

На правах рукописи

РЫСАКОВА Мария Павловна

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕЙРОНОВ ЦЕНТРАЛЬНОГО И БАЗАЛЬНОГО
ЯДЕР МИНДАЛИНЫ У ЖИВОТНЫХ С АКТИВНОЙ И ПАССИВНОЙ
СТРАТЕГИЕЙ ПОВЕДЕНИЯ**

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва, 2010

Работа выполнена в лаборатории условных рефлексов и физиологии эмоций (заведующая лабораторией – доктор биологических наук Галина Христофоровна Мержанова) Учреждения Российской академии наук Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН (директор – доктор биологических наук, профессор Павел Милославович Балабан).

Научный руководитель:

Доктор биологических наук Ирина Вячеславовна Павлова

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук Ара Саакович Базян

кандидат психологических наук Александр Георгиевич Горкин

Ведущая организация:

Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова

Защита состоится «26» января 2011 г. в 14⁰⁰ часов на заседании Диссертационного совета Д.002.044.01 при Учреждении Российской академии наук Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН по адресу:

117485, Москва, ул. Бутлерова, д. 5а. ____

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения Российской академии наук Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2010 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Доктор биологических наук, профессор



В.В. Раевский

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Проблема индивидуально-типологических особенностей поведения широко изучается в настоящее время специалистами самых разных областей науки: медиками, психологами, физиологами. Известно, что наиболее отчётливо индивидуальные особенности поведения, как животных, так и человека проявляются в стрессовой ситуации. В настоящее время ряд авторов выделяют у человека и животных две противоположных стратегии приспособительного поведения – активную и пассивную [Gray, 1982; Lazarus, 1993; Жуков, 1996; 1997; Шаляпина, 1996; Украинцева, 2005 и др.]. Если активные особи в стрессовой ситуации стремятся избавиться от опасности, то пассивные особи принимают ситуацию такой, какая она есть, не предпринимая активных действий [Жуков, 1997]. Для каждой стратегии поведения характерен определённый спектр поведенческих, гормональных, вегетативных особенностей. Кроме того, показано, что животные с разной стратегией поведения различаются устойчивостью к невротизации и стрессу, чувствительностью к алкоголю и наркотическим веществам, восприимчивостью к иммунопатологическим заболеваниям [Константинопольский с соавт., 1992; Bisaga, Kostowski, 1993; Deroche et al., 1993; Ливанова с соавт., 1996; Zozulya et al., 2008]. В связи с этим является актуальным поиск нейрофизиологических механизмов, лежащих в основе выбора той или иной стратегии поведения.

Предполагается, что в эмоционально-негативных ситуациях поведение животных определяется соотношением между исследовательской мотивацией и страхом [Маркель, 1981]. При этом у пассивных животных доминирует страх [Жуков, 1997]. Согласно теории П.В. Симонова в основе индивидуально-типологических особенностей лежит активность четырех мотивационно-эмоциогенных структур мозга: фронтальной коры, гиппокампа, миндалины и гипоталамуса [Симонов, 2004]. В настоящее время в литературе накоплены убедительные доказательства того, что базальное, латеральное и центральное ядра миндалины играют решающую роль в возникновении, выражении и угашении страха при выработке классического Павловского оборонительного рефлекса [Goosens, Maren, 2001; Royer, Pare, 2002; Blair et al., 2005; Wilensky et al., 2006]. Обнаружено, что после разрушения базолатеральной миндалины нарушается как условнорефлекторное, так и безусловное замирания у крыс [LeDoux et al., 1990; Goosens, Maren, 2001; Vazdarjanova et al., 2001; Blair et al., 2005]. Показано повышение частоты и синхронности разрядов клеток миндалины, а также увеличение амплитуды вызванных потенциалов в ответ на условные стимулы при выработке условнорефлекторного страха [Collins, Pare, 2000; Pare, Collins, 2000]. Изучены клеточные и молекулярные процессы, происходящие в миндалине при выработке условнорефлекторного страха. Показано, что значительную роль при этом играют NMDA рецепторы [Fendt, 2001; Royer, Pare, 2002; Goosens, Maren, 2003]. Ряд исследований указывает на необходимость для приобретения условнорефлекторного страха синтеза в миндалине матричной РНК [Bailey et al., 1999; Lin et al., 2003]. Однако,

несмотря на такое многообразие литературы об участии миндалины в реализации и приобретении реакции страха, остается неизученным вопрос о том, существуют ли особенности в работе нейронов миндалины у животных с активной и пассивной стратегией поведения.

Многочисленные данные литературы свидетельствуют о ключевой роли активации ГАМКергической системы миндалины для уменьшения и угашения условнорефлекторного страха. В миндалине наряду с паракапсулярными скоплениями (латеральным и медиальным), выделяют также локальные ГАМКергические интернейроны, расположенные диффузно внутри ядер [Marowsky et al., 2005]. Показано, что локальное введение в латеральную и центральную миндалину специфического агониста ГАМК_A рецепторов мусцимола снижает длительность затаиваний на условный сигнал, а также блокирует стартл-рефлекс на звук после выработки условного страха у крыс [Nobelen, Kokkinidis, 2006; Wilensky et al., 2006]. В то же время на фоне введения антагонистов ГАМК-рецепторов наблюдается анксиогенный эффект в тесте приподнятого крестообразного лабиринта и социального взаимодействия [Sanders et al., 1995; Moghaddam et al., 2008]. Кроме того, известно, что ГАМК-бензодиазепиновые рецепторные комплексы являются мишенью для многих анксиолитиков, веществ, снижающих уровень тревоги и страха [Воронина, Середенин, 2002]. Предполагается, что пластичность тормозных взаимодействий в миндалине играет ключевую роль в смещении синаптического баланса в сторону увеличения возбудительных процессов при страхе [Szinyei et al., 2007; Li et al., 2009]. Исходя из этих данных, возникло предположение о важной роли ГАМКергической системы миндалины в выборе активной или пассивной стратегии поведения.

Исследование межнейронных взаимодействий в миндалине, т.е. сетевой активности данной структуры, представляет актуальную задачу, поскольку позволяет выявить особенности переработки информации в миндалине и выявить соотношение возбудительных и тормозных взаимодействий между нейронами. Одним из наиболее информативных методов оценки межнейронного взаимодействия является построение гистограмм кросс- (ГКК) и автокорреляции (ГАК) импульсации нейронов [Perkel et al., 1967; Moore et al., 1971], с помощью которых можно не только выявить наличие функциональных связей между нейронами, но и оценить их временные закономерности.

Для того чтобы оценить роль миндалины в механизмах, определяющих проявление индивидуально-типологических особенностей поведения, было предпринято настоящее исследование. **Целью работы** было выяснить, существуют ли особенности сетевой активности нейронов миндалины у животных с активной и пассивной стратегией поведения в эмоционально-негативных ситуациях и какова роль ГАМКергических межнейронных взаимодействий миндалины в выборе стратегии поведения.

Задачи работы:

1. Сопоставить взаимодействие нейронов миндалины при различных формах поведенческих реакций животных на эмоционально-значимые

раздражители с целью выявления особенностей сетевой активности нейронов при безусловном страхе, выражающемся в виде затаивания.

2. Сопоставить взаимодействие нейронов миндалины и поведение животных в норме и при пониженном уровне тревожности и страха после системного введения анксиолитика афобазола.

3. На основании поведенческого тестирования подобрать группы животных с активной и пассивной стратегией поведения в эмоционально-негативных ситуациях.

4. Сопоставить взаимодействие нейронов миндалины и поведение животных в группах активных и пассивных кроликов с целью выявления индивидуально-типологических особенностей в сетевой активности миндалины.

5. Изучить влияние на поведение кроликов в эмоционально-негативных ситуациях локального введения в правую и левую миндалину агониста ГАМК_A рецепторов мусцимола.

Положения, выносимые на защиту.

1. У кроликов с активной и пассивной стратегиями поведения в эмоционально-негативных ситуациях имеются различия в сетевой активности нейронов центрального и базального ядер миндалины. Судя по результатам анализа взаимодействия клеток для пассивных животных характерен большой уровень активации миндалины по сравнению с активными кроликами, что может проявляться в большем уровне страха у пассивных животных. Для выбора активной или пассивной стратегии поведения важен баланс между возбуждательными и тормозными межнейронными взаимодействиями в миндалине.

2. Важную роль в реализации поведения животных в эмоционально-негативных ситуациях играет тормозная ГАМКергическая система миндалины.

Научная новизна работы.

1. Обнаружены различия во взаимодействии нейронов миндалины у животных с разной стратегией поведения в эмоционально-негативных ситуациях.

2. Обнаружены специфические особенности во взаимодействии нейронов миндалины при безусловном страхе, выражающемся в виде затаивания кроликов.

3. Впервые обнаружены изменения в активности и взаимодействии нейронов эмоциогенной структуры - миндалины под влиянием анксиолитика афобазола, являющегося мембранным модулятором ГАМК-бензодиазепинового рецепторного комплекса.

4. Впервые для исследования поведения кроликов был использован тест «темно-светлая камера», который раньше применялся только в опытах на мелких лабораторных животных (крысы, мыши). Показана продуктивность данного теста для выявления индивидуально-типологических особенностей кроликов.

5. При локальной аппликации мусцимола показана важная роль ГАМКергической системы миндалины для реализации поведения кроликов в

«темно-светлой камере» и при действии эмоционально-значимых раздражителей.

Научно-теоретическое и практическое значение работы.

Результаты, полученные в данной работе, имеют теоретическое значение для понимания механизмов, лежащих в основе индивидуально-типологических особенностей поведения. Показана существенная роль центрального и базального ядер миндалины для выбора активной и пассивной стратегии поведения. Результаты свидетельствуют о различиях во взаимодействии близлежащих нейронов, а также межполушарном взаимодействии клеток миндалины у кроликов с активной и пассивной стратегией поведения в эмоционально-негативных ситуациях. На основании полученных результатов можно говорить о более высоком уровне активации миндалины у пассивных животных по сравнению с активными кроликами. Получено экспериментальное подтверждение высказанного предположения о роли ГАМКергической системы миндалины для реализации поведения кроликов в эмоционально-негативных ситуациях.

Для фармакологов и клиницистов представляет интерес обнаруженный в нашей работе возможный механизм действия афобазола на активность нейронов эмоциогенной структуры – миндалины. Показано, что введение афобазола приводит к увеличению длительности тормозных и к незначительному сокращению возбуждающих межнейронных взаимодействий.

Результаты, полученные при исследовании взаимодействия нейронов миндалины при безусловном страхе, имеют большое значение для понимания нервных механизмов, лежащих в основе тревоги и страха. Это, в свою очередь, может помочь в разработке путей лечения тревожных расстройств, являющихся в настоящее время одними из самых распространенных психических заболеваний.

Обнаруженные в нашей работе различия в поведении активных и пассивных животных в тестах «открытого поля», «темно-светлой камеры» и при действии эмоционально-значимых раздражителей, в частности данные о различиях в моторной асимметрии, могут иметь практическое значение в психологии и педагогике, а также в служебной кинологии при разработке тестов для определения индивидуально-типологических особенностей.

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 1 статья и 6 тезисов.

Апробация работы

Основные результаты работы были доложены на XII, XIII и XIV Школах-конференциях молодых ученых в ИВНД и НФ РАН (Москва, 2008-2010 г.г.); на XVI и XVII Международных научных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2009-2010 г.г.); на V и VI Международных междисциплинарных конгрессах «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2009, 2010); на XXI Съезде физиологического общества им. И.П.Павлова (Калуга, 2010).

Объем и структура

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, методики исследования, четырех глав с изложением и обсуждением результатов экспериментов, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 158 страницах, содержит 6 таблиц, 33 рисунка. Список цитируемой литературы включает 233 источника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект. Опыты проводили на кроликах-самцах породы шиншилла возрастом от 6 месяцев до 2.5 лет массой 2.5-3.3 кг. Эксперименты проводили в соответствии с Правилами лабораторной практики в Российской Федерации, утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 267 от 19.06.2003 г. и с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных за № 755 от 12.08.1977».

Поведенческое тестирование. На первом этапе кроликов тестировали в «открытом поле», которое представляло собой круглую арену диаметром 131 см с высотой стенок 37 см. Пол арены был разделен на 32 квадрата (сторона 21 см). В начале опыта животное помещали в центр «открытого поля». Время наблюдения составляло 10 мин. Поведение кролика регистрировали видеокамерой. Подсчитывали показатели: 1) горизонтальной исследовательской двигательной активности (число прыжков, побежек, пересеченных квадратов), 2) вертикальной активности (число стоек, а также попыток погрызть стены или пол камеры), 3) груминга (число умываний, отряхиваний, чесаний), 4) моторной асимметрии (число правых и левых поворотов), 5) социального поведения (число меток камеры - кролики терлись нижней частью морды о пол и стенки камеры), 6) агрессивного поведения (число сильных ударов задними лапами о пол камеры), 7) пассивно-оборонительного поведения (время замирания, а также латентность ухода из центральных квадратов после посадки), 8) время пребывания в центральных, средних и боковых квадратах после ухода из центра. Для оценки моторной асимметрии животных рассчитывали коэффициент асимметрии $K_{ас.} = (П-Л)/(П+Л)$, где П – число правых, Л – левых поворотов за 10 мин. Повторные посадки в «открытое поле» проводили через 7 дней.

На втором этапе работы кролики, предварительно наблюдавшиеся в «открытом поле», были протестированы в «темно-светлой камере», которая состояла из двух отсеков 48×55×40 см. Отсеки сообщались между собой через отверстие в перегородке, которое до начала опытов было закрыто. Темный отсек плотно закрывался, над светлым отсеком, открытым сверху, на высоте 100 см располагалась электрическая лампочка мощностью 60 Вт. Светлый отсек был поделен на 4 квадрата с длиной стороны 27 см. В начале опыта кролика помещали в темный отсек на 1 мин для привыкания. Собственно тестирование длилось 5 минут, в ходе которых оценивали латентность первого выхода и выглядывания в светлый отсек, частоту выглядываний, количество выходов, общее время, проведенное животным в светлом отсеке, горизонтальную (число

пересеченных квадратов, прыжков) и вертикальную (число стоек) активность в светлом отсеке. Частоту выглядываний рассчитывали по формуле $Ч_в = V/T_{\text{темн}}$, где V – сумма всех выглядываний, $T_{\text{темн}}$ – время нахождения в темном отсеке (с).

На третьем этапе поведение кроликов исследовали при применении **эмоционально-значимых раздражителей**. Во время опытов животные находились в условиях свободного поведения в комфортной камере, которая представляла собой цилиндр с диаметром основания 45 см и высотой стенок 32 см. Животным предъявляли звуковые раздражители (шелест – 30-40 дБ, громкий звук – 60-80 дБ в течение 7 с), контактные раздражители – надавливание на загривок (30 с), подъем за загривок (до 30 с), виброакустическое раздражение ушных раковин [Павлова с соавт., 2006]. При обработке подсчитывали вероятность активных ориентировочно-исследовательских или оборонительных реакций на каждый раздражитель, а также вероятность и длительность затаивания. В качестве дополнительного критерия реакций животного производили регистрацию пневмограммы с помощью угольного датчика. Урежение дыхания и увеличение длительности выдохов рассматривали как показатель затаивания [Павлова с соавт., 2006]. За опыт животному давали 1-2 одинаковых раздражителя, общее число которых не превышало 3-7, интервалы между ними составляли не менее 60 с.

При статистической обработке материала всех трех поведенческих тестов сравнение показателей, полученных при разных состояниях, проводили с использованием дисперсионного анализа ANOVA-MANOVA по F-критерию (стандартная программа STATISTICA 5.5 и 8.0).

Введение фармакологических препаратов. Афобазол. При повторных поведенческих тестированиях за 60 минут до опыта одним животным вводили подкожно афобазол в дозе 1 мг/кг, растворенный в 3 мл физиологического раствора, другим животным - физиологический раствор (3 мл), а третьих тестировали без предварительного введения веществ. Физиологический раствор вводили с целью оценки влияния болевого воздействия процедуры инъекции на поведение животных. Доза афобазола была подобрана на основании данных литературы о достоверном увеличении двигательной активности мышцей в «открытом поле» при введении афобазола в дозе 0.5-5 мг/кг [Серединин с соавт., 1998]. В нашей работе доза афобазола была пересчитана для кролика с учетом его видовой чувствительности, массы и поверхности тела [Freireich et al., 1966].

Мусцимол гидробромид (SIGMA) вводили локально в центральное или базальное ядра миндалина в дозе 0.1 мкг в 1 мкл физиологического раствора в каждую сторону. Введение осуществлялось с помощью шприца Гамильтона объемом на 10 мкл в течение 90-120 с через канюлю диаметром 30G. За несколько дней до опытов с введением мусцимола проводили вживление по стереотаксическим координатам направляющих для канюль в миндалину, которые представляли собой иголки от шприцов с внешним диаметром 0.6 мм. Канюля выступала из направляющей на 1-2 мм. В контрольных опытах через канюли вводили физиологический раствор в объеме 1 мкл. Поведенческое

тестирование проводили через 10 мин от начала введения мусцимола в миндалину.

Подготовка животных к эксперименту и процедура вживления электродов и канюль. Перед экспериментами с регистрацией нейронов или локальным введением мусцимола кроликов в течение 4-6 дней приучали лежать на станке с мягкой фиксацией бинтами за лапы. За несколько дней до вживления электродов или канюль кроликов скальпировали под местной анестезией (5 мл 2%-ного новокаина). Через несколько дней после скальпирования животным стереотаксически проводили вживление электродов или канюль в центральное и базальное ядра миндалины по координатам $P=-1(-2,5)$, $L=5-5,5$, $H=13-14$ и $P=-1(-2,5)$, $L=5-5,5$, $H=15-16$ соответственно [Буреш с соавт., 1962]. Для общего наркоза вводили внутривенно хлоралгидрат (300 мг/кг). Перед вживлением в черепе животных просверливали отверстия диаметром 2 мм. Крепление электродов, канюль, разъемов на черепе осуществляли с помощью зубной пластмассы «Карбодент».

Регистрация и статистическая обработка импульсации нейронов. В опытах с применением эмоционально-значимых раздражителей проводили регистрацию активности нейронов центрального и базального ядер миндалины в симметричных точках в обоих полушариях. Для отведения активности нейронов использовали пластинки из 8 склеенных нихромовых полумикроэлектродов диаметром 50 мкм. Отведение было биполярное. Использовали 8-канальный миниатюрный предварительный усилитель с дифференциальным входом, который закрепляли на голове кролика. Для ввода активности нейронов в компьютер применяли аналого-цифровой преобразователь L-783 фирмы «L-Card» (Россия) с периодом опроса каждого канала 10 мкс. Анализировали отрезки записи активности нейронов длительностью 15-30 с. Импульсацию нейронов анализировали в трех состояниях: 1) в фоне у спокойно сидящего кролика, 2) во время и после активной ориентировочно-исследовательской реакции или безусловнорефлекторного отряхивания, 3) во время затаивания в ответ на действие раздражителей. Согласно данным литературы, реакция затаивания у крыс, мышей и кроликов является видоспецифической пассивно-оборонительной реакцией, отражающей появление страха [Жуков, 1997; Goosens, Maren, 2001; Blair et al., 2005; Jungling et al., 2008 и др.]. Импульсацию нейронов во время активно-оборонительных реакций (панические побежки, попытки вырваться, освободиться при подвешивании или надавливании), не анализировали ввиду малой длительности данных реакций и большого числа артефактов.

Статистическая обработка активности нейронов была проведена по программе «Neuron» (автор Павлов Ю.В). Из записи мультиклеточной активности по форме спайков выделяли активность отдельных нейронов (от 3 до 6), рассчитывали среднюю частоту разрядов, по общепринятой методике строили гистограммы автокорреляции (ГАК) и кросскорреляции (ГКК) [Perkel et al., 1967], а также гистограммы автокорреляции специально отобранных сопряженных разрядов [Павлова, 1990].

По одному и тому же отрезку строили гистограммы с бином 1, 2, 5, 10, 20, 30 мс и эпохами анализа соответственно 50, 100, 250, 500, 1000 и 1500 мс. Рассчитывали доверительные интервалы с уровнем значимости 0.99 как для узких (однобинных), так и для широких (двух - пятибинных) пиков и провалов.

Нейроны условно подразделяли на близлежащие, регистрируемые одним электродом, и взаимоудаленные, регистрируемые разными электродами в одном или разных полушариях мозга.

При анализе ГКК по форме, в соответствии с данными литературы [Moog et al., 1970], выделяли: 1) гистограммы с равновероятным распределением спайков, свидетельствующие об отсутствии корреляционных связей между разрядами; 2) гистограммы с широким центральным первичным пиком, свидетельствующие о влиянии общего источника; 3) гистограммы со смещенным относительно нуля первичным пиком (возбудительная связь между клетками); 4) с двумя смещенными пиками, располагающимися по разные стороны от нуля (две возбудительные связи между клетками в разных направлениях); 5) со смещенным пиком и «провалом», находящимися по разные стороны от нуля (тормозно-возбудительные связи); 6) с провалами (тормозные связи).

При наличии на ГАК нескольких повторяющихся пиков определяли частоту осцилляций разрядов, для этого рассчитывали усредненный интервал в мс между пиками ($T_{ср.}$) и частоту в Гц по формуле $1000:T_{ср.}$. При построении гистограмм распределения нейронов по частоте периодики их разрядов брали следующие границы для диапазонов частот: дельта – до 3.9 Гц, тета – 4.0-9.0 Гц, альфа – 9.1-13.0 Гц, бета – 13.1-30 Гц, гамма – 30.1-100 Гц. При описании активности нейронов правомочно выделять диапазоны частот, применяемые для анализа ЭЭГ, поскольку известно, что в основе медленноволновой активности мозга лежит алгебраическая сумма ВПСП и ТПСП, возникающих в нейронах головного мозга (в основном дендритах клеток) [Гусельников, 1976]. Согласно представлениям М.Н. Ливанова [Ливанов, 1972] скоррелированная работа взаимоудаленных клеток лежит в основе пространственной синхронизации суммарных потенциалов. Кроме того, выделение диапазонов частот позволяет проводить сравнение результатов, полученных в нашей работе по активности нейронов, с данными литературы об изменениях, наблюдаемых в ЭЭГ при сходных условиях.

При вторичной обработке результатов и при построении графиков пользовались стандартным пакетом программ STATISTICA 5.5 и 8.0. При сравнении процентных отношений использовали таблицы сопряженности 2×2 (непараметрическая статистика), применяли критерий χ^2 , различия считали достоверными при $p < 0.05$. Сравнение средней ширины пиков и провалов на ГКК проводили по t -критерию Стьюдента.

Морфологический контроль. После окончания опытов проводили морфологический контроль расположения кончиков отводящих электродов или канюль. Для этого мозг кроликов помещали в 15% раствор формалина. Срезы мозга изготавливали на замораживающем микротоме с последующей окраской по Нисслю.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В настоящей работе при имеющемся объеме выборки не было обнаружено достоверных различий во взаимодействии нейронов и характере импульсации клеток в базальном и центральном ядрах миндалины, поэтому при изложении все результаты по двум ядрам объединены. В работе представлены результаты, полученные на кроликах с точным попаданием электродов и кончиков канюль в центральное или базальное ядро миндалины.

Взаимодействие и характер импульсации нейронов миндалины кроликов при безусловном страхе, выражающемся в виде затаивания

В данной части работы проводилось сопоставление импульсации нейронов миндалины при различных состояниях кроликов: в фоне, при активных двигательных реакциях и затаивании. Всего у трех кроликов была проанализирована активность 502 нейронов миндалины и взаимодействие 609 пар близлежащих и 1175 пар взаимоотноудаленных нейронов, регистрируемых в одном полушарии при различных состояниях. Анализ работы отдельных нейронов при разных формах реакций на раздражители не выявил изменений, характерных для затаивания, ни по средней частоте разрядов, ни по форме их ГАК, ни по частоте осцилляций. В характере взаимодействия как близлежащих, так и взаимоотноудаленных нейронов миндалины, судя по процентному соотношению ГКК разной формы, также не было обнаружено различий при затаивании по сравнению со спокойным бодрствованием.

1. Анализ латентностей возбуждательных и тормозных связей между нейронами миндалины. Сопоставление латентностей связей при разных состояниях животных показало, что в случае близлежащих нейронов (рис. 1) при активных двигательных реакциях число возбуждательных связей в интервале от 200 до 250 мс достоверно увеличивалось по сравнению с фоном, а число тормозных связей с латентностью 50-200 мс возрастало. При затаивании число коротколатентных возбуждательных связей с задержками до 100 мс было больше, а число тормозных связей в интервале от 250 до 450 мс – меньше по сравнению с фоном. Соотношение числа коротколатентных (до 100 мс) возбуждательных и тормозных связей в фоне составляло 1.11, при активных двигательных реакциях 1.36, при затаивании 2.0, т.е. происходило относительное увеличение коротколатентных возбуждательных связей. Таким образом, для реализации активной или пассивной поведенческой реакции животного важен баланс между возбуждательными и тормозными звеньями сети нейронов миндалины. Полученные данные свидетельствуют, по-видимому, об увеличении при страхе возбудимости клеток нервной сети миндалины, связанных полисинаптическими возбуждательными связями. Это предположение находит подтверждение в литературе. Так, показано увеличение вызванных ответов и частоты разрядов нейронов при выработке условнорефлекторного страха [Applegate et al., 1982; Collins, Pare, 2000; Maren, 2000]. С помощью

методики ядерно-магнитного резонанса показана большая активация миндалины у людей при предъявлении лиц, выражающих страх, чем при предъявлении эмоционально положительно окрашенных стимулов [Whalen et al., 1998].

В ходе анализа распределения пиков и провалов на ГКК взаимоотношенных нейронов, регистрируемых в одном полушарии мозга, не было обнаружено достоверных отличий по временным закономерностям возбуждательных и тормозных связей при затаивании по сравнению с фоном.

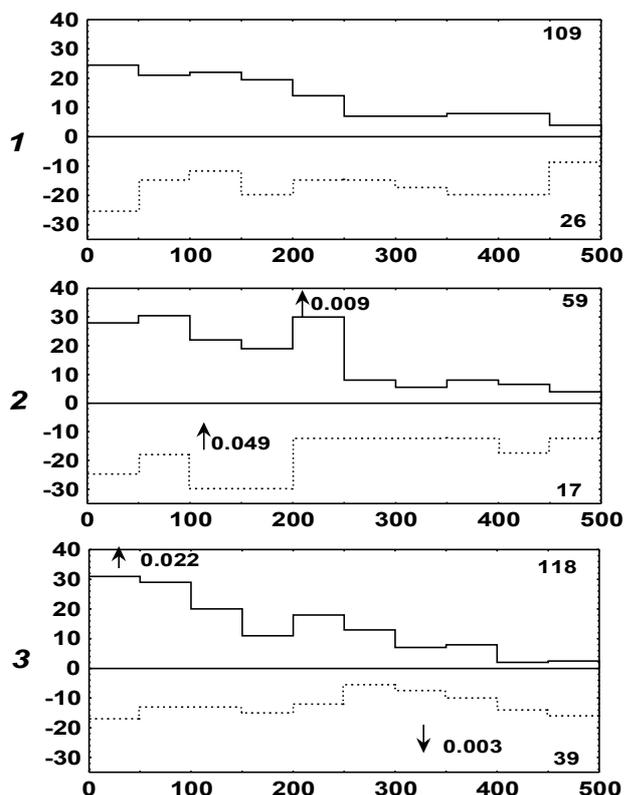


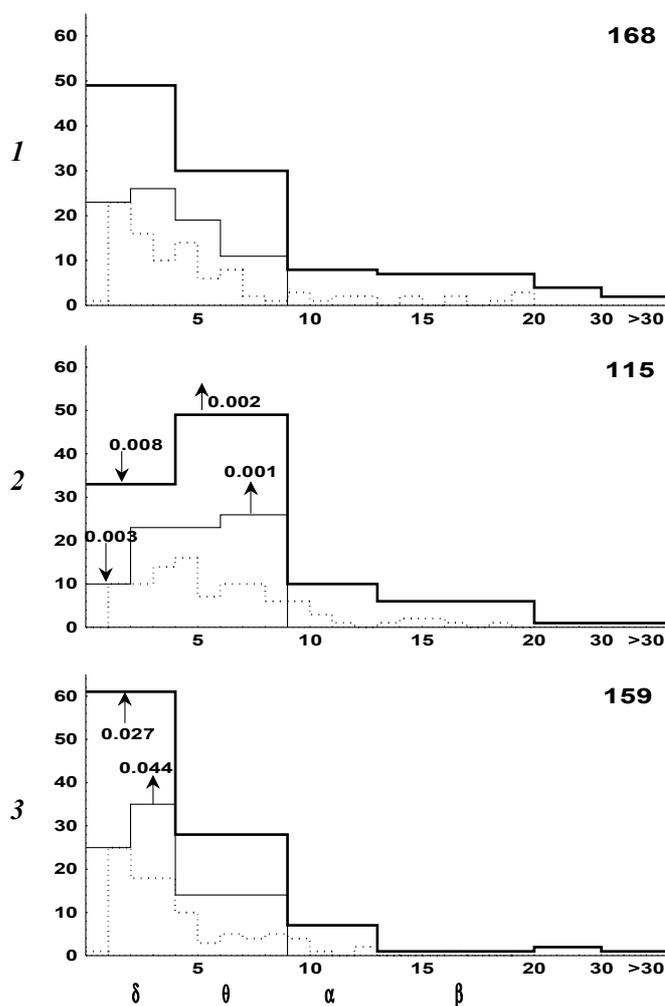
Рис. 1. Распределение смещенных пиков и провалов на ГКК импульсации близлежащих нейронов миндалины.

1 – при спокойном бодрствовании в фоне, 2 – при активных двигательных реакциях, 3 – при затаивании на стимулы. По горизонтали – время, мс, соответствует оси на ГКК. По вертикали – процент пиков (положительные значения, сплошная линия) или провалов (отрицательные значения, пунктирная линия) с данной задержкой от общего числа соответственно смещённых пиков (указано в правом верхнем углу) или провалов (указано в правом нижнем углу). Сплошные стрелки – достоверные изменения по критерию χ^2 при сравнении различных состояний с фоном, стрелка вниз – снижение числа, вверх – увеличение, число рядом – уровень достоверности (p).

2. *Периодика сопряженных разрядов в парах скоррелированно работающих нейронов.* Закономерности изменения частот были сходные для близлежащих и удаленных нейронов, поэтому на рис. 2 представлены суммарные данные. При активной двигательной реакции (2) по сравнению с фоном (1) число случаев появления частот дельта-диапазона в сопряженных разрядах уменьшалось (в основном за счет снижения в дельта1-диапазоне), а в тета-диапазоне увеличивалось (в основном за счет увеличения в тета1-диапазоне). Увеличение числа пар нейронов, взаимодействующих на частотах тета1-диапазона (6-9 Гц), связано, по-видимому, с осуществлением активного движения, поскольку появление данных частот происходит при произвольных движениях животных [Van Lier et al., 2003]. При затаивании (3) по сравнению с фоном (1) происходило достоверное увеличение числа последовательностей сопряженных разрядов с частотами, лежащими в дельта2-диапазоне.

Таким образом, при безусловном страхе, выражающемся в виде затаивания кролика в ответ на действие эмоционально-значимых раздражителей, происходили специфические изменения во взаимодействии

близлежащих нейронов миндалины: увеличивалось число коротколатентных (до 100 мс) возбуждательных связей, взаимодействие нейронов чаще, чем при других состояниях, осуществлялось на частотах дельта2-диапазона (от 2 до 4 Гц).



168 Рис. 2. Гистограммы распределения последовательностей сопряженных разрядов в парах нейронов миндалины в зависимости от частоты их периодичности. **115** 1 – при спокойном бодрствовании, 2 – при активных ориентировочно-исследовательских реакциях или отряхивании, 3 – при затаивании. По горизонтали – частота, Гц, диапазоны частот. По вертикали – процент нейронов с периодикой на данной частоте. Толстая сплошная линия – распределение по диапазонам, тонкая сплошная – по поддиапазнам, пунктирная – по частотам. Сплошные стрелки – достоверные изменения по критерию χ^2 при сравнении различных состояний с фоном, стрелка вниз – снижение числа, вверх – увеличение. Числа рядом со стрелками – уровень значимости (p). Цифры в верхнем правом углу гистограмм – число проанализированных пар нейронов. **159**

Взаимодействие нейронов миндалины и поведение кроликов при действии анксиолитика афобазола

Для того чтобы определить, являются ли перестройки, обнаруженные в работе нейронов миндалины при затаивании специфичными для данного состояния, было проведено сопоставление активности нейронов миндалины в норме и на фоне сниженного уровня тревожности и страха под влиянием анксиолитика афобазола.

1. *Влияние введения афобазола на поведение кроликов.* В «открытом поле» после введения афобазола (всего 31 кролик) по сравнению с физиологическим раствором (35 кроликов) у пассивных животных появлялись элементы агрессивного поведения в виде сильных ударов задними лапами о пол камеры, которые ранее встречались только у активных и среднеактивных кроликов, а у активных животных наблюдалось снижение числа пересеченных квадратов.

В «темно-светлой камере» на фоне введения афобазола (14 кроликов) по сравнению с физиологическим раствором (14 кроликов) у пассивных кроликов

наблюдалась тенденция к уменьшению латентного периода выглядываний, у активных животных увеличивалось время нахождения и двигательная активность в светлом отсеке.

Под влиянием введения афобазола при действии эмоционально-значимых раздражителей (13 кроликов) у активных животных происходило увеличение процента активных двигательных реакций при предъявлении громкого звука, в то время как у пассивных животных наблюдалось достоверное снижение процента затаиваний.

Таким образом, афобазол оказывал анксиолитическое влияние на поведение кроликов, о чем свидетельствовало уменьшение процента затаиваний при действии громкого звука, увеличение времени нахождения в светлом отсеке «темно-светлой камеры». Необходимо отметить некоторое активационное действие афобазола, о чем свидетельствовало увеличение агрессивных реакций у пассивных кроликов в «открытом поле» и увеличение активных двигательных реакций на эмоционально-значимые раздражители у активных кроликов. Эти данные согласуются с результатами клинических испытаний, которые показали, что в действии препарата преобладающими являются транквилизирующий и активирующий эффекты [Незнамов с соавт., 2001].

Во всех трех тестах влияние афобазола проявлялось только у кроликов крайних групп, причем под влиянием препарата у животных разных групп менялись различные поведенческие показатели. По характеру изменения поведения в «открытом поле» действие афобазола напоминало разнонаправленное влияние классических бензодиазепиновых транквилизаторов на животных с активной и пассивной стратегией поведения [Середенин с соавт., 1998].

2. Влияние введения афобазола на активность отдельных нейронов миндалины при действии эмоционально-значимых раздражителей.

Всего была проанализирована активность 926 нейронов в норме (на фоне введения физиологического раствора и без каких-либо веществ) и 770 при действии афобазола.

На фоне введения афобазола были обнаружены достоверные различия в частоте осцилляций одиночных нейронов по сравнению с нормой. В фоне при спокойном бодрствовании под влиянием афобазола увеличивалось число нейронов с осцилляциями в бета1-диапазоне частот (от 13 до 20 Гц), а при активной двигательной реакции на раздражители уменьшалось число нейронов с частотой осцилляций в тета-диапазоне (4-9 Гц). При затаивании в ответ на действие раздражителей не было выявлено достоверных различий между характером активности отдельных нейронов в норме и на фоне афобазола.

3. Влияние введения афобазола на временные закономерности возбуждательных и тормозных связей между близлежащими нейронами миндалины. Всего была проанализирована активность 954 пар нейронов в норме и 656 пар при действии афобазола. Анализ латентностей возбуждательных и тормозных связей между нейронами миндалины показал, что наиболее значимые изменения при введении афобазола по сравнению с нормой

происходили в распределении тормозных связей. В фоне достоверно увеличивалось число тормозных связей с задержками до 200 мс, при затаивании – от 250 до 350 мс. В ходе анализа распределения возбуждательных связей только при спокойном бодрствовании было выявлено увеличение числа возбуждательных связей с задержками до 100 мс и снижение с задержками от 300 до 450 мс под влиянием афобазола.

При действии афобазола происходили изменения в ширине провалов и пиков по сравнению с нормой, что может свидетельствовать об изменении силы и длительности взаимодействий. При действии афобазола средняя ширина провалов увеличивалась до 38.62 ± 3.7 мс ($p=0.026$), а средняя ширина пиков, наоборот, имела тенденцию к уменьшению (30.95 ± 1.6 мс, $p=0.075$) по сравнению с нормой (33.44 ± 2.7 мс и 32.88 ± 1.4 мс соответственно).

Таким образом, анксиолитический эффект в поведении на фоне системного введения афобазола коррелировал с увеличением длительности и изменением латентности тормозных связей между близлежащими клетками миндалины. В настоящее время в литературе придается большое значение пластичности тормозной системы миндалины в приобретении и угашении условнорефлекторного страха. Обнаружено, что при выработке Павловского условнорефлекторного страха происходило уменьшение возбудимости тормозных интернейронов миндалины, что, как полагают авторы, приводило к сдвигу синаптического баланса в сторону возбуждательных процессов [Szinyei et al., 2007]. Показано, что синапсы на интернейронах базолатеральной миндалины, могут вызывать NMDA-зависимые процессы потенциации и депотенциации, в свете чего ГАМКергические интернейроны рассматриваются как критическое место пластических перестроек при угашении страха [Royer, Pare, 2002].

4. *Влияние введения афобазола на периодику сопряженных разрядов в парах скоррелированно работающих нейронов.* При действии афобазола в состоянии спокойного бодрствования увеличивалась вероятность появления частот дельта2-диапазона во взаимодействии клеток. При активных двигательных реакциях на фоне афобазола вероятность появления частот дельта-диапазона также увеличивалась (в основном за счёт дельта1-диапазона), а частот тета-диапазона, наоборот, уменьшалась (в основном за счёт тета1-диапазона). При затаивании на фоне афобазола частоты осцилляций сопряженных разрядов были такими же, как при активной двигательной реакции. Увеличения частот дельта2-диапазона, характерного для затаивания в норме, не происходило. Интересно отметить, что на фоне введения как афобазола, так и бензодиазепиновых транквилизаторов в ЭЭГ многих структур мозга происходило уменьшение мощности тета-ритма или смещение частоты доминирующего пика в область более низких диапазонов частот, вплоть до дельта-частот [Богданов, Воронина, 1992; Крапивин, Хафизьянова, 1992; Чилингарян, Богданов, 1998; Кожечкин с соавт., 1999]. Многие авторы полагают, что замедление и уменьшение тета-активности мозга является основным проявлением анксиолитического эффекта препаратов. Таким образом, обнаруженное в нашей работе снижение выраженности частот тета-

диапазона и увеличение частот дельта–диапазона под влиянием афобазола свидетельствует, по-видимому, о снижении уровня активации миндалины, что, в свою очередь, проявляется в снижении уровня тревожности и страха. Подтверждает данное предположение тот факт, что, как показано с помощью методики ядерно-магнитного резонанса, при действии бензодиазепина лоразепама происходит дозозависимое ослабление активации миндалины [Arce et al., 2006].

5. Влияние введения афобазола на межполушарное взаимодействие нейронов. В работе были проанализированы ГКК импульсации нейронов, регистрируемых одновременно в правой и левой миндалине (рис. 3).

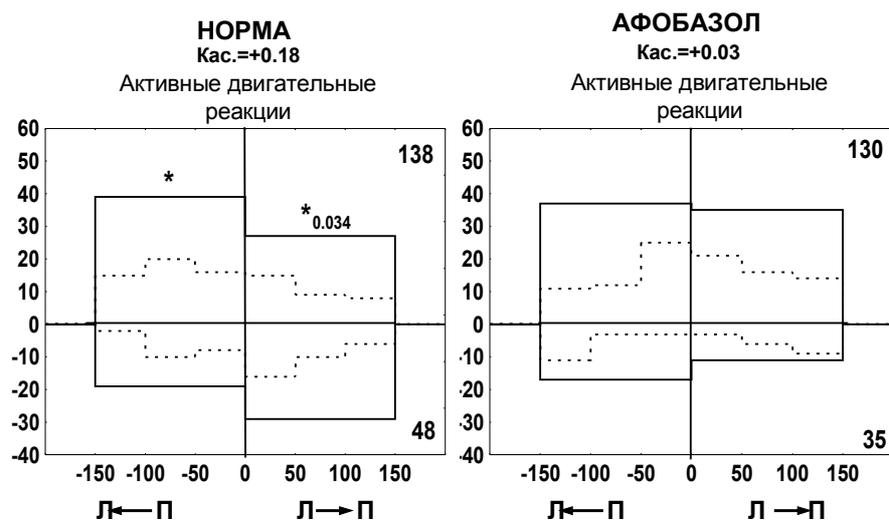


Рис. 3. Распределение смещенных пиков и провалов на ГКК импульсации нейронов миндалины при межполушарном взаимодействии в норме и на фоне афобазола. Правая часть гистограммы распределения отражает вероятность разрядов клеток правой стороны после разрядов клеток

слева, левая часть наоборот – вероятность разрядов клеток слева после разрядов нейронов справа. По горизонтали – время, мс, соответствует оси на ГКК. По вертикали – процент пиков (положительные значения) или провалов (отрицательные значения) с данной задержкой от общего числа соответственно смещенных пиков (указано в правом верхнем углу) или провалов (указано в правом нижнем углу). * - достоверные различия по критерию χ^2 в числе пиков на гистограммах распределения с задержками до 150 мс справа и слева. Кас. – коэффициент асимметрии в расположении пиков.

В норме при активной двигательной реакции на раздражители обнаружено достоверное преобладание вероятности разрядов нейронов левой стороны после разрядов клеток справа с задержками до 150 мс по сравнению с обратным порядком, т.е. наблюдалось доминирование правосторонних влияний над левосторонними. Коэффициент асимметрии (Кас.) в расположении пиков составлял +0.18. При действии афобазола достоверная разница в вероятностях разрядов клеток двух полушарий друг после друга с задержками до 150 мс исчезала (Кас.=+0.03). Эти данные свидетельствуют о том, что асимметрия была связана, по-видимому, с эмоциональным напряжением животных, возможно, отрицательного значения. Подтверждают это предположение данные литературы. При предъявлении кролику собаки по сравнению со спокойным бодрствованием возрастала ведущая роль нейронов правой миндалины за счет увеличения тормозных влияний от них на клетки левой миндалины [Павлова, 2005]. С применением метода ядерно-магнитного резонанса у людей показана

более сильная активация правой миндалины, чем левой при восприятии неприятных слов [Tabert et al., 2001], а также при проигрыше [Zalla et al., 2000].

Таким образом, изменения, происходящие в импульсации и взаимодействии нейронов миндалины на фоне введения афобазола, свидетельствуют о снижении уровня активации миндалины, что происходило, по-видимому, за счет перестройки и усиления тормозных связей между клетками и приводило к снижению уровня страха и тревожности у кроликов.

Таким образом, сопоставляя данные, полученные при регистрации активности нейронов миндалины в норме и при пониженном уровне тревожности и страха после системного введения анксиолитика афобазола, можно заключить, что для безусловного страха характерен, по-видимому, целый комплекс изменений в сетевой активности клеток миндалины: смещение баланса между возбуждательными и тормозными связями в сторону возбуждательных влияний, усиление выраженности частот дельта2-диапазона в осцилляциях нейронов, доминирование правосторонних влияний в межполушарном взаимодействии клеток миндалины.

Особенности взаимодействия нейронов миндалины и поведения активных и пассивных кроликов в эмоционально-негативных ситуациях.

В задачи данного раздела работы входили: 1) подбор групп активных и пассивных животных на основании тестирования их поведения и 2) сопоставление сетевой активности нейронов миндалины у активных и пассивных кроликов при действии эмоционально-значимых раздражителей.

1. Особенности поведения активных и пассивных кроликов. На основании количества квадратов, пересеченных за 10 мин в «открытом поле», 63 кролика были поделены на три группы: I группа – пассивные животные, пересекали менее 50 квадратов (49%); II группа – среднеактивные, пересекали от 50 до 100 квадратов (32%) и III группа – активные, более 100 квадратов (19%). Животные разных групп отличались и по ряду других показателей. Так, у активных кроликов по сравнению с пассивными животными были достоверно выше и другие показатели горизонтальной активности (число побежек, прыжков), а также вертикальной активности (число стоек, грызений), активно-оборонительного поведения (рытье), социального поведения (метки), груминга. Число уринаций и дефекаций также было больше у активных кроликов, чем у пассивных. В тоже время, такие показатели пассивно-оборонительного поведения как длительность затаивания и латентный период ухода из центра, у активных животных были выражены в меньшей степени, чем у пассивных. Среднеактивные кролики по поведенческим показателям занимали промежуточное положение между пассивными и активными животными.

Активные и пассивные животные отличались и по моторной асимметрии в «открытом поле». У пассивных животных коэффициент асимметрии в среднем был отрицательный и составлял -0.048, а у активных животных, наоборот – положительный +0.145. Это свидетельствовало о том, что у активных кроликов было относительно больше правых поворотов.

Сопоставление поведения 24 кроликов разных групп в «темно-светлой камере» показало, что активные кролики по сравнению с пассивными имели более короткий латентный период первого выхода и большую частоту выглядываний из темного отсека, а также больше времени проводили в светлом отсеке камеры.

Анализ поведения 22 кроликов при действии эмоционально-значимых раздражителей показал, что активные животные по сравнению с пассивными чаще двигались в ответ на виброакустическое раздражение ушных раковин, затаивались на меньшее время при подвешивании, а также характеризовались большей реактивностью дыхания при подвешивании и в ответ на виброакустическое раздражение ушных раковин.

Таким образом, можно заключить, что животные разных групп проявляли определенную стратегию поведения, сходную в разных тестах. Для пассивных животных во всех тестах было более свойственно проявление пассивно-оборонительного поведения (затаивания), а для активных – элементов активно-оборонительного или активно-исследовательского поведения.

2. *Временные закономерности возбудительных и тормозных связей между близлежащими нейронами миндалины.* Всего при разных состояниях у трех пассивных животных было проанализировано взаимодействие 450 пар нейронов, а у трех активных – 504 пары нейронов миндалины. Сопоставление распределения во времени возбудительных и тормозных связей у активных и пассивных кроликов показало, что у пассивных животных по сравнению с активными при активных двигательных реакциях и затаивании на раздражители наблюдался достоверно больший процент возбудительных связей со сравнительно небольшими задержками от 50 до 150 мс (рис. 4). Число

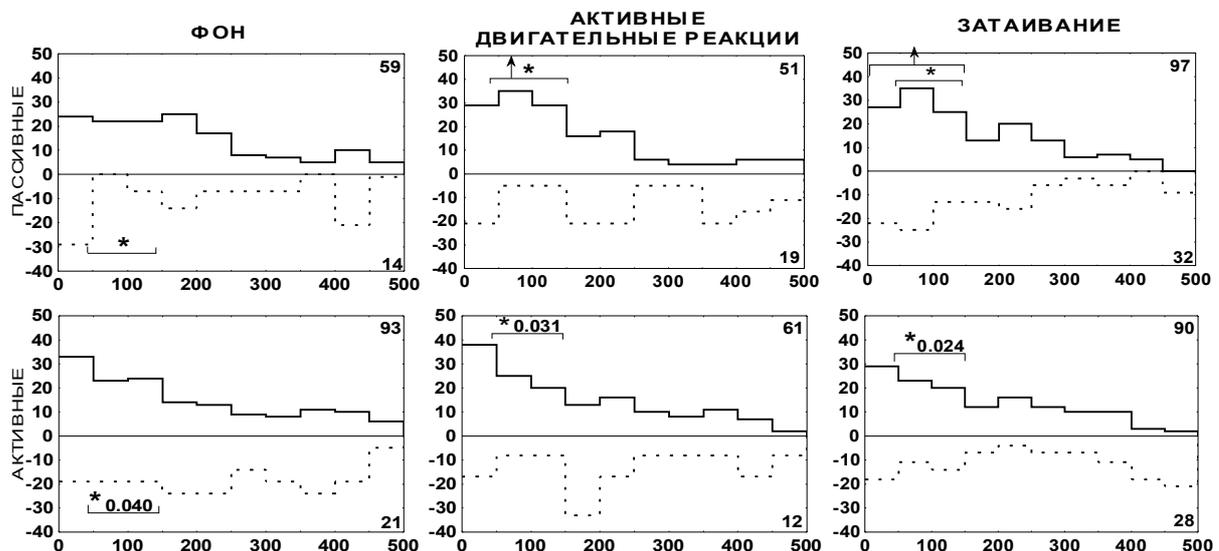


Рис. 4. Распределение смещенных пиков и провалов на ГКК импульсации близлежащих нейронов миндалины у пассивных и активных кроликов.

* - достоверные различия по критерию χ^2 между группами кроликов при сходных состояниях. Остальные обозначения как на рис. 1.

возбудительных связей с задержками до 150 мс у пассивных кроликов увеличивалось как при затаивании, так и активных двигательных реакциях на раздражители.

У пассивных кроликов по сравнению с активными в фоне отмечался меньший процент достаточно коротколатентных тормозных связей в интервале от 50 до 150 мс. Таким образом, у пассивных животных обнаружена большая реактивность и больший процент сравнительно коротколатентных возбудительных связей между близлежащими нейронами, чем у активных кроликов. В то же время у активных животных наблюдалось больше тормозных связей. У пассивных кроликов были усилены возбудительные, а у активных – тормозные межнейронные связи в миндалине.

3. Частота осцилляций сопряженных разрядов в парах скоррелированно работающих нейронов. Анализ частот взаимодействия близлежащих нейронов миндалины у активных и пассивных кроликов показал, что при затаивании у активных животных по сравнению с пассивными кроликами процент частот дельта-диапазона (в основном дельта-1 диапазона) был достоверно выше (рис. 5). Подобная тенденция наблюдалась и при активных двигательных реакциях.

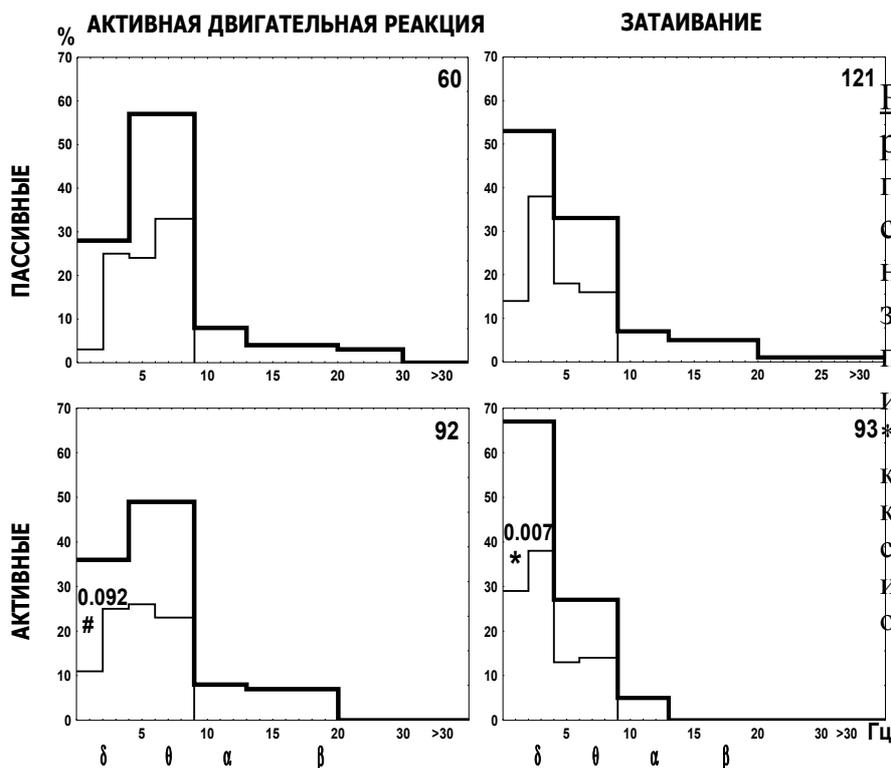


Рис. 5. Гистограммы распределения последовательностей сопряженных разрядов нейронов миндалины в зависимости от частоты их периодичности у активных и пассивных кроликов.

* - достоверные различия по критерию χ^2 между группами кроликов при сходных состояниях, # - тенденция к изменению. Остальные обозначения как на рис. 2

Таким образом, данные по частоте осцилляций сопряженных разрядов и о временных закономерностях возбудительных и тормозных связей у активных и пассивных кроликов, свидетельствуют, по-видимому, о более высоком уровне активации миндалины у пассивных животных по сравнению с активными кроликами в эмоционально-негативных ситуациях. Это предположение подтверждают данные литературы. В опытах на кошках было обнаружено, что животные с более выраженными оборонительными реакциями в ответ на угрожающий крик другой особи того же вида или предъявление крысы

характеризуются более высоким уровнем активации миндалины и вентромедиального гипоталамуса, чем животные с более низким уровнем оборонительного поведения [Adames, 1991].

4. *Межполушарное взаимодействие нейронов миндалины.* Анализ межполушарного взаимодействия клеток миндалины у кроликов с активной и пассивной стратегией поведения показал, что при активных двигательных реакциях на раздражители у пассивных животных наблюдалось достоверное преобладание вероятности разрядов нейронов левой миндалины после разрядов клеток правой миндалины с задержками до 150 мс по сравнению с обратным порядком следования импульсов, т.е. наблюдалось доминирование правосторонних влияний над левосторонними (рис. 6).

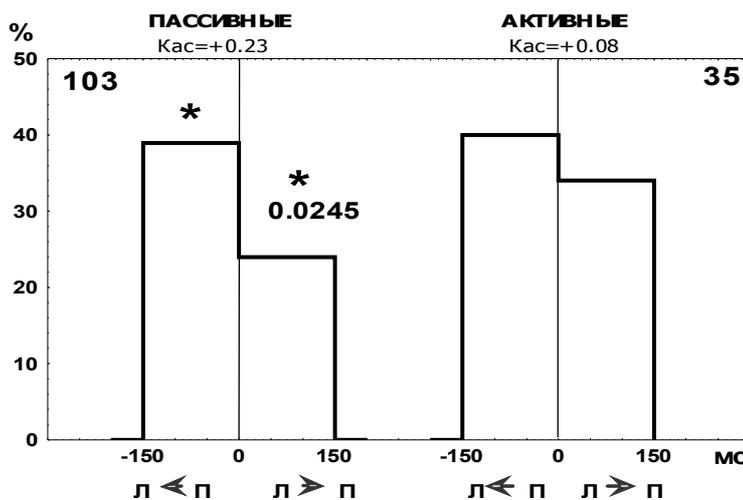


Рис. 6. Распределение смещенных пиков на ГКК импульсации нейронов миндалины при межполушарном взаимодействии клеток при активных двигательных реакциях в группе пассивных и активных кроликов. Обозначения как на рис. 3.

У активных животных асимметрии в межполушарном взаимодействии нейронов обнаружено не было. Таким образом, только для пассивных животных характерна межполушарная асимметрия во взаимодействии клеток правой и левой миндалины с доминированием правосторонних влияний над левосторонними, что, возможно, свидетельствует об их большем эмоциональном напряжении. Это предположение подтверждается данными литературы о более высоком уровне активации правой миндалины по сравнению с левой при отрицательных эмоциональных состояниях, как у животных, так и у человека [Павлова, 2005, Tabert et al., 2001, Vuilleumier et al., 2001 и др.].

Обращает на себя внимание некоторое сходство в сетевой активности нейронов миндалины в группе у пассивных кроликов и при реализации затаивания у всех животных в ответ на действие эмоционально-значимых раздражителей. В частности у пассивных животных, как и в случае затаивания наблюдается сравнительно большое число коротколатентных возбудительных связей. Эти данные свидетельствуют, по-видимому, о том, что сетевая активность нейронов миндалины у пассивных кроликов в значительной мере «настроена» для реализации затаивания, а пассивные кролики при многих экспериментальных ситуациях испытывали страх.

Кроме того, некоторые особенности взаимодействия нейронов миндалины, описанные у активных животных (преобладание частот дельта1-

диапазона во взаимодействии близлежащих нейронов, отсутствие асимметрии в межполушарном взаимодействии нейронов миндалины), наблюдались у кроликов на фоне введения анксиолитика афобазола. Эти данные свидетельствуют о том, что разный характер взаимодействия нейронов миндалины у пассивных и активных животных может быть связан с разным уровнем страха и, возможно, с различиями в функционировании ГАМКергической системы миндалины у разных групп животных.

Влияние локального введения в миндалину агониста ГАМК_A рецепторов мусцимола на поведение кроликов в эмоционально-негативных ситуациях

С целью проверки предположения о роли ГАМКергической системы миндалины для выбора стратегии поведения было проведено сопоставление поведения кроликов до и после локального введения в миндалину агониста ГАМК_A рецепторов мусцимола.

Канюли для аппликации вещества были вживлены в правую и левую миндалину 11 кроликам, из которых 6 были отнесены к группе пассивных, а 5 к группе активных животных. При обобщении результатов, полученных при право- и левосторонних введениях препаратов было обнаружено, что под влиянием мусцимола по сравнению с физраствором у всех кроликов происходило достоверное уменьшение вероятности затаиваний и активных двигательных реакций в ответ на действие громкого звука. В «темно-светлой камере» на фоне введения мусцимола достоверно уменьшалась частота выглядываний у всех животных, а также наблюдалась тенденция к уменьшению латентного периода первого выглядывания, преимущественно у пассивных кроликов.

Анализ поведения кроликов в «открытом поле» при действии мусцимола показал, что препарат оказывал слабое влияние на поведение кроликов в данном тесте, при этом незначительно увеличивалось число пересеченных квадратов на 1-2 минуте тестирования и их число снижалось на 5-10 минуте.

Таким образом, исходя из полученных данных, можно отметить, что мусцимол оказывал анксиолитический эффект на поведение кроликов, о чем свидетельствовало уменьшение вероятности затаиваний на громкий звук. Этот результат согласуется с данными литературы. Было показано, что билатеральная инактивация миндалины с помощью мусцимола нарушает замирание на условный сигнал, а также ослабляет ответ на предъявление безусловного сигнала при выработке условного страха [Blair et al., 2005]. Унилатеральное введение мусцимола в базолатеральную миндалину увеличивает время нахождения в открытых рукавах, а также частоту выходов в открытые рукава приподнятого крестообразного лабиринта, оказывая анксиолитический эффект [Moghaddam et al., 2008]. Обнаруженный в нашей работе наряду с анксиолитическим и седативный эффект мусцимола (снижение вероятности активных двигательных реакций громкий звук, уменьшение частоты выглядываний из темного отсека) можно объяснить исходя из данных

литературы, согласно которым $\alpha 1$ субъединица ГАМК_A рецептора опосредует седативный и амнестический эффект, в частности при действии бензодиазепинов [Kaufmann et al., 2003].

Нужно отметить, что препарат вызывал сходные изменения в поведении, как у активных, так и у пассивных кроликов.

При сопоставлении эффективности право- и левосторонних введений мусцимола в миндалину было обнаружено, что в «темно-светлой камере» частота выглядываний и процент времени выглядываний достоверно уменьшались только при правостороннем введении мусцимола в миндалину. При левостороннем введении препарата не было получено достоверных изменений в поведении кроликов. При действии эмоционально-значимых раздражителей вероятность затаиваний в большей степени уменьшалась при введении мусцимола в правую, а не левую миндалину. Однако вероятность движений в большей степени уменьшалась при введении мусцимола в левую, чем правую миндалину. Сопоставление эффективности право- и левостороннего введения мусцимола в миндалину при анализе поведения кроликов в «открытом поле» не выявило достоверных различий.

Таким образом, по ряду показателей правостороннее введение мусцимола в миндалину по сравнению с левосторонним более эффективно изменяет поведение животных. Это свидетельствует, по-видимому, о том, что повышенная активация правой миндалины играет существенную роль в поведении кроликов в эмоционально-негативных ситуациях. Наши данные подкрепляются некоторыми данными литературы. В опыте с выработкой оборонительного условного рефлекса с болевым подкреплением было показано, что при правостороннем введении мусцимола происходили большие изменения в поведении, по сравнению с левосторонним или билатеральным введением [Coleman-Mesches, McGaugh, 1995 b].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование поведения кроликов в «открытом поле», «темно-светлой камере» и при действии эмоционально-значимых раздражителей позволило выявить животных с предпочтением активной или пассивной стратегии поведения. Животные придерживались определенных стратегий поведения, сходных во всех трех тестах. В «открытом поле» у пассивных животных наблюдалась более низкая двигательная активность, в то же время длительность затаивания и латентный период ухода из центра у них были больше, чем у активных животных. При помещении в «темно-светлую камеру» пассивные кролики по сравнению с активными животными, реже выглядывали из темного отсека и меньше времени проводили в светлом отсеке, а при действии эмоционально-значимых раздражителей – реже проявляли активные реакции и затаивались на большее время. У пассивных животных во всех тестах наблюдалось преобладание реакций пассивно-оборонительного характера (затаивания), а у активных – элементов активно-оборонительного или активно-исследовательского поведения.

С помощью построения гистограмм кросскорреляции импульсации нейронов удалось обнаружить некоторые особенности взаимодействия близлежащих нейронов центрального и базального ядер миндалины у животных с активной и пассивной стратегией поведения. Так, у пассивных животных по сравнению с активными при действии эмоционально-значимых раздражителей происходило увеличение числа коротколатентных возбудительных связей, что свидетельствовало о большей реактивности миндалины. При межгрупповом сравнении у пассивных кроликов наблюдалось больше возбудительных межнейронных связей с латентностью от 50 до 150 мс, что указывало на увеличение числа сравнительно коротколатентных возбудительных связей между близлежащими нейронами миндалины. В то же время у активных животных наблюдалось больше тормозных связей со сравнительно небольшой латентностью от 50 до 150 мс. Кроме того, взаимодействие нейронов у пассивных кроликов по сравнению с активными реже осуществлялось на частотах дельта1- и тета2-диапазонов. Приведенные данные свидетельствуют о том, что для пассивных животных характерен более высокий уровень активации миндалины по сравнению с активными кроликами.

Интересно отметить и тот факт, что у животных с пассивной стратегией поведения обнаружена асимметрия в межполушарном взаимодействии нейронов с правосторонним доминированием, которая отсутствовала у активных животных. Исходя из этого, можно предположить более высокий уровень эмоционального напряжения у пассивных животных.

Для ответа на вопрос, связаны ли различия, обнаруженные во взаимодействии нейронов миндалины у животных с разной стратегией поведения, с разным уровнем страха, представляют интерес результаты исследования взаимодействия нейронов миндалины при разных формах поведенческих реакций на эмоционально-значимые раздражители в норме и при действии анксиолитика афобазола. Было обнаружено, что только при страхе, выражающемся в виде затаивания, увеличивалось число коротколатентных (до 100 мс) возбудительных связей, соотношение коротколатентных возбудительных и тормозных связей смещалось в сторону преобладания возбудительных связей, возрастало число пар клеток, взаимодействующих на частотах дельта2-диапазона (от 2 до 4 Гц). Эти данные свидетельствуют, по-видимому, об увеличении при страхе возбудимости клеток миндалины. Во время активных двигательных реакций на раздражители, при отсутствии страха, происходило увеличение числа длиннолатентных возбудительных и коротколатентных тормозных связей, что, по-видимому, свидетельствовало об уменьшении возбудимости ядер миндалины и, возможно, об усилении работы тормозных интернейронов.

Следует особо отметить некоторое сходство между взаимодействием нейронов у пассивных животных и особенностями сетевой активности нейронов миндалины при затаивании у всех кроликов. Как у пассивных животных, так и при реализации реакции затаивания соотношение между возбудительными и тормозными связями смещалось в сторону возбудительных.

На поведенческом уровне влияние афобазола проявлялось в уменьшении страха, о чем свидетельствовало увеличение времени нахождения животных в светлом отсеке «темно-светлой камеры», уменьшение вероятности затаивания при действии эмоционально-значимых раздражителей. При системном введении анксиолитика афобазола наблюдалось увеличение длительности и изменение латентностей тормозных взаимодействий между нейронами миндалины, увеличение вероятности взаимодействия нейронов на частотах дельта-диапазона, что, в свою очередь, свидетельствовало о снижении уровня активации миндалины. Кроме того, на фоне введения афобазола исчезала асимметрия в межполушарном взаимодействии нейронов миндалины. Следует отметить, что данные изменения взаимодействия нейронов при действии анксиолитика сходны с особенностями работы нейронов миндалины у активных животных. На основании этого можно предположить большую силу тормозных взаимодействий у активных животных по сравнению с пассивными кроликами. На основании полученных фактов можно сделать заключение, что для реализации активной или пассивной стратегии поведения животного важен баланс между возбуждательными и тормозными звеньями сети нейронов миндалины.

В свете полученных результатов и на основании данных литературы возникло предположение о важной роли тормозной ГАМКергической системы мозга и в частности миндалины в реализации активной и пассивной стратегии поведения. С целью проверки данного предположения была проведена серия экспериментов с локальным введением в миндалину агониста ГАМК_A рецепторов мусцимола. Локальное введение в миндалину мусцимола гидробромида приводило к уменьшению страха у кроликов, о чем свидетельствовало уменьшение вероятности затаиваний при действии громкого звука, а также тенденция к увеличению числа пересеченных квадратов на 1-2 минутах тестирования в «открытом поле». Мусцимол оказывал сходное влияние на активных и пассивных животных.

С учетом данных о межполушарной асимметрии во взаимодействии нейронов миндалины, обнаруженной у пассивных животных, было проведено сопоставление влияния на поведение животных право- или левостороннего введения мусцимола в миндалину. В результате было обнаружено, что частота выглядываний и процент времени выглядываний из темного отсека, а также вероятность затаиваний при действии эмоционально-значимых раздражителей в большей степени уменьшались при введении мусцимола в правую миндалину. Это позволяет говорить о том, что большую роль в реализации поведения животных в эмоционально-негативных ситуациях играет активность правой миндалины, чем левой.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о важной роли миндалины для реализации активной и пассивной стратегии поведения. Причем выявлено, что большее влияние на поведение животных оказывает активность правой миндалины. Немаловажное значение для реализации поведения кроликов в эмоционально-негативных ситуациях имеет тормозная ГАМКергическая система миндалины.

ВЫВОДЫ

1. На основании тестирования поведения животных в «открытом поле», «темно-светлой камере» и при действии эмоционально-значимых раздражителей были выделены группы кроликов с активной и пассивной стратегией поведения. Животные разных групп показали определенные стратегии поведения, сходные в различных эмоционально-негативных ситуациях. У пассивных животных во всех тестах наблюдалось преобладание реакций пассивно-оборонительного характера (затаивания), а у активных – элементов активно-оборонительного или активно-исследовательского поведения.

2. Выявлены различия во взаимодействии нейронов центрального и базального ядер миндалины у активных и пассивных кроликов. У пассивных кроликов по сравнению с активными животными при действии эмоционально-значимых раздражителей между близлежащими нейронами чаще встречались возбудительные связи и реже тормозные связи с латентностью от 50 до 150 мс, а взаимодействие нейронов реже осуществлялось на частотах дельта1- и тета2-диапазона. У пассивных кроликов выявлена асимметрия в межполушарном взаимодействии нейронов с доминированием правосторонних влияний над левосторонними. Полученные данные свидетельствуют о том, что у пассивных кроликов уровень активации миндалины выше, чем у активных животных.

3. Обнаружены специфические изменения во взаимодействии нейронов центрального и базального ядер миндалины при безусловном страхе, выражающемся в виде затаивания, которые не наблюдались при спокойном бодрствовании и активных двигательных реакциях. При затаивании наблюдалось увеличение числа коротколатентных (до 100 мс) возбудительных связей и уменьшение числа длиннолатентных (250-450 мс) тормозных связей. Взаимодействие нейронов чаще, чем при других состояниях, осуществлялось на частотах дельта2-диапазона (от 2 до 4 Гц). По ряду показателей обнаружено некоторое сходство в сетевой активности нейронов миндалины в группе у пассивных кроликов и при реализации затаивания в ответ на действие эмоционально-значимых раздражителей.

4. Системное введение анксиолитика афобазола (1 мг/кг) оказывало анксиолитическое и активирующее действие на поведение кроликов в эмоционально-негативных ситуациях, при этом характер изменений поведения кроликов отличался у активных и пассивных животных.

5. Показано, что при системном введении афобазола происходили перестройки во взаимодействии нейронов миндалины. При действии препарата увеличивалась длительность тормозных взаимодействий между близлежащими нейронами миндалины. Взаимодействие близлежащих нейронов чаще осуществлялось на частотах дельта-диапазона (до 4 Гц) и реже на частотах тета-диапазона. Обнаруженная в норме асимметрия в межполушарном взаимодействии клеток миндалины исчезала на фоне введения афобазола. Полученные данные свидетельствуют о снижении уровня активации миндалины при действии афобазола. Сетевая активность нейронов миндалины при действии афобазола была сходной с таковой у активных кроликов.

6. Локальное введение агониста ГАМК_A рецепторов мусцимола (0.1 мкг/1 мкл) в центральное или базальное ядра миндалины оказывало анксиолитическое и седативное влияние на поведение как активных, так и пассивных животных. По ряду показателей более эффективные изменения в поведении наблюдались при введении мусцимола в правую миндалину по сравнению с левой. Полученные данные свидетельствуют об участии ГАМКергической системы миндалины в реализации поведения кроликов в эмоционально-негативных ситуациях.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статья

1. Рысакова М.П., Павлова И.В. Взаимодействие и характер импульсации нейронов миндалины кроликов при безусловном страхе, выражающемся в виде затаивания. Журн.высш.нервн.деят. 2009. 59 (6): 691-704.

Тезисы

1. Рысакова М.П. Взаимодействие нейронов миндалины кроликов при безусловном страхе, возникающем в ответ на эмоционально-значимые раздражители. XVI Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов". МГУ. 2009. С. 217.
2. Рысакова М.П., Павлова И.В. Взаимодействие и характер импульсации нейронов миндалины кроликов при безусловном страхе, выражающемся в виде затаивания. Пятый Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии». Судак, Украина, 2009. С. 192-193
3. Павлова И.В., Рысакова М.П. Участие миндалины в проявлении активной или пассивной стратегии поведения в эмоционально-негативных ситуациях. XXI съезд физиологического общества им. И.П. Павлова. Калуга, 2010. С. 462.
4. Павлова И.В., Рысакова М.П. Взаимодействие нейронов неокортекса, гиппокампа и миндалины у животных с активной и пассивной стратегией поведения в эмоционально-негативных ситуациях. Шестой Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии». Судак, Украина, 2010. С. 228-229.
5. Рысакова М.П., Павлова И.В. Активность нейронов миндалины кроликов в эмоционально-негативных ситуациях в норме и при действии анксиолитика афобазола. Шестой Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии». Судак, Украина, 2010. С. 228-229.
6. Рысакова М.П. Взаимодействие нейронов миндалины у кроликов с активной и пассивной стратегией поведения в эмоционально-негативных ситуациях. XVII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов". МГУ. 2010. С. 240.