
МЕТОДИЧЕСКАЯ СТАТЬЯ

**АКУСТИЧЕСКИЙ СТАРТЛ-РЕФЛЕКС КРЫС WISTAR.
МЕТОДИЧЕСКАЯ РАЗРАБОТКА И ПРОВЕРКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

© 2025 г. Д. Г. Семенов^{1,*}, А. В. Беляков¹, В. Н. Чихман¹, С. Д. Солнушкин¹

¹*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*
**E-mail: dsem50@rambler.ru*

Поступила в редакцию 02.09.2024 г.

После доработки 26.09.2024 г.

Принята к публикации 29.09.2024 г.

Естественный рефлекс вздрагивания, характерный как для животных, так и для человека, представляет собой короткую и интенсивную защитную реакцию в ответ на сильный внезапный внешний раздражитель. В экспериментах этот рефлекс часто запускают коротким звуковым раздражителем (акустический стартл-рефлекс – АСР). Амплитуда АСР и степень ее зависимости от модулирующих факторов, таких как предшествующий слабый стимул (препульс), служат маркерами состояния сенсомоторной регуляции и широко используются в нейропсихиатрии и нейрофизиологии для оценки нарушений психических функций. Величина амплитуды АСР является критическим фактором оценки, при этом точность ее определения зависит от учета многих технических условий: конструкции экспериментальной установки, типа и расположения механо-электрического датчика, метода оцифровки и представления первичных данных, протокола эксперимента и т. д. В данной статье описывается методологическая разработка для измерения АСР и его препульсового торможения (ППТ), которая включает в себя оригинальную рабочую камеру, аппаратное и программное обеспечение, а также оптимальный протокол тестирования. В ходе валидации методики на группе аутобредных крыс (Wistar) было обнаружено, что: (1) методика позволяет оценить гетерогенность группы по амплитуде АСР и провести соответствующую фенотипическую кластеризацию животных и (2) повторное, через 7 дней, тестирование АСР и ППТ у одних и тех же животных не нарушает их первоначальной кластеризации и существенно не изменяет измеряемые параметры. Эти наблюдения позволяют считать методологию применимой для последовательного тестирования одной группы животных до и после экспериментального воздействия с учетом зависимости результата от кластерной принадлежности, определенной в ходе первого теста.

Ключевые слова: акустический стартл-рефлекс, протокол тестирования, аппаратно-программные средства, автоматизация эксперимента, поведенческое фенотипирование, крысы Wistar

DOI: 10.31857/S0869813925010121, **EDN:** UJEVGF

ВВЕДЕНИЕ

Врожденный рефлекс вздрагивания (стартл-рефлекс) свойственен большинству животных, включая человека. Его биологическое значение состоит в нервно-мышечном ответе на неожиданный сильный внешний стимул. Этот ответ активизирует позицию,

предотвращающую возможную травму, и подготавливает особь к поведению бегства. Такой рефлекс, запускаемый, например, внезапным громким звуком (акустический стартл рефлекс – АСР) проявляется бессознательным быстрым и последовательным сокращением мышц вдоль всего тела с относительно коротким латентным периодом. В эксперименте для инициации АСР часто используют посылку белого шума длительностью 20–40 мс и интенсивностью более 80 дБ. Аfferентная часть первичного АСР реализуется через короткую цепочку нейронов от чувствительных волокон улитки через нейроны кохлеарного ядра к гигантским нейронам ретикулярного ядра моста. Они, в свою очередь, посылают эfferентный ответ мотонейронам спинного мозга. Далее с различными латентными периодами возникает сокращение разных групп мышц от лицевых до мышц спины и конечностей [1]. Ряд внешних и внутренних факторов, на фоне которых разворачивается АСР, способны подключать к нему определенные дополнительные контролирующие нейронные структуры ЦНС, которые через ретикулярную формацию моста модулируют его силу [2].

Регистрация латентного периода и силы мышечного ответа может производиться различными методами от электромиографии до тензометрии. На грызунах обычно применяют пьезо-электрические сенсоры, чувствительные к генерализованному мышечному ответу всего тела. При этом измеряют несколько параметров АСР, главные из которых пиковая амплитуда ранней волны многокомпонентного ответа и латентность от начала стимула до этого пика.

Ранее было установлено, что АСР может быть подавлен слабым звуковым стимулом (препульсом), предшествующим основному стимулу [3]. Этот эффект называется «препульсовым торможением» (ППТ). Тормозной эффект ППТ характеризует работу фильтрующих механизмов ЦНС, которые предотвращают информационную перегрузку, вызываемую пугающим стимулом. Показано, что АСР и его ППТ в разной степени выражены у самцов и самок [4]. Снижение ППТ выступает индикатором дисфункции сенсомоторной системы и отмечается у людей при психических расстройствах, таких как шизофрения [5], обсессивно-компульсивные расстройства [6], аутизм [7], посттравматические стрессовые расстройства [8], старение и болезнь Альцгеймера [9], а также в соответствующих экспериментальных моделях на животных [10].

Следует заметить, что величины как АСР, так и ППТ зависят от параметров сенсорной стимуляции: интенсивности и длительности звуковых стимулов, числа предъявлений стимулов в серии, интервала между стимулами и между сериями, порядка чередования серий с сильным, слабым или двойным стимулами. Отмечена также зависимость АСР от видовой, возрастной и половой принадлежности испытуемого, от степени привыкания к экспериментальной обстановке, от индивидуальной возбудимости и др. [11]. При тестировании крыс регистрируемый мышечный ответ на сильный звуковой стимул занимает обычно около 100–150 мс и состоит из серии пиков, часть из которых относится к сокращению различных групп мышц, а часть вызвана остаточной вибрацией рабочей камеры. В этом плане важным субъективным фактором измерения «истинного» АСР выступает выбор того пика, который соответствует ранней его фазе. Определению этого пика помогает контроль его относительно стабильного латентного периода. Именно измеряемая амплитуда пика АСР, а не его латентность, критически важна для оценки ППТ, а поскольку она зависима от перечисленных факторов, необходимо учитывать конкретные условия и протоколы эксперимента для сопоставления результатов различных исследовательских групп [12].

Мышечная реакция АСР у животного регистрируется опосредованно, через различные механические узлы экспериментальной камеры, в которую оно помещено. В связи с этим конструкция установки, применяемые механо-электрические сенсоры и особенности первичной программной обработки сигнала выступают важными условиями получения точного и стабильного результата. На рынке существуют несколько коммерческих систем: SR-LAB (San Diego Instruments, San Diego, CA, США), MED-

ASR-PRO1 (Med Associates, Fairfax, VT, США), StartFear (Panlab, Barcelona, Испания), Startle Reflex apparatus (Imetronic, Marcheprime, Франция), группа компаний «Виварий» (Белгород, Россия) и др. Они предоставляют весь необходимый сервис для регистрации АСР и его модуляции, однако высокая стоимость таких систем может выступать существенным препятствием для их использования, особенно для нужд ограниченной серии экспериментов. Кроме того, они обладают закрытым кодом программного обеспечения, что препятствует модернизации, требуемой для той или иной узкой задачи или при необходимости сменить операционную систему. Эти обстоятельства, как и стратегия импортозамещения, стимулируют отечественные исследовательские группы к собственным аналогичным разработкам [13, 14].

В данной работе описывается оригинальная конструкция камеры, которая максимально ограничивает механические артефакты, возникающие при измерении амплитуды АСР, а также оборудование и программное обеспечение для регистрации основных его параметров. Кроме того, предлагается удобный и простой протокол инициации и оценки АСР и ППТ у самцов крыс Wistar, выбранный на основе наиболее детальных и обоснованных рекомендаций других авторов [12]. Наконец, проведена апробация методики в условиях эксперимента на наивных (контрольных) крысах. Результаты испытаний показали, что примененные новшества в сумме позволяют наиболее точно и воспроизводимо определять амплитуду АСР и степень его торможения, а также проводить кластеризацию животных в соответствии с их индивидуальной реактивностью на пугающий стимул.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена на 23 крысах Wistar, самцах, масса тела 230 ± 10 г. Перед проведением тестирования животные, полученные из вивария Института, в течение нескольких суток содержались в условиях лаборатории в 4 клетках по 5–6 особей (без пересадки) при неограниченном пищевом и питьевом обеспечении и световом режиме «12 через 12». Первичное тестирование проведено для всей группы. Повторное тестирование для части первично протестированной группы (11 животных) проводилось через 7 суток.

Конструкция установки для оценки АСР

Схема установки, состоящей из разъемной рабочей камеры и внешнего звукоизолирующего бокса, приведена на рис. 1. Рабочая камера изготовлена из трехслойной поливинилхлоридной трубы с внутренним диаметром 80 мм и длиной 200 мм, которая состоит из нижней (опорной) и верхней (открывающейся) частей, соединенных с помощью петли и фиксирующего запора. Для тестирования более крупных особей имеется возможность для замены трубы на более просторную (диаметром 100 мм). Такое устройство облегчает посадку животного и чистку камеры после ее использования. Нижняя часть камеры на одном конце жестко зафиксирована на оси сдвоенного подшипника, соединяющего ее с основанием установки. Такое соединение обеспечивает свободное движение противоположного конца камеры в вертикальной плоскости перпендикулярной оси подшипников и практически исключает люфтовые смещения в других плоскостях. Противоположный конец камеры опирается на пружину, нижний виток которой зафиксирован на основании установки.

Снизу к рабочей камере прикреплена плата с датчиком ускорений – трехосевым акселерометром MC 3419-P (MEMSIC Semiconductor, Китай) и электронным устройством, выполненным на основе микроконтроллера STM32F042F4P6 (STM, Швейцария), обеспечивающего передачу измеряемых значений ускорения в компьютер в соответствии с протоколом интерфейса USB. Модуль акселерометра оснащен специальным

блоком, реализующим алгоритмы поддержки «любого движения», и характеризуется низким энергопотреблением, небольшим размером и монолитным исполнением, при котором акселерометр MEMS объединен в одном кристалле с интегральной схемой электроники.

На верхней части рабочей камеры установлены прозрачные (передняя и задняя) заглушки, которые не упираются в ее нижнюю часть и не препятствуют раскрытию камеры. Во время тестирования они ограничивают позицию животного и позволяют пользоваться видеокамерой и задней подсветкой.

Внешний бокс состоит из верхней (съёмной) части и основания, выполненных из звукоизолирующего пенополиуретана толщиной 40 мм. В верхней части смонтированы видеокамера (спереди), акустические динамики и вентилятор (наверху) и светодиодная подсветка (сзади). Маломощный кулер в ходе тестирования постоянно осуществляет вытяжную вентиляцию. Видеокамера необходима для контроля за состоянием и положением животного в камере и позволяет избегать применения звуковой стимуляции в момент «нестандартного» положения или поведения. Задняя подсветка помогает сориентировать животное в стандартном положении, т. е. головой к видеокамере.

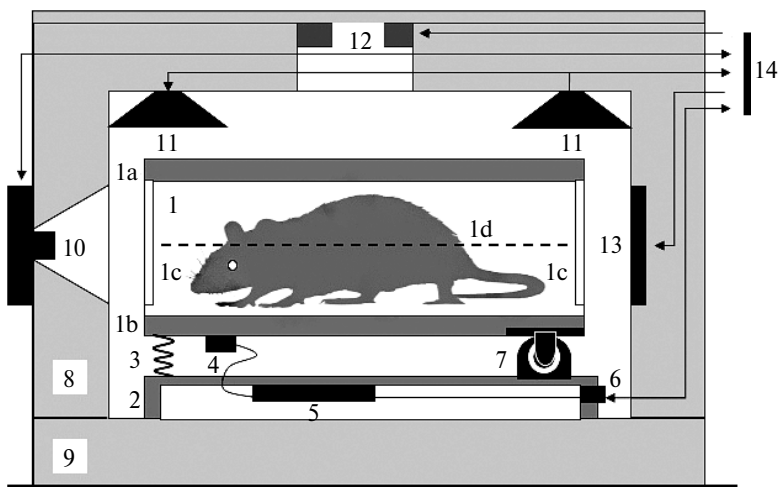


Рис. 1. Схема установки для регистрации АСР. 1 – Рабочая камера (разъемная труба), 1а – верхняя половина, 1б – нижняя половина, 1с – прозрачные заглушки, закрепленные на верхней половине, 1д – линия раскрытия. 2 – Основание камеры. 3 – Пружина. 4 – Датчик-акселерометр. 5 – Плата контроллера. 6 – USB разъем. 7 – Блок двойных подшипников. 8 – Верхняя (съёмная) часть внешнего бокса. 9 – Нижняя часть внешнего бокса. 10 – Видеокамера. 11 – Динамики. 12 – Вентилятор. 13 – Светодиодная подсветка. 14 – Соединение с ПК и блоками питания.

Программное обеспечение

Для регистрации и первичной обработки параметров АСР создано программное обеспечение, написанное в среде Borland Delphi 7, использующее библиотеку процедур JEDI VCL, реализующих доступ к HID совместимым USB-устройствам. Программа обеспечивает количественную регистрацию сигналов от электронного устройства с акселерометром, формирование акустического сигнала с заданными параметрами, фиксацию времени начала звуковых стимулов. Реализовано динамическое отображение регистрируемых сигналов и их сохранение в базе данных. Данное программное обеспечение является модернизированной и развитой версией программы, созданной

ранее для автоматизации измерения АСР рефлекса на базе 4 пьезоэлектрических датчиков [14]. На рис. 2 приведены фрагменты сканов с экрана монитора, графически выделяющие многокомпонентный АСР, записанный в серии предъявлений двойного стимула.

Протокол тестирования АСР

Перед первичным тестированием для каждого животного определялся порог чувствительности к звуковому стимулу, в соответствии с которым была выбрана интенсивность слабого сигнала, превосходящая фоновый шум на 4 дБ. Непосредственно перед

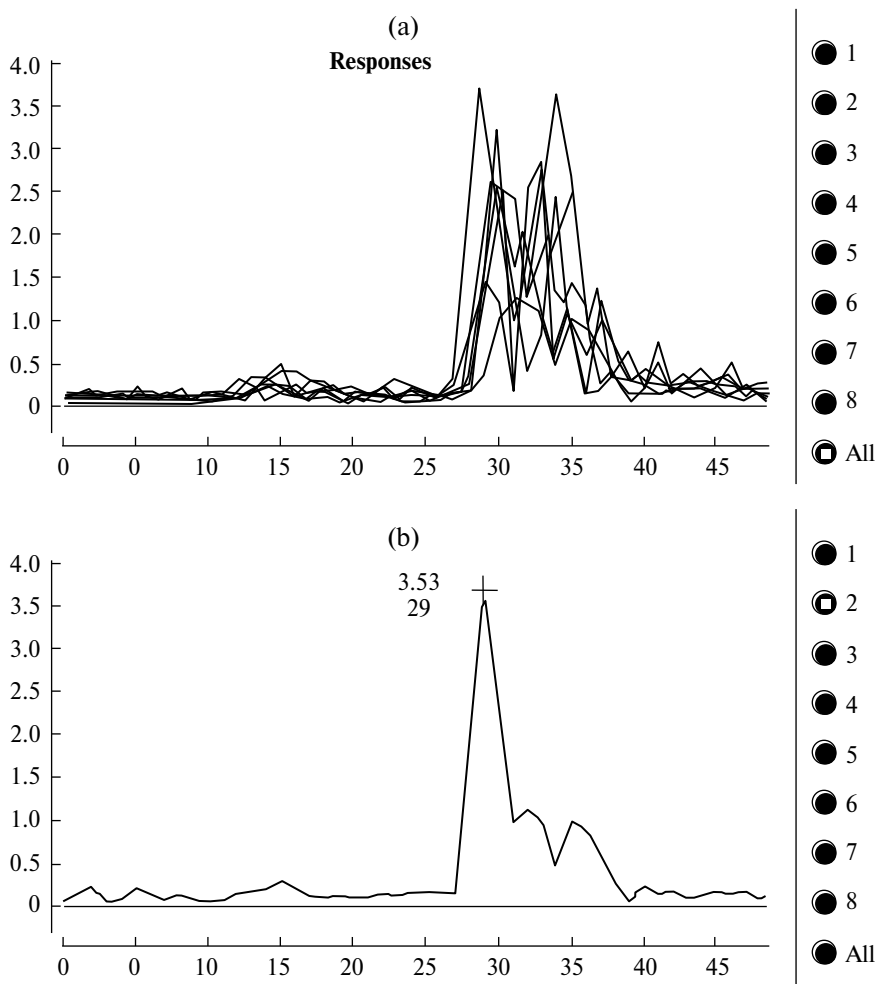


Рис. 2. Графическое представление на экране монитора реакций одной крысы на серию двойных стимулов. По горизонтальной оси – значения латентного периода пиков мышечного ответа в «отсчетах» от начала слабого стимула (при данном графическом выведении 1 отсчет = 6 мс), передний фронт сильного стимула отмечен стрелкой. По вертикальной оси – значение амплитуды ответов в относительных единицах. В правой колонке – интерактивный выбор записи реакций на всю серию стимулов (а) или реакции на определенный стимул в серии (б). На скане (б) курсор, подведенный к пику, показывает его амплитуду и латентность. В области латентности «15» заметна волна ответа на слабый репульс, в области латентности «30» располагаются пики наиболее ранних ответов на сильный стимул.

тестированиями животное проходило этап привыкания в закрытой рабочей камере в течение 5–6 мин при воздействии фонового белого шума 70 дБ. Этот шум действовал постоянно и в ходе тестирования. Для инициации базового АСР применялся одиночный «сильный» звуковой стимул белого шума амплитудой 105 дБ. Для оценки ППТ применялась пара стимулов, в которой «сильному» стимулу за 100 мс предшествовал «слабый» стимул амплитудой 74 дБ. Длительность обоих стимулов – 40 мс. Между предъявлением сильного и двойного стимулов подавали только «слабый», для оценки его минимального восприятия животным без запуска базового АСР. Стимулы предъявлялись с интервалом 15 с в порядке: «сильный» 8 раз, «слабый» 4 раза, «двойной» 8 раз. Сила ППТ количественно вычислялась в процентах снижения АСР, вызванного двойным стимулом («слабый + сильный») по отношению к величине АСР, вызванного одним сильным стимулом («сильный»): $\% \text{ ППТ} = 100 - 100 \times (\text{амплитуда АСР «слабый + сильный»} / \text{амплитуда АСР «сильный»})$. Общая длительность тестирования каждого животного не превышала 5 мин. По завершении тестирования каждой особи рабочая камера обрабатывалась раствором этанола.

Статистический анализ данных, полученных при испытании

Данные представлены средними (или медианами) и ошибками средних *SEM*.

Анализ данных проводился с использованием иерархического кластерного анализа (between-groups linkage & Ward's Method), многомерного дисперсионного анализа (MANOVA) с последующими апостериорными сравнениями и контролем ранговым критерием (Mann–Whitney U test). Для каждого животного рассчитывалась линейная регрессия в ряду последовательных предъявлений сильных стимулов для определения значимой динамики. После выявления кластеров в каждой подгруппе применяли ранговый аналог дисперсионного анализа ANOVA для зависимых переменных (Friedman test) с последующими парными сравнениями между предъявлениями с использованием Wilcoxon signed-rank test. Расчеты проводились в программном комплексе IBM SPSS Statistics.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Конструкция установки, алгоритм тестирования и сервисная часть программного обеспечения были апробированы в ходе эксперимента на группе наивных крыс Wistar одного возраста, пола и клеточного содержания. Задачи эксперимента состояли в оценке исходной индивидуальной вариабельности показателей АСР и ППТ и возможных изменений этих показателей при повторном тесте через 7 суток.

Было установлено, что амплитуда АСР у каждого животного при 7–8 последовательных предъявлениях одиночного или двойного стимулов варьировала в некоторых пределах. Наиболее существенно она снижалась, если стимул приходился на период груминга, и повышалась, если животное оказывалось спиной к видеокамере. Эти наблюдения указывают, во-первых, на важность многократного предъявления каждого паттерна стимулов с последующим усреднением амплитуд АСР и, во-вторых, на необходимость видеоконтроля, позволяющего избежать аудиостимуляции в период груминга, и включения/выключения подсветки для возврата животного из нестандартной позиции.

При оценке результатов первого тестирования с предъявлением сильного стимула были обнаружены две подгруппы крыс, различающихся по амплитуде АСР (низкорективные – LR и высокорективные – HR), и показано, что препульс вызывает снижение амплитуды АСР практически у всех животных в обеих подгруппах (рис. 3, а). Определение этих подгрупп получено на основании исходных данных по 7 предъявлениям с применением иерархического кластерного анализа всего массива (методы: between-

groups linkage & Ward's Method). Как главный эффект в последующем многомерном дисперсионном анализе (MANOVA) для всех 7 предъявлений, так и множественные сравнения показали высокую значимость в различии амплитуд АСР между подгруппами, $F(7,15) = 29, p < 0.001, \eta^2 = 0.931$ и $p < 0.001$ для всех предъявлений соответственно (рис. 3, b). Критерий Фридмана (Friedman Test) показал значимый эффект в динамике по предъявлениям в подгруппе HR, $p = 0.035$, а детализация с использованием критерия Вилкоксона (Wilcoxon Signed Ranks Test) показала, что в серии предъявляемых одиночных стимулов в подгруппе HR (но не в подгруппе LR) проявляется значимо повышенная чувствительность к первому стимулу по сравнению с последующим ($p = 0.017$) (рис. 3, b). В подгруппе HR также показано статистически значимое более сильное ППТ по сравнению с подгруппой LR (рис. 3, c).

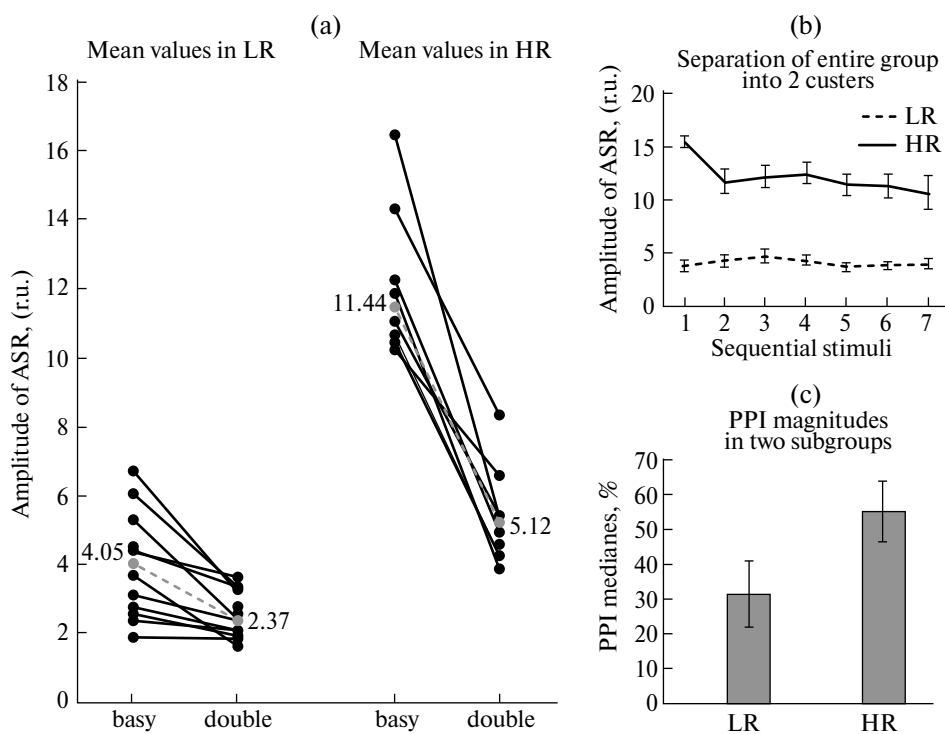


Рис. 3. Кластеризация группы наивных крыс Wistar по величинам амплитуд АСР и силе ППТ. (a) – подгруппа LR – слева, подгруппа HR – справа. Линии соединяют средние значения амплитуд АСР для каждого животного, полученные при одиночных сильных стимулах (base) и при двойных стимулах (double). Серый пунктир соединяет значения медиан для подгрупп с указанием величин. (b) – кластеризация на подгруппы LR и HR, полученная с учетом средних амплитуд АСР на каждый из последовательных сильных стимулов (LR, $n = 15$; HR, $n = 8$; $mean \pm SEM$; $p < 0.001$). (c) – сравнение средних величин ППТ двух кластеров (LR, $n = 15$; HR, $n = 8$; $med \pm SEM$; $p = 0.03$).

С целью оценки изменений, которые может вносить эффект ретеста в кластеризацию, величины АСР и ППТ 11 животных (6 из кластера LR и 5 из кластера HR) были протестированы повторно через 7 суток (рис. 4).

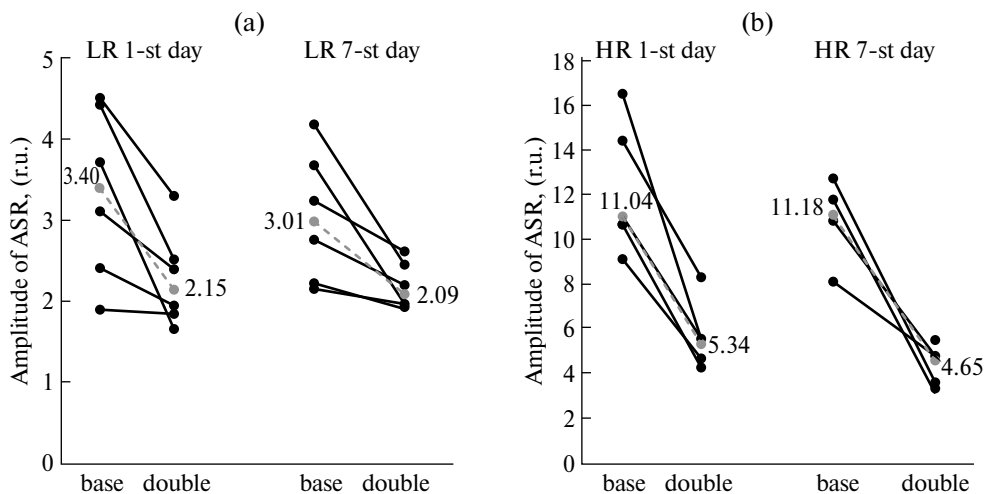


Рис. 4. Сравнение величин амплитуд АСР при первом и повторном (через 7 суток) тестировании. (а) – кластер LR, (б) – кластер HR. Обозначения те же, что на рис. 3, а.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты испытаний установки, ее аппаратно-программного обеспечения и выбранного протокола тестирования в целом продемонстрировали пригодность и удобство описанной методики для точного определения величины АСР подопытных крыс и оценки его ППТ. Было установлено, что: (1) методика позволяет оценить разнородность выборки по амплитуде АСР и провести фенотипическую кластеризацию животных по их реактивности и (2) повторное, через 7 суток, определение АСР и ППТ у тех же животных не влияет на их изначальную кластеризацию и не вносит значимых изменений в измеряемые параметры. Эти наблюдения позволяют считать методику применимой для последовательного тестирования на одной группе животных до и после применения экспериментального воздействия, учитывая при этом зависимость результата не только от воздействия, но и от кластерной принадлежности подгрупп, установленной при первичном тесте.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны инженеру Смирнову В.Ю. за программирование контроллера устройства и Вершининой Е.А. за помощь в статистической обработке данных.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы, калибровка устройства и испытание методики со сбором и обработкой данных (Д.Г.С. и А.В.Б.), разработка и изготовление камеры тестирования (Д.Г.С.), аппаратно-программное оснащение метода (В.Н.Ч., С.Д.С.), написание и редактирование манускрипта (Д.Г.С., В.Н.Ч.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств Программы фундаментальных научных исследований в РФ (2021–2030 гг.), Подпрограмма 4 (направление 63) и Государственной программы «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030), тема 0134-2019-0005. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (протокол № 06/23 от 23 июня 2022 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Koch M (1999) The neurobiology of startle. *Progress Neurobiol* 59(2): 107–128. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(98\)00098-7](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(98)00098-7)
2. Gómez-Nieto R, Hormigo S, López DE (2020) Prepulse Inhibition of the Auditory Startle Reflex Assessment as a Hallmark of Brainstem Sensorimotor Gating Mechanisms. *Brain Sci* 10(9): 639. <https://doi.org/10.3390/brainsci10090639>
3. Graham FK (1975) Presidential Address, 1974. The more or less startling effects of weak prestimulation. *Psychophysiology* 12(3): 238–248. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.1975.tb01284.x>
4. Zheng A, Mann RS, Solaja D, Allman BL, Schmid S (2024) Properties of the Caudal Pontine Reticular Nucleus Neurons Determine the Acoustic Startle Response in *Cntnap2* KO Rats. *J Integrat Neurosci* 23(3): 63. <https://doi.org/10.31083/j.jin2303063>
5. Braff DL, Light GA, Ellwanger J, Sprock J, Swerdlow NR (2005) Female schizophrenia patients have prepulse inhibition deficits. *Biol Psychiatry* 57: 817–820. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.12.030>
6. Ahmari SE, Risbrough VB, Geyer MA, Simpson HB (2012) Impaired sensorimotor gating in unmedicated adults with obsessive compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology* 37: 1216–1223. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.308>
7. Cheng CH, Chan PS, Hsu SC, Liu CY (2018) Meta-analysis of sensorimotor gating in patients with autism spectrum disorders. *Psychiatry Res* 262: 413–419. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2017.09.016>
8. Pineles SL, Blumenthal TD, Curreri AJ, Nillni YI, Putnam KM, Resick PA, Rasmusson AM, Orr SP (2016) Prepulse inhibition deficits in women with PTSD. *Psychophysiology* 53: 1377–1385. <https://doi.org/10.1111/psyp.12679>
9. Jafari Z, Kolb BE, Mohajerani MH (2020) Prepulse inhibition of the acoustic startle reflex and P50 gating in aging and Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev* 59: 101028. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101028>
10. Swerdlow NR, Light GA (2016) Animal models of deficient sensorimotor gating in schizophrenia: are they still relevant? *Curr Topics Behav Neurosci* 28: 305–325. https://doi.org/10.1007/7854_2015_5012
11. Miller EA, Kastner DB, Grzybowski MN, Dwinell MR, Geurts AM, Frank LM (2021) Robust and Replicable Measurement for Prepulse Inhibition of the Acoustic Startle Response. *Mol Psychiatry* 26: 1909–1927. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-0703-y>
12. Hormigo S, López DE (2019) Adjustment of the data acquisition window for the assessment of sensorimotor gating mechanisms in rodents. *MethodsX* 6: 2046–2051. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.09.007>
13. Pelevin A, Kurzina N, Zavalov V, Volnova A (2023) A Custom Solution for Acoustic Startle Response Setup with Spike2-Based Data Acquisition Interface. *Methods and Protocols* 6(3): 57. <https://doi.org/10.3390/mps6030057>
14. Чихман ВН, Солнушкин СД, Смирнов ВЮ, Молодцов ВО (2024) Измерение параметров рефлекторного вздрагивания Биомед радиоэлектрон 27(1): 64–70. [Chikhman VN, Solnushkin SD, Smirnov VYu, Molodtsov VO (2024) Measurement of startle reflex. *Biomed Radioengineer* 27(1): 64–70. (In Russ)]. <https://doi.org/10.18127/j15604136-202401-08>

Acoustic Startle Reflex of Wistar Rats. Methodical Elaboration and Validation in Experiment

D. G. Semenov^{a,*}, A. V. Belyakov^a, V. N. Chikhman^a, and S. D. Solnushkin^a

^aPavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

**e-mail: dsem50@rambler.ru*

The natural fear reflex, characteristic of both animals and humans, is a short and intense defensive reaction in response to a strong and unexpected external stimulus. In experiments, this reflex is often triggered by a strong and short sound stimulus (acoustic flinch reflex – ASR). The amplitude of the ASR and the degree of its dependence on modulating factors, such as a previous weak stimulus (prepulse), serve as markers of the state of sensorimotor gating and are widely used in neuropsychiatry and neurophysiology to assess disorders of mental functions. The magnitude of the ASR amplitude is a critical evaluation factor, and the accuracy of its determination depends on taking into account many technical conditions: the design of the experimental installation, the type and location of the mechanical-electrical sensor, the method of digitization and presentation of primary data, the protocol of the experiment, etc. This issue presents a methodological development for measuring ASR and its prepulse inhibition (PPI), which includes an original working camera, hardware and software, as well as an optimal testing protocol. During validation the technique on a group of outbred rats (Wistar), it was found that (1) the technique allows us to assess the heterogeneity of the group by the amplitude of ASR and conduct appropriate phenotypic clustering, and (2) repeated, after 7 days, testing of ASR and PPI in the same animals does not violate their initial clustering and does not significantly changes the measured parameters. These observations allow us to consider the methodology applicable for sequential testing of one group of animals before and after any experimental exposure, taking into account the dependence of the result on the cluster membership of the subgroups determined during the first test.

Keywords: acoustic startle reflex, testing protocol, device and software, software tools, automation of experiment, behavior phenotype, Wistar rats