, Voehringer P, Henke J, Ferger B. Effect of a change in housing conditions on body weight, behavior and brain neurotransmitters in male C57BL/6J mice. *Behavioural Brain Research*. 2017;333:35–42. DOI: 10.1016/J.BBR.2017.06.018.
58. Rodgers RJ, Cole JC. Influence of social isolation, gender, strain, and prior novelty on plus-maze behaviour in mice. *Physiology & Behavior*. 1993;54(4):729–736. DOI: 10.1016/0031-9384(93)90084-S.