

# Komputerowa rejestracja, analiza i modelowanie zachowania zwierząt w naukach biomedycznych

Paweł Boguszewski

Zakład Neurofizjologii, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa

Badania zachowania się zwierząt we współczesnych naukach biomedycznych mają na celu przede wszystkim poznanie biologicznych podstaw zachowania się ludzi. Wykorzystując rozmaite modele zwierzęce można m. in. badać anatomiczne, fizjologiczne i molekularne korelaty zachowania się, oddziaływanie znanych środków farmakologicznych i testować nowe leki. Stabilne i powtarzalne warunki eksperymentalne, wykorzystanie szczepów wsobnych lub zwierząt modyfikowanych genetycznie pozwala w pełni kontrolować warunki doświadczalne. Ponadto badania na zwierzętach pozwalają na dokonywanie różnorodnych manipulacji eksperymentalnych, takich jak wybiórcze uszkodzenia, iniekcje domózgowe, chroniczna implantacja elektrod, których z oczywistych względów nie można stosować u ludzi.

Modele zwierzęce mają oczywiście wiele ograniczeń i są w różnym stopniu użyteczne do badań naukowych. Szczególnie ważna jest kwestia przenoszenia wyników na zjawiska obserwowane u ludzi. Wyróżnia się trzy podstawowe poziomy modelowania zjawisk i patologii procesów psychicznych: *face validity* (izomorfizm, czyli występowanie podobnych objawów w modelu zwierzęcym i patologii obserwowanej u ludzi), *predictive validity* (wówczas, gdy model zwierzęcy pozwala na przewidywanie działania leków na ludzi - użyteczne przede wszystkim w badaniach farmakologicznych) i *construct validity* (model bazuje na homologicznym podłożu patologii lub reakcji i dzięki temu może rozszerzać naszą wiedzę o mechanizmach badanych zjawisk). Podział ten nie zależy jednak wyłącznie od konkretnego testu, ale również od układu całego eksperymentu i sposobu jego analizy. Przedstawię jedynie testy, które są stosowane u myszy i szczurów, ponieważ obecnie są to najczęściej wykorzystywane zwierzęta laboratoryjne.

Istnieje ogromna różnorodność metod badawczych, które określamy wspólnym terminem testów behawioralnych. Zaliczamy do nich zarówno testy, które badają

pojedyncze, często wymuszone reakcje, jak i badające złożone zachowanie spontaniczne. Gdyby przyjąć takie kryterium podziału, to używane w badaniach naukowych testy można umieścić pomiędzy tymi dwoma skrajnymi przypadkami. Nie tylko sama sytuacja doświadczalna, ale również sposób analizy określa, do której grupy można zaliczyć dany test. Przykładem jest basen Morrisa, w którym zwierzę zmuszone jest do pływania w poszukiwaniu niewidocznej dla niego platformy, jednak ma wolny wybór strategii poszukiwania. Takie doświadczenie możemy analizować w sposób prosty, mierząc czas wykonania testu, lub stosując bardziej zaawansowane metody, np. szukające strategii nawigacji przestrzennej (Graziano i wsp. 2003).

Do grupy metod badających pojedyncze reakcje zalicza się większość testów tzw. przesiewowych, szeroko stosowanych w farmakologii. Badane zwierzę musi wykazać pewien rodzaj zachowania lub wykonać określone działanie – w tego rodzaju testach mierzy się najczęściej jeden lub kilka parametrów, takich jak latencja lub czas trwania reakcji bez szczegółowej analizy zachowań złożonych. Zaletą takiego podejścia jest możliwość szybkiego badania dużej ilości zwierząt przy pomocy standardowej, dostępnej na rynku aparatury. Do tej klasy testów zaliczyć można test Vogla, test Porsolta, badanie reakcji wzdrygnięcia (*startle*).

W testach określanых ogólnie jako badające zachowanie spontaniczne obserwuje się zachowanie gryzoni w odpowiednio zaaranżowanym otoczeniu. Analiza doświadczenia obejmuje różne aspekty zachowania się zwierzęcia. Podczas modelowania zjawisk i patologii procesów psychicznych badaczy interesuje wpływ różnych czynników na ogólny profil zachowania się, a nie na wykonanie pojedynczej czynności. Do tego rodzaju testów możemy zaliczyć test uniesionego labiryntu krzyżowego (*elevated plus maze*), test otwartego pola (*open field*) oraz liczne testy autorskie oparte na spontanicznej eksploracji zróżnicowanego otoczenia.

Na czym, w odniesieniu do badań behawioralnych, polega nowoczesność? Można określić ją jako postępowanie „tradycyjnych” metod analizy, takich jak obserwacja (w tym za pomocą aparatury wideo) zachowania zwierzęcia przez obserwatora, ręczny pomiar, rejestracja i klasyfikacja aktów behawioralnych, a następnie bezpośrednie porównywanie zmierzonych parametrów. Szczególnie istotna jest tu kwestia obiektywizacji analizy. Eksperymentator jest zawsze subiektywnym obserwatorem, analizy przeprowadzone przez dwie lub więcej osób mogą być na tyle rozbieżne, że różnice te mogą wpływać negatywnie na istotności statystyczne. Również zdolność obserwatora do analizy zachowania zmienia się w czasie – z jednej strony uczy się lepiej rozpoznawać, z drugiej rośnie zmęczenie monotonną pracą. Omawiane poniżej udogodnienia często prowadzą do redukcji informacji i mogą być dodatkowym źródłem błędów, jednak ich podstawową zaletą jest powtarzalność i obiektywność.

### Wspomaganie obserwacji i rejestracji

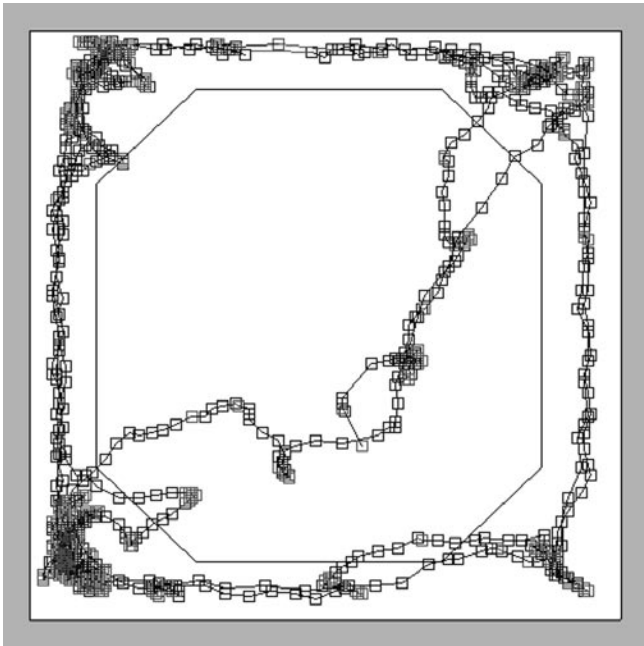
Najprostszym unowocześnieniem tradycyjnej metody analizy typu „stoper, kartka i ołówek” jest zastosowanie komputera do rejestracji zachowania. Obserwator korzystając z odpowiedniego programu ma możliwość przy pomocy klawiatury zapisywać poszczególne zdarzenia behawioralne. Wciskając zdefiniowany wcześniej klawisz można zapisywać zarówno częstotliwość jak i czas trwania zachowania. Pozwala to nie tylko na szybsze policzenie wyniku końcowego całego doświadczenia, ale również pozwala uzyskać dodatkowe parametry, takie jak rozkład zachowań w funkcji czasu. Istnieje wiele darmowych (między innymi program EthoLog mojego autorstwa wykorzystywany do analizy zachowań socjalnych) i komercyjnych programów tego typu, oferujących różne dodatkowe możliwości. Najbardziej rozbudowane pozwalają na analizę nagranych cyfrowo plików wideo, które można przeglądać równoległe z kodowaniem zachowania, dowolnie manipulować danymi i obrazem itp. Nadal jednak to człowiek decyduje o tym jakie zachowanie widzi i określa początek i koniec jego wystąpienia. Typowym zastosowaniem takiej analizy jest kodowanie indywidualnych zachowań gryzoni, takich jak *grooming* (mycie pyszczka i czyszczenie futra), węszenie, *stretch attend* (bardzo charakterystyczne zachowanie gryzoni odzwierciedlające konflikt popędów – zwierzę wyciąga głowę w różnych kierunkach eksplorując otoczenie, podczas

gdy tułów pozostaje nieruchomy), lub zachowań społecznych (czyszczenie partnera, pozycje ofensywne i submisywne, atak, ucieczka) w tradycyjnych testach interakcji socjalnych.

### Automatyczna rejestracja parametrów czasoprzestrzennych

W testach, gdzie podstawowym mierzonym parametrem jest położenie zwierzęcia w funkcji czasu możemy zastosować różnego rodzaju metody automatycznej rejestracji. Nie dają one odpowiedzi na pytanie „co robi zwierzę” ale pozwalają w miarę dokładnie określić gdzie się ono znajduje i czy się porusza. Najprostszym rozwiązaniem jest stosowanie torów na podczerwień, które pozwalają na automatyczną rejestrację liczby przekroczeń linii kontrolnych i dzięki temu określenie położenia zwierzęcia w interesujących badacza strefach areny testowej. Tego rodzaju detekcję stosuje się w wielu dostępnych komercyjnie testach, od badających ogólną aktywność lokomotoryczną (w tym przypadku używane są także prostsze czujniki ruchu), poprzez test otwartego pola, aż do testów typu labiryntowego. W testach otwartego pola zastosowanie dużej liczby torów na podczerwień rozmieszczonych w układzie XY (tworzących „szachownicę”) na co najmniej dwóch poziomach pozwala na dokładne określenie pozycji zwierzęcia oraz w przypadku gryzoni określenie tzw. eksploracji poziomej, czyli stójek lub wspinania się na ściany kamery doświadczalnej. W przypadku labiryntów tory rejestrują wejścia do stref, np. opuszczenie przez gryzonia zamkniętych ramion uniesionego labiryntu krzyżowego.

Systemy analizy obrazu pozwalają na wygodniejszą i bardziej elastyczną analizę parametrów czasoprzestrzennych. Jeden system można stosować do wielu rodzajów testów, zarówno typu otwartego pola jak i typu labiryntowego (możliwość zastosowania wynika z ograniczeń jakie często wprowadzają producenci). W takich systemach obraz z kamery wideo jest cyfrowany i poddawany analizie komputerowej, która określa koordynaty przestrzenne położenia badanego zwierzęcia. Systemy dostępne na rynku sprzętu biomedycznego najczęściej dokonują detekcji obserwowanego obiektu poprzez odjęcie od bieżącego kadru zapamiętanego wcześniej obrazu referencyjnego pustej areny doświadczalnej. Następnie oprogramowanie wyznacza punkt „środką ciężkości” plamki powstałej po odjęciu tych obrazów - pozycja tego punktu to miejsce prze-



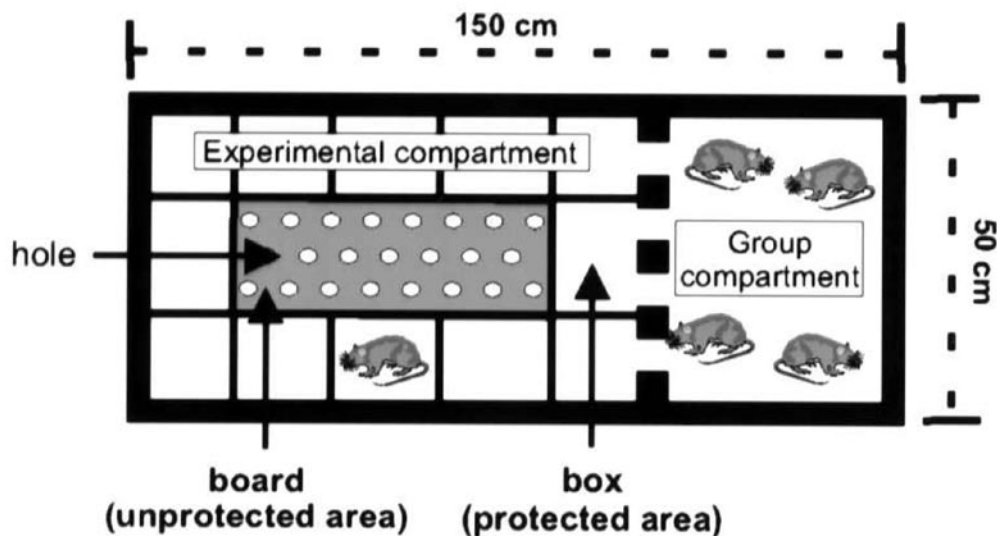
Ryc. 1. Trajektoria ruchu szczura w teście otwartego pola z oświetloną częścią centralną. Ośmiokąt oznacza granice strefy centralnej. Połączone linią kwadraty to położenie zwierzęcia rejestrowane co 0,2 sekundy (Boguszewski i Zagrodzka 2002).

bywania szczura. Sekwencja poszczególnych punktów w funkcji czasu daje obraz trajektorii ruchu badanego zwierzęcia. Nałożenie jej na zdefiniowaną mapę areny doświadczalnej pozwala wyliczyć parametry takie jak czas przebywania w strefie, liczbę wejść do strefy, latencje wejścia, drogę przebytą w arenie doświadczal-

nej, prędkość poruszania się, odległość od interesujących badacza punktów i wiele innych (patrz Ryc. 1). Systemy analizy obrazu dają o wiele większe możliwości niż analiza przecinania torów na podczerwień, ale trzeba zdawać sobie sprawę z ich ograniczeń. W czasie zachowania typu *grooming* futra wyznaczony punkt „środką ciężkości” szczura porusza się, pomimo, że zwierzę nie przemieszcza się. Jeżeli dodatkowo punkt znajdzie się wtedy na granicy zdefiniowanych stref to zarówno droga przebyta jak i liczba wejść i wyjść będą zawyżone.

Ogromną zaletą systemów pozycjonowania zwierząt za pomocą analizy obrazu jest możliwość ich wykorzystania w złożonych testach „autorskich”. Przykładem może być zmodyfikowany test otwartego pola z otworami (Ohl i wsp. 2001). W teście tym zastosowano arenę doświadczalną z centralnie umieszczoną strefą z otworami i znajdującą się po jednej stronie dodatkową komorą, w której umieszcza się grupę szczurów (patrz Ryc. 2). Badane zwierzę może eksplorować swobodnie arenę i na podstawie analizy trajektorii ruchu można określić nie tylko poziom lęku, eksploracji, i aktywności lokomotorycznej, ale również poziom więzi społecznej.

Innym testem, w którym system analizy obrazu pozwala na automatyczną rejestrację przebiegu doświadczenia, jest test dominacji socjalnej (Małatyńska i wsp. 2002). W teście tym szczury rywalizują o dostęp do wspólnego karmnika umieszczonego pośrodku wąskiej rury. Szczur, który dłużej okupuje karmnik jest osobnikiem dominującym.



Ryc. 2. Zmodyfikowany test otwartego pola z otworami. Test mierzy poziom lęku, eksploracji, aktywności lokomotorycznej i poziom więzi społecznej (Ohl i wsp. 2001).

## Automatyczne rozpoznawanie zachowania

Systemy, które możemy zaklasyfikować do tej grupy starają się odpowiedzieć na pytanie, co robi szczur, czyli zastąpić ludzkiego obserwatora w rozpoznawaniu konkretnych aktów zachowania, takich jak reakcja zamierania (*freezing*), *grooming*, węszenie, *stretch attend* i inne. Większość z nich jest w fazie eksperymentalnej, a dostępne rozwiązania komercyjne pozwalają na rozpoznawanie niewielkiego repertuaru zachowań.

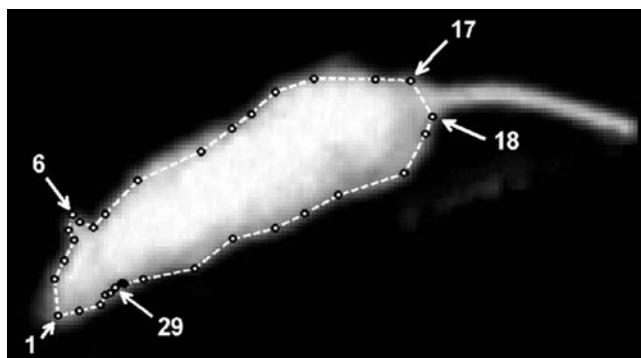
Najprostszy przykład to wykrywanie reakcji zamierania i odróżnienie jej od innych rodzajów zachowania, gdzie brak jest aktywności lokomocyjnej, takich jak węszenie lub czyszczenie się. Systemy takie analizują cyfrowy obraz wideo i po odjęciu od obrazu bieżącego obrazu referencyjnego wyznaczają plamę, która jest obrazem szczura. Jeżeli obraz plamy jest niezmienny w pewnym ustalonym zakresie (nie zmienia się pole powierzchni, środek ciężkości, przekątne) to system uznaje, że wystąpiło zachowanie typu *freezing*. Analiza taka jest stosowana w teście warunkowania strachu (*fear conditioning*) (Richmond i wsp. 1998).

Innym podejściem do tego zagadnienia jest analiza obrazu zwierzęcia oznakowanego wieloma kolorowymi punktami. Systemy analizy obrazu z identyfikacją obiektu na podstawie koloru mogą śledzić kilka barwnych punktów i zapisywać ich trajektorię. Jeżeli oznaczy się badane zwierzę dwoma punktami to otrzymana informacja mówi nie tylko o położeniu zwierzęcia, ale również o kierunku ciała lub położeniu jego poszczególnych części. Analiza taka pozwala na dokładne badania bardzo ważnych zachowań występujących w teście uniesionego labiryntu krzyżowego, takich jak wyglądanie z ramion zamkniętych i zaglądnienie do ramion otwartych, w tym niezwykle istotnej dla zachowań typu ocena ryzyka pozycji *stretch attend*. Tego rodzaju zachowanie nie daje się rejestrować analizą obrazu opartą o środek ciężkości lub rejestracją torami na podczuwień. Ponadto różnobarwne oznaczenie dwóch zwierząt może być szczególnie przydatne w analizie zachowań socjalnych (Sustr i wsp. 2001).

Najbardziej zaawansowany sposób analizy to wykorzystanie systemów analizy obrazu wyposażonych w algorytmy rozpoznawania i klasyfikacji obiektów, czyli zastosowania technologii z dziedziny *computer vision*. O tym jak doskonały i precyzyjny jest układ wzrokowy człowieka wiedzieliśmy od dawna, jednak dopiero badania nad zastosowaniem rozpoznawania bodźców

wzrokowych przez maszyny uzmysłowiły nam również jak skomplikowany i złożony jest to system. Postęp w dziedzinie algorytmów analizy obrazu i technologii komputerowej spowodował, że powstają systemy, które próbują „wiedzieć” co robi szczur lub mysz. Przykładem może być przedstawione w pracy Twining’a (Twining i wsp. 2001) zastosowanie metody aktywnych modeli kształtu (*active shape models*) i algorytmu interpretacji obrazów z wykorzystaniem modeli (*model-based image interpretation*). Metoda ta do cyfrowego obrazu wideo dopasowuje wyuczone wcześniej kształty reprezentujące szczura i na podstawie wzorca dopasowanej siatki określa zachowanie. Algorytm pozwala rozpoznać *grooming*, lokomocję, skręt ciała w lewo lub w prawo (patrz Ryc. 3). Takie systemy mają ogromną przyszłość, a zastosowanie bardziej złożonych analiz (nie tylko kształtu szczura na pojedynczej klatce filmu, ale również zmian kształtu w czasie) i metod uczenia i klasyfikacji pozwoli w przyszłości na trafniejsze określanie zachowania zwierząt.

Z powodu oryginalnego i unikalnego rozwiązania warto wymienić również system LABORAS (Metris B.V. <http://www.metris.nl/>), który rozpoznaje zachowanie gryzonia na podstawie generowanych przez niego drgań. O ile sam pomysł rejestracji wibracji klatki, w której przebywa zwierzę nie jest nowy i od lat jest stosowany do pomiaru ogólnej aktywności, np. w badaniach rytmów okołodobowych, o tyle zastosowanie bardzo czułych detektorów i zaawansowanej analizy drgań (patrz Ryc. 4) pozwoliło na rozróżnienie wielu szczegółowych zachowań, takich jak wspinanie się, picie, jedzenie, *grooming*, bezruch lokomocja i stójki. Ponadto system określa również dokładną pozycję, prędkość i przebytą drogę (Quinn i wsp. 2003). Jest to bardzo interesujące rozwiązanie, jednak z uwagi na za-

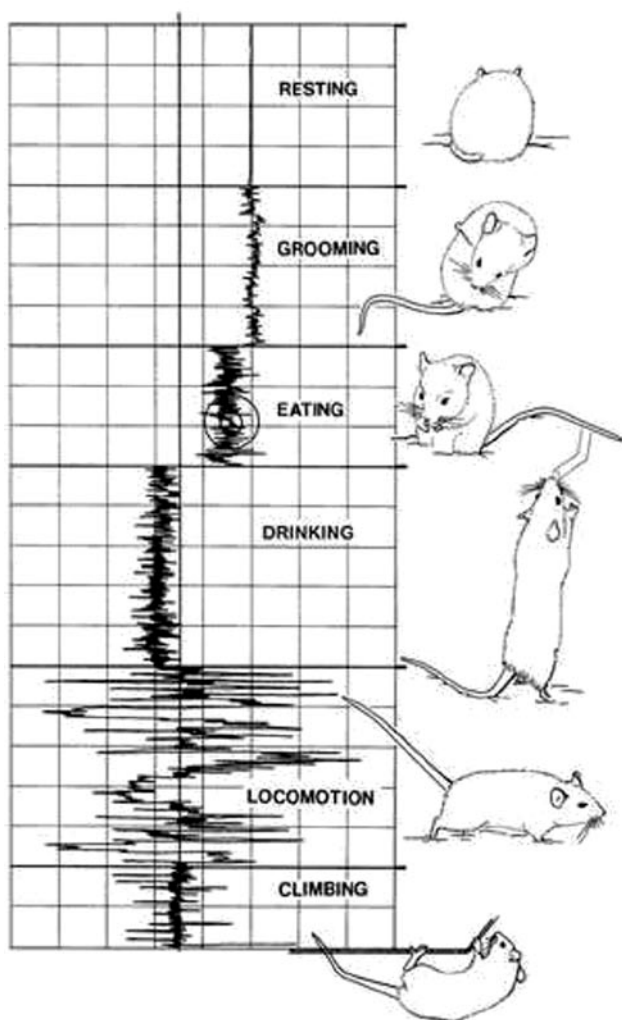


Ryc. 3. Cyfrowy obraz szczura z nałożoną siatką dopasowaną do kształtu zwierzęcia. Liczbami zaznaczone są punkty charakterystyczne – nos, uszy i nasada ogona (Twining i wsp. 2001).

stosowaną technologię nadaje się do obserwacji zachowania jedynie w niewielkich klatkach hodowlanych.

### Zaawansowana analiza zachowania

Ocena ilościowa (liczba i czas trwania) poszczególnych epizodów może być niewystarczająca do pełnego opisu zachowania się zwierząt. Istotna informacja, która umyka w procesie tradycyjnej analizy, to czasowe zależności pomiędzy poszczególnymi epizodami behawioralnymi. Wyszukiwanie tego rodzaju zależności można przeprowadzać zarówno na danych uzyskanych poprzez obserwację tradycyjną jak i automatyczną. Istnieją dedykowane systemy służące do analizy czasowych wzorców zachowań (Magnusson 2000), które z powodzeniem zna-

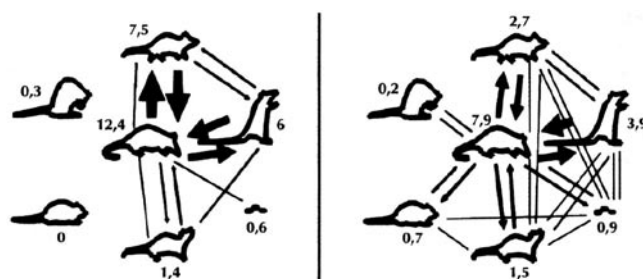


Ryc. 4. Analiza zachowania szczura na podstawie analizy drgań generowanych podczas różnego rodzaju zachowań. System rozpoznaje spoczynek, *grooming*, jedzenie, picie, lokomocje i wspinanie się (Quinn i wsp. 2003).

lazły zastosowanie w innych dziedzinach nauki i obecnie są wprowadzane do badań u zwierząt laboratoryjnych. Mogą być one przydatne w znajdowaniu niewidocznych na pierwszy rzut oka zależności, takich jak rytmiczne powtarzanie pewnych wzorców behawioralnych, czy zachowania stereotypowe.

Innym rodzajem wzbogacenia analizy danych behawioralnych jest rejestracja sekwencji zachowań i kategoryzowanie ich w podstawowe wzorce. To znaczy, że przedmiotem późniejszej analizy nie są poszczególne zachowania, takie jak poruszanie się lub węszenie, ale ich sekwencje złożone z dwóch lub trzech elementów. Przykładem zastosowania takiego podejścia może być analiza zachowania się szczura w otwartym polu (Pisula 2003). Autor po zanalizowaniu 42 par zachowań przy pomocy hierarchicznej analizy skupień wykazał, że w pierwszej minucie testu otwartego pola występują dwie strategie zachowania się. Pierwsza z nich to sekwencja związana z eksploracją węszenie – lokomocja – stojka, druga reprezentuje „rozproszony” wzór zachowania (patrz Ryc. 5).

Do analizy zachowania stosowane są również wielowymiarowe, eksploracyjne metody statystyczne, np. analiza składowych głównych (PCA, *Principal Component Analysis*), której celem jest redukcja liczby zmiennych i klasyfikacja, czyli wykrywanie struktury w związkach pomiędzy zmiennymi. PCA pozwala zastąpić wiele mierzonych parametrów mniejszym zestawem syntetycznych zmiennych, które mogą odzwierciedlać procesy leżące u podłoża obserwowanego zachowania. Pozwala ona przejść od opisu zachowania do zdefiniowania poszczególnych czynników motywacyjnych, które na nie wpływają (Fernandes i wsp. 1999). W wykonanym przeze mnie badaniu (Boguszewski 2004) zachowania szczura w teście otwartego pola z



Ryc. 5. Sekwencje aktów behawioralnych dokonywanych przez szczury z dwóch wyłonionych skupień w pierwszej minucie testu otwartego pola. Poszczególne zachowania to (od góry diagramu): lokomocja, *grooming* (mycie pyszczki, lizanie ciała), węszenie podłoża, stojki, bezruch, węszenie górne i defekacja (Pisula 2003)

Tabela 1

Ładunki (współrzędne) czynnikowe zmiennych zmierzonych w teście otwartego pola z oświetlonym środkiem. PCA wyłoniła istnienie dwóch niezależnych od siebie czynników, zdefiniowanych jako czynnik lęku i czynnik aktywności lokomotorycznej. W nawiasach podano procent wyjaśnianej przez czynnik całkowitej zmienności. Liczebność grupy  $n=36$  (Boguszewski 2004).

	SZCZURY	
	Czynnik 1 (62%)	Czynnik 2 (28%)
	Lokomocja	Lęk
Droga całkowita	0,97	
Droga w części obwodowej	0,99	
Droga w części środkowej		0,92
Liczba wejść do części środkowej		0,80
Czas przebywania w części środkowej		0,82
Średnia prędkość	0,97	
Czas spędzony na poruszaniu się	0,95	
Czas spędzony na poruszaniu się w części obwodowej	0,99	
Czas spędzony na poruszaniu się w części środkowej		0,90

oświetlonym środkiem zastosowałem tę metodę statystyczną do analizy parametrów, które były rejestrowane przy pomocy systemu analizy obrazu. PCA wyłoniła istnienie dwóch niezależnych od siebie czynników, zdefiniowanych jako czynnik lęku i czynnik aktywności lokomotorycznej (patrz tab. 1). Pojawienie się tych dwóch czynników świadczy, że poziom aktywności w teście otwartego pola nie zależy jedynie od sprawności fizycznej i popędu eksploracyjnego, ale jest hamowany przez niezależny czynnik lęku. Ponadto rozdzielenie tych składowych potwierdza dobór właściwych warunków doświadczenia do jednoczesnego pomiaru obu czynników motywacyjnych i skuteczność stosowania do analizy jedynie zmiennych pochodzących z automatycznego systemu analizy zachowania.

Podane przykłady pokazują, że postęp i nowoczesność to nie jedynie automatyka rejestracji zachowania, ale również nowe metody wydobywania informacji z danych doświadczalnych. Bardzo często dzięki zastosowaniu odpowiedniego podejścia analitycznego i statystycznego możemy uzyskać nowe informacje, które dokładniej opisują zachowanie badanego zwierzęcia.

### Interaktywna automatyka doświadczalna

Innym podejściem do kompleksowego badania zachowania się zwierząt, które niewątpliwie należy zaliczyć do nowoczesnych metod, jest zastosowanie szeroko pojętej automatyki doświadczalnej wyposażonej

w komputerowe sterowanie. Udogodnienia tego typu są obecne od wielu lat w różnych testach i modelach doświadczalnych, jednak ich podstawową rolą jest ułatwienie przeprowadzenia doświadczenia. Dobrym przykładem są tu zautomatyzowane klatki do badania biernej i czynnej reakcji unikania, gdzie sterowanie otwieraniem wahadłowych drzwiczek, stymulatora i światła można powierzyć komputerowi.

Rozwiązaniem, które idzie o wiele dalej są IntelliCages (NewBehavior AG <http://www.newbehavior.com>). Jest to klatka hodowlana przystosowana do przeprowadzania różnych testów na grupie myszy. Poszczególne zwierzęta są identyfikowane za pomocą wszczepionych im pod skórę chipów identyfikacyjnych. W rogach klatki znajdują się narożniki testowe wyposażone w antenę do identyfikacji zwierzęcia i drzwiczki, które otwiera komputer kiedy mysz włoży nos w specjalny otwór. Za drzwiczkami są dwa urządzenia dostarczające płyn (woda, słodka woda jako nagroda lub roztwory leków) i zawór do sprężonego powietrza (dmuchnięcie w nos myszy jest bodźcem awersyjnym). Taki układ pozwala jednocześnie wykonywać wiele doświadczeń na grupie do 16 osobników przy minimalnym zaangażowaniu eksperymentatora. Rodzaj eksperymentu, sekwencje i czas trwania ustala się odpowiednio programując system, który zajmuje się przeprowadzeniem doświadczenia i rejestracją danych. Według zapewnień twórców można tym aparatem badać aktywność okołodobową, neofobię, preferencje

pokarmowe, warunkowanie instrumentalne, awersyjne warunkowanie pokarmowe, preferencje miejsca oraz różne rodzaje pamięci i uczenia się.

### **Pomiar fizjologicznych korelatów zachowania**

Mierzenie parametrów fizjologicznych prowadzone jednocześnie z obserwacją zachowania się jest niezwykle cennym narzędziem w rękach badaczy. Jednakże pomiar wskaźników fizjologicznych nie powinien wpływać na zachowanie zwierząt. Swobodę poruszania się i komfort zwierzęcia mogą zapewnić jedynie systemy telemetryczne, oparte na radiowej transmisji danych. Ich ogromną zaletą jest zminimalizowanie stresu (nieuchronnie towarzyszącemu unieruchomieniu przy pomiarach metodami tradycyjnymi), zapewnienie swobody poruszania się oraz możliwość ciągłego monitorowania parametrów. W przypadku małych zwierząt laboratoryjnych urządzenia pomiarowe muszą być jak najmniej, tak by nie powodowały dyskomfortu i nie utrudniały wykonywania testów behawioralnych. Od wielu lat dostępne są systemy pozwalające na mierzenie takich parametrów jak ciśnienie krwi, tętno czy temperatura, ale prawdziwym wyzwaniem jest pomiar złożonych sygnałów biologicznych, takich jak elektryczna aktywność mózgu (lokalne potencjały polowe odbierane z elektrod implantowanych do struktur mózgowych lub potencjały czynnościowe pojedynczych neuronów) lub elektromiografia. Istniejące komercyjne systemy są oparte na analogowej transmisji danych, co powoduje wiele niedogodności, takich jak niewielki zasięg, znaczne zużycie energii nadajników oraz niewielką ilość kanałów danych. Jednak pomimo tych ograniczeń są one wyjątkowo użytecznym narzędziem w badaniach neurofizjologicznych.

### **Przyszłość badań behawioralnych**

Najbliższa przyszłość to głównie doskonalenie istniejących już metod i wzbogacanie ich o technologie wykorzystywane w innych dziedzinach nauki. Rozwinięciu ulegną przede wszystkim metody automatycznego rozpoznawania zachowania, tak by nawet w przypadku wyjątkowo trudnych do analizy testów, np. testów interakcji socjalnych gryzoni, można było analizę zachowania przeprowadzić komputerowo. Systemy tego rodzaju będą najprawdopodobniej oparte na rozpoznawaniu obrazu (choć nie wykluczone, że wydaj-

niejsze okażą się systemy hybrydowe o kilku rodzajach detekcji) i będą wykorzystywać istniejące metody analizy z dziedziny *computer vision*, takie jak np. zastosowanie sieci neuropodonych do analizy i klasyfikacji zachowań (Rousseau i wsp. 2000). Podobne systemy są wykorzystywane do rozpoznawania twarzy, pisma ręcznego i znaków języka migowego.

Innym kierunkiem będzie z pewnością rozwój automatyki i tworzenie złożonych aparatów, które automatycznie, z minimalnym zaangażowaniem eksperymentatora będą mogły przeprowadzać doświadczenia i wstępnie analizować dane.

To na co czeka wielu naukowców zajmujących się badaniem zachowania i jego korelatów fizjologicznych, to doskonalsze systemy telemetryczne do wielokanałowego badania aktywności elektrycznej i chemicznej mózgu. Prototypy tego rodzaju urządzeń, opartych o cyfrową transmisję danych, są projektowane i testowane w wielu laboratoriach naukowych i firmach związanych z rynkiem biomedycznym. Istnieją też prototypowe systemy do telemetrycznej woltometrii, czyli pomiaru stężenia substancji chemicznych w tkance. Technika ta umożliwia badanie zmian poziomu neurotransmiterów z rozdzielczością czasową rzędu sekund. Problemem w przypadku cyfrowej telemetrii jest bariera technologiczna związana z miniaturyzacją - w niewielkim urządzeniu trzeba zmieścić wzmacniacze sygnałów, przetworniki analogowo-cyfrowe i nadajnik. W przypadku wotametrii również urządzenie zasilające elektrodę pomiarową.

Wspomniane powyżej rozwiązania techniczne oraz nowatorskie metody analizy danych powodują, że tradycyjne metody badania behawioru przechodzą do historii. Postęp osiągnięty został przede wszystkim dzięki rozwojowi technik komputerowych - to właśnie one umożliwiają zarówno automatyczną rejestrację jak i szeroko pojętą analizę zachowania zwierząt. Warto znać te nowe narzędzia oraz stosować je we własnych doświadczeniach - nie tylko ułatwiają i obiektywizują, ale również wprowadzają nową jakość do badań behawioralnych.

### **Bibliografia**

- Boguszewski P, Zagrodzka J (2002) Emotional changes related to age in rats-a behavioral analysis. *Behav Brain Res* 2002;133(2): 323-32.
- Boguszewski P (2004) Wiek a zmiany w zachowaniu emocjonalnym i społecznym szczurów - analiza behawioralna i biochemiczna. Praca doktorska

- Fernandes C, Gonzalez MI, Wilson CA, File SE (1999) Factor analysis shows that female rat behaviour is characterized primarily by activity, male rats are driven by sex and anxiety. *Pharmacol Biochem Behav* 1999;64(4): 731-8.
- Graziano A, Petrosini L, Bartoletti A (2003) Automatic recognition of explorative strategies in the Morris water maze. *J Neurosci Methods* 2003;130(1): 33-44.
- Magnusson MS (2000) Discovering hidden time patterns in behavior: T-patterns and their detection. *Behav Res Methods Instrum Comput* 2000;32(1): 93-110.
- Malatynska E, Goldenberg R, Shuck L, Haque A, Zamecki P, Crites G, Schindler N, Knapp RJ (2002) Reduction of submissive behavior in rats: a test for antidepressant drug activity. *Pharmacology* 2002;64(1): 8-17.
- Ohl F, Holsboer F, Landgraf R (2001) The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents. *Behav Res Methods Instrum Comput* 2001; 33(3): 392-7.
- Pisula W (2003) *Psychologia zachowań eksploracyjnych zwierząt*. Gdańskie Wydawnictwo Psychologiczne
- Quinn LP, Stean TO, Trail B, Duxon MS, Stratton SC, Billinton A, Upton N (2003) LABORAS: Initial pharmacological validation of a system allowing continuous monitoring of laboratory rodent behaviour. *J Neurosci Methods* 2003;130(1): 83-92.
- Richmond MA, Murphy CA, Pouzet B, Schmid P, Rawlins JN, Feldon J (1998) A computer controlled analysis of freezing behaviour. *J Neurosci Methods* 1998;86(1): 91-9.
- Rousseau JB, Van Lochem PB, Gispen WH, Spruijt BM (2000) Classification of rat behavior with an image-processing method and a neural network. *Behav Res Methods Instrum Comput* 2000;32(1): 63-71.
- Sustr P, Spinka M, Cloutier S, Newberry RC (2001) Computer-aided method for calculating animal configurations during social interactions from two-dimensional coordinates of color-marked body parts. *Behav Res Methods Instrum Comput* 2001;33(3): 364-70.
- Twining CJ, Taylor CJ, Courtney P (2001) Robust tracking and posture description for laboratory rodents using active shape models. *Behav Res Methods Instrum Comput* 2001;33(3): 381-91.