

АНАЛИЗ ГРУМИНГА ГРЫЗУНОВ И ЕГО ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ МИКРОСТРУКТУРЫ В СОВРЕМЕННЫХ НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

© 2024 г. К. В. Апухтин¹, А. Д. Шевляков¹, М. М. Котова¹, С. В. Амикишиев¹,
В. Д. Рига¹, А. Д. Волгин¹, А. В. Калуев^{1, 2, 3, 4, *}

¹Направление «Нейробиология», Научный центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория Сириус, Россия

²Институт экспериментальной медицины, Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

³Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴Научный центр мирового уровня «Центр персонализированной медицины», Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: avkalueff@gmail.com

Поступила в редакцию 12.04.2024 г.

После доработки 16.05.2024 г.

Принята к публикации 17.05.2024 г.

Грумминг является сложным поведением животных и используется как показатель физиологического состояния грызунов при влиянии стресса. В работе проанализировано влияние различных экспериментальных факторов (в т.ч. генетических, фармакологических и физиологических) на ауто-груминг лабораторных мышей и крыс. При анализе груминга оценивают не только количество и частоту актов, но и его микроструктуру – последовательность и локализацию данного поведения. Груминг и его микроструктура могут служить чувствительным маркером предрасположенности к патологическим состояниям, моделирующим психические расстройства человека, таким как обсессивно-компульсивное расстройство, аутизм и депрессия. Изучение микроструктуры ауто-груминга грызунов может дать ценную информацию о механизмах патогенеза мозга и имеет важную трансляционную значимость в нейробиологических исследованиях.

Ключевые слова: груминг, грызуны, микроструктура груминга, заболевания ЦНС

DOI: 10.31857/S0869813924060022, **EDN:** BFDDUM

ВВЕДЕНИЕ

Грумминг (grooming) – эволюционно древнее естественное поведение животных различных таксонов, способствующее поддержанию гигиены, терморегуляции, социализации и ряду других функций [1, 2]. Являясь важнейшим и (после сна) наиболее выраженным поведением грызунов, оно разделяется на ауто- и гетерогрумминг (рис. 1). У грызунов ауто-груминг имеет определенные повторяющиеся паттерны – так называ-

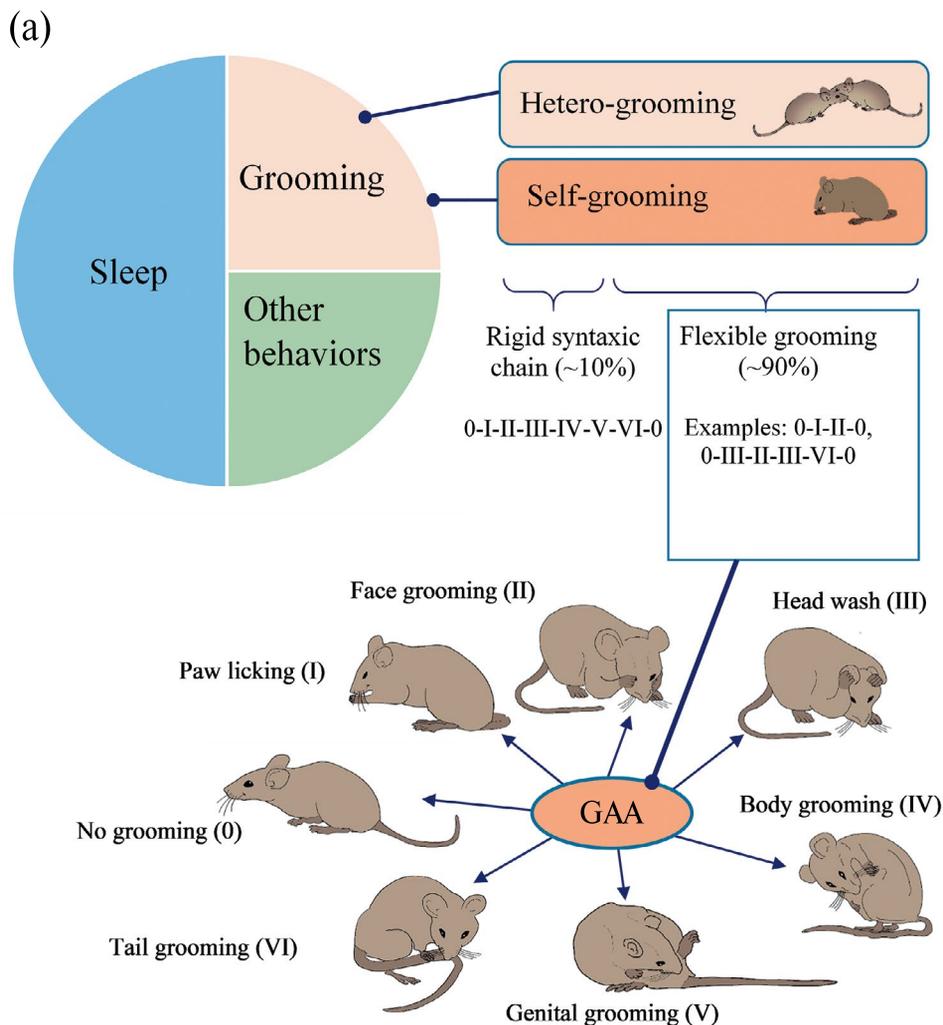


Рис. 1 (а). Груминг лабораторных грызунов (а) и методы оценки его микроструктуры (б) с использованием Алгоритма анализа груминга [6–9] (ААГ/ГАА, см. табл. 1 и текст далее). Каждое отдельное событие ауто-груминга является актом (bout), состоящим из отдельных стадий (эпизодов, episodes/stages) груминга (табл. 2). Первые три стадии направлены на переднюю часть тела и относятся к ростральному грумингу, остальные относят к каудальному грумингу. Переходы от одной стадии к другой называются переходами и оцениваются как правильные (в росто-каудальном направлении 0-I-...-VI-0) или неправильные, с нарушением направленности – например, реверсии, пропуски стадий. Акты груминга могут быть полными (вся последовательность) или неполными – например, abortивными (прерванными ранее, чем стадия VI) либо неправильно начавшимися с более поздних стадий. Прерывания менее 2 с считаются как остановки внутри акта груминга, и число таких остановок груминга, а также % актов с остановками учитывается при анализе поведения. Примеры методов визуализации микроструктуры груминга в нейробиологических исследованиях представлены на рис. 2.

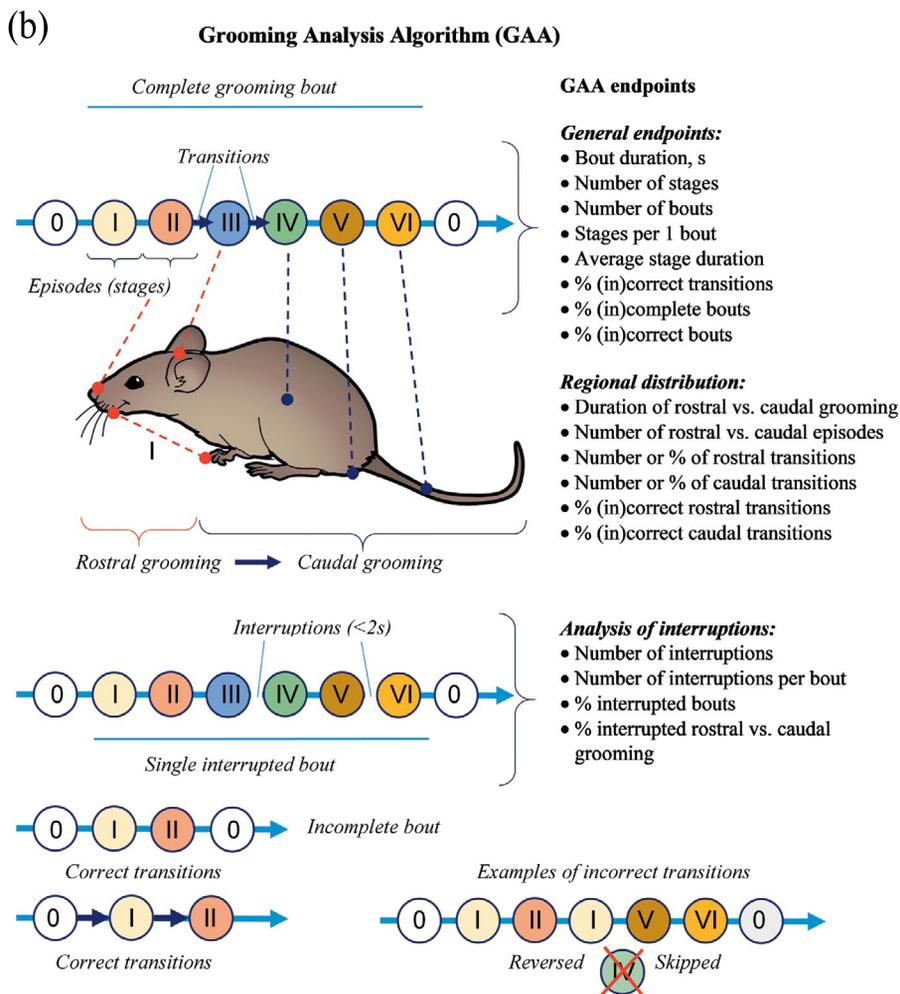


Рис. 1 (Продолжение).

емую микроструктуру (microstructure, patterning, см. далее), что делает оценку данного поведения лабораторных мышей и крыс хорошей моделью для нарушений поведения, свойственных ряду психических заболеваний [3].

Поведение груминга самым тесным образом связано со стрессом. Например, острый стресс усиливает частоту и длительность груминга, по-видимому, являясь классической смещенной реакцией [4]. Это, а также его стереотипность и повторяемость делают ауто-груминг полезным фенотипом для моделирования стрессорных

расстройств. В то же время при длительном хроническом стрессе грызуны уделяют грумингу меньшее время, не заботясь о шерсти и коже. Соответственно нарушения ауто-груминга также могут быть использованы при моделировании последствий хронического стресса и связанных с ним аффективных или тревожных заболеваний ЦНС человека [1–4].

Груминг лабораторных грызунов часто исследуют как в эксперименте, так и (по состоянию шерсти) в домашней клетке для оценки общего благополучия животных в виварии. В этом случае обычно применяют шкалу оценки общего состояния шерсти (0 – не ухожена, 1 – в хорошем состоянии), либо делят тело на несколько частей (например, голову, шею, спину, живот, лапы, генитальную область и хвост) и каждой присуждают балл (0 или 1), сумма которых дает интегральный индекс груминга [5]. Есть и другие, более сложные способы оценки груминга, например, по количеству затронутых областей, их порядку очистки и частоте или продолжительности груминга [6] (рис. 1). Как будет показано в настоящей статье, такая тонкая микроструктура груминга используется все чаще и чаще в качестве вспомогательного показателя поведенческого фенотипа, оцениваемого в эксперименте на животных.

В частности, для оценки поведенческой микроструктуры ауто-груминга нами ранее был разработан подход, позволяющий количественно оценить последовательность эпизодов различных типов груминга – так называемый Алгоритм анализа груминга (ААГ, Grooming Analysis Algorithm, GAA, рис. 1) для крыс и мышей [7, 8]. В рамках ААГ микроструктура груминга может быть проанализирована путем измерения продолжительности, частоты и переходов различных стадий, а также его регионально-го распределения и количества полных завершенных актов [6], обычно совершаемых грызунами в росто-каудальном (цефало-каудальном) порядке от головы к хвосту [1–4] (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1. Основные типы ауто-груминга у грызунов (также см. рис. 1)

Зона тела	Поведение
Лапы и нос	Эллиптические двусторонние движения лапой, совершаемые возле носа
Морда	Короткие односторонние движения от вибрисс до области под глазом
Голова	Двухсторонние гребки назад и вверх за ушами и над макушкой обеими лапами
Тело	Облизывание тела и переход к спине, генитальной области и хвосту

Данные последних лет показывают, что груминг является важным поведением в нейробиологических исследованиях, а оценка микроструктуры ауто-груминга – ценным инструментом при моделировании заболеваний ЦНС на грызунах (см. далее), который может выявить тонкие различия в поведении животных, далеко не всегда легко обнаруживаемые измерением количества актов или длительности груминга [1]. Цель настоящей работы – подчеркнуть особую важность анализа ауто-груминга грызунов в эксперименте и провести анализ накопленной практики оценки уровня микроструктуры груминга грызунов и опыта применения ААГ (табл. 2) различными лабораториями мира в нейробиологических исследованиях на грызунах.

Тестирование животных для изучения груминга проводится в небольшом прозрачном цилиндре и длится обычно 5–10 мин, в ходе которого поведение грызунов записывается одной (или несколькими) камерами с фронтальной, угловой или вертикальной позиций, для дальнейшего анализа либо вручную (хорошо обученными исследователями), либо с использованием программного обеспечения (которые в настоящее вре-

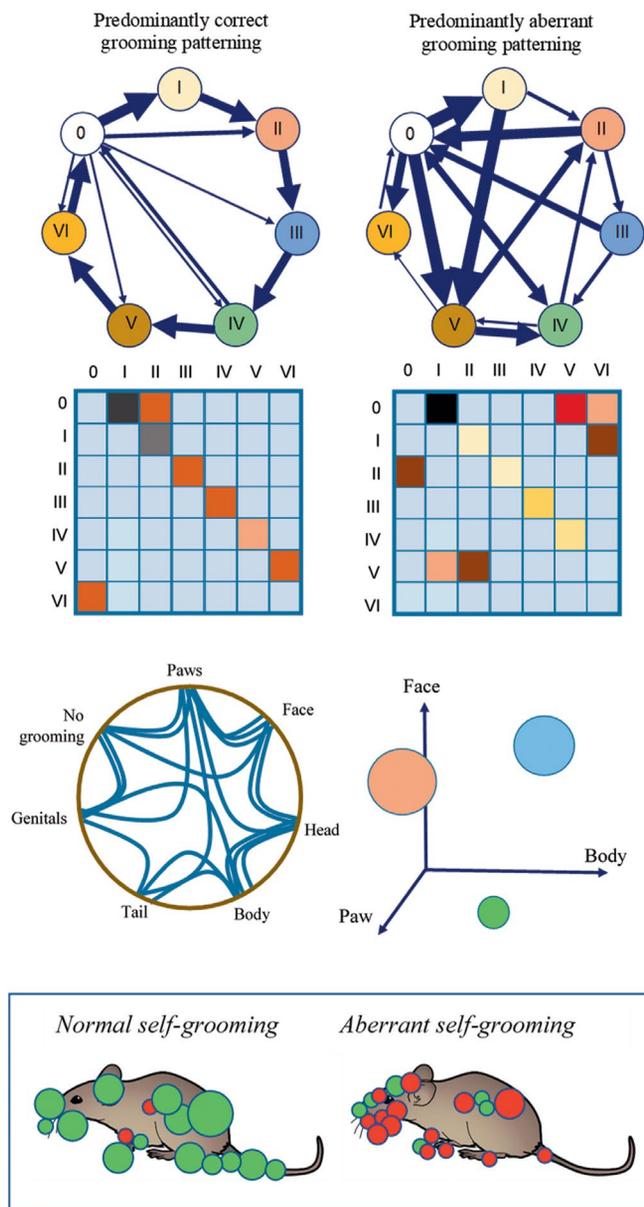


Рис. 2. Примеры визуализации микроструктуры груминга в нейробиологических исследованиях, включая этограммы (верхние панели), матрицы (средние панели), а также циркулярные флоу-граммы и трехмерный плоттинг (нижние диаграммы соответственно). На этограммах и в виде матрикса переходов представлены примеры обычного, ненарушенного груминга (слева) и аномального груминга с нарушенной микроструктурой (справа). В рамке дополнительно показаны примеры визуализации регионального распределения груминга, с разделением точками различного цвета на правильные (зеленые) и неправильные (красные) стадии, продемонстрированные за время тестирования в рамках или в нарушении росто-каудального вектора соответственно. Диаметр точек отражает их продолжительность. Стоит отметить преобладание длительных правильных стадий в случае нормального груминга (слева) и наличие большого числа коротких неправильных и преимущественно ростральных стадий при патологическом груминге (справа).

Таблица 2. Классификация паттернов ауто-груминга грызунов согласно Алгоритму анализа груминга (ААГ, GAA) [6–9] (см. рис. 1)

Номер стадии	Действие
0	Отсутствие груминга
1	Вылизывание передних лап
2	Вылизывание морды и носа
3	Мытье головы
4	Вычесывание тела (включая вычесывание тела задними лапами)
5	Вылизывание хвоста
6	Вылизывание гениталий

мя широко доступны на рынке, см. далее). В ААГ с помощью матрицы переходов [9] определяется частота каждого этапа, количество правильных и неправильных переходов между двумя этапами груминга, а также количество прерванных актов (рис. 1). Правильные переходы от одного этапа груминга к другому определяются как переходы между двумя последующими этапами груминга (например, 1–2 или 4–5). Неправильные переходы определяются как переходы между двумя несмежными стадиями груминга или в обратной последовательности (например, 0–6, 1–4 или 6–5). Наконец, прерванные акты определяются как пауза > 2 с во время груминга, если данное поведение не закончилось на стадии 6. В эксперименте рассчитывается общая частота переходов (сумма правильных и неправильных переходов), чтобы оценить общую активность груминга [6–9]. Как правило, стресс и различные дисфункции ЦНС нарушают микроструктуру груминга в ААГ, приводя к росту неправильных переходов, прерванных актов и нарушения регионального распределения груминга [1, 4, 6–9].

НАРУШЕНИЯ ГРУМИНГА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ

Как уже отмечалось, микроструктура груминга – это совокупность его паттернов и последовательностей (рис. 1), на которую влияют различные экспериментальные факторы и воздействия, такие как стресс, лекарственные препараты, а также гормональные и генетические манипуляции. Одним из мощных видов стресса является депривация сна, недостаток которого у грызунов влияет на уровень тревожности, материнское поведение и груминг. С помощью ААГ показано, что крысы-самцы с недостатком сна чаще совершают «неправильные» (вопреки росто-каудальному вектору) переходы между стадиями груминга, что может говорить о росте тревожности [10]. При депривации сна беременных самок, наоборот, у животных уменьшается количество актов груминга и не изменяется материнское поведение [11]. Похожее поведение имеют также самки в послеродовой период [12] – у них хоть и снижается ауто-груминг внутри гнезда с потомством, однако отмечается больше неправильных переходов и прерванных актов. Поведение, связанное с грумингом, проявляется в зависимости от контекста, что указывает на анксиолиз (когда кормящая самка находится в контакте со своим пометом) и тревожность (когда она находится отдельно от детенышей). Поскольку такие данные невозможно получить в приподнятом крестообразном лабиринте или открытом поле (тестах, являющихся золотым стандартом измерения тревожного поведения), анализ микроструктуры груминга с использованием ААГ является удобным дополнительным инструментом для нейробиологических исследований.

Оценка микроструктуры важна при анализе фармакологических соединений и лекарственных препаратов, так как такой метод представляет более полную карти-

ну для определения эффектов психотропных веществ (табл. 3). Например, груминг и его микроструктура являются чувствительными к острому воздействию многих нейротропных препаратов, в т.ч. флуоксетина, амитриптилина [13], прегабалина, стрептозотоцина [14], вальпроевой кислоты [15], фенциклидина, скополамина [16], бупренорфина [17], клоназепама [18], аллопрегнанолона [19] и диэтиламида d-лизергиновой кислоты (ЛСД) [20]. Анализ груминга и его микроструктуры также обнаруживает чувствительность к хроническому воздействию ряда нейротропных препаратов [21–23]. Например, при действии кокаина с метилликаонитином – антагонистом $\alpha 7$ никотинового ацетилхолинового рецептора, происходит частый ауто-груминг у мышей вплоть до потери шерсти, с частыми прерываниями [22]. Кортикостерон увеличивает количество актов и время груминга, а также уменьшает латентность начала груминга, что свидетельствует о тревожно-подобном поведении [23] (но см. [21]). Эти данные очередной раз подчеркивают важность детального анализа как уровня груминга, так и изменений его микроструктуры в нейробиологических и нейрофармакологических исследованиях.

Интересным подходом к изучению влияния физиологически активных соединений на ЦНС является взаимосвязь груминга и других форм поведения грызунов по отношению к хищнику. Так, при влиянии гербицида галоксифоп-П-метилового эфира в прогнозируемых экологически значимых концентрациях возникает нарушение реакции на хищников [24]: животные под влиянием препарата хуже избегали змею и демонстрировали повышенный груминг, а не замирание.

Таблица 3. Влияние физиологически активных соединений на ауто-груминг грызунов

Препарат	Доза	Способ введения	Эффект на груминг (вид)	Ссылки
Общее изменение структуры груминга				
Амитриптилин	5 и 10 мг/ кг	Внутривенно (вв)	Уменьшение общей продолжительности груминга у крыс, уменьшение общего количество паттернов и переходов, а также средней продолжительности акта груминга (здесь и далее)	[13, 24]
Флуоксетин	5 и 10 мг/ кг	Вв	Уменьшение общей продолжительности груминга у крыс, общего количество паттернов и переходов между ними, а также общего количества актов	

Продолжение таблицы 3.

Препарат	Доза	Способ введения	Эффект на груминг (вид)	Ссылки
Прегабалин	200 мг/кг	Вв	Нет эффектов на частоту и длительность актов у крыс	[14]
Стрептозотоцин	200 мг/кг	Вв	Нет эффектов на частоту актов у крыс, более частые внезапные всплески быстрого и интенсивного груминга	
Прегабалин и Стрептозотоцин	200 мг/кг	Вв	Снижение количества актов груминга у крыс	
Фенциклидин	3 мг/кг	Внутрибрюшинно (вб)	Нет эффектов на частоту и длительность актов у мышей	[16]
Скополамин	1 мг/кг	Вб	Увеличение общей продолжительности груминга у мышей	
Бупренорфин	0.25 мг/кг	Вб	Увеличение общей продолжительности груминга у мышей	[17]
Клоназепам	0.25 мг/кг	Вб	Уменьшение общей продолжительности и частоты актов, а также задержки в процессе акта у крыс	[18]
ЛСД	0.32 мг/кг	Вб	Увеличение общей продолжительности груминга у мышей	[20]
Вальпроевая кислота	400 мг/кг	Подкожно	Увеличение общей продолжительности груминга у крыс	[15]

Изменение микроструктуры груминга

Кокаин + метилликаконитин	15 мг/кг + 5 мг/кг	Вб	Нарушение последовательности груминга у мышей, частое повторение коротких эпизодов	[22]
---------------------------	--------------------	----	--	------

Окончание таблицы 3.

Препарат	Доза	Способ введения	Эффект на груминг (вид)	Ссылки
Кортикостерон	20 мг/кг	Перорально	Увеличивает количество актов и время груминга, а также уменьшает латентность начала груминга, появляются неправильные переходы у мышей	[23]
Кортикостерон + кетамин	20 + 0.1 или 0.01 мг/кг	Перорально (по) + вб	Однократное введение кетамина и/или гуанозина нормализует ростральный груминг и прерванные и неправильные переходы, вызванные кортикостероном у мышей	
Кортикостерон + гуанозин + кетамин	20 + 0.01 + 0.1 мг/кг	По + по + вб	Измение процента правильных и неправильных переходов между стадиями у крыс	
Аллопрегнано-лон	1.25–5 мкг	Вб	Изменение процента правильных и неправильных переходов между стадиями у крыс	[19]

Табл. 3 иллюстрирует широкий спектр препаратов, которые демонстрируют активность при анализе груминга и его микроструктуры различными лабораториями мира. С помощью анализа микроструктуры груминга можно также сделать заключение о качестве лекарственного препарата. Например, при тестировании эффектов мелоксикама трех разных марок в тесте «открытое поле» на поведение мышей частота груминга снижается во всех трех группах, но особенно сильно выражена у одного препарата для ветеринарного применения. Эти побочные эффекты могут быть связаны с качеством лекарств, поскольку препараты мелоксикама могут содержать кристаллический полиморфизм, который влияет на эффективность и безопасность препаратов [25]. При введении липополисахарида (ЛПС) – эндотоксина, имитирующего инфекцию грамотрицательными бактериями, возникает аутистично-подобное поведение у потомства, в том числе повторяющийся груминг и другие моторные стереотипии [26]. Частота и длительность груминга головы увеличивается после пренатального воздействия ЛПС, также растут общая частота и время груминга на фоне снижения дофаминергической активности в гипоталамусе, что часто связывают с клиническими симптомами аутизма [26].

Помимо синтезированных веществ, активно изучаются растительные экстракты и эфирные масла с целью выявления их центрального (например, седативного или анксиолитического) профиля. Так, эфирное масло бергамота снижает тревожное поведение у крыс, подавляя общее количество актов груминга [27]. При этом флумазенил (антагонист бензодиазепинового сайта рецепторов гамма-аминомасляной кислоты ГАМК_A) не блокирует анксиолитический эффект эфирного масла бергамота [28]. Таким образом, седативное и анксиолитическое действие эфирного масла бергамота

реализуется через механизмы, не связанные с рецепторами ГАМК_A, что расширяет возможность использования веществ растительного происхождения в качестве анксиолитиков для животных. О возможной анксиолитичности также говорит влияние экстрактов валерианы (*Valeriana carnosa*, *V. macrorrhiza* и *V. clarionifolia*) на груминг [29], поскольку пероральное их введение снижает частоту ауто-груминга у мышей. Интересным эффектом обладает эфирное масло табака (*Nicotiana tabacum*) при разном способе введения [30]. Мыши в группе трансдермального введения тратят больше времени на груминг, чем группа ингаляционного введения, сохраняя при этом правильную микроструктуру. Полученные данные говорят об актуальности анализа груминга и его микроструктуры для поиска новых анксиолитических и других психотропных агентов среди растительных лекарственных средств и их сравнения с классическими анксиолитиками.

ГРУМИНГ В ОТДЕЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ НАРУШЕНИЙ ЦНС

Оценка микроструктуры груминга важна при исследовании заболеваний ЦНС, например, обсессивно-компульсивного расстройства (ОКР) и аутизма. Так, при хроническом применении кокаина появляются стереотипии и подобные ОКР эффекты [22], например, повторяются короткие последовательности груминга, что указывает на стрессорную природу наблюдаемого поведения и на вероятную роль $\alpha 7$ -субъединицы никотинового рецептора ацетилхолина (nAChR) в модуляции ОКР-подобного эффекта кокаина. Повышенный груминг с чрезмерно повторяющимися паттернами часто встречается в животных моделях расстройств тревожного спектра и ОКР. Возможной причиной такого поведения является повышенная передача сигналов мегаботропного глутаматного рецептора 5 (mGluR5), которая приводит к нарушению поведения и активности стриатума [31]. Нарушения могут возникнуть и в биохимических процессах. Например, дефицит Zfp462, белка цинковых пальцев, специфичного для позвоночных, вызывает у мышей тревожное поведение с чрезмерным грумингом [32] – повышением числа актов груминга и процента прерванных актов. Мыши с экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом проявляют чрезмерный груминг с характерными паттернами, присущими ОКР – их груминг носит ригидный характер с повышенным количеством стереотипно повторяющихся действий [33].

В ряде моделей социальная среда улучшает поведение и нормализует груминг по сравнению с контрольными группами. Например, у самок мышей с гаплонедостаточностью тирозингидроксилазы снижается уровень катехоламинов и наблюдаются поведенческие аномалии – ухудшение сенсомоторных способностей, усиление тревожно-подобного поведения и нарушения микроструктуры груминга [34]. Однако если ссадить таких мышей с контрольными, то снижается частота и количество груминга, что свидетельствует о положительном влиянии совместного проживания (вероятно, за счет социального трансфера или обогащения среды).

В последнее время уделяется большое внимание исследованию генов и возможных генетических нарушений при оценке груминга и его микроструктуры. В частности, груминг грызунов чувствителен к различным генетическим манипуляциям, в т.ч. мутациям и трансгенезу. Подробный перечень генетически модифицированных мышей с нарушением груминга и его микроструктуры содержится в Базе данных геномной информатики мышей (Mouse Genomics Informatics Database, www.informatics.jax.org/), поддерживаемой Джексоновской лабораторией (США). На сегодняшний день в ней содержится наиболее полная информация о десятках линий геномодифицированных мышей с нарушениями груминга и его поведенческой микроструктуры.

Некоторые из данных линий будут рассмотрены ниже в качестве иллюстративных примеров. Так, ген *Shank3B* кодирует постсинаптические каркасные белки, которые имеют решающее значение для синаптической функции в мозге [35]. Мыши с нока-

утом этого гена демонстрируют типичные для расстройства аутистического спектра (РАС) поведенческие отклонения, включая стереотипный груминг и повышенную тревожность [36]. Самцы мышей с делецией домена PDZ (экзоны 13–16) *Shank3* демонстрируют фенотип поведения, подобный РАС, с часто прерывающимся повторяющимся грумингом и aberrантными социальными взаимодействиями [37]. При удалении экзонов 4–9 (*Shank3^{ex4-9}*), специфичных для изоформы этого гена, мыши демонстрируют аномальное социальное поведение и стереотипно повторяющиеся стадии груминга [38]. Кроме того, мыши *Shank3^{Δex4-22/-}* с делецией экзонов 4–22 демонстрируют чрезмерный длительный груминг на фоне снижения уровня стриарных постсинаптических каркасных белков mGluR5-Nomeg, измененной передачи сигналов mGluR5 в стриатуме и аномалий кортико-стриарного пути [39]. РАС-подобный фенотип описан и у мышей, нокаутных по гену $\alpha 2$ -субъединицы натриевого канала (*Scn2a*), связанного с эпилепсией и аутизмом в клинике, демонстрируя повышение частоты груминга и появление других поведенческих стереотипий (например, в тесте закапывания мраморных шариков в подстилку) [40].

Похожие эффекты возникают у мышей с генетическим дефицитом дофамин- β -гидроксилазы (*Dbh*^{-/-}), который необходим для превращения дофамина в норадреналин, что приводит к повышению уровня первого и отсутствию последнего [41]. В отличие от контрольной группы, которая демонстрирует энергичное зарывание в ответ на предъявление незнакомого им запаха розы, мыши *Dbh*^{-/-} демонстрируют частые и длительные акты повторяющегося груминга. Таким образом, по-видимому, норадреналин управляет зарыванием, вызванным стрессом, а дофамин, очевидно, контролирует поведение и микроструктуру груминга.

Потенциальные мишени трансляции, которые связаны с поведенческими фенотипами, были описаны и валидированы *in-silico* на основании открытых баз данных [42]. Так, описано более 30 генов, гомологичных у мышей и человека, в т.ч. *Ptpra*, *Tubgcp4*, *Til*, *Ptger3*, *Hoxb4*, *Pdgb* и *Faah*, коррелирующие с грумингом сразу в ряде поведенческих тестов [43]. Гены *Hoxb4* и *Hoxb8* участвуют в компульсивном груминге и ОКР-подобном поведении, а *Ptpra* связан с шизофренией. Интересен также ген *Csnd2*, связанный с аномальной морфологией мозжечка и *Gnb5*, поскольку мыши с нокаутом *Gnb5* имеют аномальное развитие мозжечка и нарушение координации движений [42]. Выявлены также гены молекул адгезии клеток нейронов (нейрексины, нейролигины, *CNTNAP*), белков постсинаптического каркаса (*Shanks*, *SAPAP*), рецепторов нейромедиаторов (глутамата, ГАМК) и молекул, участвующих в синтезе белка в мозге (*Fmr1*, *TSC*, *MeCP2*) [44]. Исследование генов значимо для понимания микроструктуры груминга, потому что оно раскрывает молекулярные механизмы в основе этого сложного и высокоорганизованного поведения. Это может помочь исследовать нейрофенотипы, связанные с грумингом, а также выявить новые мишени для лечения нейропсихических расстройств, таких как ОКР, синдром дефицита внимания и гиперактивности, шизофрения и аутизм.

РОЛЬ ОТДЕЛОВ ЦНС В РЕГУЛЯЦИИ ГРУМИНГА

Из основных зон мозга, ответственных за груминг, особо важную роль играют кора головного мозга, базальные ганглии, гипоталамус, миндалина, мозжечок, и продолговатый мозг [1] (рис. 3, табл. 4). Груминг грызунов и его организация зависят от базальных ганглиев, в частности, от связи дофаминовых нейронов [45]. Кора головного мозга, таламус и миндалевидное тело регулируют груминг, посылая и получая сигналы в стриатум. Мозжечок координирует и настраивает движения груминга, имея проекции в разные части головного и спинного мозга. Миндалевидное тело влияет на груминг в зависимости от контекста (например, при стрессе или в рамках социальной активности).

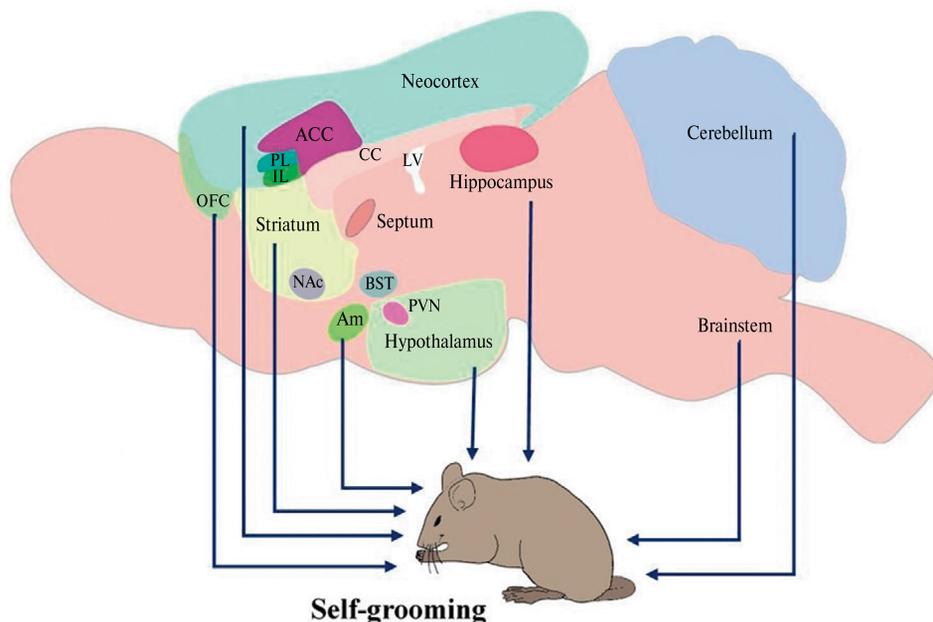


Рис. 3. Мозговые структуры, вовлеченные в регуляцию груминга и его микроструктуры у грызунов (см. также табл. 4) [1]. ACC – передняя поясная кора, PL – прелимбическая кора, IL – инфраламбическая кора, OFC – орбитофронтальная кора, CC – мозолистое тело, LV – боковой желудочек, NAc – прилежащее ядро, BST – ядро ложа терминальной полоски, Am – миндалина, PVN – паравентрикулярное ядро гипоталамуса. Стриатум регулирует последовательное движение грызунов при ауто-груминге, в то время как неокортекс участвует в общей модуляции двигательной программы. Мозжечок играет важную роль в контроле, координации и тонкой настройке движений при ауто-груминге, а ствол мозга – в инициации данных движений. Например, специфические нейроны спинального ядра тройничного нерва образуют нейронную цепь с шейным отделом спинного мозга для поддержания повторяющегося орофациального ауто-груминга. Миндалина участвует в специфической модуляции ауто-груминга во время стрессовых ситуаций, а гипоталамус обуславливает нейроэндокринную регуляцию груминга посредством гипоталамо-гипофизарной системы, либо через активацию других нейронных цепей. Например, стимуляция нейронов паравентрикулярного ядра и дорсального гипоталамуса вызывает активный ауто-груминг.

Гипоталамус и гипофиз отвечают за общий гормональный контроль груминга (рис. 3), активируя его при выделении стрессорных пептидов кортиколиберина и адреноркотрикоптрона [46]. Ствол мозга инициирует и формирует базовые паттерны груминга (рис. 1), но для их полного выражения нужен стриатум. Также была доказана связь гиппокамп-септум-гипоталамус в лимбической системе мозга грызунов, которая регулирует ауто-, но не гетеро-груминг [47]. Активность мозга при груминге также демонстрирует интересные региональные особенности. Например, для нескольких областей мозга характер активации нейронов при груминге у самок в период диэструса различен в одних областях мозга, (околоводопроводное серое вещество, латеродорсальное тегментальное ядро, вентромедиальное дорсальное ядро шва), но не менялся в других (базальное ядро Мейнерта, оболочка прилежащего ядра) [48].

Таблица 4. Нейробиологический субстрат груминга при стрессе и моделях ОКР

Зона мозга	Экспрессия <i>c-fos</i>		Ссылки
	при стрессе	при ОКР	
Кора головного мозга	↑	↑	[49]
Передняя поясная кора		↑	[50]
Прелимбическая кора		↑	[50]
Инфралимбическая кора		↑	[50]
Орбитофронтальная кора	↑	↑	[36, 50]
Ядро ложа терминальной полоски		↑	[50, 51]
Прилежащее ядро	↑	↑	[48, 50]
Базальное ядро Мейнерта	↑		[48]
Гипоталамус	↑	↑	[49, 50]
Миндалина	↑	↑	[36, 49, 50]
Околоводопроводное серое вещество	↑		[48]
Вентромедиальное дорсальное ядро шва	↑		[48]
Латеродорсальное тегментальное ядро	↑		[48]
Голубое пятно	↑		[48]
Околоводопроводное серое вещество	↑		[36, 48]
Медиальное ядро таламуса	↑		[36]

В табл. 4 отображены основные отделы мозга и их структуры, которые активируются при стрессе или ОКР. Заметно, что при обоих адаптационных расстройствах активируются одинаковые структуры. Неслучайно при ОКР, помимо повторяющихся действий, возникают также стрессовые состояния, которые отображаются в поведенческих тестах и стереотипном груминге. Такое поведение также связано с повышенной активностью нейронов в различных областях мозга, таких как орбитофронтальная кора, передняя поясная кора, прелимбическая кора, инфралимбическая кора, прилежащее ядро и гипоталамус. Эти области мозга участвуют в регуляции эмоций, мотивации и принятии решений и могут быть дисрегулированы при ОКР и стрессе [52, 53]. Таким образом, ОКР и стресс могут иметь общие механизмы, влияющие на поведение и работу мозга грызунов. В целом изучение груминга в контексте вовлеченных отделов мозга (рис. 3) имеет большое значение, помогая лучше понять неврологические расстройства, которые вызывают повторяющееся поведение. Кроме того, возможно, что зоны мозга, которые отвечают за груминг как инстинктивное поведение, могут быть связаны с другими видами поведения и мышления, которые развились у человека в процессе эволюции и культуры [1].

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОСТРУКТУРЫ ГРУМИНГА

Количественная оценка груминга и его микроструктуры открывает новые возможности в нейробиологии за счет создания и стандартизации компьютерных программ, существенно повышающих качество нейрофенотипирования поведения грызунов. В частности, созданы методы автоматического анализа микроструктуры груминга с помощью коммерческих программ HomeCageScan (CleverSys, Inc., США) и Ethovision XT7 (Noldus

IT BV, Нидерланды), а также доступных в открытом доступе программ JAABA (Howard Hughes Medical Institute, США) [54–56], автоматический подсчет актов груминга в которых имеет одинаковую ошибку с ручным подсчетом, это говорит о том, что дальнейшие методические разработки в области технологий видеослежения позволят свести к минимуму количество ложных обнаружений, повысив эффективность данного метода. M-Track (CCTV Products, Пакистан), позволяющий в автоматическом режиме определять микрогруминг [57], представляет собой удобный графический интерфейс и надежный алгоритм для точного отслеживания движений отдельных передних лап во время спонтанного груминга. Создано также программное обеспечение DeepEthogram (Harvard Medical School, Boston, США), которое использует контролируемое машинное обучение для преобразования необработанных пикселей видео в этограмму для каждого видеокadra [58].

С использованием данных подходов в литературе описаны функции и представлен пространственно-временной подход глубокого обучения для классификации поведения мышей в домашней клетке [59]. Используя новую архитектурную модель нейронной сети, изучена генетика, лежащая в основе поведения, чтобы объяснить, почему мыши демонстрируют различное поведение при груминге [60]. Например, нейросетевой алгоритм проанализировал 2250 ч видео с участием более 60 разновидностей мышей и других животных, показав, что мыши, выращенные в лаборатории, занимаются грумингом меньше, чем мыши, недавно выловленные в природе. Похожим по функционалу, но чуть менее точной является трехмерная сверточная нейронная сеть (3D-CNN), в которой анализируются всего три параметра – отсутствие ауто-груминга (0), груминг морды (1) и груминг тела (2) [61]. Однако такой подход существенно выигрывает с точки зрения производительности и скорости обработки данных. Автоматизация позволяет проводить 24-часовую видеозапись ауто- и гетеро-груминга животных в более естественных условиях, исключая дополнительные стрессовые факторы, что предоставляет очевидные преимущества для нейроповеденческих исследований, так как упрощает работу исследователя и представляет более полную картину поведения животного. Таким образом, приведенные выше сведения еще раз указывают на значимость груминга и при действии различных экспериментальных факторов. При этом в ряде исследований [55, 56] анализ микроструктуры груминга являлся более чувствительным методом, чем общий подсчет его продолжительности (который либо не менялся, либо нет – см. далее).

Более того, использование анализа микроструктуры не ограничивается исследованием груминга грызунов и может быть применено для анализа поведения других видов животных, а также человека (в т. ч. в клинике). Например, инструменты видеонаблюдения в настоящее время позволяют отслеживать несколько животных на одной площадке [60], что открывает возможность изучения социального поведения, аллогруминга и, вероятно, может быть использовано для исследования аутизма. Также перспективным является использование искусственного интеллекта (ИИ), который будет способен к самостоятельному обучению и сможет точно отслеживать изменение поведения животного в естественной для него среде. Это позволит выделить даже тонкие изменения в поведении, которые могут быть связаны с психологическими нарушениями, а также выявить новые закономерности в физиологии животных. Кроме того, применение алгоритмов машинного обучения может помочь в выявлении скрытых паттернов в микроструктуре груминга, связанных с конкретными нарушениями ЦНС – ОКР, аутизмом и депрессией (табл. 4). Это приведет к углубленному пониманию механизмов и особенностей поведения у мышей, что может пролить свет на возможные связи между молекулярными, нейробиологическими и поведенческими аспектами этих нарушений. Поскольку поведение груминга характерно не только для грызунов и обнаруживается у самых различных видов животных, включая приматов и человека [62], трансляционная значимость груминга может быть также высокой в контексте диагностики различных (в том числе пресимтомальных и коморбидных) заболеваний ЦНС. Существует также целый ряд других открытых вопросов для изучения в данной области (табл. 5).

Таблица 5. Отдельные открытые вопросы в области анализа микроструктуры груминга грызунов

Вопросы

- Какие нейрофармакологические агенты могут модулировать груминг и как они влияют на активность и пластичность нейронов в стриатуме и других областях головного мозга?
 - Какие этиологические факторы могут способствовать развитию повышенного груминга у животных и людей? Какие молекулярные и генетические маркеры могут быть ассоциированы с повышенным грумингом у животных и людей?
 - Какие эволюционные преимущества или недостатки может иметь повышенный ауто-груминг у животных в естественных условиях?
 - Как ауто-груминг грызунов коррелирует с гетеро-грумингом? Имеются ли общие нейрональные субстраты данных форм поведения?
 - Как ауто-груминг грызунов коррелирует с ауто-барберингом? Имеются ли общие нейрональные субстраты данных форм поведения?
 - Какие теоретические и практические применения может иметь анализ груминга для понимания нейробиологии, психологии и поведения животных и людей, в т. ч. аффективных расстройств, социального взаимодействия, формирования навыков и привычек, а также эволюционной адаптации?
 - Какие функции выполняют разные зоны мозга, ответственные за груминг, и как они координируются между собой? [63]
 - Почему груминг грызунов зависит от связи дофаминовых нейронов в базальных ганглиях и как это отражается на их поведении и когнитивных способностях? [64]
 - Какие факторы могут вызывать или усиливать повторяющееся или стереотипное поведение, связанное с грумингом, такое как ОКР, аутизм или депрессия, и как они диагностируются и лечатся у животных и людей?
 - Изменяется ли микроструктура груминга в зависимости от возраста и пола?
 - Как поможет искусственный интеллект (ИИ) при распознавании микроструктуры груминга? Например, как применить ИИ и анализ больших данных (big data) для более точной диагностики, классификации и прогнозирования депрессии, аутизма, ОКР и других?
 - Возможно ли в будущем провести параллель между микроструктурой груминга и сложным поведением человека?
 - Самцы, при эрекции полового члена, больше уделяют внимание грумингу генитальной области [65]. Как не ошибиться при статистической обработке и не посчитать этот акт как количество неправильных переходов?
 - Как молекулярные и генетические маркеры ауто-груминга могут быть использованы для скрининга или прогнозирования риска развития нарушений ЦНС человека?
 - Лабораторные мыши занимаются грумингом меньше, чем дикие [60]. Как это связано с процессами доместикации? Связано ли это с возможной повышенной тревожностью лабораторных мышей?
-

Вопросы

- Какое место среди различных форм груминга занимает чесание тела задней лапой? В настоящее время оно рассматривается как отдельный вид поведения (т.е. вне паттернов остального груминга, в котором участвует вылизывание или облизывание, рис. 1).
- Как головной мозг координирует свои действия со спинным мозгом, генерируя двигательные действия, участвующие в груминге?
- Нейроны $Cbln2^+$ $Sp5C$ являются ключевым подтипом нейронов, отвечающим за повторяющийся груминг орофациальной поверхности [66]. Какие существуют еще нейроны и могут ли они отвечать за полную структуру груминга?
- Как влияет генетический профиль линии дикого типа на эффект мутаций, влияющих на груминг, с учетом известных линейных различий в отношении ауто-груминга и его микроструктуры?
- Существует ли эпигенетическая регуляция ауто-груминга? Какие эпигенетические механизмы могут вовлекаться в данный процесс?
- Каково участие нейроглии (микроглии и астроцитов) в регуляции ауто-груминга?
- Связаны ли между собой патологический ауто-груминг и апоптоз, нейровоспаление и нейродегенерация?
- Как ранний (неонатальный) стресс влияет на ауто-груминг и его микроструктуру?
- Какова возрастная траектория ауто-груминга и его микроструктуры?
- Влияет ли на микроструктуру ауто-груминга экспериментальная девибриссация и деольфактация (аносмия)?
- Участвуют ли феромоны (и какие) в регуляции ауто-груминга?
- Вокализуют ли грызуны до, во время и после ауто-груминга, и как?
- Каково соотношение генетических и средовых факторов в регуляции груминга и его микроструктуры? Например, изменяются ли последние при кросс-фостеринге, когда мышата линий с активным грумингом выращиваются приемными матерями линий с низким уровнем, и наоборот?
- Как коррелируют генетические и эпигенетические детерминанты «количества» груминга с таковыми для его «качества» (микроструктуры)?
- Существует ли «социальный перенос» изменений в микроструктуре ауто-груминга у лабораторных грызунов?
- Как отличается микроструктура ауто-груминга у лабораторных мышей и крыс? Какие могут быть нейрональные механизмы данных различий, если они есть?
- Возможно ли ИИ научить определять все вариации поведения грызунов – разные виды груминга, барберинг, гнездование, рытье нор, исследование незнакомой местности и т.д.?
- Возможно ли адаптировать Алгоритм анализа груминга (ААГ) для оценки ауто-груминга человека в домашних, рабочих и клинических условиях?

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОСТРУКТУРЫ ГРУМИНГА

Более того, помимо ауто- и гетеро-груминга, в поведении грызунов важную роль занимает этологически близкое ему поведение барберинга [67–75]. Барберинг представляет собой поведенчески обусловленную алопецию (выкусывание шерсти и вибрисс), часто наблюдаемую у лабораторных грызунов. Как и для груминга, описаны ауто- и гетеро-барберинг [67–73]. В литературе активно обсуждается биологическая роль и взаимосвязь барберинга со стрессом, агрессией, грумингом и аберрантным стереотипным поведением. И хотя накапливающиеся сведения указывают на то, что ауто-барберинг представляет собой отдельный фенотип [69–73], можно допустить его частичное перекрытие на поведенческом, физиологическом и нейросубстратном уровнях с патологически повышенным ауто-грумингом (например, *overgrooming*). Поэтому понимание природы барберинга и груминга и их влияния на состояние лабораторных животных является важным фактором, который необходимо учитывать в экспериментальной работе (табл. 5).

Патологически повышенный ростральный ауто-груминг может также привести к полной или частичной девибриссации (например, как в случае с мышами-мутантами по гену *Hoxb8* [76]). Поскольку девибриссация влияет на поведение мышей в ряде тестов, это может исказить интерпретацию результатов эксперимента [67]. Например, девибриссация является экспериментальной моделью ангиогенеза у грызунов и приводит к нарушению их исследовательского поведения [77]. Таким образом, девибриссация при патологическом ауто-груминге, как и при ауто-барберинге, может усилить тревогу грызунов в поведенческих тестах, неспецифически влияя на результаты исследований, что особенно важно учитывать в контексте озабоченности научного сообщества проблемой воспроизводимости поведенческих данных в лабораториях [78, 79]. Соответственно становятся важными также систематические исследования распространенности нормального и патологического груминга в лабораторных колониях, как это делается для барберинга [68, 74, 80], а также поиск путей его нормализации, например, путем обогащения среды содержания животных в условиях вивария.

Необходимо также исследование ряда других аспектов ауто-груминга в лабораторных условиях. Например, уровень груминга зависит от условия содержания животных, в том числе таких факторов, как транспортировка в виварий, смена комнат вивария, время суток, время года [60]. Однако влияние данных и ряда других феноменных факторов (уровень освещения, шума и вибрации в виварии, его размер, цвет стен, размер и тип клеток, плотность содержания животных, система вентиляции клеток, тип подстилки, режим ее смены, положение клетки на полке, источник/поставщик лабораторных животных, наличие сублиний, тестирование в различных лабораториях [74, 81]) на микроструктуру груминга пока не изучено. Влияние экспериментатора (его присутствие или отсутствие при тестировании, пол, метод хэндлинга животных) на поведение лабораторных грызунов также описано в литературе [82–84], но пока не изучено в контексте количественных или микроструктурных показателей груминга. Анализ различных поведенческих показателей ауто-груминга [60] может включать также ковариацию количественных и качественных (микроструктурных) параметров ауто-груминга различных линий и генетических модифицированных моделей. Это позволит понять, насколько увеличение или снижение частоты и длительности актов груминга может коррелировать с нарушением микроструктуры или предсказывать его, а также позволит оценить, насколько перекрываются генетические детерминанты двух данных характеристик ауто-груминга. Роль индивидуальной вариации микроструктуры ауто-груминга как отдельном фенотипе также заслуживает внимания в будущих нейробиологических исследованиях, особенно в контексте корреляции и ковариации с другими (не-груминговыми) нормальными и аберрантными фенотипами, изучаемыми в эксперименте.

Еще один важный практический вопрос касается влияния генетического профиля линии дикого типа на эффект мутаций, влияющих на груминг (табл. 5). Например, извест-

ны выраженные линейные различия в отношении количества [60] и микроструктуры ауто-груминга у мышей [8, 9], которые могут накладываться на изменения груминга, вызываемые генетическими модификациями. Поэтому исследователи должны оценивать вероятность возникновения эффектов «потолка» и «пола», например, если активирующая груминг мутация вызывается у линии дикого типа с высоким уровнем данного поведения, а ингибирующая мутация – у линии с крайне низким его уровнем соответственно.

Следует также отметить, что в большинстве работ (табл. 3, 6) оценка поведения животных проводилась не в комфортных условиях домашней клетки, а в различных поведенческих тестах (чаще всего основанных на стрессе новизной), и поэтому полная программа груминга могла не проявиться за счет преобладания незавершенных актов «стрессорного» груминга. С другой стороны, экспериментальные животные сравниваются с контрольной группой, которая содержится и тестируется в тех же условиях. В эксперименте также может быть целесообразно регистрировать разные формы поведения (обычно анализируемые раздельно, в специальных тестах) в ходе одного опыта, для сокращения времени тестирования и снижения риска ложных позитивов и негативов. Например, для анализа груминга могут использоваться видеозаписи, полученные не специально в отдельном тесте на груминг, а записанные в тестах открытого поля или приподнятого крестообразного лабиринта. Это логичное решение позволяет за один эксперимент получить несколько наборов данных (включая груминг) для их последующего анализа, что (за счет оптимизации дизайна эксперимента) также соответствует принципам биоэтичного экспериментирования на животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом ауто-груминг лабораторных грызунов является чувствительным и широко распространенным поведенческим фенотипом в биомедицинских и нейробиологических исследованиях. Для анализа ауто-груминга важна не только оценка его количества, но и анализ тонкой поведенческой микроструктуры, которая, как показывают данные последних лет, также оказывается чувствительна к широкому спектру экспериментальных воздействий (рис. 1–2, табл. 3). В ряде случаев чувствительность к различным экспериментальным воздействиям у микроструктуры груминга оказывается не ниже, а иногда – выше и с большим числом эффектов (табл. 6), чем у традиционных методов количественной оценки данного поведения. Поэтому необходимо более полно изучать груминг в контексте его микроструктуры и активно включать методы его комплексной оценки в существующие протоколы доклинических испытаний на грызунах.

Таблица 6. Примеры эффективности микроструктурного анализа груминга грызунов в нейробиологических исследованиях

Воздействие (вид)	Эффект на микроструктуру	Традиционные количественные подходы к оценке груминга	Ссылки
Клоназепам (крысы)	Уменьшение количества общих переходов между стадиями, что приводит к уменьшению количества неправильных и правильных переходов и росту процента правильных переходов. Уменьшение количества стадий, но увеличение продолжительности каждого эпизода и количество стадий в эпизоде	Увеличение латенции, снижение частоты и общей продолжительности груминга	[18]

Продолжение таблицы 6.

Воздействие (вид)	Эффект на микроструктуру	Традиционные количественные подходы к оценке груминга	Ссылки
Нокаут гена <i>Shank3B</i> (мышь)	Увеличение груминга морды и тела, хаотичные переходы между данными стадиями	Увеличение общей продолжительности, но не частоты актов груминга	[36]
Введение липополисахарида (крысы)	Появление стереотипий, увеличение «рострального» груминга головы	Увеличение общей продолжительности и частоты актов груминга	[26]
Хронический аутоиммунный энцефаломиелит (мышь)	Увеличение груминга морды и головы, уменьшение количества неправильных переходов между стадиями (более ригидный груминг)	Увеличение общей продолжительности груминга	[33]
Введение Th-17-лимфоцитов (мышь)	Увеличение груминга морды и головы, уменьшение количества неправильных переходов между стадиями (более ригидный груминг)	Увеличение общей продолжительности груминга	[33]
Инбредная линия BTBR (мышь)	Появление поведенческих стереотипий, увеличение продолжительности груминга головы, тела, лап, хвоста и гениталий. Увеличение процента прерванных эпизодов и снижение процента неправильных переходов между стадиями	Увеличение общей продолжительности, но не частоты актов груминга	[85]
Аллопрегнанолон (крысы)	Уменьшение процента правильных переходов (возможное стрессорное поведение)	Частота и продолжительность груминга не изменяется	[19]
Нокаут рецептора 1, связанного со следовыми аминами (TAAR1, мышь)	Снижение каудального и рострального груминга, уменьшение количества неправильных переходов между стадиями, снижение груминга головы, тела и хвоста	Снижение частоты груминга	[86]
Депривация сна (крысы)	Увеличение частоты неправильных переходов между стадиями	Нет различий с контролем	[10]

Окончание таблицы 6.

Воздействие (вид)	Эффект на микроструктуру	Традиционные количественные подходы к оценке груминга	Ссылки
Депривация парадоксального сна (крысы)	Увеличение частоты неправильных переходов и полных переходов. Увеличение частоты всех стадий, кроме груминга тела	Увеличение частоты и общей продолжительности груминга	[10]
Депривация сна у кормящих самок (крысы)	Увеличение числа неправильных переходов между стадиями	Увеличение частоты груминга у самок вне гнезда с потомством*	[12]
Нокаут гена триптофан-гидроксилазы (крысы)	Снижение доли правильных переходов между стадиями при интактном общем региональном распределении груминга	Нет различий в частоте и продолжительности груминга*	[87]

*На фоне отсутствия изменений поведенческих показателей тревожности в тесте приподнятого крестообразного лабиринта

Изучение микроструктуры ауто-груминга позволяет также оценивать многие другие аспекты поведения животных – двигательную активность, когниции, эмоции, стресс и социальность. Эти аспекты имеют большое значение для понимания механизмов ЦНС, а также для выявления потенциальных ее нарушений и заболеваний. Микроструктура груминга может служить индикатором нормального или аномального поведения, а также показателем эффективности терапевтических вмешательств. С этой точки зрения изучение микроструктуры груминга и ее нейрофизиологических и молекулярных коррелятов является важным подходом в современных нейробиологических исследованиях ЦНС (табл. 5).

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея статьи (А. В. К.), подготовка черновика статьи (К. В. А., А. Д. Ш., А. Д. В.), иллюстрации (В. Д. Р., С. В. А.), обсуждение и подготовка итоговой версии рукописи (А. В. К., К. В. А., А. Д. Ш., М. К. М., В. Д. Р., С. В. А., А. Д. В.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств Научно-технического университета «Сириус». Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kalueff AV, Stewart AM, Song C, Berridge KC, Graybiel AM, Fentress JC* (2016) Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nat Rev Neurosci* 17(1): 45–59. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.8>
2. *Klenowski PM, Zhao-Shea R, Freels TG, Molas S, Zinter M, M'Angale P, Xiao C, Martinez-Núñez L, Thomson T, Tapper AR* (2023) A neuronal coping mechanism linking stress-induced anxiety to motivation for reward. *Sci Adv* 9(49): eadh9620. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adh9620>
3. *Estanislau C, Veloso AWN, Filgueiras GB, Maio TP, Dal-Cól MLC, Cunha DC, Klein R, Carmona LF, Fernández-Teruel A* (2019) Rat self-grooming and its relationships with anxiety, dearousal and perseveration: Evidence for a self-grooming trait. *Physiol Behav* 209: 112585. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112585>
4. *Kalueff AV, Aldridge JW, LaPorte JL, Murphy DL, Tuohimaa P* (2007) Analyzing grooming microstructure in neurobehavioral experiments. *Nat Protoc* 2(10): 2538–2544. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.367>
5. *Petković A, Chaudhury D* (2022) Encore: Behavioural animal models of stress, depression and mood disorders. *Front Behav Neurosci* 16: 931964. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.931964>
6. *Smolinsky AN, Bergner CL, LaPorte JL, Kalueff AV* (2009) Analysis of grooming behavior and its utility in studying animal stress, anxiety, and depression. In: Gould TD (ed) *Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests*. Totowa, NJ. Humana Press. 21–36.
7. *Kalueff AV, Tuohimaa P* (2005) The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. *J Neurosci Methods* 143(2): 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2004.10.001>
8. *Kalueff AV, Tuohimaa P* (2005) Contrasting grooming phenotypes in three mouse strains markedly different in anxiety and activity (129S1, BALB/c and NMRI). *Behav Brain Res* 160(1): 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.11.010>
9. *Kalueff AV, Tuohimaa P* (2004) Grooming analysis algorithm for neurobehavioural stress research. *Brain Res Protoc* 13(3): 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.brainresprot.2004.04.002>
10. *Pires GN, Tufik S, Andersen ML* (2013) Grooming analysis algorithm: use in the relationship between sleep deprivation and anxiety-like behavior. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 41: 6–10. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.11.006>
11. *Pires GN, Tufik S, Andersen ML* (2015) Effects of REM sleep restriction during pregnancy on rodent maternal behavior. *Braz J Psychiatry* 37(4): 303–309. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2014-1629>
12. *Pires GN, Tufik S, Andersen ML* (2020) Effects of sleep restriction during pregnancy on postpartum maternal behavior in female rats. *Behav Proc* 179: 104200. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2020.104200>
13. *Enginar N, Hatipoğlu I, Firtina M* (2008) Evaluation of the acute effects of amitriptyline and fluoxetine on anxiety using grooming analysis algorithm in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 89(3): 450–455. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2008.02.001>
14. *Salat K, Gdula-Argasińska J, Malikowska N, Podkowa A, Lipkowska A, Librowski T* (2016) Effect of pregabalin on contextual memory deficits and inflammatory state-related protein expression in streptozotocin-induced diabetic mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 389(6): 613–623. <https://doi.org/10.1007/s00210-016-1230-x>
15. *Wang R, Hausknecht K, Shen RY, Haj-Dahmane S* (2018) Potentiation of Glutamatergic Synaptic Transmission Onto Dorsal Raphe Serotonergic Neurons in the Valproic Acid Model of Autism. *Front Pharmacol* 9: 1185. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01185>
16. *Malikowska-Racia N, Podkowa A, Salat K* (2018) Phencyclidine and Scopolamine for Modeling Amnesia in Rodents: Direct Comparison with the Use of Barnes Maze Test and Contextual Fear Conditioning Test in Mice. *Neurotox Res* 34(3): 431–441. <https://doi.org/10.1007/s12640-018-9901-7>
17. *Robinson SA, Hill-Smith TE, Lucki I* (2019) Buprenorphine prevents stress-induced blunting of nucleus accumbens dopamine response and approach behavior to food reward in mice. *Neurobiol Stress* 11: 100182. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100182>

18. *Nin MS, Couto-Pereira NS, Souza MF, Azeredo LA, Ferri MK, Dalprá WL, Gomez R, Barros HM* (2012) Anxiolytic effect of clonazepam in female rats: grooming microstructure and elevated plus maze tests. *Eur J Pharmacol* 684(1–3): 95–101.
<https://10.1016/j.ejphar.2012.03.038>
19. *Nin MS, Ferri MK, Couto-Pereira NS, Souza MF, Azeredo LA, Agnes G, Gomez R, Barros HM* (2012) The effect of intra-nucleus accumbens administration of allopregnanolone on δ and $\gamma 2$ GABA(A) receptor subunit mRNA expression in the hippocampus and on depressive-like and grooming behaviors in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 103(2): 359–366.
<https://10.1016/j.pbb.2012.09.002>
20. *Kyzar EJ, Stewart AM, Kalueff AV* (2016) Effects of LSD on grooming behavior in serotonin transporter heterozygous (Sert^{+/-}) mice. *Behav Brain Res* 296: 47–52.
<https://10.1016/j.bbr.2015.08.018>
21. *Yao Z, Zhang BX, Chen H, Jiang XW, Qu WM, Huang ZL* (2023) Acute or Chronic Exposure to Corticosterone Promotes Wakefulness in Mice. *Brain Sci* 13(10).
<https://10.3390/brainsci13101472>
22. *Metaxas A, Keyworth H, Yoo J, Chen Y, Kitchen I, Bailey A* (2012) The stereotypy-inducing and OCD-like effects of chronic 'binge' cocaine are modulated by distinct subtypes of nicotinic acetylcholine receptors. *Br J Pharmacol* 167(2): 450–464.
<https://10.1111/j.1476-5381.2012.02023.x>
23. *Camargo A, Dalmagro AP, Fraga DB, Rosa JM, Zeni ALB, Kaster MP, Rodrigues ALS* (2021) Low doses of ketamine and guanosine abrogate corticosterone-induced anxiety-related behavior, but not disturbances in the hippocampal NLRP3 inflammasome pathway. *Psychopharmacology* 238(9): 2555–2568.
<https://10.1007/s00213-021-05879-8>
24. *de Oliveira Mendes B, Mesak C, Calixto JED, Jr, Malafaia G* (2018) Mice exposure to haloxyfop-p-methyl ester at predicted environmentally relevant concentrations leads to anti-predatory response deficit. *Environ Sci Pollut Res Int* 25(31): 31762–31770.
<https://10.1007/s11356-018-3222-5>
25. *Antiorio AT, Alemán-Laporte J, Zanatto DA, Pereira MAA, Gomes MS, Wadt D, Yamamoto PK, Bernardi MM, Mori CM* (2022) Mouse Behavior in the Open-field Test after Meloxicam Administration. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 61(3): 270–274.
<https://10.30802/aalas-jaalas-21-000046>
26. *Kirsten TB, Bernardi MM* (2017) Prenatal lipopolysaccharide induces hypothalamic dopaminergic hypoactivity and autistic-like behaviors: Repetitive self-grooming and stereotypies. *Behav Brain Res* 331: 25–29.
<https://10.1016/j.bbr.2017.05.013>
27. *Rombolà L, Tridico L, Scuteri D, Sakurada T, Sakurada S, Mizoguchi H, Avato P, Corasaniti MT, Bagetta G, Morrone LA* (2017) Bergamot Essential Oil Attenuates Anxiety-Like Behaviour in Rats. *Molecules* 22(4).
<https://10.3390/molecules22040614>
28. *Rombolà L, Scuteri D, Adornetto A, Straface M, Sakurada T, Sakurada S, Mizoguchi H, Corasaniti MT, Bagetta G, Tonin P, Morrone LA* (2019) Anxiolytic-Like Effects of Bergamot Essential Oil Are Insensitive to Flumazenil in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med: eCAM* 2019: 2156873.
<https://10.1155/2019/2156873>
29. *Marcucci C, Relats JMA, Bach HG, Kamecki F, Varela BG, Wagner ML, Pastore V, Coletti N, Ricco RA, Marder M* (2020) Neurobehavioral evaluation and phytochemical characterization of a series of argentine valerian species. *Heliyon* 6(12): e05691.
<https://10.1016/j.heliyon.2020.e05691>
30. *Xie D, Yao L, Huang Y, Wu S, Ma L, Li Y, Wang W* (2021) Anxiolytic Effect of Two Tobacco Essential Oils (*Nicotiana tabacum* Linn.) on Mice. *Molecules* 26: 14.
<https://10.3390/molecules26144171>
31. *Ade KK, Wan Y, Hamann HC, O'Hare JK, Guo W, Quian A, Kumar S, Bhagat S, Rodriguiz RM, Weisel WC, Conn PJ, Dzirasa K, Huber KM, Calakos N* (2016) Increased Metabotropic Glutamate Receptor 5 Signaling Underlies Obsessive-Compulsive Disorder-like Behavioral and Striatal Circuit Abnormalities in Mice. *Biol Psychiatry* 80(7): 522–533.
<https://10.1016/j.biopsych.2016.04.023>
32. *Wang B, Zheng Y, Shi H, Du X, Zhang Y, Wei B, Luo M, Wang H, Wu X, Hua X, Sun M, Xu X* (2017) Zfp462 deficiency causes anxiety-like behaviors with excessive self-grooming in mice. *Genes Brain Behav* 16(2): 296–307.
<https://10.1111/gbb.12339>

33. *Kant R, Pasi S, Suroli A* (2018) Auto-Reactive Th17-Cells Trigger Obsessive-Compulsive-Disorder Like Behavior in Mice With Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Front Immunol* 9: 2508.
<https://10.3389/fimmu.2018.02508>
34. *Garrido A, Cruces J, Ceprián N, Hernández-Sánchez C, De Pablo F, De la Fuente M* (2021) Social Environment Ameliorates Behavioral and Immune Impairments in Tyrosine Hydroxylase Haploinsufficient Female Mice. *J Neuroimmune Pharmacol* 16(3): 548–566.
<https://10.1007/s11481-020-09947-2>
35. *Guilmatre A, Huguet G, Delorme R, Bourgeron T* (2014) The emerging role of SHANK genes in neuropsychiatric disorders. *Dev Neurobiol* 74(2): 113–122.
<https://10.1002/dneu.22128>
36. *Liu H, Huang X, Xu J, Mao H, Li Y, Ren K, Ma G, Xue Q, Tao H, Wu S, Wang W* (2021) Dissection of the relationship between anxiety and stereotyped self-grooming using the Shank3B mutant autistic model, acute stress model and chronic pain model. *Neurobiol Stress* 15: 100417.
<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100417>
37. *Balaan C, Corley MJ, Eulalio T, Leite-Ahyo K, Pang APS, Fang R, Khadka VS, Maunakea AK, Ward MA* (2019) Juvenile Shank3b deficient mice present with behavioral phenotype relevant to autism spectrum disorder. *Behav Brain Res* 356: 137–147.
<https://10.1016/j.bbr.2018.08.005>
38. *Wang X, McCoy PA, Rodriguiz RM, Pan Y, Je HS, Roberts AC, Kim CJ, Berrios J, Colvin JS, Bousquet-Moore D, Lorenzo I, Wu G, Weinberg RJ, Ehlers MD, Philpot BD, Beaudet AL, Wetsel WC, Jiang YH* (2011) Synaptic dysfunction and abnormal behaviors in mice lacking major isoforms of Shank3. *Hum Mol Genet* 20(15): 3093–3108.
<https://10.1093/hmg/ddr212>
39. *Wang X, Bey AL, Katz BM, Badaea A, Kim N, David LK, Duffney LJ, Kumar S, Mague SD, Hulbert SW, Dutta N, Hayrapetyan V, Yu C, Gaidis E, Zhao S, Ding JD, Xu Q, Chung L, Rodriguiz RM, Wang F, Weinberg RJ, Wetsel WC, Dzirasa K, Yin H, Jiang YH* (2016) Altered mGluR5-Homer scaffolds and corticostriatal connectivity in a Shank3 complete knockout model of autism. *Nat Commun* 7: 11459.
<https://10.1038/ncomms11459>
40. *Léna I, Mantegazza M* (2019) Na(V)1.2 haploinsufficiency in Scn2a knock-out mice causes an autistic-like phenotype attenuated with age. *Sci Rep* 9(1): 12886.
<https://10.1038/s41598-019-49392-7>
41. *Lustberg DJ, Liu JQ, Iannitelli AF, Vanderhoof SO, Liles LC, McCann KE, Weinshenker D* (2022) Norepinephrine and dopamine contribute to distinct repetitive behaviors induced by novel odorant stress in male and female mice. *Horm Behav* 144: 105205.
<https://10.1016/j.yhbeh.2022.105205>
42. *Roth A, Kyzar EJ, Cachat J, Stewart AM, Green J, Gaikwad S, O'Leary TP, Tabakoff B, Brown RE, Kalueff AV* (2013) Potential translational targets revealed by linking mouse grooming behavioral phenotypes to gene expression using public databases. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 40: 312–325.
<https://10.1016/j.pnpbp.2012.10.015>
43. *Ikrin A, Moskalenko A, Mukhamadeev R, Sander de Abreu M, Kolesnikova T, Kalueff A* (2023) The emerging complexity of molecular pathways implicated in mouse self-grooming behavior. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 127: 110840.
<https://10.1016/j.pnpbp.2023.110840>
44. *Gandhi T, Lee CC* (2020) Neural Mechanisms Underlying Repetitive Behaviors in Rodent Models of Autism Spectrum Disorders. *Front Cell Neurosci* 14: 592710.
<https://10.3389/fncel.2020.592710>
45. *Obeso JA, Lanciego JL* (2011) Past, present, and future of the pathophysiological model of the Basal Ganglia. *Front Neuroanat* 5: 39.
<https://10.3389/fnana.2011.00039>
46. *Muglia LJ, Jacobson L, Weninger SC, Karalis KP, Jeong K, Majzoub JA* (2001) The physiology of corticotropin-releasing hormone deficiency in mice. *Peptides* 22(5): 725–731.
[https://10.1016/s0196-9781\(01\)00385-0](https://10.1016/s0196-9781(01)00385-0)
47. *Mu MD, Geng HY, Rong KL, Peng RC, Wang ST, Geng LT, Qian ZM, Yung WH, Ke Y* (2020) A limbic circuitry involved in emotional stress-induced grooming. *Nat Commun* 11(1): 2261.
<https://10.1038/s41467-020-16203-x>
48. *Wiersielis KR, Wicks B, Simko H, Cohen SR, Khantsis S, Baksh N, Waxler DE, Bangasser DA* (2016) Sex differences in corticotropin releasing factor-evoked behavior and activated networks. *Psychoneuroendocrinology* 73: 204–216.
<https://10.1016/j.psychneuen.2016.07.007>

49. Frank E, Salchner P, Aldag JM, Salomé N, Singewald N, Landgraf R, Wigger A (2006) Genetic predisposition to anxiety-related behavior determines coping style, neuroendocrine responses, and neuronal activation during social defeat. *Behav Neurosci* 120(1): 60–71.
<https://doi.org/10.1037/0735-7044.120.1.60>
50. Chen X, Yue J, Luo Y, Huang L, Li B, Wen S (2021) Distinct behavioral traits and associated brain regions in mouse models for obsessive-compulsive disorder. *Behav Brain Funct* 17(1): 4.
<https://doi.org/10.1186/s12993-021-00177-x>
51. van de Poll Y, Cras Y, Ellender TJ (2023) The neurophysiological basis of stress and anxiety – comparing neuronal diversity in the bed nucleus of the stria terminalis (BNST) across species. *Front Cell Neurosci* 2023: 17.
52. Mitra S, Bult-Ito A (2021) Bidirectional Behavioral Selection in Mice: A Novel Pre-clinical Approach to Examining Compulsivity. *Front Psychiatry* 2021: 12.
53. Chen X, Yue J, Luo Y, Huang L, Li B, Wen S (2021) Distinct behavioral traits and associated brain regions in mouse models for obsessive-compulsive disorder. *Behav Brain Funct* 17(1): 4.
<https://doi.org/10.1186/s12993-021-00177-x>
54. Kyzar E, Gaikwad S, Roth A, Green J, Pham M, Stewart A, Liang Y, Kobla V, Kalueff AV (2011) Towards high-throughput phenotyping of complex patterned behaviors in rodents: focus on mouse self-grooming and its sequencing. *Behav Brain Res* 225(2): 426–431.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.07.052>
55. Scruggs BA, Bowles AC, Zhang X, Semon JA, Kyzar EJ, Myers L, Kalueff AV, Bunnell BA (2013) High-throughput screening of stem cell therapy for globoid cell leukodystrophy using automated neurophenotyping of twitcher mice. *Behav Brain Res* 236(1): 35–47.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.08.020>
56. van den Boom BJG, Pavlidi P, Wolf CJH, Mooij AH, Willuhn I (2017) Automated classification of self-grooming in mice using open-source software. *J Neurosci Methods* 289: 48–56.
<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2017.05.026>
57. Reeves SL, Fleming KE, Zhang L, Scimemi A (2016) M-Track: A New Software for Automated Detection of Grooming Trajectories in Mice. *PLoS Comput Biol* 12(9): e1005115.
<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005115>
58. Bohoslav JP, Wimalasena NK, Clausing KJ, Dai YY, Yarmolinsky DA, Cruz T, Kashlan AD, Chiappe ME, Orefice LL, Woolf CJ, Harvey CD (2021) DeepEthogram, a machine learning pipeline for supervised behavior classification from raw pixels. *eLife* 10.
<https://doi.org/10.7554/eLife.63377>
59. Nwokedi EI, Bains RS, Bidaut L, Ye X, Wells S, Brown JM (2023) Dual-Stream Spatiotemporal Networks with Feature Sharing for Monitoring Animals in the Home Cage. *Sensors* 23(23).
<https://doi.org/10.3390/s23239532>
60. Geuther BQ, Peer A, He H, Sabnis G, Philip VM, Kumar V (2021) Action detection using a neural network elucidates the genetics of mouse grooming behavior. *eLife* 10.
<https://doi.org/10.7554/eLife.63207>
61. Sakamoto N, Kobayashi K, Yamamoto T, Masuko S, Yamamoto M, Murata T (2022) Automated Grooming Detection of Mouse by Three-Dimensional Convolutional Neural Network. *Front Behav Neurosci* 2022: 16.
62. Feusner JD, Hembacher E, Phillips KA (2009) The mouse who couldn't stop washing: pathologic grooming in animals and humans. *CNS Spectr* 14(9): 503–513.
<https://doi.org/10.1017/s1092852900023567>
63. Lee NS, Beery AK (2019) Neural Circuits Underlying Rodent Sociality: A Comparative Approach. *Curr Top Behav Neurosci* 43: 211–238.
https://doi.org/10.1007/7854_2018_77
64. Serafim AP, Felicio LF (2001) Dopaminergic modulation of grooming behavior in virgin and pregnant rats. *Rev Bras Pesqui Med Biol* 34(11): 1465–1470.
<https://doi.org/10.1590/s0100-879x2001001100015>
65. Dorantes-Nieto A, Cortes C, Ugarte A, Trujillo Hernández A, Carrasco Á, Cepeda-Freyre HA, Eguibar JR (2020) Yawning and Penile Erection Frequencies Are Resilient to Maternal Care Manipulation in the High-Yawning Subline of Sprague-Dawley Rats. *Front Behav Neurosci* 14: 20.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.00020>
66. Xie Z, Li D, Cheng X, Pei Q, Gu H, Tao T, Huang M, Shang C, Geng D, Zhao M, Liu A, Zhang C, Zhang F, Ma Y, Cao P (2022) A brain-to-spinal sensorimotor loop for repetitive self-grooming. *Neuron* 110(5): 874–907.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.11.028>
67. Тур МА, Белозерцева ИВ (2017) Влияние спонтанной частичной сенсорной депривации на поведение самцов мышей линии C57BL/6N. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 103: 161–171. [Tur M, Belozertseva I (2017) Influence of spontaneous partial sensory deprivation on male C57BL/6N mice behavior. *Russ J Physiol* 103: 161–171. (In Russ)].

68. *Kalueff AV, Minasyan A, Keisala T, Shah ZH, Tuohimaa P* (2006) Hair barbering in mice: Implications for neurobehavioural research. *Behav Proc* 71(1): 8–15.
<https://doi.org/10.1016/j.beproc.2005.09.004>
69. *Калыев АВ, Туохимаа П* (2005) Эффект Далилы в нейробиологических исследованиях. *Нейронауки* 1(1): 24–28. [*Kalueff AV, Tuohimaa P* (2005) The Dalila effects in neurobehavioural experiments. *Russ J Neurosci* 1(1): 24–28. (In Russ)].
70. *Sarna JR, Dyck RH, Whishaw IQ* (2000) The Dalila effect: C57BL6 mice barber whiskers by plucking. *Behav Brain Res* 108(1): 39–45.
[https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(99\)00137-0](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(99)00137-0)
71. *Garner JP, Weisker SM, Dufour B, Mench JA* (2004) Barbering (fur and whisker trimming) by laboratory mice as a model of human trichotillomania and obsessive-compulsive spectrum disorders. *Compar Med* 54(2): 216–224.
72. *Rienecker KDA, Chavasse AT, Moorwood K, Ward A, Isles AR* (2020) Detailed analysis of paternal knockout Grb10 mice suggests effects on stability of social behavior, rather than social dominance. *Genes Brain Behav* 19(1): e12571.
<https://doi.org/10.1111/gbb.12571>
73. *Müller K, Lengheimer T, Kral-Pointner JB, Wojta J, Yeghiazaryan L, Krall C, Palme R, Kleindorfer S, Plasenzotti R, Pollak DD, Tillmann KE* (2022) Exposure to soiled bedding reduces abnormal repetitive behaviors in mice. *Front Behav Neurosci* 2022: 16.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.1062864>
74. *Garner JP, Dufour B, Gregg LE, Weisker SM, Mench JA* (2004) Social and husbandry factors affecting the prevalence and severity of barbering ('whisker trimming') by laboratory mice. *Appl Anim Behav Sci* 89(3): 263–282.
<https://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.07.004>
75. *Moody CM, Paterson EA, Leroux-Petersen D, Turner PV* (2021) Using paper nest pucks to prevent barbering in C57BL/6 Mice. *J Amer Assoc Lab Anim Sci* 60(2): 133–138.
<https://doi.org/10.30802/aalas-jaalas-20-000047>
76. *Chen SK, Tvrdik P, Peden E, Cho S, Wu S, Spangrude G, Capecchi MR* (2010) Hematopoietic origin of pathological grooming in Hoxb8 mutant mice. *Cell* 141(5): 775–785.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.055>
77. *Koh HY, Kim D, Lee J, Lee S, Shin HS* (2008) Deficits in social behavior and sensorimotor gating in mice lacking phospholipase Cbeta1. *Genes Brain Behav* 7(1): 120–128.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2007.00351.x>
78. *Kafkafi N, Agassi R, Chesler EJ, Crabbe JC, Crusio WE, Eilam D, Gerlai R, Golani I, Gomez-Marin A, Heller R, Iraqi F, Jaljuli I, Karp NA, Morgan H, Nicholson G, Pfaff DW, Richter SH, Stark PB, Stiedl O, Stodden V, Tarantino LM, Tucci V, Valdar W, Williams RW, Würbel H, Benjamini Y* (2018) Reproducibility and replicability of rodent phenotyping in preclinical studies. *Neurosci Biobehav Revs* 87: 218–232.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.01.003>
79. *Usui T, Macleod MR, McCann SK, Senior AM, Nakagawa S* (2021) Meta-analysis of variation suggests that embracing variability improves both replicability and generalizability in preclinical research. *PLoS Biol* 19(5): e3001009.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001009>
80. *Kahnau P, Jaap A, Hobbiesiefken U, Mieske P, Diederich K, Thöne-Reineke C, Lewejohann L, Hohlbaum K* (2022). A preliminary survey on the occurrence of barbering in laboratory mice in Germany. *Anim Welfare* 31(4): 433–436.
<https://doi.org/10.7120/09627286.31.4.009>
81. *Jaric I, Voelkl B, Amrein I, Wolfner DP, Novak J, Detotto C, Weber-Stadlbauer U, Meyer U, Manuela F, Mansuy IM, Würbel H* (2024) Using mice from different breeding sites fails to improve replicability of results from single-laboratory studies. *Lab Anim* 53(1): 18–22.
<https://doi.org/10.1038/s41684-023-01307-w>
82. *Segelcke D, Talbot SR, Palme R, La Porta C, Pogatzki-Zahn E, Bleich A, Tappe-Theodor A* (2023) Experimenter familiarization is a crucial prerequisite for assessing behavioral outcomes and reduces stress in mice not only under chronic pain conditions. *Sci Rep* 13(1): 2289.
<https://doi.org/10.1038/s41598-023-29052-7>
83. *Sorge RE, Martin LJ, Isbester KA, Sotocinal SG, Rosen S, Tuttle AH, Wieskopf JS, Acland EL, Dokova A, Kadoura B, Leger P, Mapplebeck JC, McPhail M, Delaney A, Wigerblad G, Schumann AP, Quinn T, Frasnelli J, Svensson CI, Sternberg WF, Mogil JS* (2014) Olfactory exposure to males, including men, causes stress and related analgesia in rodents. *Nat Methods* 11(6): 629–632.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.2935>

84. *Mertens S, Vogt MA, Gass P, Palme R, Hiebl B, Chourbaji S* (2019) Effect of three different forms of handling on the variation of aggression-associated parameters in individually and group-housed male C57BL/6NCrl mice. *PLoS One* 14(4): e0215367. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215367>
85. *Liu H, Huang X, Xu J, Mao H, Li Y, Ren K, Ma G, Xue Q, Tao H, Wu S, Wang W* (2021) Dissection of the relationship between anxiety and stereotyped self-grooming using the *Shank3B* mutant autistic model, acute stress model and chronic pain model. *Neurobiol Stress* 15: 100417. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100417>
86. *Zhukov IS, Karpova IV, Krotova NA, Tissen IY, Demin KA, Shabanov PD, Budygin EA, Kalueff AV, Gainetdinov RR* (2022) Enhanced aggression, reduced self-grooming behavior and altered 5-HT regulation in the frontal cortex in mice lacking Trace Amine-Associated Receptor 1 (TAAR1). *Int J Mol Sci* 23(22): 14066. <https://doi.org/10.3390/ijms232214066>
87. *Krotova NA, Zhukov IS, Shabanov PD, Alenina N, Kalueff AV, Demin KA, Gainetdinov RR* (2024). Alterations in self-grooming microstructure and exploration-related behavior in TPH2-KO rats. *Proc Neurosci Week 2024 Intl Conf* 30: 43.

ANALYSES OF RODENT GROOMING AND ITS BEHAVIORAL MICROSTRUCTURE IN MODERN NEUROBIOLOGICAL STUDIES

**K. V. Apukhtin^a, A. D. Shevlyakov^a, M. M. Kotova^a, S. V. Amikishiev^a, V. D. Riga^a,
A. D. Volgin^a, and A. V. Kalueff^{a, b, c, d, *}**

^a*Neurobiology Program, Scientific Center for Genetics and Life Sciences, Sirius University of Science and Technology, Federal Territory Sirius, Russia*

^b*Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Center, Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russia*

^c*Institute of Translational Biomedicine, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

^d*World-class Scientific Center "Center for Personalized Medicine",
Almazov National Medical Research Center, Ministry of Healthcare of Russian Federation,
St. Petersburg, Russia*

* *e-mail: avkalueff@gmail.com*

Grooming is a complex innate animal behavior used as an indicator of the physiological state of rodents under stress. Here, we analyze the impact of various experimental factors, including genetic, pharmacological and physiological, on self-grooming behavior of laboratory mice and rats. Analysis of grooming microstructure assesses not only the amount, but also the frequency, sequence, localization and consistency of this behavior, and can serve as a sensitive marker of changes in the brain, its response to stress, and predisposition to pathological conditions that model human mental illnesses, such as obsessive-compulsive disorder, autism and depression. Studying rodent self-grooming microstructure can provide valuable information about the mechanisms of brain pathogenesis and has multiple important translational implications for neuroscience research.

Keywords: grooming, rodents, grooming microstructure, central nervous system diseases