



## Паттерны активаций субрегионов гиппокампа в ситуациях аверсивного и неаверсивного научения

*А.И. Булава, Ю.В. Гринченко*

Исследованы паттерны активаций субрегионов гиппокампа в ситуациях аверсивного и неаверсивного научения. В качестве клеточного маркера нейрональной активности был использован транскрипционный фактор (ТФ) c-Fos. Выявлен разброс в распределении Fos-позитивных клеток среди структур гиппокампа: в поле CA1 обнаружено снижение уровня экспрессии ТФ c-Fos в группе обучения активному избеганию по сравнению с группой пищедобывательного поведения. Обе группы обучения как аверсивного, так и неаверсивного демонстрируют значимое повышение уровня активации всех исследованных структур гиппокампа по сравнению с группой интактного контроля.

**Ключевые слова:** c-Fos, стресс, научение, гиппокамп.

In this work we studied patterns of neural activity during active avoidance task. Transcription factor c-Fos was using as a cellular marker of learning-related neuronal activity. We have found different involvement of hippocampal fields CA1 and CA3. Decrease in the number of c-Fos positive neurons was found in the hippocampal field CA1 during more stressful active avoidance learning as compared to operant learning.

**Keywords:** c-Fos, stress, learning, hippocampus.

Важную роль в формировании физиологических адаптаций в стрессогенных условиях отводят гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе и глюкокортикоидным гормонам [6]. В гиппокампе обнаружено самое большое число низкоаффинных глюкокортикоидных (ГР) и высокоаффинных минералокортикоидных рецепторов (МР), локализованных, в основном, в полях CA1 и CA3. Вследствие этого гиппокамп относят к надгипоталамическим центрам регуляции активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового механизма [3]. В многочисленных работах, демонстрирующих важную роль гиппокампа в формировании навыков избегания и адаптации к стрессогенным воздействиям, авторы предполагают, что вовлечение гиппокампа в формирование аверсивных форм поведения связано с фиксацией обстановочных стимулов [9]. При этом указывается необходимость одновременного предъявления условного и безусловного раздражителей [5]. В таких работах, как правило, моделируют острый стресс в задачах пассивного или активного избегания. Контрольной группой в большинстве из них выступает интактный контроль или группа «покоя». Другой «блок» экспериментальных работ указывает на важную роль гиппокампа в механизмах памяти и научения в целом. В этих работах используют различные неаверсивные модели обучения и также сравнивают их с группами интактного контроля.

© Авторы, 2017

© ООО «Издательство «Радиотехника», 2017

*Александра Игоревна  
Булава –*

*мл. науч. сотрудник, лаборатория  
психофизиологии им. В.Б. Швыркова,  
Институт психологии Российской  
академии наук (Москва)*

E-mail: ai.bulava@mail.ru

*Юрий Васильевич  
Гринченко –*

*к.м.н., ст. науч. сотрудник, лаборатория  
психофизиологии им. В.Б. Швыркова,  
Институт психологии Российской  
академии наук (Москва)*

E-mail: nyugrink@psychol.ras.ru



Цель работы – сравнение паттернов активаций субрегионов гиппокампа в ситуациях аверсивного и неаверсивного научения.

### Методы, материалы, обсуждение

В качестве клеточного маркера нейрональной активности был использован транскрипционный фактор (ТФ) c-Fos. Крыс Long-Evans обучали инструментальному пищедобывательному поведению, затем их разделили на две группы: одних обучали активному избеганию электрического тока (Stress Learning,  $n = 4$ ) [8], других – пищедобывательному поведению (Appetitive Learning,  $n = 5$ ), отличному от общего для обеих групп навыка, полученного в начале эксперимента. Жи-

вотные группы интактного контроля (Control,  $n = 5$ ) были взяты из домашней клетки непосредственно перед декапитацией. С мозга каждого животного было получено по 20 фронтальных криостатных срезов толщиной 20 мкм на 20 координатных уровнях – от  $-1,72$  до  $-4,44$  мм от Брегмы. Срезы исследуемых областей мозга брали в соответствии с данными стереотаксического атласа мозга крысы [10]. Fos-позитивные клетки выявляли иммуногистохимическим методом в соответствии со стандартным стрептавидин-биотин-пероксидазным протоколом, используя первичные поликлональные кроличьи антитела (1:2500, Ab-5, «Calbiochem», USA). Для клеточной визуализации использовалась световая микроскопия с последующей оцифровкой при 4-кратном

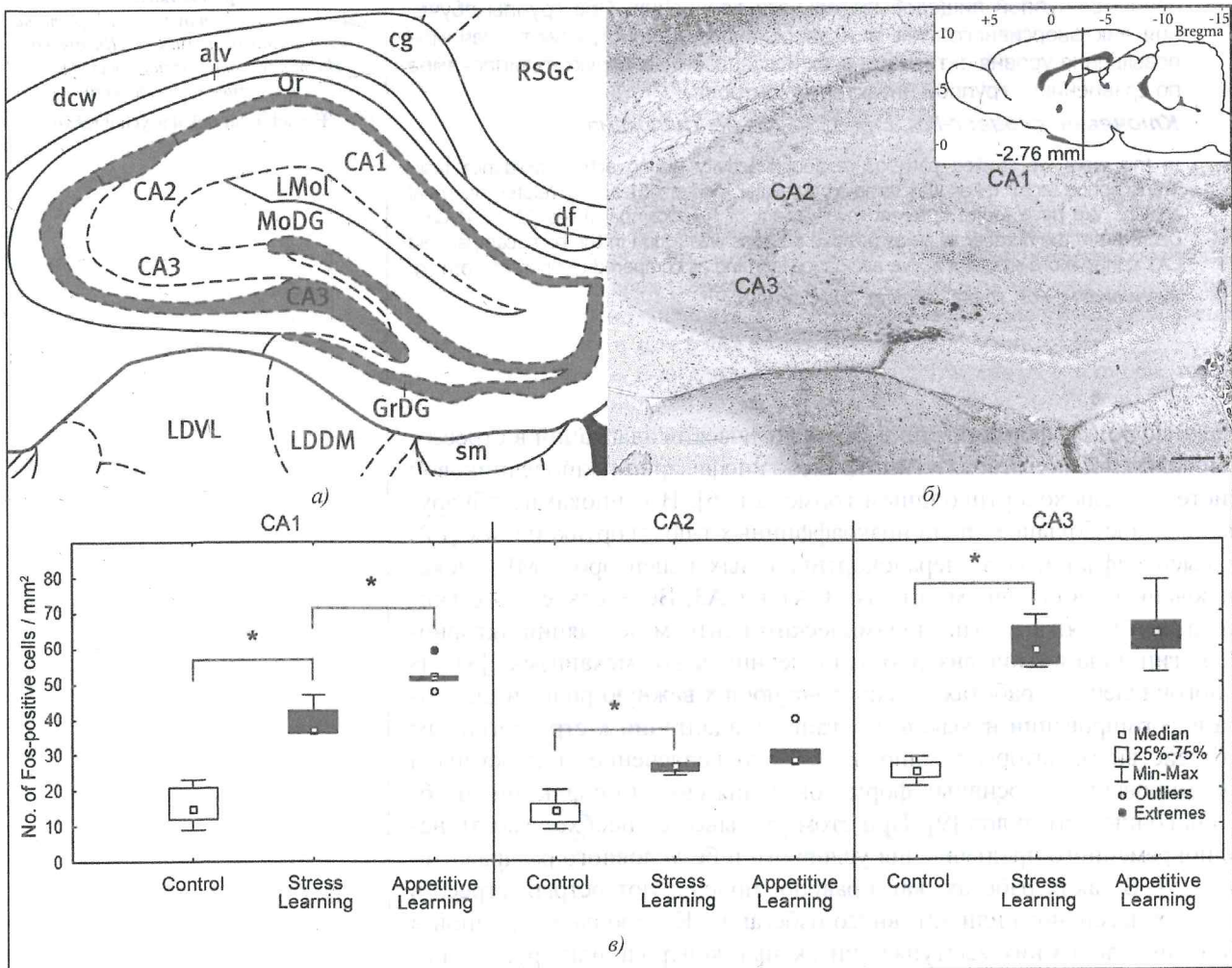


Схема мозга крысы, исследуемые зоны гиппокампа: CA1, CA2, CA3 [10] (а); репрезентативная микрофотография среза мозга экспериментального животного на уровне  $-2,76$  мм от Брегмы. Scale Bar = 200  $\mu m$  (б); число Fos-позитивных клеток в  $1 mm^2$  в зонах гиппокампа CA1/CA2/CA3 у животных экспериментальных и интактной групп. \*Mann-Whitney U test  $z = -2,327$ ;  $p = 0,019$ ; Effect size  $r = 0,77$  (в)

увеличении на микроскопе Olympus BX-50 с помощью высокоразрешающей CCD-камеры (Nikon DMX-1200) (рисунок, а). Конвертированные в черно-белый 8-битный формат изображения (рисунок, б) анализировали в морфометрической программе Image Pro Plus 3.0. (Media Cybernetics Inc., USA). Определяли число и топографию распределения Fos-позитивных клеток в полях CA1/CA2/CA3 гиппокампа. Все статистические процедуры были выполнены с помощью пакета программ Statistica 10 (StatSoft, USA).

В результате выявлен разброс в распределении Fos-позитивных клеток среди структур гиппокампа (рисунок, в): в поле CA1 было выявлено снижение уровня экспрессии ТФ с-Fos в группе обучения активному избеганию по сравнению с группой пищедобывательного поведения; обе экспериментальные группы значимо отличаются от группы интактного контроля (Mann-Whitney U test  $z = -2,327$ ;  $p = 0,019$ ; Effect size  $r = 0,77$ ).

Психоэмоциональный стресс дестабилизирует когнитивные процессы, такие как научение и память, и может приводить к нейродегенеративным изменениям [4]. Например, при исследовании эффектов хронического стресса выявлено уменьшение общего размера гиппокампа [2, 7], что в свою очередь является одним из ранних диагностических признаков при болезни Альцгеймера.

Экспериментально было установлено, что активация МР сопровождается увеличением активности кальциевых каналов в нейронах поля

CA1, но дополнительная активация ГР, характерная для острого стресса, подавляет активность поля CA1 [1]. Это соответствует полученному в нашем эксперименте снижению уровня экспрессии с-Fos в группе обучения активному избеганию, но только по сравнению с группой пищедобывательного поведения.



● Обе группы обучения (как аверсивного, так и неаверсивного) демонстрируют значимое повышение уровня активации всех исследованных структур гиппокампа по сравнению с группой интактного контроля. Полученные паттерны активности структур гиппокампа предполагают дальнейшее изучение участия гиппокампа в формировании новых поведенческих адаптаций, также используя модели аверсивного и неаверсивного научения в рамках одного эксперимента.

Изучение особенностей научения, протекающего в стрессогенных условиях, делает возможным понимание корково-подкорковых взаимодействий, определяющих индивидуальные организменные и поведенческие изменения в условиях психоэмоционального стресса.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекта № 15-06-99697) в рамках исследовательской программы Ведущей научной школы РФ (НШ-9808.2016.6).

## Литература

1. De Kloet E.R., Oitzl M.S., Joels M. Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? // Trends in Neurosciences. 1999. V. 22. № 10. P. 422–426.
2. Gilbertson M.W., Shenton M.E., Ciszewski A., Kasai K., Lasko N.B., Orr S.P., Pitman R.K. Smaller hippocampal volume predicts pathologic vulnerability to psychological trauma // Nat Neurosci. 2002. V. 5. № 11. P. 1242–1247.
3. Herman J.P., Ostrander M.M., Mueller N.K., Figueiredo H. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2005. V. 29. № 8. P. 1201–1213.
4. Kim J.J., Diamond D.M. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories // Nat. Rev. Neurosci. 2002. V. 3. № 6. P. 453–462.
5. LaBar K.S., Disterhoft J.F. Conditioning, awareness, and the hippocampus // Hippocampus. 1998. V. 8. № 6. P. 620–606.
6. Swaab D.F., Bao A.M. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration // Lucassen Ageing Res Rev. 1992. V. 4. № 2. P. 141–194.
7. Teicher M.H., Anderson C.M., Polcari A. Childhood maltreatment is associated with reduced volume in the hippocampal subfields CA3, dentate gyrus, and subiculum // Proc Natl Acad Sci USA. 2012. V. 109. № 9. P. E563–E572.
8. Булава А.И., Гринченко Ю.В. Транскрипционная активность с-Fos в головном мозге крыс в задаче пассивного избегания после обучения инструментальному пищедобывательному навыку // Биомедицинская радиоэлектроника. 2015. № 4. С. 25–26.
9. Умрюхин А.Е. Нейромедиаторные гиппокампальные механизмы стрессорного поведения и реакций избегания // Вестник новых медицинских технологий (электронное издание). 2013. № 1. С. 55.
10. Watson C., Paxinos G., et al. Chemoarchitectonic atlas of the rat brain. 2009. P. 319. 375 p.

Поступила 15 декабря 2016 г.



# Patterns of hippocampal activity during appetitive and aversive learning

© Authors, 2017

© Radiotekhnika, 2017

**A.I. Bulava**

*Junior Research Scientist, V.B. Shvyrkov Laboratory of Neuronal Bases of Mind,  
Institute of Psychology of Russian Academy of Sciences (Moscow)*

E-mail: ai.bulava@mail.ru

**Y.V. Grinchenko**

*Ph.D. (Med.), Senior Research Scientist, V.B. Shvyrkov Laboratory of Neuronal Bases of Mind,  
Institute of Psychology of Russian Academy of Sciences (Moscow)*

E-mail: nyugrink@psychol.ras.ru

Psycho-emotional stress disturbs cognitive processes such as learning and memory, and leads to neurodegenerative changes [4]. It is widely accepted that the hypothalamic-pituitary-adrenal system plays a critical role in the stress response [6]. Action of corticosterone in the brain are mediated by glucocorticoid receptors (GR) and mineralocorticoid receptors (MR). The highest MR expression was found in the hippocampal fields CA1 and CA3. Activation of MR in the hippocampal CA1 area results in considerable excitatory hippocampal output. Activation of GR, after acute stress, generally depresses the CA1 hippocampal output [1]. Chronic stress negatively correlated with the hippocampal volume [2; 7]. In this work, we studied patterns of neural activity during active avoidance task. At the beginning, we trained animals (Long-Evans rats) to perform food-acquisition operant behavior. Then we trained rats in two different ways: an active avoidance task or an operant bar-pressing task. Fos protein served as a cellular marker of neuronal activity during the second learning. Immunohistochemical detection of Fos-positive neurons was performed in accordance to streptavidin-biotin-peroxidase protocol. Distribution and number of Fos-positive neurons of hippocampal fields (CA1/CA2/CA3) was analysed. The number of Fos-positive neurons was higher in both experimental groups than in intact rats. We have found different involvement of hippocampal fields CA1 and CA3. Decrease in the number of c-Fos positive neurons was found in the hippocampal field CA1 during more stressful active avoidance learning as compared to operant learning (Mann-Whitney U test  $z=-2.327$ ;  $p=0.019$ ; Effect size  $r=0.77$ ).

**This study was supported by RFBR (grant # 15-06-99697) and is performed within the research programme of one of the Leading Scientific Schools of Russian Federation (9808.2016.6).**

## REFERENCES

1. De Kloet E.R., Oitzl M.S., Joels M. Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? // Trends in Neurosciences. 1999. V. 22. № 10. P. 422–426.
2. Gilbertson M.W., Shenton M.E., Ciszewski A., Kasai K., Lasko N.B., Orr S.P., Pitman R.K. Smaller hippocampal volume predicts pathologic vulnerability to psychological trauma // Nat Neurosci. 2002. V. 5. № 11. P. 1242–1247.
3. Herman J.P., Ostrander M.M., Mueller N.K., Figueiredo H. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2005. V. 29. № 8. R. 1201–1213.
4. Kim J.J., Diamond D.M. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories // Nat. Rev. Neurosci. 2002. V. 3. № 6. P. 453–462.
5. LaBar K.S., Disterhoft J.F. Conditioning, awareness, and the hippocampus // Hippocampus. 1998. V. 8. № 6. P. 620–606.
6. Swaab D.F., Bao A.M. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration // Lucassen Ageing Res Rev. 1992. V. 4. № 2. P. 141–194.
7. Teicher M.H., Anderson C.M., Polcari A. Childhood maltreatment is associated with reduced volume in the hippocampal subfields CA3, dentate gyrus, and subiculum // Proc Natl Acad Sci USA. 2012. V. 109. № 9. P. E563–E572.
8. Bulava A.I., Grinchenko Ju.V. Transkripcionnaya aktivnost' c-Fos v glavnom mozge kry's v zadache passivnogo izbeganiya posle obucheniya instrumental'nomu pishhedob'yvatel'nomu navy'ku // Biomeditsinskaya radioelektronika. Radiotekhnika. 2015. № 4. S. 25–26.
9. Umyuxin A.E. Nejromediatorny'e gippokampal'nye mexanizmy' stressornogo povedeniya i reakczij izbeganiya // Vestnik novy'x mediczinskix texnologij (e'lektronnoe izdanie). 2013. № 1. S. 55.
10. Watson C., Paxinos G., et al. Chemoarchitectonic atlas of the rat brain. 2009. P. 319. 375 p.