

ВЛИЯНИЕ СИММЕТРИЧНОГО И АСИММЕТРИЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЙ N. ACCUMBENS SEPTI НА ПОИСКОВОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В РАДИАЛЬНОМ ЛАБИРИНТЕ

Альбертин С.В.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

albertin@psych.infran.ru

В анатомических [4,5] и нейрофизиологических исследованиях [6,9] высказывается предположение, что нейроны медиального отдела прилежащего ядра (n. accumbens, medial shell), получая конвергирующие проекции из вентрального гиппокампа, амигдалы и вентральной тегментальной области (VTA), могут играть важную роль в организации пространственной ориентации животного в направлении предстоящего подкрепления.

В пользу этого предположения могут свидетельствовать эксперименты, выявившие у крыс с селективными нейрохимическими повреждениями прилежащего ядра нарушения при формировании реакций правильного выбора подкрепляемых пищей рукавов в радиальном лабиринте, которые были слабее выражены, или отсутствовали у хорошо обученных животных [12]. В другом исследовании [11] при использовании той же методики, напротив, каких-либо поведенческих нарушений в радиальном лабиринте у оперированных крыс не отмечалось, либо наблюдались грубые нарушения моторики, особенно при унилатеральных повреждениях ядра. Возможной причиной полученных неоднозначных результатов является использование в этих исследованиях метода внутримозговой одноразовой инъекции нейроблокаторов, которая не могла обеспечить полного выключения медиального отдела (n. accumbens, medial shell part) прилежащего ядра - вытянутой узкой области, граничащей с латеральным отделом (n. accumbens, core part) тестируемого ядра, но создавала условия для нежелательной диффузии вводимых веществ в соседний латеральный (core part) отдел прилежащего ядра и другие структуры мозга. Следует также отметить, что в этих исследованиях в качестве вознаграждения использовалась подача пищевого подкрепления, что не исключало использование подопытными животными обонятельного анализатора при ориентации в лабиринте [2].

В этой связи в нашей работе было исследовано влияние селективного (уни- и билатерального) электролитического повреждения медиального (medial shell) отдела прилежащего ядра, проводимого под электрофизиологическим контролем, на формирование реакций альтернативного выбора сторон подкрепления в 4-рукавном радиальном лабиринте с асимметричным питьевым подкреплением.

Методика

Опыты проводились на 16 крысах-самцах линии Long-Evans, содержащихся в режиме питьевой депривации. В исследовании использовали оригинальную модель поведения крыс в радиальном лабиринте, исключающую формирование и использование подопытными животными рабочей памяти (working memory) на предыдущие заходы в отсеки лабиринта как опорной

тактики поведения при ориентации крыс в лабиринте. В соответствии с этой моделью подопытные животные были обучены заходить в один из отсеков 4-рукавного радиального лабиринта (Рис.А), каждый из которых был оснащен поилкой и электрической лампочкой, включение которой осуществлялось при выходе крысы в центральный круг лабиринта и являлось пусковым условным сигналом для захода животного в подкрепляемый рукав. Устройство лабиринта также позволяло животным использовать при ориентации навигационные знаки - хорошо различимые геометрические фигуры, расположенные вне лабиринта. Выбор животным правильного (освещенного) рукава сопровождался подачей капель воды, при этом в трех рукавах крысы получали по одной капле, а в одном рукаве - шесть капель воды.

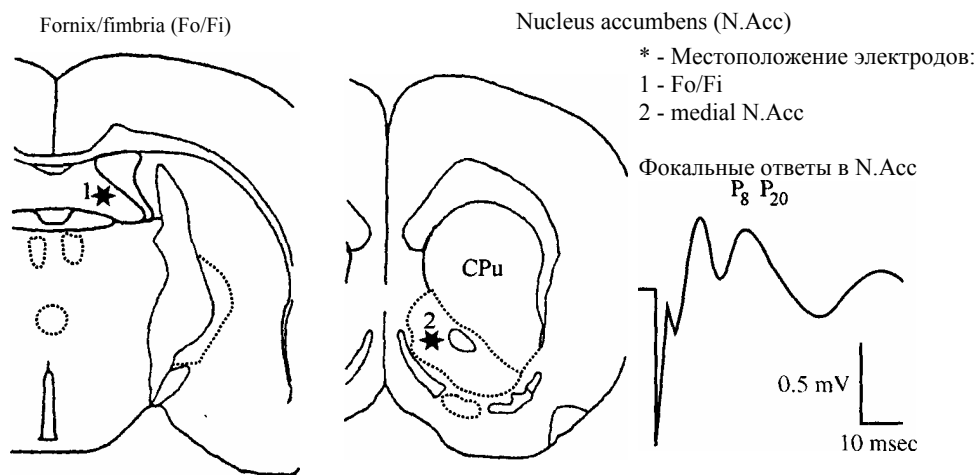
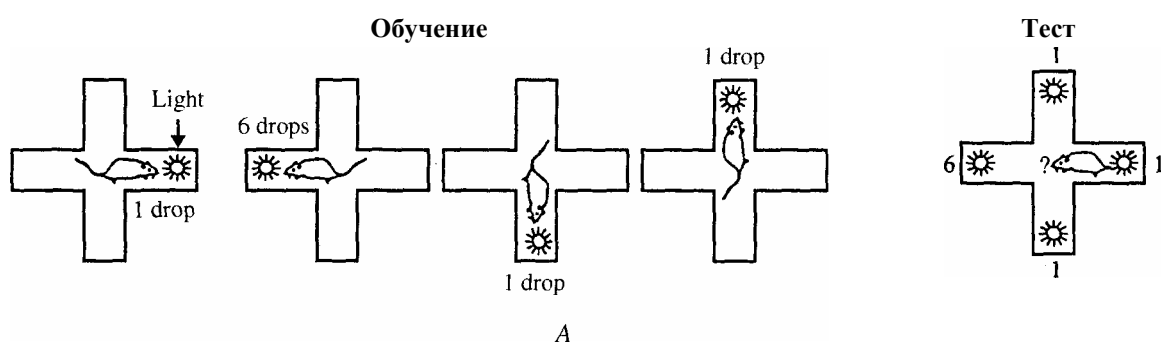


Рис. Схема обучения и тестирования животных в 4-стороннем лабиринте с асимметричным водным подкреплением (А) и схема процедуры отведения фокальных потенциалов в медиальном отделе прилежащего ядра (Б).

Порядок включения условных зрительных сигналов (лампочек) осуществлялся в случайном порядке. Ошибочные ответы (заходы в неосвещенные отсеки) и попытки повторного подхода подопытных животных к одной и той же поилке без выхода в центральный круг лабиринта не подкреплялись. Способность подопытных крыс к запоминанию местоположения отсека с наибольшим (6 капель) подкреплением тестировалась с помощью серии пробных тестов, *probe trials* – одновременным включением зрительных условных сигналов (лампочек) во всех 4-х рукавах лабиринта, когда животным предоставляли возможность получить подкрепление в любом рукаве лабиринта (рис. А). Обученные животные при этом, как правило, выбирали рукав лабиринта, подкрепляемый шестью каплями воды. Местоположение рукава с максимальным (6 капель воды) подкреплением менялось ежедневно в случайном порядке.

Селективное повреждение медиального (*medial shell*) отдела прилежащего ядра проводили билатерально по стереотаксическим координатам: AP = 1.2-1.6 mm; ML = 0.65-0.85 mm; H = 6.4-8.0 mm атласа Paxinos & Watson [10] электролитическим путем: I = 100 мкА; T=20 s. Верификация местонахождения электрода в медиальном отделе прилежащего ядра осуществлялась электрофизиологическим способом - регистрацией фокальных потенциалов, вызванных одиночной электрической стимуляцией гиппокампальных проекций, поступающих в медиальный отдел прилежащего ядра в составе проводящих путей *fimbria/fornix* [1]. Показателем нахождения электрода в медиальном отделе прилежащего ядра являлось отведение 2-х фазного позитивного фокального потенциала с пиковой латентностью 8- и 20 мс., что соответствует моносинаптическому и полисинаптическому (путем антидромной активации гиппокампа) ответам нейронов прилежащего ядра при электрической стимуляции вентрального субикулярного пути гиппокампа, следующего в составе проводящей системы *fimbria-fornix* (Рис.Б). Процедура прижигания производили последовательно, в трех соседних точках медиальной области ядра, ориентированных в дорсовентральном направлении и разделенных промежутками не менее 0.5мм. В качестве контроля использовали ложнопереоперированных животных. Локализация повреждений прилежащего ядра проводилась гистологически на срезах мозга, окрашенных кризил-виолетом. Статистическую обработку результатов опытов осуществляли на компьютере с помощью программы Statistica (Tulsa, OK).

Результаты исследования

Результаты проведенных исследований показали, что повреждение медиального отдела прилежащего ядра нарушает формирование у крыс безошибочных реакций пространственного выбора в радиальном лабиринте с асимметричным подкреплением. У всех оперированных животных наблюдалась потеря способности к формированию новой ассоциации между максимальным подкреплением и его локализацией в пространстве. Количество правильных ответов (выбор отсека с максимальным подкреплением) в пробных тестах - probe trials у оперированных крыс снижалось, в среднем, до 40,9 % по сравнению с дооперационным уровнем (t-тест, $p < 0.001$), а также ложнооперированными животными. При этом снижение уровня правильных ответов более чем в два раза наблюдалось у каждого из оперированных животных (см. Табл.). Следует отметить, что крысы, получившие унилатеральные повреждения медиального отдела прилежащего ядра, по уровню правильных ответов практически не отличались от других животных, имевших билатеральные повреждения ядра. Дополнительное (1 неделя) обучение приводило к незначительному улучшению выполнения задачи животными с повреждениями прилежащего ядра. Однако, наилучший показатель числа правильных ответов, отмеченный у одной из оперированных (*n. accumbens*) крыс после дополнительного обучения составлял лишь 55% от дооперационного уровня правильных ответов. У ложнооперированных животных после дополнительного обучения в течение одной недели значимых изменений уровня правильных ответов в пробных тестах (probe trials) не наблюдалось.

Табл. Реализация задачи выбора отсека с наибольшим подкреплением у оперированных и контрольных крыс (* - операции с односторонним повреждением *n. accumbens*).

№ крысы	Среднее число правильных ответов, %			№ крысы	Среднее число правильных ответов, %		
	До операции	После операции	t-тест		До операции	После операции	t-тест
Животные с повреждением <i>n. accumbens</i>				Контрольные (ложнооперированные) животные			
2-1	68.6	37.2	0.0135	3-1*	73.8	65.7	0.4753
2-2*	77.0	40.8	0.0021	3-2	64.5	62.8	0.8149
2-3*	81.6	45.6	0.0013	3-3	78.5	77.2	0.8763
1-4	87.6	44.4	0.0000	3-4*	81.0	75.8	0.3893
2-5	79.0	35.0	0.0026	3-5	78.5	69.3	0.3329
2-6	83.2	43.8	0.0001	3-6	71.5	65.2	0.1056
2-7*	82.2	43.8	0.0072	1-2*	82.5	80.0	0.7650
1-1	72.5	36.7	0.0051	1-4	88.3	88.3	1.0000

При анализе распределения ошибочных ответов обращает на себя внимание тот факт, что в большинстве опытов (в 7 из 13 сессий) у животных с повреждением прилежащего ядра среди ошибочных ответов в пробных тестах (probe trials) преобладали побежки с выбором отсека лабиринта, который был максимально подкрепляемым в предшествующий опытный день, несмотря на то, что уровень правильных ответов (выбор данного отсека) в тот день у всех оперированных крыс был низким (40%). В специальных пробах показано, что если в последующий день тестирования отсек с максимальным подкреплением не менялся (оставался на прежнем месте), средний уровень правильных выборов у оперированных животных возрастал до 55-60%. Следует подчеркнуть, что при последовательной подаче условных зрительных раздражителей (включение лампочки в подкрепляемом отсеке), которые сигнализировали сторону предстоящего подкрепления, уровень правильных ответов у животных с повреждением медиального отдела *n. accumbens* не отличался от контроля и составлял, в среднем, 80-85% .

У оперированных животных, по сравнению с контрольными крысами, не наблюдалось каких-либо нарушений общей локомоторной активности, изменения уровня исходной и текущей мотивации, а также выраженной двигательной стереотипии, включая крыс с унилатеральными повреждениями прилежащего ядра. Вес подопытных животных в пред- и послеоперационный периоды контролировался ежедневно. Среднее повышение веса у оперированных (*n. accumbens*) животных составило 3,0 % и у ложнооперированных - 6,6 %. При этом *t*-тест не выявил достоверных различий в изменении веса между этими группами животных ($p=0,072$). Гистологическое исследование мозга оперированных животных показали, что используемый нами метод электрофизиологического контроля местоположения прижигаемых электродов обеспечил у всех подопытных животных компактные селективные повреждения в медиальном (*medial shell*) отделе прилежащего ядра, локализованные в центре тестируемого образования и его периферийной области, граничащей с латеральным (*core part*) отделом *n. accumbens*.

Обсуждение результатов

Полученные данные свидетельствуют о важной роли медиального отдела прилежащего ядра в формировании реакций пространственного выбора в радиальном лабиринте с асимметричным подкреплением в условиях дефицита сигнальной сенсорной информации. В основе нарушения пространственной ориентации, выявленных у животных с повреждением медиального отдела *n. accumbens*, была потеря способности к

формированию новой ассоциации между максимальным подкреплением и его локализацией в пространстве. В соответствии с анатомическими [4,5] и нейрофизиологическими [6,9] данными, морфофункциональной основой формирования данной ассоциации может служить конвергенция в медиальном отделе прилежащего ядра пространственной информации, приходящей из гиппокампа в составе вентрального суббульбарного пути, и информации о величине (количестве) подкрепления, поступающей в те же отделы ядра из вентральной тегментальной области (VTA) и амигдалы. Тот факт, что сравнительно небольшие электролитические повреждения прилежащего ядра, в том числе и унилатеральные, приводили к выраженным нарушениям пространственной ориентации объясняется тем, что область повреждений определялась в наших опытах путем регистрации фокальных потенциалов, вызванных стимуляцией гиппокампального проводящего пути, и топографически точно соответствовала зоне афферентных входов гиппокампальных, а также амигдаларных проекций, конвергирующих на одни и те же нейроны медиального отдела прилежащего ядра [5]. Таким образом, в отличие от нейрохимических повреждений прилежащего ядра, вызванных инъекцией нейротоксинов [3,11] электролитические повреждения в наших опытах обеспечивали исключение не только клеточных тел, но и афферентных проекций, поступающих в тестируемый отдел ядра. Отметим, что нарушения, выявленные при унилатеральном повреждении прилежащего ядра, не являются исключительным феноменом при использовании данного теста, так как были отмечены рядом исследователей в других поведенческих задачах при повреждении как вентрального [7], так и дорсального [8] стриатума у крыс. Как показали наши данные, специфическим свойством селективных унилатеральных повреждений прилежащего ядра (medial shell part) было отсутствие двигательной асимметрии в поведении животных, которая особенно характерна при одностороннем выключении дорсального стриатума [7,8].

Важно подчеркнуть, что выявленный нами дефицит поведения у крыс не связан с нарушениями мотивации, а также сенсомоторной способности животных к обучению, так как данное расстройство отсутствовало у оперированных крыс при использовании зрительных условных раздражителей, сигнализирующих о месте предстоящего подкрепления. В отличие от реагирования на последовательную подачу локальных зрительных раздражителей, при одновременной экспозиции условных сигналов в пробных тестах - probe trials животным предоставляли возможность выбора рукава с максимальным подкреплением самостоятельно, на основе выработанной ассоциации между максимальным подкреплением и его локализацией в пространстве без опоры на

экспонируемые локальные сигналы. Повреждение прилежащего ядра безусловно нарушала способность подопытных животных к переходу на новую тактику реагирования. Сохранение у подопытных животных нормальной ориентации при последовательном предъявлении сигнальных раздражителей, а также снижение выраженности поведенческих нарушений у оперированных крыс после дополнительного обучения, или предъявлении подопытным животным максимального подкрепления при пробном тестировании в одном и том же отсеке второй день подряд, позволяет высказать предположение о возможной викарирующей роли дорсального стриатума в частичной компенсации выявленных нами нарушений. Выяснение нейрофизиологического механизма, лежащего в основе возможных взаимоотношений вентрального и дорсального стриатума крыс в формировании реакций пространственного выбора в радиальном лабиринте, требует проведения дополнительных исследований.

Литература:

1. Альбертин С.В. Способ моделирования патологии проводящих путей гиппокампа. Бюлл. изобр., 2005, № 23 (патент РФ №2258961).
2. Стольберг А.М., Григорян Г.Е. Обонятельная ориентация белых крыс в лабиринте. Журн. высш. нервн. деятельности. 1992. Т42(4). С. 797-799.
3. Annet L.E., McGregor A., Robbins T.W. The effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on spatial behavior and extinction in the rat. *Behav. Brain.Res.* 1989. V.31. P.231-242.
4. Brog J.S., Salyaapongse A., Deutch A.Y., Zahm D.S. The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "accumbens" part of the rat ventral striatum: Immuno-histo-chemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *J. Comp. Neurol.* 1993. V.338. P. 255-270.
5. Groenewegen H.J., Mulder A.B., Beijer A.V.J., Wright C.G., Lopes da Silva F.H., Pennartz C.M. Hippocampal and amygdaloid interaction in the nucleus accumbens. *Psychobiol.* 1999. V. 27. P. 149-164.
6. Lavoie A.M., Mizumori S.J.Y. Spatial, movement and reward sensitive discharge by medial ventral striatum neurones in rats. *Brain Res.* 1994. V. 638.157-168.
7. Miller R., Beninger R.J. On the interpretation of asymmetries of posture and locomotion produced with dopamine agonists in animals with unilateral depletion of striatal dopamine. *Progr. in Neurobiol.* 1991. V. 36. P. 229-256.
8. Mittleman G., Brown V.J., Robbins T.W. Intentional neglect following unilateral ibotenic acid lesions of the striatum. *Neurosci. Res. Comm.* 1988. V. 2. P. 1-8.

9. O'Donnell P., Grace A.A. Synaptic interactions among excitatory afferents to nucleus accumbens neurons: hippocampal gating of prefrontal cortical input. *J. Neurosci.* 1995. V. 15. P. 3622-3639.
10. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates (CD-ROM version). Third ed., San Diego, Academic Press. 1997.
11. Schacter G.B., Yang C.R., Innis N.K., Mogenson G.J. The role of the hippocampus and nucleus accumbens pathway in radial-arm maze performance. *Brain Res.* 1989. V. 494. P. 339-349.
12. Seamans J.K., Phillips A.G. Selective Memory Impairments Produced by Transient Lidocaine-Induced Lesions of the Nucleus Accumbens in Rats. *Behav. Neuroscience.* 1994. V. 108. P. 456-468.