

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.821.6; 591.18

АНАЛИЗ ПРИРОДЫ СЛЕДА ПАМЯТИ В УСЛОВНОЙ РЕАКЦИИ ПАССИВНОГО ИЗБЕГАНИЯ

А.Н. Иноземцев

(кафедра высшей нервной деятельности; e-mail: A_Inozemtsev@mail.ru)

Изучалась условная реакция пассивного избегания в трехкамерной установке, состоящей из освещенного отсека, темного опасного отсека, в котором крыса получала удар током, и темного безопасного отсека, в котором она не подвергалась электрошолевому воздействию. Сделан вывод о том, что увеличение латентного периода реакции при тестировании обусловлено не памятью о воздействии тока в строго определенном месте и соответственно не избеганием тока в нем, а неспецифической оборонительной реакцией замирания, не соотнесенной с местом удара током.

Ключевые слова: модифицированное пассивное избегание, природа памяти.

С момента первой публикации об условной реакции пассивного избегания (УРПИ), имевшей место полвека назад, отмечается непрестанно увеличивающееся число работ, посвященных в основном испытанию новых мнемотропных субстанций [1–4]. При этом остается справедливым утверждение о дефиците работ, направленных на изучение природы ассоциативных процессов при выработке УРПИ [5].

Для изучения УРПИ чаще всего используется камера, состоящая из темного и освещенного отсеков. Помещенное в освещенную половину камеры животное в силу норкового рефлекса быстро переходит в темный отсек, где получает удар током. Это приводит к пассивному избеганию темного отсека, оцениваемому резким увеличением латентного периода (ЛП) захода в него при последующем тестировании, которое рассматривается как мера обучения. При этом исходят из предположения, что сформированный след памяти содержит характеристики места нанесения болевого раздражения. Так, Ян Буреш и коллеги считают, что приобретенная реакция "...связана с правильным определением того отсека, в котором применялся шок, и предвосхищением опасных последствий входа в него" [6]. Однако указанный постулат о роли пространственного компонента памяти в УРПИ уязвим для критики.

Во-первых, быстрое формирование УРПИ находится в разительном несоответствии с длительным процессом выработки активного избегания, когда требуется нажать на рычаг, находящийся в строго определенном положении в камере Скиннера [7], или перейти в безопасный отсек челночной камеры [8]. Во-вторых, увеличение ЛП может быть обусловлено факторами, не только влияющими на память, но и не связанными с ней (двигательная активность, эмоциональное состояние и пр.). В-третьих, фармаколо-

гические соединения сами по себе могут оказывать аверсивное влияние на животных или усиливать таковое со стороны тока, вследствие чего увеличение ЛП неправомерно объяснять положительным влиянием соединений на память. Кроме того, становится невозможно отличить влияние соединений на память от их влияния на эмоциональное состояние.

Сказанное выше привело к тому, что использование ЛП стало восприниматься как ненадежный показатель обучения и памяти, в частности при оценке влияния фармакологических препаратов [2, 9]. Это побудило модифицировать установку таким образом, чтобы обеспечить животному возможность выбора между темным опасным отсеком, в котором оно ранее получило удар током, и темным безопасным отсеком, в котором электрошолевое воздействие отсутствовало [10]. В данной работе сопоставляются ЛП ухода крыс из стартового отсека и выбор безопасного отсека с целью анализа природы формируемого в УРПИ следа памяти.

Материалы и методы

Опыты проведены на половозрелых самцах белых беспородных крыс массой 180–220 г в двух установках, различным образом разделенных на 3 отсека (рис. 1). В 1-й день крыс на 5 мин по одиночке помещали в установки с открытыми дверцами. На 2-й день вырабатывали УРПИ, для чего животное помещали в освещенный отсек хвостом к отверстиям и фиксировали ЛП захода в какой-либо темный отсек. Затем закрывали дверь и через электрифицированный пол с интервалом 3 с наносили 10 одиночных ударов током (0,7 мА) длительностью 0,5 с. На 3-й день крысу помещали в освещенный отсек и тестировали УРПИ.

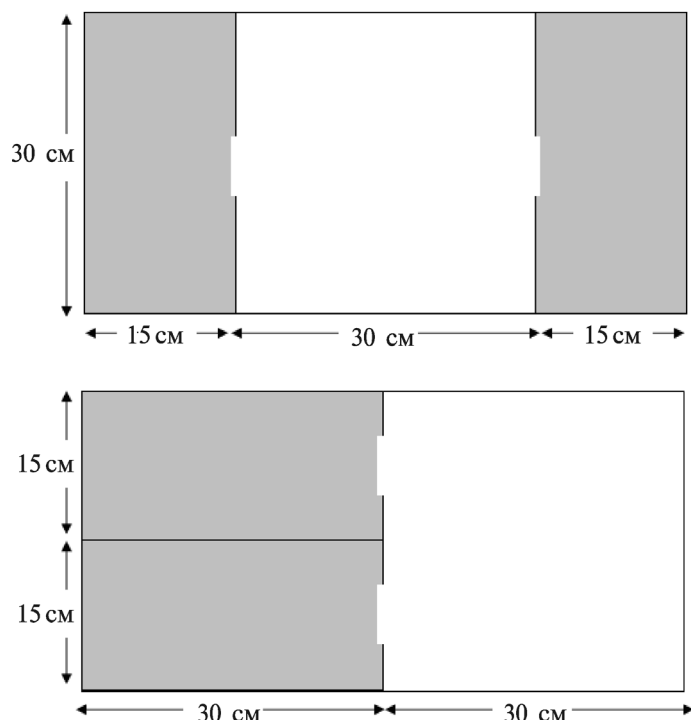


Рис. 1. Схемы установок: сверху — установка 1, снизу — установка 2

В первой установке опыт заканчивали после захода животного в любой отсек или по истечении 5 мин (табл. 1). Во второй установке при переходе

Последовательность экспериментальных процедур

Установки	Дни					
	1	2	3	3	4	4
Установка 1	ознакомление n = 52	выработка n = 52	тест 1 n = 52			
Установка 2	ознакомление n = 25	выработка n = 25	тест 1 n = 25	тест 2 n = 14	тест 3 n = 17	тест 4 n = 9
ЧК-установка 2-ЧК	ознакомление n = 10	выработка n = 10	ЧК n = 10			

Примечание. ЧК — челночная камера; n — число животных.

крысы в “безопасный” отсек (в котором ее не било током) опыт с ней заканчивали; при переходе в “опасный” отсек крысе повторно наносили удары током (в том же режиме, что и накануне); остальным животным по истечении 5 мин наносили удары током в исходном отсеке, чтобы попытаться вызвать реакцию избавления и выяснить возможное предпочтение безопасного отсека (табл. 1, тест 2). На следующий день проводили тестирование (тест 3). По его окончании крысам, оставшимся в освещенном отсеке, наносили удары током и снова тестировали возможный выбор безопасного отсека (тест 4).

Мы анализировали также влияние удара током в установке, в которой вырабатывалась УРПИ, на по-

ведение крыс в челночной камере. Для этого у 10 крыс в течение 5 мин изучали двигательную активность в челночной камере, а на второй день их помещали во вторую установку (рис. 1) и при заходе в темный отсек подвергали удару током. Через 24 ч в течение 5 мин наблюдали за их поведением в челночной камере.

Животные содержались в стандартных лабораторных условиях при свободном доступе к корму и воде. При проведении исследований соблюдались правила, предусмотренные директивой № 86/309 ЕЕС от 24 ноября 1986 г. Совета Европейского Сообщества.

Для оценки УРПИ помимо ЛП регистрировали выбор одного из темных отсеков. Статистическую значимость возрастания ЛП при тестировании относительно исходной величины определяли с помощью парного критерия Вилкоксона, значимость частоты заходов в отсеки — с помощью критерия согласия частот событий.

Результаты и обсуждение

Удар током при выработке УРПИ привел к многократному увеличению ЛП данной реакции при тестировании как в первой, так и во второй установках (табл. 2). Это говорит о том, что с точки зрения общепринятого показателя выработки УРПИ, каким является ЛП, обучение имеет место в обеих установках. Однако это не привело к предпочтению заходов

Таблица 1

в безопасный отсек. В 1-й установке больше трети животных осталось в стартовом отсеке, в опасный отсек перешли 32,7%, а в безопасный — 30,8%. Во 2-й установке в стартовом отсеке осталось больше половины, а в безопасный отсек перешло всего около четверти животных (рис. 2, тест 1).

Как было указано выше, перешедшие в опасный отсек и оставшиеся в стартовом отсеке животные подверглись электроболевому воздействию. Наблюдения показали, что почти две трети оставшихся в стартовом отсеке крыс снова не покинули его, несмотря на продолжающиеся удары током, а из перешедших большая доля пришлось на опасный отсек (рис. 2, тест 2).

Проведенное через сутки тестирование показало, что дополнительное обучение (удары током при за-

Таблица 2

Латентные периоды УРПИ (с)

Установки, n	Выработка	Тестирование	p
1, n = 52	11,3 ± 2,2	110,0 ± 18,0	0
2, n = 25	22,6 ± 4,5	198,2 ± 26,8	0,0001

Примечание. Представлены средние, ошибки средних и уровень значимости отличия от исходных величин.

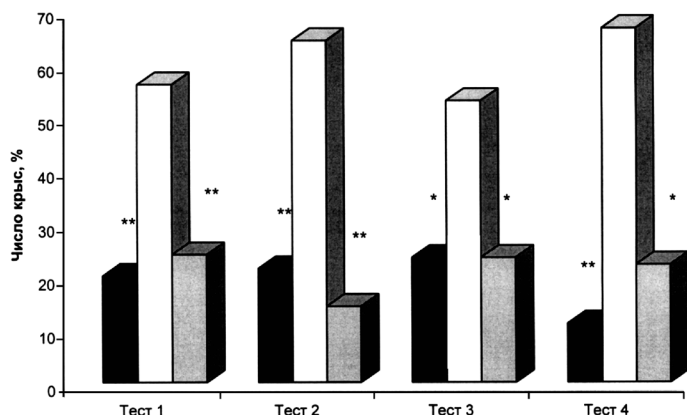


Рис. 2. Частота предпочтения отсеков при тестировании УРПИ.

По ординате — число крыс, %.

*, ** — $p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно, относительно частоты предпочтения стартового отсека. Черный прямоугольник — частота заходов в опасный отсек; серый — в безопасный отсек; белый — предпочтение стартового отсека

ходе в опасный темный отсек) и усиление аверсивности стартового отсека за счет электроболевого воздействия в нем не привели к усилению предпочтения безопасного отсека (рис. 2, тест 3). В освещенном отсеке осталась существенная часть животных, поведение которых в основном характеризовалось замиранием.

Дополнительные удары током в исходном отсеке по окончании предыдущего тестирования привели к тому, что из оставшихся в нем крыс большинство снова никуда не перешли (рис. 2, тест 4). Из этого следует, что у крыс отсутствует не только избегание возможного удара током в опасном отсеке с помощью захода в безопасный отсек, но и избавление от наличного тока.

После удара током в установке, использованной для выработки УРПИ, ЛП первого перехода в другой отсек челночной камеры увеличился в 3,7 раза ($p < 0,05$), а число переходов уменьшилось в 2,9 раза относительно исходного уровня ($p < 0,05$).

Из представленных данных следует, что в результате однократного обучения происходит резкое увеличение ЛП, отражающее угнетение свойственной грызунам реакции ухода из открытого освещенного пространства в темное. В то же время не только однократное, но и повторное обучение не привело к выбору безопасного отсека.

Это означает, что рассмотренный выше постулат неверен и неверно данное в нем объяснение содержания следа памяти, формируемого в процессе выработки УРПИ. Простота предложенного объяснения оказалась обманчивой, и проблема, по-видимому, является более сложной, чем представлялось ранее. В этой связи уместно привести мнение Конорского [11], который считал, что объяснение механизма пассивного избегания менее ясно, чем активного.

Сопоставление величин ЛП пассивного избегания и заходов в безопасный отсек говорит о том, что процессы обучения, которые обуславливают за-

держку двигательной реакции и выбор безопасного отсека, имеют различную ассоциативную природу. Ранее установлено, что эти процессы подчиняются различным количественным закономерностям [10]. Величины ЛП в процитированной работе линейно зависели от силы электроболевого воздействия. Предпочтение безопасного отсека, напротив, меньше всего наблюдалось при большем воздействии, и при этом было больше всего животных, оставшихся в стартовом отсеке, что указывает на углубление замирания по мере увеличения воздействия.

Кроме того, различным было и влияние пирacetama на эти величины: препарат не влиял на ЛП, но увеличивал предпочтение безопасного отсека. Выявленное положительное влияние препарата только на пространственный компонент памяти согласуется с улучшением ноотропами пространственной переделки реакции избегания у крыс [8] и ускорением решения пространственной задачи в лабиринте Морриса [12].

В основе быстрого формирования следа памяти, обуславливающего угнетение рассматриваемой реакции, лежат, по-видимому, несколько причин. Прежде всего таковой служит условная реакция страха, которая, по Конорскому [11], образуется уже после одного сочетания удара током и экспериментальной установки. Отметим, что увеличение ЛП сопровождается уменьшением двигательной активности. Еще одной причиной считают страх темноты [2]. Однако ЛП реакции увеличивается и у крыс, помещенных после процедуры выработки УРПИ в челночную камеру, в которой нет темного отсека. Следовательно, ассоциация “ток-темнота” не играет существенной роли в формировании и реализации следа памяти в УРПИ, а основное значение принадлежит воздействию тока как какового безотносительно к темному отсеку.

Доказательство роли страха в увеличении ЛП представляет также экспериментальная психофармакология. Анксиолитики, предназначенные для уменьшения страха и тревоги, уменьшают последствия стрессогенных воздействий в различных тестах [13]. Они увеличивают число переходов и время пребывания в освещенном отсеке в светло-темной камере; уменьшают замирание и увеличивают двигательную активность в открытом поле; редуцируют анксиогенное состояние животных в тесте стартл-реакции, вызываемое сильным звуковым воздействием и током, что уменьшает замирание.

Именно эта способность анксиолитиков уменьшать страх и тревогу объясняет, что анксиолитик диазепам уменьшает ЛП в УРПИ [4, 14]. В отличие от этого ноотропы, механизм действия которых напрямую не связан с уменьшением страха и тревоги, не уменьшают и ЛП [1—3, 10]. Таким образом, уменьшение страха приводит к уменьшению ЛП, а при отсутствии уменьшения страха не уменьшается и ЛП.

Следует учесть, что помимо классического ассоциативного процесса страх может быть обусловлен

инструментальным путем, поскольку ток следует за реакцией животного. Было показано, что ЛП увеличился больше у крыс, которым ток давался при заходе в темный отсека, чем у крыс, которым ток давался безотносительно к этой реакции [5]. Эти опыты доказали роль инструментального обусловливания, а возможно, и роль запоминания места нанесения тока. Но значение этого фактора достаточно ограничено, поскольку отмеченное превышение ЛП имеет место только при силе тока большей, чем 1,8 мА. Следует также добавить, что при большем электроболе-вом воздействии меньше всего выборов безопасно-го отсека [10].

Причиной увеличения ЛП после воздействия тока может служить также открытая И.М. Сеченовым за-висимость реакций организма от состояния ЦНС, на-званная позже переключением. Это явление характе-ризует древний приспособительный механизм, ко-торый обеспечивает неспецифическое реагирование в соответствии с полученной информацией о среде. Подобная зависимость прослеживается у животных начиная с достаточно ранних этапов эволюции. Мы наблюдали, в частности [15], что после однократно-го действия тока нерейсы (*Nereis pelagica*) начина-ют реагировать на вибрационный раздражитель как на аверсивный (сокращением, отдергиванием голов-ного конца), а после пищи — движением вперед, ха-рактерным для поиска пищи, хотя вибрация не со-провождалась ни током, ни пищей.

Следует добавить, что П.В. Симонов в связи с гипотезой о креатогенезе рассматривал ряд возмож-ностей первичного замыкания временных связей, чье соответствие реальной действительности выясняется лишь позднее, в частности способность доминантно-го очага придавать явлениям действительности и их следам объективно не присущее им значение [16].

С этой точки зрения увеличение ЛП может быть обусловлено не памятью о воздействии тока в стро-го определенном месте и соответственно не избега-нием тока в нем, а неспецифической оборонитель-ной реакцией (замиранием), отражающей способность животных реагировать в соответствии с воздейст-вием биологически значимых раздражителей. Этот древний механизм существует для обучения и может составить точку приложения для ноотропов на ран-них этапах филогенеза. Подтверждением этому слу-жит влияние пиретама на обучение и память на-секомых [17].

Как показывают полученные данные, быстрое формирование эмоциональной реакции страха, обеспе-чивающей угнетение врожденного поведения, не при-водит к быстрому формированию следа памяти, от-ражающего пространственные характеристики экс-

периментальной ситуации. Запоминание места на-несения тока, пространственная дифференцировка, выбор безопасного отсека представляют собой более сложный процесс и более трудную задачу, чем фор-мирование классического условного рефлекса. Так, при выработке избегания в камере Скиннера сна-чала возникает реакция на ток в виде замирания, затем на условный раздражитель в виде вздрагива-ния и перемещений по камере безотносительно к рычагу, нажатие на который выключает ток, и толь-ко значительно позже появляются избегание и из-бегание, подкреплением для которых служат выклю-чения тока и условного раздражителя, следующие за реакцией [18]. Это согласуется с двухфакторной теорией обучения избеганию [19], согласно которой сначала на основе классического принципа сочета-ния условного и безусловного раздражителей форми-руется условная реакция страха, а инструментальная оборонительная реакция возникает в ходе дальней-шего обучения.

На наш взгляд, именно бóльшая сложность опре-деления безопасного отсека объясняет, почему пир-етам более эффективен в условиях пространствен-ного выбора в предлагаемой модификации методи-ки [10]. На самом деле известно, что для выявления ноотропной активности субстанций прибегают к раз-личным воздействиям, затрудняющим обучение [4, 14]. Так, определению ноотропных свойств пиретама способствует усложнение задачи с помощью измене-ния местоположения отверстия в челночной камере и рычага в ящике Скиннера [8]. С другой стороны, влияние пиретама на выбор безопасного отсека при отсутствии такового на ЛП ухода из освещен-ного отсека [10] указывает на бóльшую сложность пространственной дифференцировки относительно формирования условной реакции страха.

Таким образом, проведенное исследование позво-ляет заключить, что увеличение ЛП ухода из освещенного отсека происходит уже после однократно-го обучения, в то время как предпочтение темного безопасного отсека, в котором животное не подвергалось электробелевому воздействию, отсутствует даже при повторном обучении. Увеличение ЛП, уменьше-ние двигательной активности и замирание, отмеча-емое у крыс после однократного обучения, наблюда-ется также в камере, в которой они не подвергались электрошоку и в которой нет темного отсека. Сле-довательно, увеличение ЛП обусловлено не памятью о воздействии тока в строго определенном месте и соответственно не избеганием тока в нем, а неспеци-фической оборонительной реакцией замирания, не со-отнесенной с местом нанесения тока.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ghelardini C., Galeotti N., Gualtieri F., Romanelli M.N., Bucherelli C., Baldi E., Bartolini A. DM235 (sunifiram): a no-

vel nootropic with potential as a cognitive enhancer // Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol. 2002. Vol. 365. N 6. P. 419—426.

2. Misztal M., Danysz W. Comparison of glutamate antagonists in continuous multiple-trial and single-trial dark avoidance // *Behav. Pharmacol.* 1995. Vol. 6. N 5—6. P. 550—561.
3. Shah J., Goyal R. Investigation of neuropsychopharmacological effects of a polyherbal formulation on the learning and memory process in rats // *J. Young Pharm.* 2011. Vol. 3. N 2. P. 119—124.
4. Vasudevan M., Parle M. Pharmacological evidence for the potential of *Daucus carota* in the management of cognitive dysfunctions // *Biol. Pharm. Bull.* 2006. Vol. 29. N 6. P. 1154—1161.
5. Kapp B.S., Gallagher M., Holmquist B.K., Theall C.L. Retrograde amnesia and hippocampal stimulation: dependence upon the nature of associations formed during conditioning // *Behav. Biol.* 1978. Vol. 24. N 1. P. 1—23.
6. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1991. 399 с.
7. Inozemtsev A.N. Estudio de la sujecion de la palanca en el contexto de la evitacion discriminada // *Acta Cientifica Venezolana*. 1983. Vol. 34. N 2. P. 159—167.
8. Иноземцев А.Н., Прагина Л.Л. Методические приемы стрессогенных воздействий для исследования ноотропных влияний на обучение и память // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология*. 1992. № 4. С. 23—31.
9. Sarter M., Hagan J., Dudchenko P. Behavioral screening for cognition enhancers: from indiscriminate to valid testing: Part II // *Psychopharmacology (Berl)*. 1992. Vol. 107. N 4. P. 461—473.
10. Иноземцев А.Н., Бельник А.П., Островская Р.У. Изучение условного рефлекса пассивного избегания в модифицированной трехкамерной установке // *Эксп. клин. фармакол.* 2007. № 2. С. 67—69.
11. Конорский Ю. Интегративная деятельность мозга. М: Высшая школа, 1970. 412 с.
12. Baranova A.I., Whiting M.D., Hamm R.J. Delayed, post-injury treatment with aniracetam improves cognitive performance after traumatic brain injury in rats // *J. Neurotrauma*. 2006. Vol. 23. N 8. P. 1233—1240.
13. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия фармакологических веществ // *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ* / Под ред. В.П. Фесенко. М.: Ремедиум, 2000. С. 126—130.
14. Kim D.H., Kim S., Jeon S.J., Son K.H., Lee S., Yoon B.H., Cheong J.H., Ko K.H., Ryu J.H. Tanshinone I enhances learning and memory, and ameliorates memory impairment in mice via the extracellular signal-regulated kinase signalling pathway // *Br. J. Pharmacol.* 2009. Vol. 158. N 4. P. 1131—1142.
15. Иноземцев А.Н. Изменение поведенческих реакций нерисов на вибрацию после действия безусловных раздражителей // *Журн. высш. нерв. деят.* 1989. Т. 39. № 2. С. 376—378.
16. Симонов П.В. К физиологии креатогенеза // *Поисковая активность, мотивация и сон* / Под ред. Г.Г. Гасанова, П.В. Симонова. Баку: Элм, 1986. С. 54—60.
17. Иноземцев А.Н. На пути к эволюционной психофармакологии // *Высшая нервная деятельность: вчера и сегодня. Сб. науч. трудов, посвященных 100-летию со дня рождения Л.Г. Воронина* / Под ред. Р.А. Даниловой, К.А. Никольской. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2010. С. 173—196.
18. Иноземцев А.Н. Особенности инструментальной оборонительной реакции на начальном этапе ее формирования // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология*. 1988. № 4. С. 60—66.
19. Mowrer O.H. On the dual nature of learning: A reinterpretation of “conditioning” and “problem-solving” // *Harvard Ed. Rev.* 1947. N 17. P. 102—148.

Поступила в редакцию
06.03.2012

THE ANALYSIS OF THE MEMORY TRACE NATURE IN PASSIVE AVOIDANCE RESPONSE

A.N. Inozemtsev

Passive avoidance conditioning is analyzed in a three compartment apparatus that consists of a light compartment, a dark dangerous compartment in which foot shock was delivered and a dark safe one where the rats were not punished. It is concluded that latency increase of passive response is caused not by memory of the shock in the strictly certain place and accordingly not by shock avoidance in it, but by nonspecific defensive response (freezing) being unrelated with the shock place.

Key words: *modified passive avoidance, memory nature.*

Сведения об авторе

Иноземцев Анатолий Николаевич — докт. биол. наук, руководитель лаборатории эволюции механизмов памяти, кафедра высшей нервной деятельности. Тел.: 8-495-939-50-01; e-mail: A_Inozemtsev@mail.ru