

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ПСИХОЛОГИИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК



на правах рукописи

Горкин Александр Георгиевич

Фиксация индивидуального опыта поведения в нейронной активности

Специальность: 03.03.06 – нейробиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени доктора биологических наук

научный консультант:
доктор психологических наук, профессор
Александров Юрий Иосифович

Москва, 2021 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	5
Словарь основных терминов работы	6
ВВЕДЕНИЕ	8
Актуальность и степень разработанности темы исследования.....	8
Цели и задачи	11
Научная новизна	13
Теоретическая и практическая значимость	15
Методология и методы исследования.....	15
Положения, выносимые на защиту	16
Степень достоверности и апробация результатов	18
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	20
1.1. Разнообразные формы связи спайковой активности нейронов с поведением.....	20
1.1.1. Рецептивные поля нейронов проекционных структур, вовлеченных в поведение....	20
1.1.2. Связь активности нейронов с аспектами поведения, такими как цели, мотивация, движения и местоположение в пространстве.....	22
1.1.3. Поведенческая специализация нейронов корковых структур мозга.....	29
1.1.4. Специфика лимбической коры в отношении связи нейронной активности с поведением.....	35
1.1.5. Данные о специфической и неспецифической активности специализированных нейронов.....	37
1.2. Динамика нейронной активности в различных моделях обучения.....	40
1.2.1. Динамика активности нейронов при выработке условных рефлексов и их переключения.....	41
1.2.2. Динамика активности нейронов при «экстренном» обучении в пиццедобывательном поведении.....	46
1.2.3. Динамика активности нейронов «места» гиппокампа при перемещении животного между разными средами.....	47
1.2.4. Гипотеза о вовлечении «молчащих» нейронов в фиксацию приобретаемого поведения.....	48
1.3. Сравнение перестроек нейронной активности в раннем онтогенезе и при обучении взрослого организма.....	51
1.4. Возможные физиологические механизмы формирования поведенческой специализации нейронов.....	53

1.4.1. Долговременная потенция синапсов – претендент на физиологический механизм долговременной памяти.....	55
1.4.2. Рецепторное обеспечение долговременной потенции глутаматовых синапсов.....	57
1.4.3. Участие гибели клеток в процессах клеточной дифференциации в онтогенезе и гипотеза о вовлечении клеточной гибели в системогенез у взрослых.....	58
Резюме обзора литературы и задачи исследования.....	60
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	63
2.1. Методики регистрации нейронной активности в цингулярной коре в инструментальном пищедобывательном поведении у кроликов и крыс.....	63
2.1.1. Устройство экспериментальной клетки. Методика обучения инструментальному пищедобывательному поведению. Особенности выбранной модели пищедобывательного поведения.....	64
2.1.2. Применение разных последовательностей формирования этапов инструментального пищедобывательного поведения.....	68
2.1.3. Методы острой регистрации активности одиночных нейронов цингулярной коры кроликов в поведении.....	72
2.1.4. Методы острой регистрации активности одиночных нейронов ретроспленальной коры крыс в поведении.....	74
2.1.5. Методика реконструкции субъективного индивидуального опыта животных.....	76
2.1.6. Методика идентификации актов разнообразных форм поведения в экспериментах по хронической регистрации нейронной активности тетрами в цингулярной коре крыс. Модификация экспериментальной клетки.....	80
2.1.7. Методика регистрации тетрами в сессиях формирования пищедобывательного поведения.....	84
2.1.8. Методика выявления отношений систем поведенческих актов в структуре памяти индивида при регистрации хронически вживленными электродами.....	88
2.2. Методика регистрации нейронов обезьян при выполнении разнообразных поведенческих задач.....	90
2.2.1. Методика регистрации нейронов первичной слуховой коры обезьян при выполнении инструментальной задачи.....	90
2.2.2. Особенности экспериментов с параллельной регистрацией активности нейронов слуховой коры и электростимуляцией вентральной зоны покрышки.....	102
2.3. Методика формирования долговременной потенции субкуло-цингулярного тракта у свободно подвижных крыс.....	107
2.3.1. Взаимная локализация стимулирующих и регистрирующих электродов и параметры стимуляции.....	107
2.3.2. Применение блокаторов разных глутаматергических рецепторов в экспериментах с электростимуляцией субкуло-цингулярного тракта.....	110
2.3.3. Регистрация спайковой активности нейронов цингулярной коры в экспериментах с электростимуляцией субкуло-цингулярного тракта.....	111
2.4. Методика регистрации мозговой активности и клеточной гибели в процессе и после сублетальной общей ишемии мозга крыс.....	112
2.4.1. Имплантация стимулирующих и регистрирующих электродов и регистрация активности мозга в процессе ишемической операции и после восстановления.....	112
2.4.2. Методика временной общей ишемии мозга путем двухсосудистой окклюзии каротидных артерий в гипобарических условиях.....	114
2.4.3. Методика регистрации ЭЭГ во время ишемической операции.....	117
2.4.4. Параметры стимуляции для изучения динамики зависимости вызванных электростимуляцией потенциалов от времени после сублетальной глобальной ишемии	

мозга, параметры стимуляции для формирования долговременной потенции после ишемии.....	117
2.4.5. Методика определения плотности живых клеток в отделах гиппокампа и контроля расположения электродов.....	119
2.5. Методы статистической обработки экспериментальных данных.....	121
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	121
3.1. Результаты острой регистрации активности нейронов цингулярной коры в сформированном инструментальном пищедобывательном поведении кроликов.....	121
3.1.1. Стабильность связи активности нейронов с этапами инструментального пищедобывательного поведения.....	121
3.1.2. Зависимость паттерна активности связанных с поведением нейронов от движений животного, достигаемых результатов, истории обучения животного этому поведению.....	131
3.1.3. Реконструкция субъективного индивидуального опыта животных по активности специализированных нейронов цингулярной коры.....	143
3.1.4. Различия в активности популяции ретроспленальных нейронов на разных стадиях консолидации инструментального навыка у крыс.....	155
3.1.5. Сравнение паттернов активности популяций нейронов ретроспленальной коры крыс у разных индивидов и в разном возрасте.....	160
3.1.6. Общее обсуждение результатов острой регистрации нейронной активности в пищедобывательном поведении.....	179
3.2. Результаты хронической регистрации нейронов цингулярной коры при формировании инструментального пищедобывательного поведения крыс.....	183
3.2.1. Изменение поведения в сессиях обучения с регистрацией нейронной активности.....	183
3.2.2. Динамика нейронной активности связанной с формируемыми актами во время и после первых реализаций этих актов.....	185
3.2.3. Изменение паттерна активности нейронов в инструментальном пищедобывательном поведении в сессиях формирования новых актов поведения.....	196
3.2.4. Активность специализированных нейронов в разных формах поведения и реконструкция отношений в структуре индивидуального опыта.....	200
3.2.5. Активность корковых нейронов в ситуации потери результативности ЦИПП.....	205
3.2.6. Обсуждение результатов регистрации нейронов в ЦИПП хронически вживленными электродами.....	210
3.3. Результаты регистрации нейронов первичной слуховой коры обезьян при выполнении инструментальной задачи.....	228
3.3.1. Эффекты потокового восприятия звуковой сцены при разных отношениях звуковых и зрительных потоков сигналов.....	228
3.3.2. Активность популяции нейронов слуховой коры в инструментальных задачах с разным значением звуков.....	235
3.3.3. Активность первичной слуховой коры при стимуляции структур среднего мозга.....	246
3.3.4. Обсуждение результатов экспериментов по регистрации активности первичной слуховой коры на обезьянах.....	261
3.4. Результаты экспериментов по формированию долговременной потенции синапсов субикуло-цингулярного тракта.....	263
3.4.1. Возможность формирования истинно долговременной моносинаптической потенции вызванных электростимуляцией ВП на синапсах субикуло-цингулярного тракта у взрослых крыс.....	263

3.4.2. Эффекты аппликации блокаторов разных типов глутаматовых рецепторов на вызываемые электростимуляцией ВП и протекание долговременной потенциации в цингулярной коре крыс.....	266
3.4.3. Вызванная спайковая активность цингулярных нейронов при электростимуляции субикуло-цингулярного тракта.....	271
3.4.4. Обсуждение результатов экспериментов по электростимуляции субикуло-цингулярного тракта.....	279
3.5. Результаты исследования динамики вызванных электростимуляцией ответов в разных отделах гиппокампа во время и после общей сублетальной ишемии мозга.....	281
3.5.1. Динамика клеточной гибели в поле СА1 гиппокампа после сублетальной общей ишемии мозга.....	281
3.5.2. Зависимость выраженности клеточной гибели от реального времени прекращения кровоснабжения мозга.....	284
3.5.3. Динамика вызванных ответов на электростимуляцию в поле СА1 гиппокампа после ишемии мозга.....	287
3.5.4. Динамика вызванных ответов на электростимуляцию в зубчатой фасции гиппокампа после сублетальной общей ишемии мозга.....	294
3.5.5. Результаты тетанической стимуляции входных путей поля СА1 и зубчатой фасции в дни, последующие за сублетальной общей ишемией мозга.....	296
3.5.6. Обсуждение результатов экспериментов по сублетальной ишемии мозга крыс и изменений пластичности нейронов гиппокампа.....	301
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	303
ВЫВОДЫ.....	307
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	308

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЦИПП – циклическое инструментальное пищедобывательное поведение
РК – ретроспленальная кора
ЭК – эффективная кормушка
ЭП – эффективная педаль
НЭК – неэффективная кормушка
НЭП – неэффективная педаль
Н – «новые» нейроны
Д – нейроны «движения»
НС – нейроны с неустановленной специализацией
СИО – структура индивидуального опыта
К – кормушка
П – педаль
Р - результат
Ц – поведенческий цикл

ВП – вызванный потенциал

лВП – локальный вызванный потенциал

ЭВП – потенциал, вызванный электрораздражением

ВО – время ответа

АВ – аудио-визуальная

В – визуальная

Д – движение, компонент инструментального поведения обезьян

З – звук, компонент инструментального поведения обезьян

В – вода, компонент инструментального поведения обезьян

ЗВ, ДЗВ, ЗДВ, ДЗДВ – разные поведенческие инструментальные задачи, составленные из выше указанных компонентов

АНВ – асинхрония начала вспышки

АНТ – асинхрония начала тона

РХВ – рабочая характеристика восприятия

ПСГ – постстимульная гистограмма

МРТ – магнито-резонансная томография

ВТО – вентральная зона покрышки

СН – черная субстанция

КЯ – красное ядро

РФСМ – ретикулярная формация среднего мозга

МСЗ – медианные среднеквадратичные значения

ИД – интерквартильный диапазон

СЦТ – субикуло-цингулярный тракт

ДП – долговременная потенция синапсов

ЭЭГ – электро энцефалограмма.

Словарь основных терминов работы:

Поведенческий акт – элементарное взаимодействие индивида со средой, дающее полезный приспособительный результат. Операционально он может быть определен как отрезок континуума поведения индивида, соответствующий реализации функциональной системы поведенческого акта, от момента достижения результата предыдущего акта до момента достижения результата данного акта.

Функциональная система поведенческого акта – интеграция элементов мозга и тела различной морфологической принадлежности, которые своей активностью взаимодействуют достижению полезного приспособительного результата.

Элемент индивидуального опыта – функциональная система единичного поведенческого акта, сформированная в ситуации обучения на определенном этапе онтогенеза.

Компонент индивидуального опыта – феноменологическое понятие, обозначающее конкретный акт или группу последовательных актов, которые многократно реализуются совместно, либо несколько однотипных актов со сходными результатами. Для компонента опыта, включающего несколько поведенческих актов, предполагается наличие у них одного предшественника, являвшегося элементом индивидуального опыта.

Поведенческая специализация нейрона (или упрощенно нейронная специализация) – принадлежность нейрона одной функциональной системе поведенческого акта (конкретного онто- или филогенетического возраста), феноменологически проявляющаяся в такой организации потока спайковой активности конкретного нейрона, при которой наблюдается обязательная активация нейрона при реализации определенного поведенческого акта или группы актов (см. компонент индивидуального опыта).

Активация нейрона – повышение средней частоты импульсного разряда нейрона при реализации конкретного компонента индивидуального опыта на 50% по сравнению со средней частотой активности в остальном поведении.

Специфический акт – (для организации активности отдельного нейрона) - поведенческий акт, относительно которого специализирован конкретный нейрон и в котором обязательно наблюдается его активация. В случае феноменологической специализации нейрона относительно компонента опыта таких актов может быть несколько.

Неспецифический акт – (для организации активности отдельного нейрона) - любой поведенческий акт любой формы поведения за исключением специфического.

Специфическая активность нейрона – активация нейрона при реализации поведенческого акта, относительно которого данный нейрон специализирован.

Неспецифическая активность нейрона – активность специализированного нейрона вне времени реализации его специфического поведенческого акта. Либо активность нейрона с неустановленной специализацией в зарегистрированных поведенческих актах.

Паттерн неспецифической активности – поактовое распределение средних частот активности конкретного специализированного нейрона в неспецифических поведенческих актах. Для нейронов с неустановленной специализацией – то же для всех зарегистрированных поведенческих актов.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Данная работа проведена в рамках исследования глобальной проблемы: приобретение нового опыта в результате обучения, его фиксация в индивидуальной памяти и использование в поведении. В рамках естественно-научного подхода к этой проблеме приобретение нового опыта связывается с изменением функционирования головного мозга, а его реализация со структурой памяти индивида, зафиксированной на субстрате головного мозга. Соответственно, общая проблема конкретизируется в проблему обеспечения мозгом приобретения нового поведения в результате обучения и формирования структуры памяти, которая позволит этот опыт использовать в последующем поведении.

С появлением теории функциональных систем П.К. Анохина (1968, 1978), которая выступает в качестве «концептуального моста» между физиологией и психологией стало возможным исследовать динамику опыта субъекта по объективным показателям активности мозга, таким как спайковая активность нейронов и энцефалограмма. Начиная с открытия Хьюбелом и Визелем феномена специфических рецептивных полей нейронов зрительной системы (Hubel D., Wiesel H., 1959, 1962), за что им впоследствии была присуждена Нобелевская премия, расширяется количество структур мозга, нейроны которых демонстрируют специфичность своей импульсной активности в отношении выделяемых исследователями аспектов поведения организма. За счет сопоставления активности нейронов с поведением организма появилась возможность изучения субъективного явления, т.е. присущего субъекту и скрытого от непосредственного наблюдения, такого, как индивидуальный поведенческий опыт организма.

Проблема обучения признается важной в нейробиологии и физиологии высшей нервной деятельности (Латанов А.В., 2018). В силу ключевой роли нервной системы в приобретении нового индивидуального опыта изучение нейронных основ обучения является необходимым для понимания, как закономерностей самого процесса обучения, так и протекания уже сформированного поведения и деятельности. Вскрытие новых закономерностей обучения на нейронном уровне позволит глубже понять этот процесс и более эффективно решать проблемы обучения в школе и профессиональной подготовки.

В течение длительного времени в физиологии и смежных науках, нейробиологии и психологии, господствовали ассоцианистские взгляды на обучение, т.е. обучение рассматривалось как процесс образования новых связей между стимулами и реакциями, и поэтому поведение рассматривалось как цепь рефлексов на стимулы. Такой подход к обучению сформулирован И.П. Павловым: «Учение об условных рефлексах бесспорно

утвердило в физиологии факт временной связи, всевозможных... как внешних, так и внутренних раздражений с определенными единицами деятельности организма...» (Павлов И.П., 1951). Под этими единицами деятельности организма подразумевались безусловные рефлексы, которые являются врожденными и генетически детерминированными. То есть весь поведенческий репертуар организма оказывался в соответствии с таким подходом неизменным на протяжении жизни. Как справедливо отмечает К.В. Судаков: «Рефлекторный принцип при всей его огромной значимости не смог удовлетворительно объяснить многие проявления поведения животных и человека. На основе рефлекторного принципа оказалось трудно объяснить механизмы активной целенаправленной деятельности животных в естественной среде обитания...» (Судаков К.В., 1997, с. 31). В связи с развитием системного подхода рефлекторный подход критиковался как с методологических так и конкретно-научных позиций (Беритов И.С., 1947, Ломов Б.Ф., 1984, Швырков В.Б., 1986, Александров Ю.И., 2005, Marler P., Terrace H., 1984, Johnston T.P., 1981 и др.). В связи с этим отмечалась необходимость разработки новой общей теории обучения (Gleitman, 1984). Появление целого ряда новых подходов к обучению и новых теорий таких как, например, экологического подхода (Johnston T.P., 1981), инструктивно-селективной (Eccles J.C., 1977), селективной (Changeux J. et al., 1973, 1984) и ряда других теорий обучения наглядно отразило эту потребность.

Многими исследователями созревание в онтогенезе и обучение взрослого организма рассматриваются как два совершенно разных процесса. В ходе созревания продемонстрирована специализация нервных клеток, например, хорошо изученная специализация элементов зрительной коры в раннем онтогенезе (Grobstein P. et al., 1973, 1975, Mathers L. et al., 1974 и др.). У взрослого же организма обучение с этих позиций сводится к образованию ассоциаций и временных связей, т.е. пластических перестроек между уже имеющимися элементами опыта. Однако, наряду с несомненной пластичностью нервной системы взрослого организма, продемонстрирована для нейронов и определенная стабильность свойств, приобретаемых в результате обучения. Так еще Дж. Рэнком (1973) была продемонстрирована стабильная во времени специализация гиппокампальных нейронов относительно поведенческих актов, как врожденных, так и сформированных у взрослого животного. Кроме того было обнаружено, что искусственно сформированные рецептивные поля нейронов кошки могут быть обнаружены в зрительной коре через 1,5 года после формирования (Spinelly D., Hirsh H., 1972). Это позволило предположить, что у взрослого организма существует процесс, сходный со специализацией нейронов в онтогенезе. В то же время в раннем онтогенезе есть выраженная специфика, например, роль уровня сенсорного притока (Раевский В.В. и др., 1997, Раевский В.В., 2002).

В серии исследований проведенных в лаборатории В.Б. Швыркова в 1983-1988 годах была продемонстрирована специализация нейронов разных отделов головного мозга относительно отдельных поведенческих актов, сформированных при обучении животных в экспериментальной клетке. Эти результаты дополнили и конкретизировали показанную ранее связь активности нейронов разной морфологической принадлежности с поведением (Ranck J., 1973, 1975, O'Keefe J., 1976, 1979 и др.). На основании этих исследований В.Б. Швырковым был сформулирован принцип системоспецифичности нейрона, обосновывающий принадлежность нейрона к одной конкретной функциональной системе (Швырков В.Б., 1987). Вся активность нейрона согласно этому принципу отражает реализацию и актуализацию данной системы. В случае принадлежности нейрона функциональной системе целостного поведенческого акта при сопоставлении спайковой активности такого нейрона с отдельными актами поведения выявляются поведенческие специализации нейронов. В том же случае, если нейрон принадлежит системе, которая по отношению к системе поведенческого акта является подсистемой, активность таких нейронов в поведении наблюдается во многих поведенческих актах, которые вовлекают в свое обеспечение соответствующую подсистему. Полученные в этой серии исследований данные вместе с данными других авторов свидетельствуют в пользу длительного (вплоть до всей жизни) существования поведенческой и соответственно системной специализации нейронов. Данная работа, базируясь на изложенных выше представлениях, была посвящена ***изучению формирования в обучении специализированной спайковой активности нейронов; выявлению факторов, определяющих паттерн активности специализированных нейронов в поведении; синаптических механизмов, которые могли бы обеспечивать постоянство поведенческой специализации нейронов; выявлению возможной роли селективной клеточной гибели в изменении функционирования мозга.***

Достаточно общепринятым в настоящее время является представление о том, что при обучении след памяти формируется сначала в гиппокампальной формации, а потом перемещается в структуры новой коры (Squire L.R., 1987). В наших предыдущих исследованиях было показано, что значительная часть нейронов цингулярной коры вовлекается в обеспечение реализации циклического пищедобывательного поведения, сформированного обучением животного в экспериментальной клетке (Горкин А.Г., 1988). Одним из основных путей связи гиппокампа с корой больших полушарий является субикуло-цингулярный тракт, пластические способности синапсов которого на нейронах цингулярной коры были недостаточно изучены (Vogt B.A., Gabriel M., 1991). Также неизвестно, какова динамика включения цингулярных нейронов в обеспечение процесса формирования нового поведения. Изучению этих вопросов наряду с изучением связи

активности нейронов цингулярной коры с формируемым в экспериментальной ситуации поведением и была посвящена эта работа. Упомянутые выше особенности цингулярной коры делают ее одной из наиболее оптимальных областей мозга для поиска ответов на вопросы в рамках общей цели данного исследования. Кроме того, так как поведенческие акты реализуются обще организменными функциональными системами, включающими в свои интеграции элементы различной морфологической принадлежности, то результаты, полученные для нейронов цингулярной коры могут быть экстраполированы на нейроны других структур мозга с учетом временных рамок их дифференциации.

К моменту проведения наших экспериментальных исследований появились ранее недоступные методы длительной регистрации хронически вживленными электродами активности корковых нейронов в свободном поведении, а также методы формирования длительных перестроек синаптической эффективности у свободно подвижных животных. Это сделало возможным исследование закономерностей фиксации и использования приобретенного в научении индивидуального опыта и закономерностей его фиксации на субстрате головного мозга, включая физиологические механизмы на системном и клеточном уровне.

ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

Цели:

Сформулировать теоретическое представление о вовлечении корковых нейронов в процесс формирования поведенческого акта у взрослого организма и о факторах, определяющих условия его последующих реализаций.

Выявить проявления в спайковой активности нейронов коры головного мозга отношений функциональных систем поведенческих актов разных форм поведения.

Определить способы реконструкции скрытой от непосредственного наблюдения структуры индивидуального опыта в паттернах спайковой активности популяции корковых нейронов.

Проанализировать возможное участие физиологических механизмов долговременных перестроек функционирования синапсов в процессах формирования нейронных специализаций и составляющих структуры индивидуального опыта.

Выяснить, как патологические процессы, вызывающие гибель нейронов, меняют способность выживших клеток к вовлечению в процессы научения.

Проверить сформулированное В.Б. Швырковым положение о системоспецифичности нейрона (выдвинутое на основе сопоставления нейронной активности с небольшим количеством актов в простых поведенческих циклах в рамках одной формы поведения) за счет сопоставления активности нейронов идентифицированных специализаций с расширенным множеством актов поведенческого репертуара животного.

Гипотезы исследования:

Часть популяции корковых нейронов в результате научения новому поведенческому акту становятся специализированными относительно этого акта и эта специализация длительно сохраняется неизменной.

Распределение спайковой активности специализированного нейрона в неспецифических (т.е. всех поведенческих актах за исключением того, относительно которого нейрон специализирован) поведенческих актах является закономерным и структурированным в соответствии с факторами отношений элементов индивидуального опыта.

Временные и точностные характеристики поведения связаны с дифференцированностью паттерна активности отдельных нейронов в популяции клеток ретроспленциальной коры.

В паттерне спайковой активности популяции нейронов ретроспленциальной коры крысы фиксированы проявления индивидуальных особенностей истории научения.

Целостная структура индивидуального опыта проецируется на нейроны всех морфологических отделов головного мозга, что проявляется в связи активности нейронов разных областей коры больших полушарий с этапами сформированной обучением поведенческой задачи.

В структурах коры головного мозга, где при научении взрослого индивида специализируются нейроны относительно приобретаемых актов (например, ретроспленциальная кора у крыс или лимбическая кора у кроликов), присутствует повышенная способность к изменениям синаптической эффективности при тетаническом раздражении входящих аксонов по сравнению с корковыми структурами, завершившими дифференциацию на более ранних стадиях онтогенеза.

Для достижения целей решались следующие задачи:

1. Выявить перестройки спайковой активности нейронов, связанные с формированием новой функциональной системы поведенческого акта и обеспечивающие

переход от пробных реализаций этой системы к ее фиксации в виде компонента дефинитивного поведения.

2. Выяснить, какие нейроны (по критерию связи их активности с поведением) являются предшественниками клеток, специализированных относительно сформированных в обучении функциональных систем новых поведенческих актов.

3. Проанализировать по паттерну неспецифической активности специализированных нейронов закономерности вовлечения этих клеток в системы других поведенческих актов в рамках одной инструментальной задачи.

4. Выявить закономерности вовлечения нейронов, специализированных относительно актов разных форм поведения, в реализацию других актов той же и других форм поведения животного. На основании этого реконструировать и описать отношения, которые связывают в структуре индивидуальной памяти системы поведенческих актов из разных форм поведения животного.

5. Выявить проявления индивидуальных особенностей связи активности популяций нейронов с однотипными поведенческими актами при исполнении сходных форм поведения разными животными.

6. Сравнить формы вовлечения в обеспечение поведения нейронов первичных сенсорных и ассоциативных структур коры больших полушарий, как областей, в которых нейроны специализированы относительно элементов опыта разного онтогенетического возраста.

7. Выяснить, какие процессы на синаптическом уровне могут быть связаны с формированием поведенческой специализации нейрона.

8. Выяснить, какие изменения синаптической пластичности нейронов сопровождают массовую гибель нейронов при ишемической патологии.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Впервые показано, что паттерн неспецифической спайковой активности специализированного нейрона связан с такими факторами структуры индивидуального опыта как общность (для различных актов репертуара) целей, движений, структура поведенческой задачи, последовательность формирования этапов стереотипного инструментального поведения. Этот паттерн отражает отношения функциональных систем в структуре индивидуальной памяти.

Впервые показано, что нейроны, специализированные относительно сформированных обучением в экспериментальной ситуации поведенческих актов, не имеют в актах других форм поведения индивида активаций, отвечающих критерию специфических. Впервые показано, что активации, отвечающие критерию специфических, появляются у ряда нейронов уже с первых успешных реализаций нового, формируемого в течение сессии обучения поведенческого акта. Впервые показано, что разные нейроны с одинаковой специализацией могут иметь разный паттерн неспецифической активности, что указывает на разную проекцию структуры индивидуального опыта на отдельные нейроны. Впервые показано, что история формирования поведения фиксируется в структуре опыта индивида и проявляется в паттернах неспецифической активности специализированных нейронов.

Впервые продемонстрирована способность к моносинаптической долговременной потенциации у свободно подвижных взрослых животных в цингулярной коре при тетаническом электрическом раздражении волокон субикуро-цингулярного тракта. Это долговременное изменение эффективности глутаматоматовых синапсов достигается в отсутствие применения блокаторов тормозных синапсов с медиатором гамма-аминомасляной кислотой (ГАМК) и получено в структуре коры мозга, которая активно участвует в обеспечении формируемого обучением нового поведения у взрослого животного.

Впервые для оценки связи спайковой активности нейрона с поведением применены два независимых параметра в виде частоты активности в актах с ее наличием и вероятность наличия активности в поведенческом акте. Впервые по анализу распределения неспецифической активности специализированных нейронов в актах разнообразных форм поведения проведена реконструкция отношений компонентов индивидуального опыта в рамках его подразделов (доменов). Впервые для сравнения индивидов применены паттерны активности нейронов в стандартном циклическом инструментальном поведении, заключающиеся в паттерне средних частот спайковой активности нейронов в выборках однотипных актов повторяющегося поведения. Впервые предложено оценивать неравномерность и дифференцированность нейронной активности в поведении по доле достоверных различий средних частот активности при попарных сравнениях конкретных актов из репертуара поведенческих актов в экспериментальной ситуации. Предложены оригинальные методы анализа нейронной активности в поведении, позволяющие выявлять компоненты индивидуального опыта и связывающие их отношения.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

Данная работа вскрывает способы исследования и реконструкции по активности нейронов коры больших полушарий скрытых от непосредственного наблюдения структур индивидуального опыта, лежащих в основе организации поведения индивида в процессе взаимодействия с окружающей средой. Результаты данного исследования позволят развить теоретические положения о нейрофизиологических основах формирования структуры опыта, определяющей поведение индивида.

Получаемые таким образом знания о закономерностях формирования и реализации сформированного индивидуального опыта могут быть применены в построении программ обучения, как школьного, так и профессионального. Они легли в основу одного из направлений практикоориентированного исследования в школах России по теме «Усовершенствование образовательных методик на основе результатов анализа процессов познания у обучающихся с разной ментальностью и мотивацией в норме и в условиях выраженного стресса, а также при варьировании других внутренних и внешних (средовых) факторов обучения для подготовки и повышения квалификации педагогических кадров» в рамках Нацпроекта «Образование».

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Формирующаяся в результате научения в процессе взаимодействия индивида со средой структура индивидуального опыта является в рамках физиологии высшей нервной деятельности проявлением высших функций нервной системы. Составляющие этой структуры в онтологическом плане являются материальными явлениями и могут быть исследованы с помощью принятых в естественных науках системного и эволюционного подходов. Наиболее соответствующей данному подходу в физиологии является предложенная П.К. Анохиным теория функциональных систем, которая является «концептуальным мостом» между физиологией и психологией, то есть теорией психофизиологического уровня. В развитие положений теории функциональной систем к исследованию поведения было введено понятие функциональной системы поведенческого акта (Швырков В.Б., 1978, Судаков К.В., 1979). На основании данных сопоставления активности нейронов коры больших полушарий мозга животных с отдельными актами сформированного обучением инструментального пищедобывательного поведения В.Б. Швырковым были сформулированы системно-селекционная теория обучения (Shvyrkov V.V., 1986) и принцип «системоспецифичности нейрона», утверждающий принадлежность

конкретного нейрона только одной функциональной системе поведенческого акта разного онто- и филогенетического возраста. В качестве обоснования онтологического статуса исследуемых явлений В.Б. Швырков предложил эволюционный критерий (Швырков В.Б., 1987). Дальнейшее развитие этого направления привело к формулированию принципов системно-эволюционного подхода в психофизиологии (Швырков В.Б., 1988, Александров Ю.И. и др., 1997, Alexandrov Yu.I. et al., 2000, Александров Ю.И., 2005, Александров И.О., 2006, Alexandrov Y.I. et al., 2018).

Данная работа проведена с позиций системно-эволюционного подхода, являющегося развитием теории функциональных систем П.К. Анохина применительно к проблемам обеспечения мозгом адаптивных взаимодействий с окружающей средой.

В настоящей работе применяли стандартизированные физиологические, морфологические и биохимические методы. Основным методом исследования была регистрация спайковой активности нейронов в свободном поведении животных и ее сопоставление с разделенным на отдельные акты поведением. Также в исследовании были применены методы регистрации вызванной электрическим раздражением вызванной активности нейронов разных отделов гиппокампальной формации в свободном поведении животных и при применении блокаторов рецепторов синапсов нейронов, методы регистрации активности мозга в условиях ишемического воздействия и после такого воздействия. В настоящей работе применяли стандартизированные физиологические, морфологические и биохимические методы, а также методы, разработанные автором в процессе проведения диссертационной работы (Горкин А.Г. и др. 2002, Горкин А.Г., 2011, Gorkin A.G. et al. 1997).

ПОЛОЖЕНИЯ ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Специализация нейрона относительно конкретного поведенческого акта, выступающего в виде элемента субъективного опыта индивида, является стабильной, содержательной характеристикой связи активности нейрона с актами сформированного при научении поведения. Конкретный нейрон может быть специализирован только относительно одного элемента индивидуального опыта животного.

2. Структура индивидуального опыта фиксирует историю формирования поведения и состоит из элементов, представленных поведенческими актами, и отношений, связывающих эти элементы в единое целое. Элементный состав структуры опыта проявляется в наборе специализаций нейронов коры больших полушарий, а отношения элементов проявляются в паттерне неспецифической активности специализированных нейронов. По активности

совокупности специализированных нейронов возможно реконструировать как отдельные отношения элементов опыта и их групп, образующих разные домены целостной структуры опыта (включающие несколько ее доменов).

3. Элементы индивидуального опыта могут быть связаны разнообразными отношениями, которые по-разному проецируются на нейроны с одной специализацией. Отношения элементов изменяются в процессе приобретения и реализации индивидуального опыта и связаны с историей формирования поведения, а также факторами логической структуры поведенческой задачи, общности целей и движений.

4. Специализированные нейроны имеют закономерные и различные уровни активности в большинстве актов в рамках формы поведения, включающей специфический компонент, что отражает высокую степень дифференцированности отношений элементов внутри одного домена опыта. Индивидуальная степень дифференцированности элементного состава конкретной формы поведения связана с точностными и временными показателями реализации поведенческих актов этой формы поведения.

5. Одним из физиологических механизмов перестройки структуры памяти является долговременная потенция синапсов, которая может фиксировать изменения в отношениях между элементами опыта. Структуры мозга, нейроны которых массово специализируются при обучении взрослых индивидов, сохраняют способность к индукции долговременной синаптической потенции без предварительного применения блокаторов тормозных связей. В то же время клеточные механизмы формирования специализации включают морфологические перестройки клетки с вовлечением ее генетического аппарата.

6. Разные отделы коры больших полушарий различаются по вовлечению в обеспечение реализации инструментального поведения. В ассоциативных областях коры присутствует большое число нейронов, специализированных относительно отдельных актов поведенческой задачи, а нейроны первичных структур анализаторов меняют уровни спайковой активности на разных этапах инструментального поведения, т.е. их специфические элементы опыта меняют уровень актуализации в связи с этапами поведенческой задачи.

7. Гибель нейронов корковых областей в результате ишемической патологии приводит к изменениям пластических свойств связанных с ними до ишемического воздействия и оставшихся интактными нейронов. Такое изменение пластических свойств может означать запуск процессов реорганизации структуры индивидуального (при гибели нейронов) в структурах мозга при формировании адаптаций, в том числе в ходе восстановительных процессов.

Личный вклад автора

Личный вклад автора присутствует на всех этапах выполнения исследования: выбор и разработка направления исследования, постановка цели, выбор методологии и набора методик, разработка методик, создание экспериментальных установок и регистрирующей аппаратуры, проведение физиологических экспериментов, статистическая обработка результатов, обобщение материалов, написание статей, представление результатов на российских и международных конференциях.

СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ И АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Характеристики выборок объектов исследования обеспечивают валидность и надежность полученных результатов. Все результаты исследования основываются на корректном применении статистических процедур соответствующих особенностям использовавшихся методических приемов. Для анализа активности отдельных нейронов применялись процедуры непараметрической статистики (критерии Манна-Уитни, Вилкоксона, критерий Хи-квадрат, критерий Фридмана). В случае нормально распределенных величин применялись параметрические статистические критерии (ANOVA, критерий Стьюдента).

Материалы диссертации были апробированы на следующих конференциях, конгрессах и съездах: XVI Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (6-16 октября 2020 г, Судак, Крым, Россия.); XV Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (4-10 июня 2019 г, Судак, Крым, Россия.); XIV Международный Междисциплинарный конгресс "Нейронаука для медицины и психологии" (30 мая-10 июня 2018. Судак, Крым, Россия); XIII Международный Междисциплинарный конгресс "Нейронаука для медицины и психологии", (30 мая - 10 июня 2017 Судак, Крым, Россия); XII Международный Междисциплинарный конгресс «Нейронаука для медицины и психологии», (1-11 июня, 2016, Судак, Крым, Россия); XI Международный Междисциплинарный конгресс. «Нейронаука для медицины и психологии»: (2—12 июня 2015 г.; Судак, Крым, Россия); IX Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (3-13 июня 2013 г, Судак, Крым, Украина); VIII Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (2012 г, Судак, Крым, Украина); VII Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (3-13 июня 2011 г, Судак, Крым, Украина); VI Международный Междисциплинарный

Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (5-15 июня 2010 г., Судак, Крым, Украина); V Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (3-13 июня 2009 г., Судак, Крым, Украина); IV Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (10-20 июня 2008 г., Судак, Крым, Украина); 11 FENS Forum of Neuroscience, (7-11 July, 2018, Berlin, Germany); 4-я Международная конференция по когнитивной науке, (22-26 июня 2010г., Томск, Россия); 3-я Международная конференция по когнитивной науке (20-25 июня 2008 г., Москва, Россия); 2-я Международная конференция по когнитивной науке (июнь 2006, Санкт-Петербург, Россия); Всероссийская юбилейная научная конференция, посвященной 120-летию со дня рождения С.Л. Рубинштейна, (15-16 октября 2009 г., Москва, Россия); 14-й Международный конгресс по психофизиологии, (сентябрь 2008, Санкт-Петербург, Россия); IV Всероссийский съезд Российского Психологического Общества, (сентябрь 2007, Ростов-на-Дону, Россия); Конференция, посвященная 100-летию со дня рождения Б.Г. Ананьева, (октябрь 2007, Москва, Россия); Конференция «Тенденции развития современной психологической науки», (31 января-01 февраля 2007, Москва, Россия); International Symposium "Hippocampus and Memory", (June 25-29, 2006, Puschino, Russia); Конференция «Творчество: взгляд с разных сторон», посвященная памяти Я.А. Пономареву, (сентябрь 2005 г., Звенигород, Россия); Всероссийская конференция Российского Психологического Общества, (2004, Санкт-Петербург, Россия); International Conference "Conceptual advances in the studies of associative learning and memory", (September 23-26, 1999, Moscow, Russia); XVII Конгресс Российского Физиологического общества имени И.П. Павлова (1998, Ростов на Дону, Россия); XXXIII International Congress of Physiological Sciences (June 30 - July 5, 1997, St. Petersburg, Russia); VIII World Congress of International Organization of Psychophysiology (June 25-30, 1996, Tampere, Finland); IX Magdeburg International Neurobiological Symposium "Learning and Memory: Synaptic and Systemic Views" (May 13-16, 1995, Magdeburg, Germany); VII Конгресс Психологического общества СССР (1989, Москва, Россия); XXXI Congress of International Union of Physiological Sciences, (1989, Helsinki, Finland); VI International Symposium "Motor Control'89", (1989, Albena, Bulgaria).

Работа выполнена на базе ФГБУН Институт психологии РАН. В работе принимали участие коллективы Университета г. Куопио, Финляндия, института нейробиологии имени Лейбница, г. Магдебург, Германия. Совместное участие в работе отражено в публикациях по теме диссертации. Автор выражает огромную благодарность всем коллективам, принявшим участие в работе и в обсуждении ее результатов.

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 110 работ, из них 36 статей и 1 глава в учебнике по психофизиологии (вышло 4 издания, рекомендован Министерством образования для вузов). Результаты проведенных исследований доложены на 26 международных научных конференциях.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 349 страницах и состоит из введения, обзора литературы, изложения методов, результатов и их обсуждения, выводов. Список литературы включает 522 источника. Работу иллюстрируют 6 таблиц и 76 рисунков.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Разнообразные формы связи спайковой активности нейронов с поведением.

Для изучения нейронных основ приобретения нового опыта крайне важно знать, каким образом нейронная активность обеспечивает реализацию в поведении уже имеющегося у организма поведенческого опыта. Однако в силу методических трудностей долгие годы регистрация активности отдельных нервных клеток проводилась на препаратах мозга или на мозге наркотизированного или обездвиженного животного. В этих условиях удалось выявить связь активности нейронов ряда структур со стимуляцией рецепторных поверхностей. На основе данных по удалению и разрушению структур мозга, по вызванным потенциалам в ответ на внешнюю стимуляцию, электрораздражение мозга исследователями были выделены сенсорные, моторные и интегративные отделы мозга. И в соответствии с теоретическими представлениями о замыкании временной связи в дуге условного рефлекса первые структуры и нейроны, лежащие в них, были названы афферентными, вторые - эфферентными, а третьи - интегративными. Впоследствии такое представление определило в экспериментах на бодрствующих животных, в каких структурах регистрировалась нейронная активность для выяснения механизмов отражения среды мозгом, организации движений, мотивации и других аспектов целостного поведения.

1.1.1. Рецептивные поля нейронов проекционных структур, вовлеченных в поведение.

С появлением возможности регистрировать активность одиночных нейронов те морфологические структуры мозга, которым приписывались функции анализа сигналов внешней среды, исследовались в основном под наркозом или на обездвиженных кураре или другими миорелаксантами животных (например Creutzfeldt O. et al., 1974, Iwamura Y., Tanaka M., 1978). В этих работах была показана топическая организация восходящих структур анализаторов (Фанарджан В., Манвелян Й., 1976, Stein B. et al., 1976 и др.). Для нейронов таких структур были описаны рецептивные поля возрастающей по мере приближения к корковому представительству сложности (Алейников Ю. и др., 1976, Creutzfeldt O. et al., 1974, Iwamura Y., Tanaka M., 1978, Mandl G., 1974, Movson J., 1978, Toyama K., 1975). Сложность рецептивного поля определялась на основе разработанных Д.Хьюбелом и Х.Визелем критериев отнесения зрительных рецептивных полей к группам простых, сложных и гиперсложных (Hubel D., Wiesel H., 1962). Тип рецептивного поля коркового нейрона оказался связанным с морфологическим типом клетки. Так большинство нейронов зрительной коры с простыми рецептивными полями были звездчатыми клетками, а сложные и гиперсложные рецептивные поля наблюдались у большинства пирамидных нейронов (Kelly J., VanEssen D., 1974, VanEssen D., Kelly G., 1973). Данные по рецептивным полям легли в основу представлений о последовательной переработке информации, поступающей на рецептивную поверхность при прохождении по отделам анализатора. Было обнаружено, что многие нейроны, в том числе и проекционных структур, имеют мультимодальные рецептивные поля (Fishman M., Michael C., 1973, Luber J. et al., 1967, Spinelly D. et al., 1968, Stein B. et al., 1976). У нейронов моторных структур, например, моторной коры, были обнаружены рецептивные поля на зрительные, слуховые и тактильные стимулы, причем большинство клеток были полимодальными (Teyler T. et al., 1972). Общее представление, складывающееся о работе мозга в поведении на основе данных по рецептивным полям, можно представить следующим образом: информация внешней среды воздействует на рецепторные поверхности, обрабатывается последовательно восходящими отделами анализаторов, интегрируется на мультимодальных клетках и активирует соответствующие командные нейроны движений (Соколов Е., 1982, 1986, Iwamura Y., Tanaka M., 1978, Sokolov E., 1977). Обучение согласно этим взглядам происходит за счет изменений в интегративных интернейронах (Балабан П., Максимова О., 1986, Соколов Е., 1982), а свойства детекторов и мотонейронов остаются неизменными. Однако в реальном поведении оказалось, что значительная часть клеток не активируется при воздействии тех стимулов, которые вызывали активацию под наркозом или в другом поведении, например, реализуемым бодрствующим животным при тестировании рецептивных полей (Александров Ю., 1989, Александров Ю., Гринченко Ю., 1986). Многие нейроны зрительной коры

активируются при фиксации взгляда на объекте с сильной мотивационной окраской и тормозятся при подкреплении (Lynch J. et al., 1977). Кроме того, было доказано, что рецептивные поля клеток изменяются в зависимости от условий адаптации (Шевелев И., 1974, 1977) и от того, какой именно стимул действует на рецепторную поверхность (Innocenti G., Flore L., 1974), а также от наличия или отсутствия скачка глаз на местоположение предъявляемого стимула (Robinson D. et al., 1980, Sparks D., 1978). Таким образом, рецептивные поля нейронов хорошо выявляют морфологическое строение мозга, но не объясняют организацию активности нейронов при осуществлении целостного поведения. В то же время рецептивные поля демонстрируют специфичность нейронов относительно поведения в том случае, если рецептивное поле остается одним и тем же под наркозом и в поведении.

1.1.2. Связь активности нейронов с аспектами поведения, такими как цели, мотивация, движения и местоположение в пространстве.

С появлением возможности регистрировать нейроны у движущихся животных усилия многих исследователей были направлены на выяснение закономерностей организации произвольного движения. Однако, такие исследования ограничивались только активностью нейронов моторных структур, таких как мозжечок (Gilbert R., Thach V., 1977, Gilman S., 1974, Harvey R. et al., 1977), моторная кора (Эвартс Э., 1973, Canedo A., 1982, Cobie B., Porter R., 1982, Evarts E., 1973, Hoffman N., Luschei E., 1980, Lemon R., Porter R., 1976 a, b), ряд других подкорковых образований (Батуев А., 1986, Раева С., 1978, Раева С. и др., 1982, Otero C., Canedo L., 1982) и сенсо-моторной коры (Gantchev G., 1978). В этих работах одновременно с регистрацией активности нейронов, как правило, записывалась и анализировалась электромиограмма мышц конечностей и тела, которые сокращались при выполнении требуемого движения. Основная масса таких работ была проведена на обезьянах, которых обучали определенной манипуляции с рычагом для получения фруктового сока (Kwan H. et al., 1981, Murphy J. et al., 1982, Wong Y. et al., 1979, 1980, 1982). Обычно от обезьян требовалось в ответ на стимул поворачивать рычаг или удерживать его при приложении к рычагу механических усилий. Так как для выполнения данной задачи требовались сокращения мышц-сгибателей и мышц-разгибателей руки, то одновременно велась регистрация их миограмм. Анализ активности нейронов показал, что наряду с клетками, активировавшимися в полном соответствии с сокращениями конкретных групп и отдельных мышц, в моторной коре обезьян обнаруживаются нейроны, "обладавшие сложным поведением" (Wong Y. et al., 1982), т.е. не связанные однозначно с активностью

какой-либо группы мышц. Многие клетки моторной коры активировались при произвольных движениях вне зависимости от точных параметров движения (Murphy J. et al., 1982). Исходя из связей клеток моторной коры с проекционными зонами конечностей и схемам регуляции движений по типу кольца, некоторые исследователи придерживаются точки зрения, что функциональной характеристикой нейронов моторной коры является связь между афферентным входом и моторным полем, т.е. теми мышцами, которые сокращаются при активации данной клетки (Lemon R., 1981). Однако, показано, что "нейроны с практически сходными афферентными входами могут как активироваться, так и тормозиться при активном тактильном исследовании объектов» (Lemon R., 1981, с. 514). Таким образом, активность нейрона моторной структуры не может быть предсказана на основе его афферентных связей. Она связана с целостными движениями, которые наблюдаются в поведении (Wong Y. et al., 1982), что нашло отражение в широком распространении термина "командный нейрон» (Аракелов Г., Соколов Е., 1986, Kupferman I., Weiss K., 1978, Sokolov E., 1977). Активность таких клеток часто начинается до движения или в связи с "намерением" его совершить (Батуев А. и др., 1981, Танджи Дж., Эвартс Э., 1977). В рассмотренных выше экспериментах движение руки животного соответствовало целостному поведенческому акту, так как приводило к приспособительному результату, и поэтому нейроны, специфичные относительно движения рук оказываются специфичными относительно поведенческого акта. Нейроны, специфически активировавшиеся при определенных произвольных движениях, были также обнаружены и в ряде других не моторных структур: в бледном шаре (Rolls E. et al., 1976), в таламусе (Horne M., Porter R., 1980), зрительной коре (Швыркова Н., 1986), гипоталамусе (Nishino H. et al., 1981), ретикулярной формации продолговатого мозга (Siegel J., 1979, Vertes R., 1979), вентральной части покрывки (ventral tegmental area) (Fabre M. et al., 1983), черной субстанции (substantia nigra) (Schultz W. et al., 1983), спинном мозге (Sorkin L. et al., 1981).

В поведении отражение среды в активности нейронов проявляется в наличии клеток, специфически активирующихся при нахождении животного в определенном месте экспериментальной клетки. В большой серии работ О'Кифа Дж. с сотрудниками тщательно проанализирована активность таких клеток в различных условиях (О'Keefe J., 1976, 1979, О'Keefe J., Conway D., 1978, О'Keefe J., Dostrovsky Y., 1971, О'Keefe J., Speakman A., 1985). Нейронная активность клеток гиппокампа и ряда других структур в этих исследованиях регистрировалась при свободном поведении крыс в Т-образном лабиринте. В разных рукавах лабиринта могли помещаться поилка и кормушка. Оказалось, что активность многих клеток специфически связана с нахождением крысы или движением в конкретном месте клетки (О'Keefe J., 1976, О'Keefe J., Conway D., 1978). Для контроля кормушки и

поилки переставляли из одного рукава лабиринта в другой и вращали лабиринт вокруг своей оси. На основе активности клеток в этих ситуациях был сделан вывод о независимости активности нейронов «места» от стимулов, находящихся за пределами лабиринта и от конкретного поведения, выполняемого в этом месте (O'Keefe J., 1979). На основании этих данных автор приходит к выводу, что в гиппокампе и ряде соседних структур хранятся когнитивные карты среды, в которой реализуется поведение (O'Keefe J., Dostrovsky Y., 1971, O'Keefe J., Speakman A., 1985). В других структурах данные авторы нейронов «места» не обнаружили (O'Keefe J., 1976). Нейроны «места» разных структур гиппокампальной формации имеют несколько различные свойства (Quirk G.J. et al., 1992). Однако, для всех таких клеток характерно, что эти поля являются «стабильными во времени» (Quirk G.J. et al., 1992, с. 1962). В специальном многомесячном исследовании Томпсона и Беста было показано, что нейроны «места» гиппокампа сохраняют связь активности с определенным местом на протяжении всего, вплоть до многомесячного, периода наблюдения. (Thompson L.T., Best P.G., 1990). В более поздней работе другой группы авторов было показано, что стабильность плейс полей и пространственной памяти связана с успешностью выполнения пространственной задачи и повышенным вниманием животного к пространственному контексту (Kentros G.C. et al., 2004). Было показано, что по активности относительно небольшой популяции из нескольких десятков одновременно регистрируемых нейронов «места» можно довольно точно определять траекторию движения животного в экспериментальной клетке (Wilson M.A., McNaughton B.L., 1993). Увеличение числа одновременно регистрируемых нейронов увеличивает точность воспроизведения траектории перемещения (там же).

В специально проведенном исследовании на выборке из более чем 3000 гиппокампальных нейронов было проверено, обладают ли соседние клетки более сходными плейс-полями, чем отдаленно расположенные (Redish A.D. et al., 2001). Полученные авторами результаты говорят о том, что соседние клетки, как правило, имели совершенно различные плейс-поля, а нейроны, представлявшие два разных пространства были практически равномерно перемешаны. Ими не было обнаружено никаких признаков морфологической группировки нейронов с перекрывающимися плейс-полями.

Основное внимание в работах под руководством О'Кифа было посвящено утверждению того, что гиппокамп обеспечивает представление карты пространства в свободном поведении животного. В соответствии с этими представлениями активность пирамидных нейронов гиппокампа определяется геометрическими параметрами пространства, в котором осуществляется поведение животного (O'Keefe J.M., Burgess N., 1996, Jeffery K., J. et al., 1997, Lever C. et al., 2002, Huxter J. et al., 2003). В то же время на

основании работ других авторов эта позиция ставится под сомнение (McNaughton B., 1996). На основании анализа вклада информации от внешних средовых стимулов и информации от собственного тела в активность нейронов места, авторы пришли к выводу, что превично активность этих клеток определяется информацией от тела, которая в результате обучения может модифицироваться и привязываться к внешним стимулам (Knierim J.J. et al., 1998). Не отрицая роли гиппокампа в пространственной ориентации животного, МакНотон отмечает, что скорее нейроны делят пространство на выделяемые животным зоны, которые определяются отношениями между разными плейс клетками. И в основе этого деления лежит оценка животным своих движений при перемещении в пространстве целей (Etienne A.S., Jeffery K.J., 2004). Также была отмечена выраженная модуляция активности нейронов места поведенческим контекстом (Jeffery K.J., Anderson M.I., 2003, Hayman R.M.A. et al., 2003). Такая связь активности нейронов с особенностями целевой структуры поведения животного в экспериментальной клетке даже привела к гипотезе, что гиппокамп хранит не память о пространстве, а является пространством, где хранится разнообразная память (Alexandrov Y.I. et al., 1993, Eichenbaum H. et al., 1999, Eichenbaum H. 2017). Кроме того было показано, что для двух идентичных пространств формируются различные плейс поля (Tanila H., 1999). Также в работе из группы Эйхенбаума, в которой регистрировалась активность нейронов гиппокампа в реальном пищедобывательном поведении в клетке, где в разных местах располагались пищевые объекты, было показано, что пространственный компонент в объяснении активности конкретных нейронов гиппокампа присутствует только у около 30% зарегистрированных клеток (Wood E.R. et al., 1999). И активность многих клеток была связана с достижением пищевого объекта без относительно места, где он находился. Также в Т-образном лабиринте была показана связь активности пирамид гиппокампа с этапами выполнения зависимой от гиппокампа поведенческой задачи (delayed-nonmatch-to-place task) (Griffin A.L. et al., 2007). При этом в одном и том же месте в ранних пробах могла наблюдаться разная активность нейронов. В другой версии задачи такого типа были выделены два типа клеток – фазные нейроны ('phase' cells) и нейроны типа пробы ('trail-type' cells), активность которых будучи связанной с выполнением задачи не зависела от места (Hampson R.E. et al., 1999). Позднее в гиппокампе были описаны нейроны «времени» (Eichenbaum H., 2014), которые по мнению автора совместно с клетками «места» «предполагают фундаментальный механизм организации элементов опыта в последовательную память» (Eichenbaum H., 2014, с. 1).

Иная связь активности нейронов с поведением была обнаружена в структурах, которым приписывались интегративные функции. В качестве одной из таких структур использовалась префронтальная кора обезьяны, повреждения которой приводили к

нарушению обучению задачам разной сложности (Markowitch H., Pritzel M., 1976). В работе Т. Оно с соавторами исследовалась активность клеток этой коры в пищевом поведении обезьяны (Ono T. et al., 1983). Было обнаружено, что около трети нейронов поля 8 префронтальной коры активировались при виде пищи или при инициации движения, а в полях 9 и 10 многие клетки активировались при нажатии педали и захвате пищи (Ono T. et al., 1983). При этом клетки, активировавшиеся при нажатии педали, не имели связи с каждым движением нажатия. В ряде других работ активность нейронов в этой области сопоставлялась с получением подкрепления и мотивацией животного (Aou S. 1982, Aou S. et al., 1983, Ito S., 1982, Markowitch H., Pritzel M., 1976, Rosenkilde C. et al., 1981). Около трети зарегистрированных нейронов изменяло частоту активности при получении подкрепления (Markowitch H., Pritzel M., 1976). В той же работе было показано, что активации префронтальных нейронов в большинстве случаев соответствовали правильным, т.е. подкрепляемым, ответам и исчезали при неподкреплении выработанного движения. В работе С. Торпа с соавторами была проанализирована активность 494 нейронов префронтальной коры в ситуации тестирования различными зрительными, слуховыми и вкусовыми стимулами (Thorpe S. et al., 1963). Было обнаружено, что из 160 клеток, отвечающих на предъявление зрительных стимулов, большинство отвечало избирательно (66,9%), причем активность 26% нейронов была избирательно связана со значимостью стимула. Часть таких нейронов отвечала только на показ отвергаемых стимулов, например, на шприц, через который вливали в рот солевой раствор, на свирепое лицо экспериментатора и грушу, из которой дули в лицо. Остальные активировались только при предъявлении пищевых стимулов, причем или на любой пищевой стимул или только на один вид пищи. У зарегистрированных бимодальных клеток зрительная и вкусовая избирательность совпадали, например, нейрон отвечал только на вид и вкус банана. Некоторые из зарегистрированных нейронов активировались в ситуации изменения значения стимула с пищевого на оборонительный. Таким образом, для большинства клеток префронтальной коры особое значение имеет поведенческая значимость предъявляемого стимула. При слуховой стимуляции большинство клеток соседней с префронтальной фронтальной коры отвечает на вокализованные акустические стимулы, такие как писк, щебетание, чириканье, кудахтанье, а не на чистые тоны (Newman J., Lindsley D., 1976). Связь активности нейронов с поведением была продемонстрирована и на нейронах другой интегративной области коры больших полушарий - париетальной (Buser P., 1976, Нуваринен J., 1976).

Так как была обнаружена связь активности префронтальных нейронов с поведенческой значимостью стимула и с подкреплением, то в работах И. Ооуры с соавт. Исследовались корреляции в активности клеток префронтальной коры и такой

"мотивационной" структуры, как гипоталамус (Aou S. et al., 1984, Oomura Y., 1977, Oomura Y. et al., 1980). Авторами была обнаружена тесная связь между нейрональной активностью в этих двух областях. Во время серии из 10 нажатий на педаль, после которой подавалось подкрепление, частота импульсации гипоталамических клеток увеличивалась, а непосредственно перед подкреплением снижалась. В ситуации, когда подкреплялось лишь каждое 50-е нажатие, активность нейронов все равно циклически менялась через каждые 10 нажатий, что по мнению авторов отражало ожидание подкрепления. Другими авторами при длительном наблюдении (до 24 часов) активности гипоталамических нейронов было показано, что связь активности нейронов с приемом пищи оставалась неизменной в течении всего срока регистрации (Aou S. et al., 1983, Ono T. et al., 1981, 1981a).

В серии работ Е. Роллса с сотр. (Mora F. et al., 1976, Rolls E. et al., 1976, 1977, 1979) изучалась активность отдельных клеток гипоталамуса и ряда других структур в пищевом поведении обезьяны. Около 70% зарегистрированных гипоталамических нейронов отвечали при виде пищи, причем специфическое изменение частота импульсации наблюдалось при предъявлении различных видов пищи, и отсутствовала при предъявлении непищевых объектов или простых зрительных стимулов (Rolls E. et al., 1976). Как отмечают авторы, активность не изменялась в связи с движениями, общим возбуждением, предъявлением отвергаемого пищевого стимула или движениями глаз. В этих работах отмечается, что нейроны меняли свою активность только при предъявлении пищевого стимула голодному животному, а в ряду последовательных демонстраций животному арахиса, который не давали, частота импульсации клетки в ответ на стимул постепенно приближалась к фоновой (Mora F. et al., 1976). Там же отмечалось, что динамика выработки или угашения пищевого поведения соответствовала изменениям ответа нейрона. Кроме латерального гипоталамуса избирательно активные на пищевой стимул нейроны регистрируются также в миндалине (Rolls E. et al., 1981), среднем мозге (Phillips M., Olds J., 1969) и гипоталамусе (Ono T. et al., 1981). Отражение мотивации в активности нейронов было показано и другими авторами при исследовании таламуса (Casey K., Keene Y., 1973, Keene Y., Casey K., 1973) и ретикулярной формации (Olds J. et al., 1969). Таким образом, в активности нейронов отражаются мотивация и цели поведения.

Другой, часто отмечаемой авторами, формой связи активности регистрируемых нейронов с поведением является связь их активности с этапами выполняемой сложной инструментальной поведенческой задачи.

В одном из исследований при выполнении пищедобывательной инструментальной задачи активность 78% зарегистрированных клеток изменялась в процессе выполнения инструментального поведения, причем у большинства нейронов - при нажатии на рычаг

(Aou S., 1982). В ситуации, когда у обезьян вырабатывали задержанный ответ на предъявление стимула, от 16% до половины нейронов изменяли частоту разряда на этапе задержки (Foster J. et al., 1982, Kojima S., Goldman-Rakic P., 1982, Niki H., Watanabe M., 1976, Rosenkilde C. et al., 1981).

В работах Ники и Ватанабе (Niki H., Watanabe M., 1976, 1979) в префронтальной и цингулярной коре были зарегистрированы нейроны, активировавшиеся во время перемещения руки, являвшегося частью задачи на отставленный ответ. Другие нейроны демонстрировали активность при подготовке движения и были по-разному активны во время задержки между инструктивным сигналом (который задавал направление требуемого движения) и пусковым сигналом (который запускал исполнение задачи). Связь активности префронтальных нейронов с инструментальной задачей рассматривается с точки зрения их вовлечения в поведение и восходящих и нисходящих потоках информации в мозге (Hussar C., Pasternak T., 2010). Связь активности нейронов с этапами инструментальной задачи выявляется также и для нейронов сенсорных и моторных структур коры больших полушарий. В работах из нашей лаборатории было показано, что нейроны зрительной и моторной коры вовлекаются в обеспечение поведения путем активации на определенных этапах поведенческой задачи (Александров Ю.И., Александров И.О., 1981, Alexandrov Yu.I., Alexandrov I.O., 1982). В этой работе применялось закрытие глаз определенным устройством в ряде реализаций данной поведенческой задачи. Полученные результаты показали, что часть нейронов зрительной области коры кролика сохранили связанные с определенным этапом поведения активации в условиях прекращения зрительного контакта со средой (Alexandrov Yu.I., Alexandrov I.O., 1982, Александров И.О., Александров Ю.И., 1984).

Другой вариант специфической связи активности нейронов с этапами поведенческой задачи был продемонстрирован в работе на нейронах передней цингулярной коры (Procyk E. et al., 2000, Procyk E., Joseph J-P, 2001). В этой работе обезьяны обучались касаться трех фиксированных точек на доске в определенном порядке. В качестве подкрепления выступала капля сока, которая подавалась только в случае безошибочного выполнения последовательности фиксаций взгляда и касаний рукой. После выучивания одной последовательности, требуемая последовательность точек изменялась. За счет того, что по условиям задачи до касания и после него было необходимо схватиться той же рукой за рычаг, двигательные последовательности при нажатии на разные точки были сходными. Сопоставление активности зарегистрированных нейронов с поведением обезьян в этой задаче показало наличие клеток с различной активностью на разных по порядковому номеру этапам выполнения задачи. Были обнаружены клетки, изменявшие активность при ошибках, получении подкрепления, при подаче сигнала о смене эффективной последовательности. Но

основная группа нейронов демонстрировала различие активности в разных по порядковому номеру касаниях целевых точек. В результате такого обучения у обезьян сформировались нейроны, специфически активировавшиеся при касании конкретной по порядковому номеру точки в серии требуемых касаний вне зависимости от ее расположения и других важных компонентов поведенческой задачи. Группа других нейронов демонстрировала разную активность во всех трех циклах касания. Например были нейроны, демонстрировавшие нарастание активности при переходе от первой последовательности ко второй и от второй к третьей и т.д. Эта работа показала, что на нейронном уровне определенным образом фиксируется логическая структура поведенческой задачи. Стоит отметить, что в основе определения связи активности с конкретным этапом задачи было статистическое сравнение частоты импульсации на разных выделенных интервалах этой задачи.

1.1.3. Поведенческая специализация нейронов корковых структур мозга.

В работах В. Маунткасла с сотр. (Mountcastle V., 1978, Mountcastle V. et al., 1975) была исследована активность нейронов париетальной коры в условиях предъявления различных неподкрепляемых раздражителей, подкрепляемых раздражителей и стимулов, после которых обезьяна достигала рычага или кнопки на панели и манипулировала с ними. Авторами в поле 5 были обнаружены нейроны, которые не активировались сенсорными стимулами, но повышали частоту импульсации при осуществлении животным целенаправленного движения рукой к рычагу или кнопке. Большинство этих нейронов (92%) не активируется при других активных движениях руки, например, агрессивных. На основании этого авторами был сделан вывод о командных функциях париетальных нейронов в отношении операций, выполняемых в "экстраперсональном" пространстве (Mountcastle V. et al., 1975). В передней части поля 7 париетальной коры большая часть зарегистрированных нейронов активировалась при движении руки обезьяны с зажатым в ней предметом по направлению ко рту, а также при жевании пищи (Leinonen L., Numan G., 1979). Активации нейронов при целенаправленном движении руки к предмету часто прекращались сразу после того, как обезьяна хватала предмет, хотя движение руки еще продолжалось (Leinonen L. et al., 1979). В поле 7 были зарегистрированы нейроны, активирующиеся при фиксации взора и слежении за "желанными" для животного объектами, особенно если их можно было достать рукой. Авторы также отмечают обнаруженную в работах В. Маунткасла связь активности париетальных нейронов с пространственным контролем движений. В работе другой группы авторов было продемонстрировано, что нейроны в этой области коры активируются и при фиксации взора на отрицательных по поведенческой значимости

стимулах, а также при таком предъявлении эффективных зрительных стимулов, при котором фиксации взора не требовалось (Perrett D. et al., 1978). Это расхождение в результатах, видимо, связано с тем, что нейроны активировались не в связи с «желаемостью» или «нежелаемостью» объекта среды, а в связи с выполнением поведенческого акта фиксации взора на конкретном объекте - цели. Также специфичными относительно конкретных поведенческих актов протягивания руки к цели были нейроны, активирующиеся при "манипуляции рукой", так как они молчали при любой форме пассивной механической стимуляции, а также слуховой и зрительной, и при других активных движениях руки, например, при агрессивном поведении. В париетальной коре также были обнаружены нейроны, специфически связанные с движением в определенном суставе (Mountcastle V. et al., 1975). Каждое активное движение конечности точно отражалось паттернами активности этих нейронов, а при пассивных движениях в том же суставе у многих клеток активность была ниже. Как было отмечено в этой работе В.Маунткасла, многие нейроны поля 5 париетальной коры молчат вне реализации движения, которое сопровождается специфической активацией.

Тщательное исследование связи активности клеток гиппокампальной формации с поведением крысы было проведено еще Дж.Рэнком (Ranck J., 1973). К гиппокампальной формации автором были отнесены гиппокамп, зубчатая фасция, пре-, парасубикулум, субикулум и энторинальная кора. Как отмечается в этой работе, многие нейроны в гиппокампе имеют очень низкую частоту импульсации в фоне, и для того, чтобы проанализировать активность как можно большего числа нейронов, автором были применены специальные ухищрения при поиске клеток для регистрации. Так, после каждого смещения электрода долго наблюдали за активностью под электродом, часто поиск велся в фазе парадоксального сна, когда, как отмечает автор, активно большинство гиппокампальных клеток. По общему характеру активности нейронов и связи с тета-ритмом гиппокампа были выделены две группы клеток: тета-клетки и клетки с комплексными спайками. Первые составляли около четверти зарегистрированных нейронов. Так как активность этих клеток четко связана с тета-ритмом, то в поведении частота их импульсации менялась в полном соответствии с изменениями тета-ритма. Тета-ритм появлялся у крысы в связи с произвольными движениями, при обследовании объектов. Как показано в работе других авторов, частотные характеристики тета-ритма закономерно связаны с тем, какое поведение наблюдается у животного: ориентировочно-исследовательское, условно-рефлекторное и др. (Котляр Б.И., Тимофеева Н.О., 1970).

Для всех клеток с комплексными спайками в активности Дж. Рэнком был определен "поведенческий коррелят" активности нейрона. Как отмечает автор, «поведенческий

коррелят» каждой такой клетки «четко отличался от коррелята любой другой клетки» (Ranck J., 1973, с. 485). При этом каждый тип поведенческого коррелята встречался в разных отделах гиппокампа и зубчатой фации. Для контроля связи активности нейрона именно с поведением в этой работе были применены разнообразные способы зрительной, слуховой и тактильной стимуляций животного в процессе регистрации каждого нейрона. В исследованных областях гиппокампа и зубчатой фации, имеющих выраженную ламеллярную структуру, у нейронов были определены "отчётливые рецептивные поля или моторные выходы к разным частям тела" (Ranck J., 1973, с.505). Однако, как отмечает автор, если нейроны и имели сходство в рецептивных или моторных полях, то сходства у этих клеток в поведенческом корреляте никогда не наблюдалось. В работе отмечается, что в отличие от наблюдавшейся автором связи активности корковых клеток с «детальными моторных или сенсорных изменений", для клеток гиппокампальной формации такая связь не выявляется за исключением небольшого количества клеток. Поведенческий коррелят активности нейрона, по мнению автора, отражает "что крыса делает, а не то, почему она это делает и каким именно способом» (Ranck J., 1973, с.510), т.е. связана с выполнением поведенческого акта, а не с его афферентными или эфферентными характеристиками. Исключение составляют только нейроны, активирующиеся при неуспешных актах поведения. Таким образом, в структурах гиппокампальной формации была отчетливо продемонстрирована связь активности нейронов с осуществляемым животным поведением, в том числе, и специфическая связь с выполнением отдельных поведенческих актов.

Из приведенных выше исследований следует, что общей характеристикой активности нейронов разных структур в свободном поведении является связь активности регистрируемых клеток с особенностями наблюдаемого поведения животного. Это заключение будет выглядеть еще более общим, если принять во внимание точку зрения Дж. Рэнка о том, что для "нейрона, многими синапсами связанного с сенсорными рецепторами или моторными эффекторами, аналогом рецептивного поля является поведенческий коррелят нейрона" (Ranck J., 1973, с.462). А так как рецептивное поле является характеристикой активности клетки, получаемой вне поведения (под наркозом) или без учета поведения, то можно, на наш взгляд, несколько изменить данное положение автора: рецептивное поле нейрона является определенным аналогом поведенческой специфичности активности нейрона, определяющей участие данной клетки в организации целостного поведения. В качестве важных характеристик поведения, отражающихся в активности нейронов, разными авторами отмечаются характеристики среды, двигательной активности, мотивации и целей поведения. Однако это основные моменты классификации поведения при внешнем наблюдении, и обнаружение связи активности нейронов с ними может быть в

значительной степени задано условиями эксперимента. Как отмечает В.Б. Швырков (1986), если исследовалась связь активности нейронов с вниманием, сомнением и тому подобными выделяемыми экспериментаторами аспектами поведения, то находились клетки, демонстрирующие такую связь. Поэтому обнаружение связи активности только с одним аспектом поведения в конкретных структурах мозга могло быть связано с представлением о наличии структур, выполняющих афферентные, эфферентные или интегративные функции, что и определяло применявшиеся методики исследования. В пользу справедливости такого предположения могут свидетельствовать результаты, полученные при однотипном анализе активности нейронов разных областей коры и некоторых подкорковых структур в свободном пищедобывательном поведении (Александров Ю., 1989, Александров Ю., Гринченко Ю., 1986, Шевченко Д., 1987, Шевченко Д. и др., 1986). В этих работах было продемонстрировано, что специфическая связь активности одиночных нейронов с каждым из выделенных аспектов поведения, т.е. с целью, движением и местом, наблюдается во всех исследованных областях коры. Отличается лишь удельное содержание клеток, активность которых связана с конкретным аспектом наблюдаемого поведения. Таким образом, разделение структур мозга на афферентные, эфферентные и интегративные, если и целесообразно, то, видимо, только в морфологическом плане, действительно, если даже для клеток оптического тракта показана внутренняя детерминация активности в поведении (Александров Ю., 1989, Александров Ю. и др., 1986), то о каких чисто афферентных структурах может идти речь? Как отмечает Маунткэстл, в эпоху, когда доказано существование распределенных сетей нейронов, эра «функциональной локализации» сменилась эпохой «функциональной специализации» (Mountcastle V., 1995).

Принципиально отличная от локационистской трактовка роли активности нейронов в обеспечении поведения организма следует из представления о поведенческом акте как реализации целостной функциональной системы. Согласно теории функциональных систем результат поведенческого акта достигается за счет взаимодействия элементов разной морфологической принадлежности (Анохин П., 1968, 1978, Швырков В., 1981). Согласование их активности достигается за счет специальных системных процессов организации (Швырков В., 1981, 1982б). Специализация активности нейронов относительно того или иного поведенческого акта или аспекта поведения является отражением этих процессов на уровне активности отдельного нейрона. Исходя из представления о происхождении конкретного поведенческого акта как фиксации удачной пробы в обучении, В.Б. Швырковым был предложен принцип системной специализации нейронов, т.е. специфичности связи активности нервной клетки с реализацией конкретной функциональной системы поведенческого акта (Швырков В., 1986, 1987). Этот принцип

объясняет все разнообразие связи активности нейронов с наблюдаемым поведением через представление о разном «возрасте» систем, относительно которых специализированы разные клетки. При таком рассмотрении в активности нейронов выделяются филогенетические специализации относительно целостных поведенческих актов предков рассматриваемого организма, которые у него проявляются в виде генетически детерминированных автономных систем активности. Такими, например, являются системы дыхания, сердечных сокращений и ряд других. У примитивных организмов эти поведения обеспечиваются целостными поведенческими актами, как это показано для акта дыхания улитки (Балабан П., Максимова О., 1986, Кэндел Э., 1980). Наряду с филогенетическими или врожденными специализациями выделяются также специализации относительно актов, сформированных в раннем онтогенезе. При этом акты, бывшие целостными в раннем онтогенезе, у взрослого организма также выглядят как автоматизированное поведение (Голубева Е., 1980). В соответствии с таким рассмотрением специализации клеток относительно отдельных актов взрослого организма являются наиболее поздними по времени формирования из всех специализаций, а специализации относительно аспектов поведения - специализациями относительно врожденных и сформированных в раннем онтогенезе функциональных систем (Швырков В., 1986). Рассмотрение данных о связи активности клеток разных областей мозга с поведением с этих позиций позволяет определить, какого возраста системы представлены в активности нейронов конкретной области и определить онтогенетическое время ее специализации. Исходя из данных об активности нейронов разных структур мозга кролика в пищедобывательном поведении (Александров Ю., 1989, Шевченко Д. и др., 1986, Шулейкина К., 1975), получается, что в активности нейронов лимбической коры представлены в основном новые системы поведенческих актов, в моторной - большинство нейронов специализировано относительно старых систем, а в зрительной и сомато-сенсорной областях как те, так и другие, в количестве среднем между моторной и лимбической корой. В подкорковых образованиях, таких как гипоталамус и обонятельная луковица, для активности нейронов характерны специализации, сформированные в раннем онтогенезе или врожденные (Карпов А., Горкин А., 1986, Шевченко Д.Г. и др., 1986). В соответствии с представлениями о закономерностях эмбриогенеза нервной системы (Поляков Г., 1949), чем раньше закладывается структура, тем раньше дифференцируются ее элементы. Ю.И. Александровым показано соответствие распределения корковых структур по возрасту систем, представленных в активности нейронов, распределению времени закладки и дифференциации этих структур в онтогенезе (Александров Ю., 1989). В экспериментах ряда авторов была обнаружена специализация некоторых нейронов животных относительно элементов зоосоциального опыта. Так, некоторые нейроны овцы

специфически активируются при показе слайдов человека и хищников, другие - на слайды овец с рогами, пропорционально размеру рогов, который играет большую роль в структуре подчинения овец в стаде, а третьи - только при показе слайдов знакомых морд овец того же стада, но не чужих (Kendrick K., Baldwin B., 1987). В другом эксперименте эти авторы показали, что часть нейронов височной коры овцы (около 7%) специфически изменяли активность при показе движущейся фигуры человека на расстоянии 3 и 6 метров. Причем большая часть (около 60%) этих нейронов активировалась на приближение человека к овце, вне зависимости от того какой именно человек приближался (Kendrick K., Baldwin B., 1989). В экспериментах на обезьянах также были показаны нейроны, специфически активировавшиеся на лица (Perrett D.I. et al, 1982, 1987).

Специализация нейронов относительно поведения, обнаруженная у животных, позднее была продемонстрирована при тестировании больных, которым проводились операции на мозге. Так, в лаборатории С.Н. Раевой была обнаружена связь активности нейронов таламуса с этапами наблюдаемого поведения больного и с некоторыми движениями (Лукашев А., 1986, Раева С., 1978, Раева С. и др., 1982). В других работах были описаны нервные клетки, специфически активирующиеся при прослушивании или проговаривании отдельных слов (Creutzfeldt O. et al., 1985, Halgren E. et al., 1978, Heit G. et al., 1988). В более поздних работах на человеке были убедительно продемонстрированы нейроны, специфически активировавшиеся в связи с актуализацией элементов субъективного опыта, например, таких как понятия (Kraskov A. et al, 2007). Так, например, в экспериментах со зрительным предъявлением стимульного материала испытуемым были зарегистрированы нейроны, активировавшиеся избирательно при показе конкретного человека с разных ракурсов (Rey H.G. et al, 2014). Также образами, вызывавшими специфические активации, могли быть известные строения, животные и т.д. Такие нейроны составляли 17,1% из зарегистрированных нейронов медиальной темпоральной доли и для них было характерно активироваться в среднем только на 3,3% предъявленных зрительных изображений (Quiroga R.Q. et al, 2007). Как было отмечено, такие вызванные образом определенной категории ответы возникали по закону «все или ничего» (Quiroga R.Q. et al, 2008). То есть при актуализации образа всегда наблюдалась активация, которая в остальное время отсутствовала. Нейроны, активность которых может быть объяснена связью с определенной субъективной категорией, были обнаружены и у животных (Lin L. et al, 2007).

Таким образом, специализация нейронов относительно поведения является общим свойством активности мозга как животного, так и человека. Являясь отражением системных процессов организации активности мозга в реальном поведении, специализация выступает в качестве характеристики субъективного состояния и опыта организма (Швырков В.Б., 1985,

Shvyrkov V., 1985). Поэтому она может быть использована как показатель изменения субъективного опыта в результате обучения.

1.1.4. Специфика лимбической коры в отношении связи нейронной активности с поведением.

В наших предыдущих исследованиях было показано, что в формировании циклического пищедобывательного поведения у кроликов и крыс активное участие принимает цингулярная кора (Горкин А., 1987, Svarnik O. et al., 2005). Так по сравнению с моторной корой количество специализированных относительно актов пищедобывательного поведения нейронов в лимбической коре больше в несколько раз (23% и 2%) (Горкин А., 1987). Также в лимбической коре была обнаружена большая доля специализированных относительно сформированных обучением в экспериментальной клетке поведенческих актов нейронов по сравнению с другими исследованными областями мозга (Шевченко Д. и др., 1986).

Цингулярная кора является довольно специфической областью, по морфологическому строению занимающей промежуточное положение между паллеокортексом и новой корой (MacLean P.D., 1993). Для нее характерно 5-слойное строение по сравнению с 2-слойной структурой гиппокампа и 7-слойной структурой типичных областей новой коры (Vogt B., 1993). Являясь частью лимбической системы, цингулярная кора имеет мощные связи с гиппокампом, гипоталамусом, Nucleus accumbens, caudate nucleus, амигдалой, медио-дорзальным таламусом и областями новой коры. В эволюции такая 5-слойная кора впервые появляется у млекопитающих (MacLean P.D., 1993) и «включена в три формы семейного поведения, которое отмечает эволюционный переход от рептилий к млекопитающим – а именно, ухаживание (nursing) в связи с материнской заботой, звуковую коммуникацию для установления контакта матери и детеныша и игру» (MacLean P.D., 1993, стр. 8). Там же отмечается, что удельный вес цингулярной коры достигает максимальных значений у человека и что удаление цингулярной коры нарушает материнское и игровое поведение. Также удаление лимбической коры у крыс и обезьян приводит к снижению потребления пищи, нарушению социального и эмоционального поведений (Porgino L., 1993). Электростимуляция этой коры вызывает у обезьян характерные крики, так называемый «separation call», в норме возникающие при потере контакта детеныша с матерью (MacLean P.D., Newman J.D. 1988). Показано, что в цингулярной коре имеется высокая концентрация опиоидных рецепторов (Wise S.P., Herkenham M., 1982 и др.), и она активно вовлекается в эмоциональные состояния.

В обзоре Линды Поррино (Porrino L., 1993) приведены данные о возможности выработки самостимуляции при нахождении электродов в цингулярной коре. Цингулярная кора наряду с префронтальной корой являются единственными областями коры больших полушарий, в которых можно выработать самостимуляцию электрическим током или подведением биологически активных веществ. Отмечается, что такая самостимуляция обладает рядом отличий от самостимуляции при раздражении структур среднего мозга (например, *ventral tegmental area*). Так для выработки самостимуляции цингулярной коры необходимы большие интервалы между стимуляциями, высокие токи стимуляции и низкая скорость формирования самостимуляции. На основании анализа данных по самостимуляции автор приходит к выводу и вовлеченности цингулярной коры в независимую от структур среднего мозга систему подкрепления.

У людей стимуляция цингулярной коры вызывает ощущение удовольствия и повышение настроения, а также вызывает воспоминания, связанные с изменениями настроения (Sem-Jacobsen C.W., 1976). Также отмечается, что подкрепляющая активность цингулярной коры у человека связана с хранением памяти или консолидацией и/или извлечением хранящейся памяти (Porrino L., 1993).

Нами, одними из первых, были получены данные о наличии в цингулярной коре кроликов нейронов, активирующихся в связи с движениями животного (Шевченко Д. и др., 1986). Другими авторами также было продемонстрировано участие цингулярной коры в планировании, подготовке и исполнении двигательных актов у обезьян (Shima K. et al., 1991). Данные о наличии нейронов в цингулярной коре связанных с движением привели к представлению о существовании в цингулярной коре трех моторных полей, расположенных на дорзальной и вентральной поверхностях этой области коры (Dum R., Strick P., 1991, 1993). Авторами отмечается, что «цингулярные моторные поля играют одинаково значительную роль как в генерации, так и в контроле над движениями дистальной части руки» обезьян (1993, с. 423). Там же отмечается, что цингулярные моторные поля имеют мощные прямые и обратные связи с первичной моторной корой а также прямые проекции на спинной мозг.

В работах других авторов были получены данные об участии ретроспленальной коры в навигации и пространственном обучении. Это участие осуществляется за счет активности нейронов, специфически связанных с направлением головы животного в аллоцентрической системе координат (*head direction cells*) (Knierim J.J. et al., 1998). Нейроны обладающие такой формой активности были обнаружены в ретроспленальной коре крыс, причем доля таких клеток была больше в этой зоне новой коры по сравнению с другой корковой зоной – престриарной корой - где также были обнаружены такие нейроны (Chen

L.L. et al., 1994). Для нейронов «направления головы» характерна настройка на конкретное направление с гауссовым распределением диаграммы направленности (в пределах 90 градусов) (Cho J, Sharp P.E., 2001). Таких клеток было выявлено около 10% от общего числа зарегистрированных в этой работе. В то же время несколько большее число нейронов с выраженными плейс полями имело этот фактор «направления головы» в детерминации их активности, хотя и не в виде отдельного колоколообразного распределения частоты в поле направлений головы. Среди остальных нейронов большинство также имело фактор направления головы в числе детерминант их активности, но дирекциональное распределение или были очень широким или характеризовалось многими пиками (Cho J., Sharp P.E., 2001). Для последнего типа клеток было характерно «активироваться при конкретной комбинации локации, направления и движения» (Cho J., Sharp P.E., 2001, стр. 3). В соответствии с принятыми в нашей лаборатории представлениями такая комбинация очень близка к уникальному феноменологическому описанию конкретного поведенческого акта, как единства места, движения и цели (Швырков В.Б., 1995). В таком случае связь активности нейронов с одним из аспектов феноменологического описания поведенческих актов предполагает специализацию этих нейронов относительно отдельных актов исследовавшегося поведения, которые включают данный аспект. Другими авторами связь активности ретроспленальных нейронов с «направлением головы», конкретным местом, рассматривается в основном, как участие данной структуры в обработке пространственной информации и обеспечения «навигационного поведения» и «аллоцентрической репрезентации» пространства (Czajkowsky R. et al., 2014, Miller A.M.P. et al., 2014, Knight R., Nauman R., 2014).

1.1.5. Данные о специфической и неспецифической активности специализированных нейронов.

Определение специфической связи активности конкретного нейрона с аспектом поведения, либо его характеристикой предполагает сравнение такой активности в ряде экспериментальных ситуаций, различающихся по этому аспекту или характеристике. Таким образом, все авторы, описывающие феномены специфической связи активности нейронов имели данные об активности этих нейронов в других ситуациях, что в нашей терминологии соответствует понятию неспецифической активности. Однако, в большинстве случаев анализа распределения этой активности в сравниваемых ситуациях не проводилось. Большое количество работ было посвящено выявлению в гиппокампе клеток «места» и анализу их активности в разных ситуациях. Обычно такие данные анализировались в русле парадигмы

«кодирования» разных составляющих экспериментальной ситуации (см. напр. Wilson M.A., McNaughton B.L., 1993). Другим примером такого подхода может служить работа из лаборатории Эйхенбаума по анализу детерминант активности гиппокампальных нейронов в свободном поведении (Wood E.R. et al., 1999). В ней описаны разные пространственные и непространственные корреляты активности нейронов, такие как подход к пищевому объекту, запах, сходство запахов, конкретная позиция и их разнообразные комбинации. Также в русле поиска детерминант активности нейронов места применялись разнообразные манипуляции с пространственными стимулами и наблюдение за активностью клеток «места» в разнообразных задачах (см. напр. Kobayashi T. et al., 1997, Zinyuk L. et al., 1999). В работе Кобаяши анализировали активность нейронов «места» в разных задачах, где в качестве подкрепления было электрораздражение зоны самостимуляции, а условием получения такого подкрепления было попадание в разные локации в зоне повышенной активности нейрона «места» или за ее пределами. Авторы обнаружили для многих клеток связь активности нейрона «места» в рамках зоны его «плейс поля» с получением подкрепления и смещение этой зоны при подкреплении локации вне этой зоны. Такие результаты интерпретируются ими как «интеграцию огромного разнообразия чувственной информации в целостную репрезентацию пространства» (Kobayashi T. et al., 1997). То есть такая специфическая активность нейрона рассматривается ими не как компонент индивидуального опыта, а как кодирование определенной части пространства. Аналогично трактуются результаты анализа активности нейронов энторинальной коры в поведении, которые описывают представленность в этой структуре таких параметров поведения, как место, скорость и направление движения (Sargolini F. et al., 2006). В этой связи можно согласиться с Мак Кензи с соавторами, которые делают вывод, что нейроны гиппокампа связаны преимущественно с пространственными параметрами только в задачах, в которых пространство является единственной значимой переменной (McKenzie S. et al., 2016). В других экспериментальных задачах и условиях, где кроме пространственной переменной есть еще стереотипное поведение, проявляются параметры скорости и направления движений (Markus E. et al., 1995). А в случае разного значения перемещений через одно и то же место в экспериментальной ситуации в активности гиппокампальных нейронов проявляются разные составляющие особенностей выполняемого поведения (Wood E.R. et al., 2000, Ainge J.A. et al., 2012).

Попытка рассматривать активность нейронов «места», как определенных элементов опыта может быть обнаружена в работах из группы Мак Нотона. Анализируя активность нейронов места вне специфической «плейс» зоны, авторы рассматривают ее как реактивацию памяти (Wilson M.A., McNaughton B.L., 1993, 1994). В других работах этой

группы было показано, что во время медленно-волнового сна после сессии поведения в лабиринте нейроны с пространственно близкими «плейс» полями имели сгруппированные спайковые разряды в порядке, отражающем порядок смены специфических для этих нейронов мест лабиринта (Skaggs W.E., McNaughton D.L., 1996, Scaggs W.E., et al., 1996). Также было показано проигрывание последовательности включения нейронов «места» и в другой фазе сна – быстром сне (REM – фаза сна с быстрым движением глаз) (Louie K., Wilson M.A., 2001). Позднее проигрывание приобретенного опыта во сне было показано и для нейронов зрительной коры (Ji D., Wilson M.A., 2007) и других структур новой коры (Hoffman K.I., McNaughton B.L., 2002, Mao D. et al., 2018), а также вентрального стриатума (Pennarts C.M.A. et al., 2004, Lansink C.S. et al., 2009). Другие авторы показали наличие сгруппированной активности нейронов «места» в бодрствовании (Foster D., Wilson M.A., 2006). В их экспериментах у крыс в конце трека в рукаве лабиринта во время риплов (кратковременных, длительностью около 80 мс синхронных разрядов большинства гиппокампальных нейронов) наблюдается последовательная активация гиппокампальных нейронов «места» в соответствии с последовательностью смены соответствующих положений в побеге по рукаву лабиринта. Такое воспроизведение сформированных в поведении последовательностей обычно рассматривается как механизм консолидации приобретенного опыта (Battaglia F.P. et al., 2005). Однако позднее было показано проигрывание в этих ситуаций последовательностей включения гиппокампальных нейронов до того, как формировалась последовательность «плейс» полей в поведении (Dragoi G., Tonegawa S., 2011, 2013). Все эти варианты неспецифической активности рассматриваются в связи с их гипотетической ролью в процессах консолидации, а также в русле более широкого понятия «последовательностей активности в режиме оф-лайн», как поддерживающие пространственные репрезентации и участвующие в обучении и планировании (Buhry L., et al., 2011).

Другим случаем внимания к неспецифической активности специализированных нейронов можно на наш взгляд считать работы по изучению работы так называемой «зеркальной системы мозга». Первично термин «зеркальная система нейронов» был предложен Дж. Ризолатти для описания активности нейронов премоторной коры обезьян при выполнении конкретного движения и наблюдении за выполнением сходного движения экспериментатором (Di Pellegrino G. et al., 1992, Gallese V. et al., 1996). В их работе было показано, что значительная часть выборки зарегистрированных нейронов премоторной коры (поле F5) была активна как при выполнении животным целенаправленного движения, так и при наблюдении за сходным движением, выполняемым экспериментатором (Gallese V. et al., 1996). Эти «зеркальные нейроны» для их активации «требовали взаимодействия между

агентом действия и его объектом» (там же, стр. 593). Авторы делают акцент на том, что в обеих этих ситуациях нейроны демонстрировали активность, существенно превышающую активность в других сравниваемых ситуациях. В то же время из приведенных в этой работе примеров видно, что активность «зеркального нейрона» при выполнении движения самим животным характеризовалась более высокой частотой разряда, чем при наблюдении за аналогичным действием экспериментатора. На наш взгляд, это характеризует активность при наблюдении за действием экспериментатора как неспецифическую активность нейрона, специализированного относительно выполнения такого действия самой обезьяной. Обсуждение активности «зеркальных нейронов» ведется авторами с точки зрения их участия в подражании и понимании действий других индивидов, которые рассматриваются как особенные стимулы (Rizolatti G., Craighero L., 2004).

1.2. Динамика нейронной активности в различных моделях обучения.

В связи с широким развитием структурно-функциональных представлений о работе мозга после знаменитых опытов Брока и Вернике усилия большинства исследователей мозговых основ обучения были направлены на поиск структур, ответственных за обучение. Основными методами, которые использовались поначалу для этого, были наблюдения за больными людьми с той или иной патологией мозга и эксперименты с удалением или разрушением структур мозга животных (в качестве примера последних - (Беленков Н.Ю., 1980, Markowitch H., Pritsel M., 1976)). Опыт наблюдения за нарушениями обучения у больных с различными поражениями мозга подробно изложен в работах А.Р. Лурии (1962). На основании такого рода исследований был сделан вывод о большой роли лимбической системы в обучении. Однако, как отмечает Н.Ю. Беленков (1980), эти данные свидетельствовали скорее не о том, как та или иная структура обеспечивает поведение и обучение, а о том, как нарушалась работа целостного мозга по обеспечению поведения в результате таких вмешательств. Точно такие же трудности испытывал и получивший распространение позднее метод раздражения разных структур для изучения их функции. Поэтому для исследователя мозгового обеспечения поведения и обучения у активно действующих индивидов в реальных условиях, такие методы неприемлемы. В результате наибольшее распространение получили методы наблюдения за активностью мозга путем регистрации электрических показателей такой активности - ЭЭГ и спайковой активности нейронов. В последнее время также очень широко стали применяться методы томографического исследования активности мозга. Однако, самый точный из томографических методов – метод функционального магнитного резонанса, обладающая

довольно высокой пространственной разрешающей способностью, дает картины активности мозга, сильно отличающиеся от картин активности, полученных методами регистрации активности нейронов в соответствующих локусах мозга (Logothetis N. et al., 2001, Viswanathan A., Freeman R.D., 2007). В силу того, что на человеке в большинстве случаев практически возможно применение только неинвазивных методов и высокой дороговизны и ограниченной доступности томографов, метод регистрации ЭЭГ получил наибольшее распространение. В процессе формирования навыка были зарегистрированы определенные изменения в ЭЭГ- активности, сопровождающей его выполнение (Пашина А.Х., 1979, Безденежных Б.Н., Пашина А.Х., 1987). Однако усредненный потенциал ЭЭГ оказывается одним и тем же при выполнении совершенно разных задач (Максимова Н.Е., 1987). Таким образом, по ЭЭГ трудно изучать, какой именно опыт приобретается в результате обучения и какие изменения в активности элементов мозга ему соответствуют. Более информативным оказывается изучение активности отдельных нейронов в поведении в силу того, что каждая клетка коры имеет около 1000 синаптических контактов со многими клетками различной структурной принадлежности (Бабминдра В.П., Брагина Т.А., 1982), и таким образом, в ее активности отражаются системные процессы протекающие в целом мозге. В результате оказывается, что самую точную информацию об активности мозга дает регистрация активности нейронов, но эти данные получены в основном на животных и лишь иногда в ходе операций на мозге человека (Раева С.Н., 1978, Раева С.Н. и др., 1982), что ставит проблему использования данных, полученных на животных, для понимания функционирования мозга человека.

1.2.1. Динамика активности нейронов при выработке условных рефлексов и их переключении.

В то время, когда появилась возможность изучать активность отдельных клеток мозга, в физиологии господствовали представления об обучении как о замыкании дуги условного рефлекса или проторении пути от афферентных структур к эфферентным. Это обстоятельство вместе с теми жесткими методическими условиями, в которых была возможна регистрация нейронной активности, привело к тому, что исследования обучения этим методом начинались с выработки рефлексов у препаратов мозга, у обездвиженных или наркотизированных животных. Такие работы по существу не могли дать представление о психофизиологических основах обучения, так как наркотизированный препарат психикой не обладает (Швырков В.Б., 1980). В то же время полученные в них результаты использовались для формирования представлений о физиологических механизмах психических явлений, и

методические приемы были перенесены на исследования обучения свободно передвигающихся животных, которые взаимодействуют со средой как целое и демонстрируют целенаправленное поведение.

Наиболее распространенным методом изучения нейронных основ обучения было наблюдение за изменениями активности клеток разных отделов мозга после подачи условного стимула в ряду последовательных сочетаний раздражителей (Дрыгин Ю.М., 1977, Заркешев Э.Г. и др., 1975, Шевко Г.Н., Бакланова Н.Ф., 1978 и др.). Изменения активности были зарегистрированы у нейронов всех структур мозга, где проводилась регистрация (Котляр Б.Н., 1986). Феномен изменения активности нейрона в процессе сочетания условного и безусловного раздражителей был назван пластичностью. Так как изменения активности в процессе выработки рефлекса наблюдались во многих структурах мозга, и в соответствии с представлениями о замыкании временной связи, следующей проблемой, оказавшейся в центре внимания исследователей, стало обнаружение структур, ответственных за формирование и хранения энграммы (Thompson R.F., 1976). В качестве критериев для решения данной задачи были выбраны минимальное время появления изменений активности в ряду сочетаний при условии отсутствия ответа на неподкрепляемое предъявление раздражителя до сочетаний и минимальное время реакции нейрона на условный стимул. В работах, проведенных по данной методике, первые изменения активности регистрировались то в гиппокампе (Olds J., 1970, Olds J. et al., 1972, Segal M., 1973, Segal M., Olds J., 1972), то в ретикулярной формации (Kornblith C., Olds J., 1973), то в гипоталамусе (Olds J., Hirano T., 1969). В этих работах было обнаружено, что изменения в активности возникают почти одновременно во многих структурах мозга еще до появления поведенческих признаков выработки рефлекса. Результаты, полученные в этих исследованиях, показали, что при обучении перестраивается активность всего мозга. На основании этого был сделан вывод о невозможности локализации энграммы в одной структуре и о распределенной по многим структурам мозга памяти (Thompson R.F., 1976).

В проведенных работах была отмечена неспецифичность изменений в активности многих нейронов по отношению к вырабатываемому рефлексу. Многие клетки, активировавшиеся на условный стимул, после выработки рефлекса активировались также в ответ на безусловный стимул или на неподкрепляемый условный до начала сочетаний (Василевский Н.Н., 1978, Рабинович М.Я., 1975). В дальнейшем для того, чтобы выделить пластические перестройки активности, специфические именно для обусловливания, в экспериментах стали применяться контроли на сенситизацию (усиление ответа при последовательных предъявлениях условного стимула без подкрепления), привыкание (снижение ответа в ряду предъявлений стимула без подкрепления) и псевдообусловливание

(предъявление условного и безусловного стимулов в обратном порядке) (Котляр Б.И., 1977). Соответственно и эти явления многие исследователи или вообще не относили к обучению (Хайнд Р., 1975) или считали наиболее простыми, базовыми его формами (Terrace H.S., 1984). Специальные исследования привыкания, проведенные в лаборатории Р. Томпсона, показали его тесную связь с сенситизацией (Thompson R.F., Berger T., 1984) и привели к созданию теории привыкания как «двойственного процесса» (Groves P., Thompson R.F., 1970).

Представления о том, что пластические перестройки активности нейронов лежат в основе обучения, привели к широкому исследованию пластичности на уровне отдельного нейрона и в малых популяциях клеток мозга. При этом предполагалось, что отдельный нейрон является тем местом, где происходит замыкание дуги условного рефлекса, или он выступает в качестве базового элемента звена цепи, обеспечивающей выполнение рефлекса. В связи с этим большое распространение получили работы по изучению пластичности нейронов при использовании аналогов условного рефлекса, в которых в качестве ассоциируемых раздражителей использовались внешний стимул и электрораздражение мозга (Voronin L., 1977) или раздражение мозга и аппликация нейромедиатора (Овчаренко Ю.С., Котляр Б.И., 1978). В последнем случае 95% сенсо-моторных нейронов «закономерно изменяли реактивность к сигнальному стимулу» (Котляр Б.И., 1986). Другим способом исследования пластичности клеток в целом мозге животного были наблюдения за активностью одиночных клеток или микропулов нейронов при аппликации к ним нейромедиаторов (Котляр Б.И., 1986, Котляр Б.И., Овчаренко Ю.С., 1980). В таких работах было показано, что у большой группы исследованных нейронов удается выработать стойкие изменения активности в ответ на предъявление аналога условного раздражителя. Так, по данным Б.И. Котляра с соавторами 30,7% нейронов зрительной коры, чувствительных к аппликации глутамата, формировали пластические перестройки активности при аппликации глутамата в качестве условного стимула и ацетилхолина в качестве безусловного (Котляр Б.И., 1986).

Оригинальным способом исследования возможности отдельного нейрона перестраивать свою активность для получения подкрепления были исследования Ф.Е. Фетца с сотр. (Fets E., Baker M., 1973). Аналогичная методика использовалась и в работах ряда других авторов (Василевский Н.Н., 1968). В этих работах в качестве необходимого условия получения подкрепления выступало изменение до определенного уровня частоты импульсной активности регистрируемого нейрона. У обезьян регистрировалась фоновая активность отдельного нейрона сенсо-моторной коры в области представительства руки или ноги. При достижении заданной частоты активности автоматически давалось подкрепление.

Из 51 нейрона, зарегистрированного в сериях с подкреплением частоты собственного разряда нейрона, у 33 удалось получить повышение частоты при подкреплении (Fets E., Baker M., 1973). При этом, если активация нейрона соответствовала определенному произвольному движению животного, то такое движение наблюдалось чаще в ситуации с подкреплением. У ряда клеток частота активности коррелировала с общей активностью животного. В этом случае подкрепление приводило к повышению двигательной активности животного. При подкреплении высокой частоты активности клеток, активации которых в фоне не сопровождалось определенными движениями или повышением общей активности животного, изменений двигательной активности зарегистрировано не было. Таким образом, видно, что животное достигало подкрепления за счет произвольного повторения поведения, которое подкреплялось.

Пластические функции нейронов исследовались также на изолированных нейронах. Обычно для исследований выбирались клетки нервной системы моллюсков ввиду их крупного размера и хорошей изученности связей такого нейрона и его места в нервной системе (Греченко Т.Н., 1979, Кэндел Э., 1980). Было продемонстрировано, что у изолированного нейрона можно сформировать аналог условного рефлекса, выражающийся в изменении возбудимости участка мембраны при сочетании с раздражением других участков (Греченко Т.Н., 1979, Sokolov E.N., 1977).

Особенно подробно нейронные механизмы пластичности были изучены на нервных клетках препаратов нервной системы моллюска апплизии (Кэндел Э., 1980, Kandel E.R., 1979, Kandel E.R., Castellucci V.F., 1981). Исследуя изменения активности идентифицированного нейрона с известными связями и "функцией" были составлены схемы нейронных механизмов привыкания и сенситизации. Как отмечают авторы, обучение у такого примитивного организма как улитка не является полным аналогом обучения у высокоразвитых организмов, но может пролить свет на самые примитивные формы обучения у млекопитающих (Кэндел Э., 1980, Kandel E.R., Castellucci V.F., 1981).

Таким образом, в аналитических экспериментах была продемонстрирована высокая пластичность нервных клеток как в целостной нервной системе, так и в культуре ткани и на отдельных изолированных нейронах. В этих экспериментах не удалось обнаружить существование "специальных нейронов памяти", которое предполагалось некоторыми исследователями (Doty R.W., 1975, Bateson P.G., 1984). Это определило направления дальнейшего изучения мозговых основ обучения. С одной стороны, началось бурное исследование биохимических основ обучения и морфологических изменений в мозге при обучении, и, с другой стороны, изучение активности систем нервных клеток, понимаемых как ансамбли взаимосвязанных нейронов, в процессе формирования поведения.

Выявление механизмов обучения на основе исследования активности в таких ансамблях нервных клеток в поведении и обучении получило широкое распространение в экспериментах на моллюсках с относительно простой и хорошо изученной морфологией мозга, вплоть до четкой идентификации отдельных нейронов. Э Кендел отмечает: «От рассмотрения функций отдельных клеток... многие нейробиологи переходят сейчас к анализу клеточных систем. Особенно привлекательной системой такого рода является группа взаимосвязанных клеток, обеспечивающих целостный поведенческий акт" (Кэндел Э., 1980, с. 11). Однако выделить группу клеток, обеспечивающих поведенческий акт, сейчас возможно только у животных с очень простой нервной системой. Классическим объектом для исследований в этом направлении является апслизия или другие виды моллюсков. Их нервная система содержит всего лишь около 100.000 клеток, которые крупнее нервных клеток позвоночных, и в ряде случаев могут быть идентифицированы под микроскопом. На таких изолированных нервных системах, как отмечалось выше, подробно исследованы изменения активности нейронов при простых формах обучения (Кэндел Э., 1980, Seligman M., 1970). На нервных системах интактных животных были исследованы изменения дыхательного и оборонительного поведения при раздражении кожи виноградной улитки и сопутствующие им перестройки в активности идентифицированных нейронов (Балабан П.М., Максимова О.А., 1986). В таких экспериментах удается связать модификацию поведения с активацией или торможением конкретных нейронов или небольших групп клеток.

У высокоорганизованных организмов в качестве исследуемых систем выбирают, как правило, клеточные ансамбли корковых нейронов, исходя из идеи Д. Хэбба об ансамблевой организации корковых нейронов (Hebb D.O., 1949). В качестве метода изучения таких ансамблей применяют одновременную регистрацию активности двух или трех корковых нейронов в процессе выработки условного рефлекса (Гасанов У.Г., 1981). В этих работах показано, что "межнейронные отношения", выявляемые по соотношению одновременной активности клеток, "оказались наиболее реактивным показателем и для сложных форм раздражения с выработкой временной связи» и «перестройки межнейронных отношений были особенно выразительными и глубокими при выработке и угашении приспособительных реакций» (Гасанов У.Г., 1981). Ряд исследователей считает, что обнаруженные гистологически в некоторых областях коры колончатые структуры соответствуют обучающимся ансамблям клеток и являются модулями обработки сигналов внешней среды (Lemon R., Porter R., 1976, Shaw G. et al., 1982). Были даже разработаны модели, которые описывают как такое инструктивное обучение могло бы происходить (Spinelly D.N., 1970). Но, возможно, что такая организация коры связана с закономерностями

закладки коры в онтогенезе (Коуэн У., 1982) и с расположением кровеносных сосудов, питающих нервные клетки.

Таким образом, накопленные данные позволяют утверждать, что обучение связано с изменением активности нервных клеток всех структур мозга и сопровождается определенными морфологическими и биохимическими изменениями в нейронах. Однако, эти изменения сами по себе еще не дают представления о том, как происходит обучение. Дальнейшее развитие представлений о нейронных основах обучения связано с изучением закономерностей организации активности нервных клеток в функциональные системы поведенческих актов, как в процессе приобретения, так и реализации сформированного обучением поведения.

1.2.2. Динамика активности нейронов при «экстренном» обучении в пищедобывательном поведении.

Процесс обучения взрослого животного большинству поведенческих задач занимает длительное время и для регистрации сопровождающих его изменений в активности нейронов требует хронической регистрации нейронной активности. В то же время такие методы стали доступными относительно недавно, а до этого приходилось изучать процесс вовлечения нейронов в обучение на специально адаптированных вариантах «экстренного» обучения. Примером такой модели является модель пищедобывательного инструментального обучения кролика, примененная в работах Швырковой Н.А. (1986б). В этой модели использовалась клетка, оборудованная двумя кормушками и двумя гнездами для установки педалей напротив этих кормушек. Предварительно кролика обучали нажимать на педаль напротив левой кормушки и получать после этого пищу в правой кормушке. В процессе регистрации нейрона после серии нажатий на педаль в этом месте педаль переносили на новое место. Нажатие педали в новом месте приводило к подаче пищи во второй кормушке, т.е. перемещение по одной диагонали клетки меняли на побежки по второй диагонали. Такое перемещение педали создавало для животного проблемную ситуацию, для разрешения которой требовалось непродолжительное обучение. Среди зарегистрированных до и в процессе обучения 148 нейронов гиппокампа, зрительной и сенсо-моторной областей коры кролика было обнаружено 15 нейронов, специфически активировавшихся при нажатии на педаль в исходном положении. Для активности этих нейронов были характерны активации и при первых нажатиях на педаль, переставленную в новое место, но такие активации постепенно пропадали в ряду последовательных нажатий на педаль в этом месте. В этой работе не удалось обнаружить ни одного нейрона,

специфически активировавшегося при нажатии на педаль в новом месте, хотя кролик обучился оперировать с ней почти так же, как и с педалью на исходном месте. Отсутствие нейронов, специализированных относительно нажатий педали на новом месте, не может быть объяснено недостаточным объемом выборки (достоверность различия количества нейронов, активирующихся на педали в исходном и измененном положении по критерию $\chi^2 - p < 0,001$). Такой результат предполагает, что при нажатиях на новую педаль после первых реализаций последующие обеспечивались вовлечением нейронов «резерва», которые не были активны при нажатиях на первую педаль и были «молчащими».

1.2.3. Динамика активности нейронов «места» гиппокампа при перемещении животного между разными средами.

В силу того, что нейроны «места» с наших позиций представляют собой, как отмечалось выше, определенным образом поведенчески специализированные нейроны особый интерес представляют многочисленные эксперименты по хронической регистрации таких нейронов при разнообразных изменениях экспериментальной ситуации. Так как предполагается, что такие нейроны репрезентируют «когнитивные карты» пространства, многие исследователи анализировали динамику активности нейронов «места» при перемещении животного из одной среды в другую. В знакомой среде «плейс поля» нейронов «места» остаются неизменными на протяжении многих недель (Muller R.U. et al, 1987, Thompson L.T., Best P.J., 1990). Когда животное перемещают из знакомого пространства в новое пространство «плейс поля» большинства регистрируемых гиппокампальных нейронов изменяют свою интенсивность, форму, локализацию, а некоторые нейроны замолкают (Muller R.U., Kubie J.L., 1987). Такое перемещение производилось путем вынимания животного из одной клетки и посадки его в другую клетку с новыми стенками. В то же время в группе Мак Нотона был поставлен эксперимент с расширением доступного животному пространства в рамках одной клетки (Wilson M.A., McNaughton B.L., 1993). Для этого после регистрации нейронов в первой части клетки и определения «плейс полей» было проведено удаление непрозрачной перегородки, разделявшей доступную часть от скрытой. И при исследовании открывшейся части клетки регистрировалась активность той же группы нейронов. Так у одной из крыс в этом эксперименте из 80 одновременно регистрируемых пирамидных нейронов поля СФ1 в первой («знакомой») части клетки были активны и имели отчетливые поля 34 нейрона. Остальные пирамидные нейроны при обследовании «знакомой» части клетки «молчали», т.е. не демонстрировали спайковых разрядов. Аналогичных результаты были получены у двух других экспериментальных животных. В

одной экспериментальной сессии после 10-минутного обследования крысой «знакомой» части клетки была убрана перегородка между частями клетки и животное получило доступ к новой, незнакомой части экспериментальной клетки. После этого разные эти 3 крысы по-разному (в отношении периода от открытия до начала обследования, а также режима и времени этого обследования) обследовали открывшуюся часть клетки. Через 20 минут перегородка была возвращена на место и еще 10 минут каждое животное обследовало «знакомую» часть клетки. Анализ нейронной активности в «знакомой» части клетки до и после обследования второй части показал высокую корреляцию пространственного распределения активности, что продемонстрировало неизменность «когнитивной карты» «знакомой» части после обследования нового открывшегося пространства. Стабильная «карта» второй части клетки была создана за 10 минут и после первых 10 минут обследования точность воспроизведения траектории движения животного по активности регистрируемых нейронов сравнивалась со значениями для «знакомой» части клетки. В открывшейся части клетки «плейс поля» сформировали в течение этого времени нейроны, которые не имели импульсации в «знакомой» части клетки, что и привело к тому, что репрезентация пространства «знакомой» части после убирания перегородки существенно не изменилась. Авторы особо отмечают заметное снижение частоты импульсации тормозных интернейронов при переходе в открывшуюся часть клетки, что на их взгляд является важным элементом задействования механизмов изменения синаптической эффективности NMDA рецепторов при формировании «плейс полей» в открывшейся части клетки. Эти данные могут свидетельствовать об использовании резерва нейронов для формирования репрезентации открывшегося пространства.

1.2.4. Гипотеза о вовлечении молчащих нейронов в фиксацию приобретаемого поведения.

Возможны два альтернативных пути формирования специализированной относительно актов наблюдаемого поведения активности нервных клеток. Широко показанная пластичность реакций нейронов на стимулы (напр. Котляр Б., 1986) делала более вероятной гипотезу о переспециализации в процессе обучения уже специализированных нейронов, но данные по искусственно сформированным рецептивным полям нейронов и данные о стабильности связи активности нейронов с поведением в опытах Рэнка (Ranck J., 1973, 1975) свидетельствовали в пользу стабильности уже сформированной специализации. В исследованиях активности нейронов в поведении в нашей лаборатории также была показана стабильная связь активности нейрона с поведением в течение всего времени его

регистрации, которая в ряде случаев достигала десятка минут и десятков реализаций одинаковых пищедобывательных циклов (Шевченко Д. и др., 1986, Швырков В., 1986). Также была показана стабильность на протяжении длительного времени «плэйс полей» нейронов места при регистрации хронически вживленными электродами (Thompson L.T., Best P.J., 1990, Varnes C. et al., 1997). Если специализация нейронов действительно стабильна на протяжении больших жизненных интервалов, то более вероятно, что специализация нейронов в обучении происходит путем специализации исходно неспециализированных относительно поведения нервных клеток.

Предположение о наличии резерва неспециализированных нейронов, необходимых для обучения принципиально новым формам поведения, таким, например, как "рассудочная, деятельность", было высказано ранее Л.В. Крушинским (1977а, 1977б). Он предполагал, что обучение животного экстраполяции задействует те нервные клетки, которые прежде не использовались, а остальное поведение происходит на основе филогенетически врожденного опыта условнорефлекторно. Также существование резерва нейронов, используемого в обучении, было теоретически предсказано Ю. Конорским, развивавшим представление о существовании «гностических» нейронов (Конорски Ю., 1970). В проведенном нами ранее исследовании (Горкин А.Г., 1987) было показано, что у животных, исполнявших «сложное» циклическое пищедобывательное поведение нажатия на педали для получения пищи в кормушках, были зарегистрированы в цингулярной коре нейроны, специализированные относительно актов поведения, связанных с подходом и оперированием педалями. Сравнение распределения нейронных специализаций с животными, которые исполняли только «простое» пищедобывательное поведение захвата пищи из тех же кормушек показало, что появление таких нейронов не привело к статистически достоверному перераспределению групп нейронов в лимбической коре, которые были специализированы относительно актов «простого» поведения. Соответственно было сделано предположение, что специализированными в отношении новых актов «сложного» поведения становятся прежде неспециализированные нейроны, которые не регистрировались в «простом» поведении (Schvytkov V., 1986). В качестве последних могут выступать так называемые "молчащие" нервные клетки. Существование таких клеток в головном мозге животного было продемонстрировано в экспериментах с ионофоретической аппликацией медиаторов (Шулейкина К.В., 1980). В этих работах были зарегистрированы нейроны, импульсация которых наблюдалась только после аппликации медиатора, в остальное время спайковой активности у нейрона не было. В работе Шулейкиной К.В. (1980) отмечается, что количество таких нейронов у плода достигает 37%, т.е. 37% зарегистрированных клеток импульсировали только при аппликации медиатора. В работах другой группы авторов

активация молчащих нейронов при аппликации глутамата была продемонстрирована в соматосенсорной коре у крыс, енотов и кошек (Dykes R.W., Lamour Y., 1988, Lamour Y. et al., 1988, Warren R.A., Dykes R.W., 1992, Rasmusson D.D. et al., 1992).

Многими авторами отмечалось, что в коре больших полушарий и гиппокампе многие нейроны «молчат», т.е. при погружении микроэлектрода под наркозом, либо в поведении не дают спайковых разрядов. Были предприняты попытки оценить долю активных и молчащих нейронов в коре. Проведенные с этой целью эксперименты дали оценки доли импульсирующих нейронов в коре больших полушарий в диапазоне от долей процента (Владимирова И. и др., 1963) до 3% (Ливанов М., 1965). В основу этих вычислений был положен предложенный Ливановым метод оценки пространственной чувствительности микроэлектрода по «срединной хорде» (Ливанов М., 1965), обобщающей расстояние, проходимое микроэлектродом в толще мозга, в течение которого регистрировались спайки одного нейрона. Было предположено, что когда нейрон регистрируется на протяжении большого отрезка толщи коры, микроэлектрод проходит дальше от сомы нейрона, а когда этот отрезок был небольшим – электрод прошел совсем рядом с нейроном. Такая оценка позволила определить объем коры, в котором регистрировались нейроны, и, исходя из морфологических данных об их плотности в коре и реально зарегистрированном среднем числе в одной проходке микроэлектрода через этот участок мозга, вычислить долю активных и молчащих клеток.

Для проверки предположения о вовлечении в обучение «молчащих» нейронов нами ранее были проведены специальные эксперименты по регистрации числа активных нейронов в лимбической коре у животных, исполнявших «простое» и «сложное» пицедобывательное поведение. Для сравнения числа активных нейронов в коре мы подсчитывали число регистрируемых стандартными микроэлектродами импульсирующих нейронов при многократных погружениях в толщу коры от самых верхних слоев до ее нижних границ. В результате были получены средние значения числа активных нейронов в одной проходке через всю толщу коры в «простом» и «сложном» поведении. Статистическое сравнение этих значений показало достоверно большее число активных нейронов в одной проходке через кору животных, исполняющих «сложное» поведение, по сравнению с животными, исполнявшими «простое» (Горкин А.Г., 1988). Причем относительное увеличение числа регистрировавшихся в «сложном» поведении нейронов по сравнению с «простым» соответствовала относительному количеству зарегистрированных нейронов со специализациями относительно оперирования с педалями. Таким образом, полученные нами данные убедительно продемонстрировали специализацию в обучении прежде неспециализированных, «молчащих» нейронов.

1.3. Сравнение перестроек нейронной активности в раннем онтогенезе и при обучении взрослого организма.

Приведенные в предыдущем разделе данные свидетельствуют о том, что резерв неспециализированных нейронов необходим для формирования любого нового поведенческого акта взрослого животного, а не только для обеспечения неких высших форм поведения, например, «рассудочной деятельности». То есть приобретение любого нового элемента поведенческого опыта связано с появлением специализированных относительно данного элемента нейронов. Исходя из представления о функциональной системе активности элементов организма как субъективном отражении поведенческого акта и наличия системоспецифичных нейронов, логично, на наш взгляд, предположить, что и при формировании функциональных систем в онтогенезе происходит специализация нейронов относительно формирующихся актов. Существование принципиального сходства физиологических процессов при созревании в онтогенезе и при обучении взрослого организма допускалось многими авторами (Хайнд Р., 1975, Singer W., 1984). Как косвенное подтверждение предположения о сходстве процессов созревания и обучения могут рассматриваться, например, данные о динамике формирования рецептивных полей нейронов зрительной коры кролика в раннем онтогенезе (Grobstein P. et al. 1975, Mathers L. et al., 1974). Динамика разных типов рецептивных полей в зависимости от возраста животного оказалась принципиально сходной с изменениями в специфичности нейронов в результате обучения в наших экспериментах и с изменением специфичности активности нейронов зрительной коры в период восстановления от длительной зрительной депривации в опытах С. Карлсона и Н. Незлиной (Карлсон С., Незлина Н., 1987, Carlson S., Nyvarinen L., 1983). Во всех упомянутых случаях появление новых клеток со специфической активностью происходило на фоне уменьшения количества неспецифических нейронов, но в работах П. Гробштейна с соавторами (Grobstein P. et al., 1973, 1975) появлялись нейроны с новыми более сложными рецептивными полями, в результате восстановления от депривации - с активностью, специфически связанной с выполнением произвольных движений (Карлсон С., Незлина Н., 1987), а в наших работах - специфически активирующиеся при выполнении приобретенных в обучении актов пищедобывательного поведения. О том, что изменения в активности нейронов зрительной коры после восстановительного периода связаны именно с обучением, а не созреванием, может свидетельствовать отсутствие существенных изменений числа клеток, отвечавших на зрительные стимулы после восстановления, ведь именно

реактивность на зрительные стимулы характерна для данной области коры у нормальных животных.

Показать сходную с ранней онтогенетической динамику рецептивных полей клеток зрительной коры у взрослого животного довольно трудно, так как основная масса нейронов этой структуры специализируется в критическом периоде, и этот многообразный опыт, выраженный при таком типе исследования в рецептивных полях различной сложности, маскирует количественные изменения, появляющиеся в результате специализации оставшихся неспециализированных клеток. Как отмечал М. Розенцвейг, крайне трудно выделить при исследовании мозга количественные изменения, связанные с той незначительной добавкой к опыту взрослого животного, которую дает обычно применяемое в лабораторных условиях обучение (Rosenzweig M., 1970). Поэтому все количественные методы исследования изменений в мозге в результате обучения наиболее эффективны у молодых или депривированных животных (Rosenzweig M., 1985), чей индивидуальный опыт в значительной мере определяется опытом, приобретенным в экспериментальной ситуации. Исследовавшиеся нами животные также были в значительной степени поведенчески депривированными в связи с постоянным нахождением в тесных клетках вивария с самого рождения, что, видимо, облегчило выявление обнаруженных нами эффектов обучения.

То, что приобретаемый молодым, депривированным животным в экспериментальной ситуации опыт существенно отражается в активности клеток мозга, было убедительно показано в работах Д. Н. Спинелли (Spinelly D.N., 1978, Spinelly D., Hirsh H., 1972). Автором было обнаружено, что формирование поведения у депривированных молодых животных приводит, в отличие от нормы, к появлению рецептивных полей корковых нейронов, соответствовавших применявшемуся в обучении зрительному стимулу, у большинства нейронов не только зрительной, но и сомато-сенсорной коры. Кроме того, область представительства в сомато-сенсорной коре части лапы, раздражавшейся в процессе эксперимента, оказалась многократно увеличенной по сравнению с нормальными животными. Позднее в серии работ М. Мерзених с соавторами (Kilgard M., Merzenich M., 1998, Bao S. et al., 2001, 2003а, б) на свободно подвижных взрослых крысах была показана перестройка зон представленности слуховых рецептивных полей в первичной и вторичной акустической коре после сочетания предъявления звукового тона с электростимуляцией базальных ядер и вентральной области покрышки (ventral tegmental area). Ранее перестройка звуковых рецептивных полей в результате формирования избегания была показана на морских свинках (Bakin J. et al., 1996).

На наш взгляд, эти данные отражают специализацию многих корковых нейронов исследовавшихся кошек относительно актов поведения в экспериментальной ситуации. Об-

наруженное авторами различие в размерах представительства лапы и количества клеток зрительной коры с тактильными рецептивными полями, а сомато-сенсорной - со зрительными, по сравнению с нормальными животными, видимо, связаны с тем, какую часть опыта поведение, наблюдавшееся в эксперименте, занимает в памяти животного. Учитывая, что ранний опыт отражается в наличии специфических рецептивных полей, что без собственной активности животного эти поля не формируются (Held R., Hein A., 1963) и появление новых специфических рецептивных долей сопровождается сокращением числа неспецифических нейронов, нам кажется очень вероятным, что в раннем онтогенезе приобретение нового опыта на нейрофизиологическом уровне исследования заключается в специализации нейронов относительно актов приобретаемого поведения. Таким образом, процессы приобретения нового опыта в результате созревания в онтогенезе и обучения взрослого животного оказываются принципиально сходными и состоят в специализации элементов мозга относительно элементов приобретаемого субъективного опыта, что подтверждает предположение о сходстве созревания и обучения, высказывавшееся рядом авторов (Хайнд Р., 1975, Shaw G. et al., 1982, Singer W., 1978). Хотя, конечно, между процессами научения в раннем онтогенезе и у взрослого организма также имеются определенные различия (см. в Шулейкина К.В. 1975, 1980, Шулейкина К.В., Хаютин С.Н., 1989, Хаютин С.Н., Дмитриева Л.П., 1983, 1987). В раннем онтогенезе одним из ключевых факторов является уровень сенсорного притока (Раевский В.В. и др., 1997, Раевский В.В., 2002).

1.4. Возможные физиологические механизмы формирования поведенческой специализации нейронов.

В многочисленных работах отмечается, что пластические изменения активности нейронов характеризуются обратимостью. В процессе сочетаний стимула с подкреплением изменения в активности, связанные с обусловливанием, возрастают, а при угашении, т.е. неподкреплении предъявлений стимула, ответ постепенно исчезает. Эти изменения носят долговременный характер, и поэтому предполагается, что им соответствуют определенные структурные и биохимические изменения в нервных клетках. Хотя предположение о модификации синаптических контактов в процессе обучения было выдвинуто довольно давно (Hebb D., 1949), в течение длительного времени такие процессы удавалось зарегистрировать только у клеток примитивных нервных систем беспозвоночных (Кэндел Э., 1980). Позднее модификация эффективности синаптических контактов в результате посттетанической потенциации была показана и в экспериментах на позвоночных (Раппопорт С. И др., 1984).

Многие исследователи придерживаются точки зрения, что долговременные изменения функционирования нейрона связаны с модификацией информационных макромолекул ДНК и РНК в клетке. В специальных биохимических экспериментах было показано, что при обучении активируется синтез рибонуклеиновых кислот в нервных клетках (Шумская И., Корочкин Л., 1975, Cupello A., Hyden H., 1978, Wallace P., 1975). Блокирование синтеза ДНК и РНК путем введения в организм специальных блокаторов препятствует нормальному протеканию процесса обучения (Цитоловский Л., 1986, Cupello A., Hyden H., 1978, Wallace P., 1975). Также биохимическими методами была показана активация синтеза белков при обучении (Dudai Y., 1996, Анохин К.В., 1997), ухудшение обучения при блокаде синтеза белков (см. напр. Kraus M. et al, 2002), влияние изменений в синтезе нейромедиаторов на протекание обучения (Kurtz P., Palfai T., 1977, Ogren S., Fuxe K., 1977, Ogren S., Ross S., 1977). Основываясь на данных литературы и собственного исследования, Л.Е Цитоловский предлагает следующую схему биохимических механизмов обучения (Цитоловский Л., 1986). При последовательных сочетаниях изменяются свойства электровозбудимой мембраны и происходит кодирование информации путем нематричного синтеза РНК, обеспечивающего обмен белка, определяющего пластичность мембраны. Через некоторое время эта информация копируется в ДНК, где и хранится энграмма специфической памяти. Автор этим объясняет показанную ранее обратимость амнезии при блокаде синтеза белков и отсутствие амнестического эффекта блокады синтеза РНК через некоторое время после обучения (Dunn A., 1980, Wallace P., 1975). В то же время некоторыми авторами отмечается, что высокая активность синтеза ДНК, РНК и белков необходима для нормального протекания обучения, но не связана с кодированием в них специфической памяти (Корочкин Л.И., 1977, Корочкин Л.И., Михайлов А.Т., 2000). Данные об улучшении обучения после введения необученным животным экстрактов ткани мозга или отдельных химических соединений из мозга обученных (Ungar G., 1970), впоследствии при более тщательных исследованиях не получили подтверждения (Dunn A., 1980, Wallace P., 1975).

В 70-80-е годы были получены данные, показывающие морфологические изменения в мозговой ткани в результате обучения (Котляр Б., 1986, Thompson R., Berger T., 1984). Обучение приводит к увеличению количества шипиков на дендритах нервных клеток, увеличению толщины мембраны в месте синапса, увеличению массы глиальных клеток (Лосева Е., 1982, Cotman C., 1980 и др.). Сначала такие морфологические изменения были обнаружены как результат помещения молодого животного в обогащенную среду на 80 дней, сходные изменения, но менее выраженные, наблюдались в этих условиях и у взрослых животных (Rosenzweig M., 1970, 1985). Неудачи предшествующих попыток найти такие

изменения были объяснены тем, что "...исследователи были заняты только типичным взрослым обучением, которое обеспечивается быстрой рекомбинацией хорошо известных элементов" (Rosenzweig M., 1970, p.70). Позднее в результате применения более тонких методов исследования достоверные морфологические изменения были обнаружены после ежедневного помещения в обогащенную среду на 2 часа в течение 30 дней (Rosenzweig M., 1985), а у молодых животных рост массы затылочной коры был зарегистрирован после 4-х дней с 10-минутным пребыванием в обогащенной среде в день (Ferchmin P., Eterovich V., 1980). Количество и морфология синапсов, устанавливаемые под электронным микроскопом, изменялись после 45-ти минутного содержания крыс в лабиринте, где электрическим раздржением их заставляли бегать по освещенным коридорам (Wenzel J. et al., 1977 a, b). В основном эти данные были получены на депривированных животных, но потом были подтверждены и в экспериментах у нормальных животных (Tieman S., 1984).

1.4.1. Долговременная потенция синапсов – претендент на физиологический механизм долговременной памяти.

Долговременная потенция является экспериментальной моделью зависимой от активности пластичности и широко используется для изучения клеточных механизмов обучения и фаз консолидации следа памяти (Bliss T.V.P., Collingridge G.L., 1993, Reymann K.G., Staak S., 1994). Наиболее интенсивно этот феномен исследовался в гиппокампе. Однако, долговременная потенция была также зарегистрирована в структурах новой коры (Fox K., 1995, Teyler T. et al., 1989, Artola A., Singer W., 1990 и др.), которые предполагаются в качестве места хранения долговременной памяти (Squire L.R. et al., 1984, Squire L.R., 1987). Процесс сохранения памяти может быть связан с активностью гиппокампа – было предположено, что пирамидные клетки гиппокампа имеют такие характеристики импульсной активности, которые приводят к индукции долговременной потенции в их корковых мишенях (Otto T. et al., 1991). Также было показано существование корреляции между развитием долговременной потенции в гиппокампе и корковых структурах при одновременной регистрации в обоих структурах (Mulder A.B. et al., 1993). Для сомато-сенсорной коры крыс было показано, что в раннем онтогенезе (2-5 дни после рождения) значительная часть таламо-корковых синапсов были функционально молчащими, и в результате долговременной потенции становились функционирующими (Isaac J.T.R. et al., 1997). Такие функционально молчащие синапсы исчезали к 9 дню после рождения, и с этого дня терялась способность вырабатывать долговременную потенцию этих синапсов (там же).

В то же время в большинстве областей коры больших полушарий условием получения моносинаптической долговременной потенциации глутаматовых синапсов были либо ранние стадии онтогенеза, либо блокада ингибирующих внутрикорковых связей (Artola A., Singer W., 1987, Izquierdo I., 1993). Однако, позже долговременная потенция синаптической эффективности глутаматовых синапсов без предварительной блокады ингибирующих цепей была показана в ассоциативной коре, куда проецируются выходные отделы гиппокампальной формации. Сначала такая потенция была обнаружена в префронтальной коре в ответ на тетаническую стимуляцию вентрального гиппокампа (поле CA1 и субикулюм) (Jay T. et al., 1995, Laroshe S. et al., 1990, Mulder A.B. et al., 1993). В данных работах было показано, что потенция вызванного ответа с латентным периодом 9 мс, что, однако, не помешало авторам считать его моносинаптическим (Jay T. et al., 1995, Laroshe S. et al., 1990). По мнению авторов объяснением такого длительного латентного периода является немиелинизированный тип стимулируемых волокон (там же).

Одной из основных корковых структур-мишеней гиппокампальной формации является задняя цингулярная кора, ростральная часть которой, как предполагается, играет ведущую роль в функции ассоциативной памяти (Vogt B.A. et al., 1986). Также было показано, что нейроны задней цингулярной коры обеспечивают инструментальное обучение у взрослых животных (Alexandrov Yu.I. et al., 1990, Gorkin A.G. and Shevchenko D.G., 1991). Субикуло-цингулярные проекции, показанные морфологически и электрофизиологически (Finch D.M. et al., 1984) являются ключевыми для вовлечения цингулярной коры в механизмы обучения (Gabriel M., et al., 1987).

После обнаружения долговременной потенциации в префронтальной коре усиление синаптической проводимости в результате тетанизации субикуло-цингулярного тракта было показано в задней цингулярной коре *in vitro* и *in vivo* (Hedberg T.G., Stanton P., 1995). Однако, невыясненными остались два момента: первое – данные *in vivo*, полученные под наркозом были описаны очень кратко и не ясна степень их соответствия данным *in vitro*; второе – регистрация велась всего несколько часов и осталось не выясненным, соответствует ли продемонстрированная потенция критериям истинно долговременной или это вариант кратковременной потенциации в соответствии с критериями классификации фаз долговременной потенциации (Bliss T.V.P., Collingridge G.L., 1993, Reymann K.G., Staak S., 1994). Для ответа на второй вопрос необходимо регистрировать уровень ответов не менее, чем 6 часов после тетанизации. Также в силу показанной зависимости феноменов синаптической пластичности от поведенческого состояния животного (Bramham C.R., Srebro B., 1989) представляется актуальным проверить возможность индукции и параметры

долговременной потенциации на бодрствующем животном, т.е. в том состоянии, когда обычно и происходят процессы научения.

1.4.2. Рецепторное обеспечение долговременной потенциации глутаматовых синапсов.

Для выявления вызывающих изменения синаптической эффективности биохимических процессов особую ценность представляет потенциация в моносинаптических путях, так как в этом случае известны конкретные синапсы, подвергающиеся модификации. И по изменениям ответов можно судить о действии подводимых веществ на эти синапсы. Модификация постсинаптической части синапса при выработке долговременной потенциации была убедительно продемонстрирована (Isaak J.T.R. et al., 1996).

Наиболее исследованным является рецепторное обеспечение долговременной потенциации глутаматовых синапсов пирамидных клеток гиппокампа (Izquierdo I., 1991, Izquierdo I. et al., 2004). Была показана особая роль N-метил-D-аспартат рецептора глутаматовых синапсов, активация которых имеет потенциал-зависимый характер и необходима для индукции долговременной потенциации (Izquierdo I., 1991, Izquierdo I. et al., 1993). Для открытия этого рецептора при поступлении в синаптическую щель глутамата мембрана нейрона должна быть деполяризована. В частности, такая деполяризация присутствует в случае генерации спайков и, следовательно, выброс глутамата в синапсе, который происходит близко по времени к генерации спайка самим постсинаптическим нейроном, приводит к открытию NMDA рецепторов и запуску процессов долговременной потенциации эффективности данного синапса. Таким образом, выполняется условия пластичности, зависимой от активности (Hebb D.O., 1949). Другие рецепторы глутаматовых синапсов, такие как AMPA-рецепторы и метаботропные рецепторы также вовлечены в процесс протекания долговременной потенциации (Izquierdo I. et al., 1993, 2004), однако в большинстве случаев блокада NMDA-рецепторов предотвращает развитие даже ранних стадий долговременной потенциации. В связи с этим предполагается разное участие рецепторов на разных стадиях мнемического процесса – NMDA и метаботропные рецепторы играют важную роль в индукции потенциации, а AMPA рецепторы важны для поддержания потенцированного состояния (Izquierdo I. et al., 2004). Кроме того, показано последовательное вовлечение NMDA-зависимых процессов при обучении избегательному поведению в разных структурах мозга в ряду: гиппокамп-амигдала-энторинальная кора-париетальная кора (Zanatta M. et al., 1996).

На срезах цингулярной коры было показано вовлечение NMDA рецепторов в обеспечение долговременной потенциации синапсов субикуло-цингулярного тракта

(Hedberg T.G., Stanton P., 1996). Аппликация блокатора NMDA рецепторов AP5 на срезы цингулярной коры приводит к подавлению значительной части вызванного электрической стимуляцией внутриклеточного потенциала (Liauw J. et al., 2003). Также было показано наличие метаботропных глутаматовых рецепторов в нейронах неокортекса (Martin L.J. et al., 1992, Romano C. et al., 1995) и их необходимость для запуска поздних фаз долговременной потенциации в гиппокампе (Bashir Z.I. et al., 1993, Riedel G., Reymann K.G., 1996).

В ряде работ отмечается, что в процессе онтогенеза происходит изменение состава рецепторов глутаматовых синапсов. В раннем онтогенезе относительная доля NMDA рецепторов глутаматовых синапсов была выше в первую постнатальную неделю, чем во вторую (Burgard E.C., Hablitz J.J., 1993). В работе других авторов показано, что относительная плотность NMDA рецепторов в первый месяц после рождения была выше, чем у взрослого индивида (Insel T.R. et al., 1990). В другой работе было показано, что количество AMPA рецепторов существенно возрастает через 5 недель онтогенетического развития по сравнению с первыми 10 днями (Petralia R.S. et al., 1999). Миграция AMPA рецепторов в синаптическую зону из сомы клетки происходит после запуска процессов долговременной потенциации глутаматовых синапсов (Shi S. et al., 1999).

1.4.3. Участие гибели клеток в процессах клеточной дифференциации в онтогенезе и гипотеза о вовлечении клеточной гибели в системогенез у взрослых.

В процессе развития в раннем онтогенезе параллельно с дифференциацией нейронов идет массивная клеточная гибель (Коуэн К., 1982). Так в процессе развития нервной системы позвоночных 50% или даже больше нейронов разных типов погибают вскоре после установления синаптических контактов с клетками мишенями (Ralf M.C. et al., 1993). Эта клеточная гибель носит характер апоптоза и апоптотические клетки регулярно встречаются на срезах мозга у нормальных зародышей и молодых индивидов (Abrams J.M. et al., 1993, Oppenheim R.W., 1991, Ralf M.C. et al., 1993). В раннем онтогенезе идет интенсивное накопление индивидуального опыта и дифференциация нейронов разных областей мозга. Теоретическое объединение этих явлений было осуществлено через выдвижение гипотезы о важной роли процессов клеточной гибели при формировании индивидуального опыта, сопровождающегося специализацией нейронов (Александров Ю.И., 2004). В соответствии с этими представлениями процесс системогенеза нового поведенческого акта включает не только формирование специализированных нейронов, но также гибель нейронов, которым в процессе разрешения ситуации рассогласования не удастся согласовать свои метаболические потребности к притоком метаболитов от других клеток. При этом такая клеточная гибель

рассматривается как «альтруистическая», позволяющая выжить другим клеткам того же клана (там же). Отмечается, что эта клеточная гибель протекает по пути апоптоза. Как было показано, апоптоз в развивающемся мозге и у взрослого организма имеют сходные молекулярные механизмы (Yuan J., Yanker B.A., 2000). Позднее, в специально проведенном исследовании эта гипотеза получила подтверждение (Шерстнев В.В. и др., 2010, 2013, Sherstnev V.V. et al., 2013). Так было показано, что число NeuN позитивных нейронов (NeuN – индикатор зрелых нейронов, отличающий их от других клеточных элементов коры мозга), погибших путем апоптоза в РК мозга обученных крыс, значительно ($p < 0.05$) превышало их содержание у контрольных животных (121.3 ± 35.7 клеток/мм² и 42.0 ± 23.9 клеток/мм² соответственно). Особый интерес вызывает факт избирательного и выраженного увеличения числа апоптотических нейронов экспрессирующих NeuN в ретроспленальной коре обученных животных, демонстрирующий участие процессов программируемой гибели клеток мозга в механизмах научения и памяти (Шерстнев В.В. и др., 2013, Shersnev V.V. et al., 2013).

Моделью экспериментально вызываемой клеточной гибели является контролируемая по времени сублетальная глобальная ишемия мозга у грызунов (Araki T. et al., 1989). Протекающие при этом в мозге процессы аналогичны патологическим процессам при естественно возникающих нарушениях мозгового кровообращения при инсультах и инфарктах. Адаптация к патологической ситуации может рассматриваться, как определенная форма научения, и включать процессы системогенеза (Alexandrov Yu.I. et al, 1990, 2001). В зависимости от времени протекания ишемического воздействия клеточная гибель развивается в первую очередь в поле СА1 гиппокампа, а при больших длительностях затрагивает многие структуры мозга, включая области новой коры (Araki T. et al., 1989). Клеточная гибель после ишемического воздействия в поле СА1 носит отставленный характер (Kirino T., 1982, Kirino T., Sano K., 1984) и считается программируемой, т.е. носит характер апоптоза. В экспериментах по ишемическому воздействию на новорожденных поросят был проведен анализ, какой тип клеточной гибели (апоптоз или некроз) характерен для разных отделов мозга после сублетальной ишемии (Yue X. et al., 1997). В этой работе было установлено, что незрелые нейроны погибают путем апоптоза, а уже дифференцировавшиеся клетки – путем некроза. Доля погибающих этими путями нейронов различается для разных слоев коры, разных структур и отдельных морфологических типов нервных клеток. В другой работе этой группы было показано, что ишемическое воздействие повышает долю нейронов цингулярной коры поросят, погибающих апоптотическим путем по сравнению с обычной апоптотической гибелью на этом этапе онтогенеза (Mehmet J. et al., 1994).

Резюме обзора литературы и задачи исследования.

Проблема нейронного обеспечения обучения в нейробиологии является как одной из самых старых, так и одной из самых актуальных в силу того, что механизмы обеспечения приобретения новых актов поведения все еще недостаточно изучены. Представления о нейронных механизмах поведения в последнее время претерпевают существенные изменения. Так, как уже было отмечено ранее, на смену идеям о «функциональной локализации», составлявшим ранее основу этих представлений, пришли идеи «функциональной специализации» (Mountcastle V., 1995). Хорошо известно, что формирование и реализация поведения обеспечиваются вовлечением групп нейронов, играющих в этих процессах существенно различную, зависящую от их специализации, роль. Еще в 1973 году Рэнком (Ranck J., 1973, 1975) было показано, что многие нейроны гиппокампа и других структур лимбической системы по-разному активны в разных формах поведения и в связи с предъявлением разных стимулов. Впоследствии, во многих работах по регистрации нейронной активности в свободном поведении была показана специфическая связь импульсации нейрона с аспектами поведения, такими, как цели (Thorpe S. et al., 1963), движения (Evarts E.V., 1973), местоположение (O'Keefe J., Dostrovsky J., 1971, O'Keefe J., 1979), а также при предъявлении определенных лиц (Perrett D. et al., 1978), слов (Halgren E. et al., 1978) и др. На современном этапе развития знаний о нейронных механизмах поведения признается, что главную роль в исполнении и контроле поведенческих актов играют нейроны, специфически меняющие свою активность при реализации таких актов (см. напр. Schall J.D. et al., 2002). Таким образом, одним из наиболее актуальных и важных аспектов проблемы нейронного обеспечения обучения стало выяснение механизмов формирования поведенчески специфической активности нейронов.

Обозначая в качестве научной проблемы, на решение которой направлена настоящая работа, выяснение механизмов формирования поведенчески специфической активности нейронов, необходимо подчеркнуть, что в механизмах обучения и последующего использования опыта для реализации поведения большое значение придается корковым структурам. Именно в них после некоторого временного интервала хранятся энграммы приобретенного опыта (Squire L.R., 1987). В экспериментах нашей лаборатории в модели инструментального пищедобывательного поведения, позволившей выявить связь нейронной активности с аспектами поведения, было продемонстрировано, что многие нейроны коры больших полушарий специфически активируются при реализации конкретных поведенческих актов (Шевченко Д.Г. и др., 1986, Швырков В.Б., 1987). Эти данные легли в основу представления о поведенческой специализации корковых нейронов (Швырков В.Б.,

1987, 1995). Открытие поведенческой специализации нейронов, которая проявляется в других формах экспериментов в виде специфической связи активности с этапами поведенческой задачи (Mizumori S.J.Y. et al., 1996, Dudchenko P.A. et al., 1997 и др.), поставило вопрос о том, какие нейроны становятся специализированными в процессе обучения, какие стадии проходит формирование специализированной активности. Наблюдение за активностью нейронов в цингулярной коре, многие нейроны которой специфически активируются при выполнении сформированных обучением животного поведению в экспериментальной клетке актов, в дефинитивном поведении до и после формирования новых актов позволило предположить, что в обучении специализируются нейроны «резерва» (Shvyrkov V.B., 1987, Горкин А.Г., 1988). Наличие резерва клеток для обучения сложным формам поведения допускалось многими известными исследователями (Крушинский Л.В., 1977, Конорски Ю., 1970 и др.). Однако, в условиях дефинитивного поведения нельзя прямо проверить данную гипотезу, т.к. могут быть и другие варианты объяснения появления новых специализаций, например, переспециализация - изменение связи активности нейрона с поведением при обучении. Наблюдение за активностью нейрона с помощью хронически вживленных электродов в сессии обучения до начала формирования конкретного поведения, в процессе его формирования и после достижения критерия обученности позволит проверить данную гипотезу и уточнить, как формируется паттерн активности специализированных нейронов.

В качестве морфологической структуры для проведения данного исследования мы выбрали цингулярную кору. Эта область коры обладает целым рядом качеств, которые делают ее наиболее подходящей зоной регистрации перестроек нейронной активности при формировании новых актов. Функционирование этой области коры связывают и с моторными функциями (Luppino G. et al., 1991), и с эмоциями (Neafsey E.J. et al., 1993), и с контролем за правильностью решения задач (Schall J.D. et al., 2002), и с организацией двигательных последовательностей в поведении поиска (Procyk E. et al., 2000). Как нетрудно заметить, приведенные выше функции играют большую роль в процессе обучения. Кроме того, продемонстрировано участие цингулярной коры в обучении избеганию (Gabriel M., 1993). Являясь одной из структур лимбической системы, цингулярная кора имеет тесные связи с гиппокампальной формацией (Finch D.M., 1993), в которой была обнаружена и тщательно исследована такая форма специализированной активности, как нейроны места (O'Keefe J., 1999 и др.), в том числе и закономерности формирования «плейс полей» (Barnes C. et al., 1990, McNaughton B.L. et al., 1996). Кроме того, в соответствии с представлениями о перемещении следа памяти гиппокамп ответственен за кратко- и среднесрочную память, а далее след памяти перемещается в кору больших полушарий. Другим аргументом в пользу

выбора цингулярной коры является показанная на срезах мозга возможность выработки долговременной потенциации синапсов субикуло-цингулярного тракта без применения блокаторов ГАМК-системы (Hegberg T.G., Stanton P.K., 1996). Общеизвестно, что на данный момент долговременная потенция синаптической эффективности рассматривается как основной физиологический механизм долговременной памяти (Izquierdo I., 1993 и др.). Возможная роль усиления синаптических контактов между специализирующимися нейронами и клетками прасистем в процессах системогенеза поведенческого акта отмечалась В.Б. Швырковым (Швырков В.Б., 1988). Также стоит отметить, что многие нейроны цингулярной коры специфически активируются в выбранной нами модели циклического пищедобывательного поведения у кроликов (Горкин А.Г. 1986, 1987) и у крыс (Gavrilov V.V. et al., 1998, Svarnik O.E. et al., 2005). Таким образом, можно на примере активности нейронов данной структуры в сопоставлении с формируемой на этих нейронах долговременной потенциацией глутаматовых синапсов исследовать соотношение процессов долговременной потенциации и вовлечения нейронов в обеспечение поведения. Это и стало одной из задач данной работы.

Как было показано в обзоре литературы многие исследователи выделяют нейронные специализации относительно аспектов поведения (см. раздел 1.1.2, 1.1.3). И некоторые даже сопоставляют их с наличием в опыте животного категорий или понятий. Однако, специального исследования активности таких нейронов вне реализации соответствующих специфических аспектов или понятий активность этих нейронов не проводилось. В рамках нашей лаборатории высказывалось представление о том, что спайковая активность специализированного нейрона является показателем актуализации соответствующего элемента индивидуального опыта (Швырков В.Б., 1995, Александров И.О., 2006). В связи с этим в данной работе была поставлена задача выяснить по активности специализированных нейронов закономерности актуализации их специфических элементов индивидуального опыта при реализации других его компонентов. На основании анализа этих закономерностей актуализации предполагается выявить типы отношений между элементами индивидуального опыта как в рамках одной формы поведения и соответствующего ей домена индивидуального опыта, так и между компонентами опыта из разных его доменов.

Как следует из представленных в обзоре данных литературы, в каждой структуре мозга разные нейроны могут иметь разные специализации, и даже соседние клетки могут быть специализированы по-разному (Redish A.D. et al., 2001). В то же время по активности популяции клеток с известной специализацией (например, клеток «места») можно с высокой точностью воспроизвести поведенческую последовательность (Wilson M.A., McNaughton B.L., 1993). Это делает актуальным изучение того, как временные и точностные

характеристики поведения представлены в активности популяции нейронов. В связи с этим одной из задач нашей работы было сравнение параметров активности популяций нейронов коры в однотипном поведении у разных индивидов и выявление связи популяционной активности с особенностями поведения конкретных индивидов.

В большинстве исследований активности нейронов в свободном поведении проводится сопоставление активности регистрируемых нейронов с аспектами реального поведения исходя из представлений о функциях структуры мозга, в которой проводится регистрация. В то же время, как было отмечено в обзоре литературы, есть данные о том, что нейроны сенсорных областей коры меняют свою активность в связи с этапами поведения при блокировании получения индивидом соответствующей сенсорной информации (Александров И.О., Александров Ю.И., 1981, 1984). В связи с этим для нас представляло интерес исследовать связь с поведением активности нейронов первичных сенсорных областей коры в разных поведенческих задачах, отличающихся поведенческим значением одинаковых сигналов соответствующей модальности, что также стало одной из задач работы.

Как было отмечено в обзоре литературы, формирование нейронных специализаций может сопровождаться клеточной гибелью. С другой стороны, наиболее распространенное мнение, что долговременная потенция является основой долговременной памяти. Эти два разных процесса, имеющих отношение к ситуации научения могут быть сопоставлены путем изучения динамики синаптической пластичности после вызванной ишемическим воздействием программируемой клеточной гибели в гиппокампе. Соответственно одной из задач нашей работы было выяснение изменений показателей пластичности глутаматовых синапсов после запущенной глобальной сублентальной ишемией клеточной гибели. Одновременно такое исследование может показать, как патологическая ситуация нарушения кровоснабжения может быть скомпенсирована в случае выживания индивида после массовой клеточной гибели в отдельных структурах мозга.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Методики регистрации нейронной активности в цингулярной коре в инструментальном пищедобывательном поведении у кроликов и крыс.

2.1.1. Устройство экспериментальной клетки. Методика обучения инструментальному пищедобывательному поведению. Особенности выбранной модели пищедобывательного поведения.

Для исследования вовлечения нейронов цингулярной коры в процессы обучения нами была выбрана модель инструментального пищедобывательного поведения с двумя зеркальными пищедобывательными циклами. В процессе обучения мы формировали инструментальное поведение нажатия педалей для получения пищи из кормушек. Под зеркальными актами имеется в виду, что для выполнения сходных операций, например, подхода и нажатия педалей животным было необходимо поворачиваться у разных стенок клетки в противоположные стороны. В экспериментах на кроликах экспериментальная клетка размером 70x70 см была оборудована в углах у задней стенки клетки двумя педалями треугольной формы, возвышавшимися над полом клетки на 4 см, а в углах, прилежащих к передней стенке – угловыми коробами с округлой стенкой той же высотой в 4 см. В верхней поверхности коробов были сделаны отверстия диаметром 5 см для обеспечения доступа к кормушкам. Схема клетки представлена на **рисунке 1**.

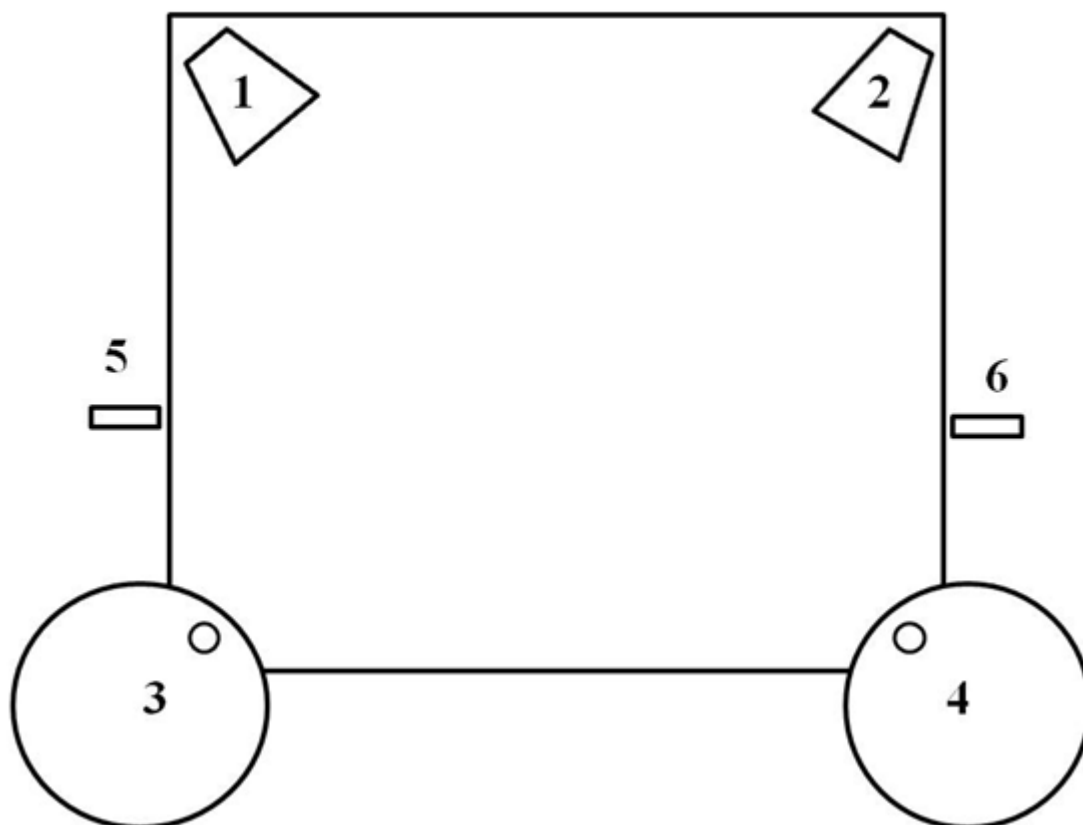


Рисунок 1. Схема экспериментальной клетки. Цифрами обозначены:

1 – левая педаль; 2 – правая педаль; 3 – левая кормушка; 4 – правая кормушка; 5 и 6 – места расположения светодиодов, сигнализирующих прохождение животным «середины» соответствующей стенки.

Педали были оборудованы фотоэлектрическими датчиками смещения верхней панели, которые преобразовывали положение верхней поверхности педали относительно пола в постоянный потенциал за счет частичного перекрытия заслонкой светового луча от светодиода к фотоэлектрической пластинке. Этот сигнал подавался на усилители, которые формировали поведенческую отметку нажатия педали и по достижении определенного уровня срабатывал триггер, который подавал сигнал пуска устройству управления кормушкой. Мы использовали кормушки роторного типа, которые приводились во вращение мотором со специально разработанным редуктором. Основа кормушки состояла из круглой пластины диаметром 30 см, на которой на расстоянии 4 см от края был приклеен круговой ряд пластиковых чашечек, диаметром 5 см. Устройство управления кормушкой по сигналу от педали или от ручной кнопки включало двигатель и смещало пластину с чашками так, что точно под отверстием в коробе оказывалась следующая чашка. В эту чашку при обучении и в дефинитивном поведении помещали кусочки пищи. Как правило это была морковь, но в ряде случаев применяли и другие варианты растительной пищи, например листья одуванчиков. Таким образом, после подачи пищи животному необходимо было наклониться в кормушку приблизительно до уровня пола в основной части клетки, чтобы захватить пищу. Экспериментальная клетка была также оборудована переключателем, который позволял делать эффективной в конкретный момент времени одну из педалей, т.е. приводить в действие кормушку при ее нажатии. Нажатия другой педали в это время ни к чему не приводили. Кормушки в наших экспериментах были скоммутированы так, что нажатие на педаль у левой стенки клетки приводило к подаче расположенной с той же левой стороны кормушки. И наоборот нажатие правой педали приводило к подаче правой кормушки.

На поверхности кормушечного короба с двух сторон от «пищевого» отверстия были расположены светодиод и фотоэлектрическая пластинка, которые создавали сигнал второй поведенческой отметки – нахождения морды животного в кормушке. Этот сигнал после усиления так же, как и сигнал нажатия педалей подавался на магнитограф НО-67. Кроме того приблизительно в середине каждой из боковых стенок клетки были расположены светодиоды, дававшие узконаправленный луч света. Во время экспериментов с регистрацией нейронной активности на голове животного в светонепроницаемом обрамлении с узкой щелью находилась фотоэлектрическая пластина ориентированная щелью в сторону носа кролика. С этой пластины снимался сигнал третьей поведенческой отметки – отметки прохождения середины боковой стенки клетки. Таким образом конструкция экспериментальной клетки позволяла обученному животному самостоятельно без вмешательства экспериментатора подавать себе пищу в конкретной кормушке нажатием

соответствующей педали. Роль экспериментатора в этом случае сводилась к своевременному наполнению освободившихся от пищи кормушек и переключению эффективных педалей для перевода кормящегося животного с одной стороны клетки на другую.

Эксперименты проводились на половозрелых кроликах-шиншиллах возрастом 4-6 месяцев и весом около 3 кг. Обучение начинали после однодневной пищевой депривации кроликов. На первом этапе обучения животное научалось залезать в кормушку после ее срабатывания и захватывать пищу. Основная задача на этом этапе состояла в том, чтобы отучить животное постоянно держать голову в кормушке – обычное поведение кроликов после получения в кормушке первых порций пищи. Обычно в течение одной сессии кролик обучался держать голову над кормушкой и наклоняться в нее только после срабатывания кормушки, сопровождавшегося характерным негромким звуком. На следующем этапе кролика обучали отворачивать голову в сторону педали, что приводило к подаче кормушки. Третий этап обучения состоял в обучении кролика переносить лапы или подбегать в угол педали. Каждый из перечисленных этапов формировался в течение одной сессии обучения длительностью около часа. Мы считали сессию завершенной, если животное совершало 100-200 успешных реализаций нового поведенческого акта. Обучение следующему этапу начинали как минимум на следующий день. В начале сессии подкрепляли несколько реализаций акта, сформированного в предыдущий день, а потом только тот акт поведения, который формировался в данной сессии. После того, как животное было обучено подходить в угол педали, начинали обучение нажатию на педаль. Это был самый вариативный этап обучения. Если животное было пассивно и само не совершало движений, сходных с нажатием, ему помогали – например, заставляли тянуться вверх, отрывая лапы от пола, за кусочком пищи так, чтобы опускаясь кролик нажал на педаль. Либо подкрепляли разнообразную двигательную активность в углу педали. Все это время педаль была эффективна, т.е. любое ее нажатие приводило к подаче пищи. Обычно после нескольких случайных нажатий педали кролик начинал самостоятельно нажимать на педаль и получать пищу в кормушке. Этап обучения нажатию на педаль также считался законченным после 100-200 порций пищи, «заработанных» животным. После одного дополнительного дня самостоятельной работы на одной стороне клетки животное начинали учить поведению на второй стороне. Самостоятельное поведение подхода к педали, ее нажатия, подхода к кормушке и захвата пищи мы называли пищедобывательным циклом. Обученное животное совершало такие циклы без вмешательства экспериментатора со скоростью, зависевшей от уровня мотивации.

При обучении на второй стороне мы старались соблюсти последовательность обучения, как на первой, но некоторые кролики демонстрировали перенос навыка и

начинали жать на вторую педаль, пропустив промежуточные этапы обучения. В любом случае обучение каждому новому этапу на второй стороне в сессии обучения перемежалось с включением первой педали и сериями пицедобывательных циклов на первой стороне клетки. Сессию обучения заканчивали после получения животным около 100 порций пищи после выполнения нового акта. После того, как кролики сформировали поведение на обеих сторонах клетки, мы в течение нескольких дней их тренировали поведению на обеих сторонах сериями по 10-15 циклов.

В соответствии с этапами обучения и поведенческими отметками мы разбили каждый пицедобывательный цикл на 5 актов. Схема клетки с номерами и расположением актов дана на **рисунке 2**.

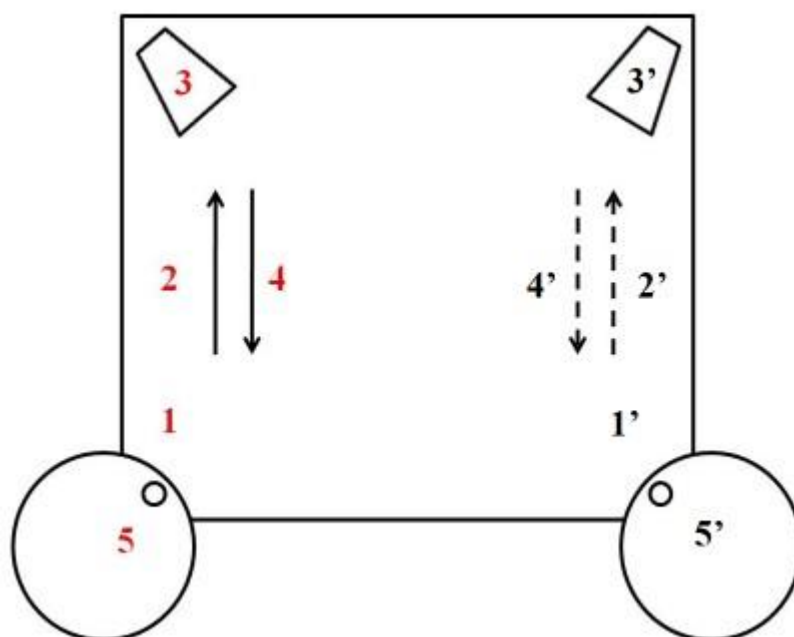


Рисунок 2. Схема экспериментальной клетки с обозначенными цифрами актами циклического пицедобывательного поведения кроликов. Акты поведения на левой стороне обозначены цифрами красного цвета; перемещения животного по клетке представлены сплошными стрелками для актов на левой стороне и пунктирными для поведения на правой стороне.

1-й акт - подъем головы из левой кормушки и поворот головы в сторону педали. На записи поведенческих отметок он начинался с завершением отметки нахождения головы кролика в кормушке и заканчивался сигналом отметки ориентации головы на светодиода, расположенные посередине боковой стенки клетки. Во время этого этапа пицедобывательного цикла кролик часто сидел и жевал вынутую из кормушки пищу. 2-й акт – подход к левой педали. Обычно в силу величины животного и размера клетки он состоял в

переносе лап от кормушки к педали. Этот акт начинался с отметки ориентации головы на середину стенки и заканчивался началом отметки нажатия педали. 3-й акт – нажатие на педаль, которому соответствовала отметка нажатия левой педали. 4-й акт – подход от педали к кормушке. Также обычно это был просто перенос лап от педали к кормушке. Он ограничивался концом отметки нажатия педали и началом отметки нахождения морды животного в кормушке. 5-й акт – наклон в кормушку и захват пищи. Ему соответствовала поведенческая отметка нахождения морды животного в кормушке. Аналогичные акты (1'-5') были выделены в поведенческих циклах на правой стороне клетки.

Переходы от поведения на одной стороне клетки к поведению на другой были разнообразными, никаких ограничений не накладывалось. Обычно кролик либо после нажатий педали, не сопровождавшихся звуком подачи кормушки, либо после залезаний в пустую кормушку бежал на вторую сторону и проверял другую кормушку. Очень редко животные при переходе на другую сторону сразу нажимали на педаль. В уже сформированном, дефинитивном поведении животные также переходили с одной стороны клетки на другую весьма разнообразно.

Сформированное обучением в экспериментальной клетке поведение характеризовалось наличием двух зеркальных пицедобывательных циклов на правой и левой сторонах клетки. В циклах на разных сторонах клетки аналогичные поведенческие акты, например подход к педали, осуществлялись с помощью поворотов тела в разные стороны и в разных углах клетки. Такая организация поведения позволяла выявлять связь активности нейронов с отдельными аспектами поведения, такими как определенные движения, местом нахождения животного и целями поведения.

2.1.2. Применение разных последовательностей формирования этапов инструментального пицедобывательного поведения.

Из приведенного выше описания методики обучения видно, что в течение одной сессии обучения формировался определенный акт поведения, который, как правило, впоследствии становился одним из этапов пицедобывательного цикла. Однако, соответствующий акт мог реализовываться не только внутри цикла, например, неоднократно бывали проверочные подбегания и наклоны в кормушку, также наблюдались повторные нажатия на педаль, особенно, когда ее делали неэффективной. То есть акты поведения, включенные в последовательность пицедобывательного цикла, могли реализовываться самостоятельно вне цикла. Такая их особенность позволила нам использовать разнообразные модификации последовательности формирования отдельных актов пицедобывательных

циклов для проверки отражения истории формирования поведения в параметрах его реализации у обученного животного и в импульсной активности корковых нейронов.

Нами были выбраны две последовательности формирования отдельных этапов пищедобывательного поведения. Схематически эти последовательности представлены на рисунке 3.

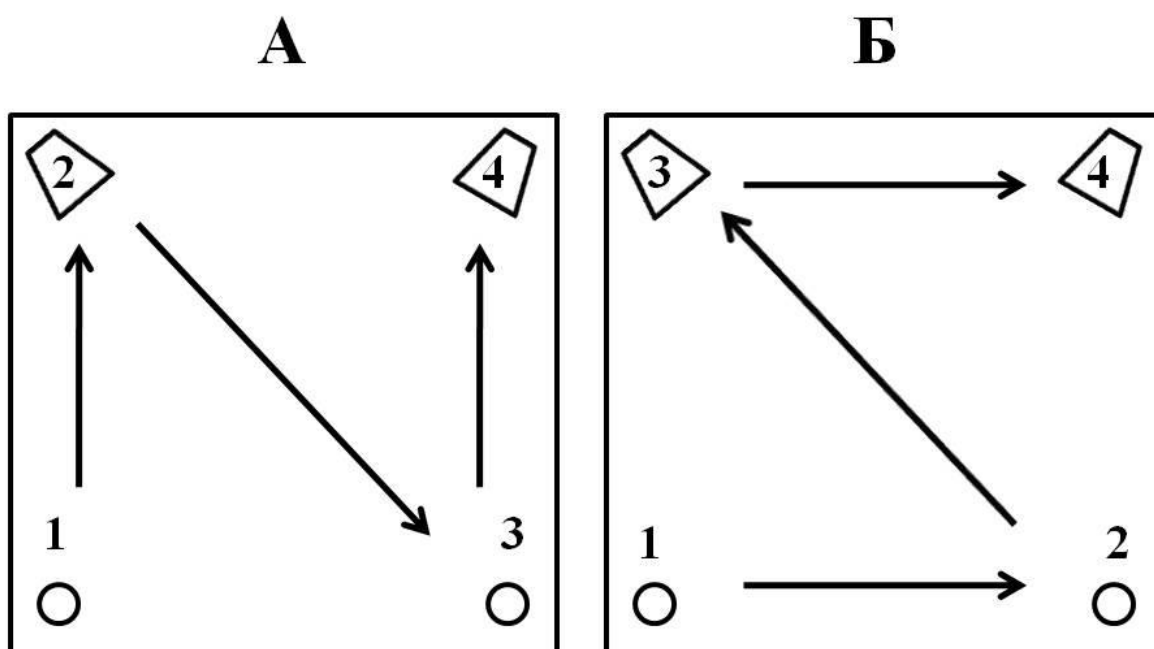


Рисунок 3. Схематическое представление двух стратегий обучения животных пищедобывательному поведению. На части А представлена первая, «посторонняя» последовательность обучения, а на Б – вторая, «смешанная».

У первой группы животных, как было изложено выше, пищедобывательное поведение на второй стороне клетки начинали формировать после завершения обучения поведению на первой стороне (1-я стратегия обучения). Соответственно последовательность этапов обучения у этих животных была следующей: 1-я кормушка -> 1-я педаль -> 2-я кормушка -> 2-я педаль. У второй группы животных к формированию актов подхода к педальям приступали после того, как кролики были обучены наклонам и захватам пищи в обеих кормушках. Для этой группы последовательность этапов обучения выглядела следующим образом: 1-я кормушка -> 2-я кормушка -> 1-я педаль -> 2-я педаль. Во второй стратегии

обучения после сессии обучения наклону и захвату пищи в кормушке проводили сессию обучения животного вынимать голову из кормушки и отворачиваться от нее. То есть обучали актам 1 и 5 пицедобывательного поведения, а потом формировали те же акты на другой стороне. Таким образом, последовательности формирования актов в этих двух стратегиях могут быть представлены следующим образом:

1-я стратегия – 1-2-3-4-5-1'-2'-3'-4'-5';

2-я стратегия – 1-2-1'-2'-3-4-5-3'-4'-5'.

В каждой группе часть животных начинали учить на левой стороне клетки, а часть – на правой, чтобы нивелировать эффект конкретной стороны клетки, которые были обращены к разным объектам, по-разному освещены и у животного могло быть предпочтение определенной стороны. Поэтому штрих после цифры в данном случае обозначает не принадлежность к циклу на правой стороне клетки, а принадлежность к циклу, который начинали формировать вторым. Это мог быть либо левый, либо правый пицедобывательный цикл у разных животных. Окончательно сформированное поведение у кроликов, принадлежащих к разным группам, внешне практически не отличалось – кролик выполнял серию циклов на одной стороне, потом – серию циклов на другой стороне и так далее.

У еще одной группы животных нами была применена третья последовательность формирования актов циклического пицедобывательного поведения (ЦИПП): 1-2-1'-2'-3'-4'-5'-3-4-5. У этой группы животных после формирования актов получения пищи из первой кормушки формировали полный цикл на второй стороне клетки, и затем акты подхода и нажатия на педаль на первой стороне.

В отдельном экспериментальном исследовании, посвященном выявлению возможности изменения траектории развития познавательных способностей в старости, мы проводили обучение разным формам поведения группы крыс в зрелом возрасте и повторно их обучали ЦИПП в старости. Животные были случайным образом разделены на 3 группы: одну («взрослые») обучали ЦИПП во взрослом возрасте (6-12 месяцев, что приблизительно соответствует возрасту 20-30 лет у людей); экспериментальную группу («обученные») обучали в зрелом возрасте (8-12 месяцев) разным формам поведения и ЦИПП — в старости (22-27 месяцев, что приблизительно соответствует возрасту 55-70 лет у человека); контрольную («наивные») — обучали только ЦИПП в старости (20.5-31 месяцев – соответствует приблизительно возрасту 50-75 лет). Животные экспериментальной группа были обучены в зрелом возрасте актам разных форм поведения: либо оборонительному, поисковому, меж-индивидуальному и питьевому поведению (n=5), либо этим формам и дополнительно ЦИПП в другой установке (n=4). При обучении ЦИПП задачей животного

было нажатие на педаль для получения порции пищи в кормушке, расположенной на той же стороне экспериментальной клетки.

Решению этой задачи животных обучали поэтапно. Первый этап обучения — крысы адаптировались к установке и получали пищу (куски сыра весом около 0.05-0.06 г.) при опускании головы в эффективную кормушку (ЭК) на первой стороне обучения (левой или правой). В целях балансировки одну половину животных начинали учить на левой стороне клетки, а вторую половину — на правой. Вторым этапом обучения — получение порции пищи при отвороте от ЭК к середине стенки, третий этап — получение порции пищи при подходе к эффективной педали (ЭП), расположенной на той стороне экспериментальной клетки, на которой была расположена ЭК. До четвертого этапа порция пищи подавалась экспериментатором при выполнении животным соответствующего поведенческого акта. Четвертым — получение пищи при самостоятельных нажатиях ЭП, формирование ЦИПП на первой стороне обучения. Пятым — формирование ЦИПП на второй стороне обучения.

Животных, у которых должны были регистрировать импульсную активность нейронов, после обучения ЦИПП на обеих сторонах установки также обучали переключению между сторонами (переходам после реализации 10-15 циклов на одной стороне на другую сторону). В течение дня формировали только один поведенческий акт (например, подхода к ЭП и т.д.) на протяжении не менее 50 (захват пищи и т.д.) – 60 (формирование ЦИПП) реализаций. Критерием обученности первым трем этапам было последовательное совершение без отвлечения 5 актов поведения подряд (не менее 50 актов в течение сессии), критерием обученности ЦИПП на четвертом этапе было совершение 10 последовательностей «педаль-кормушка» подряд без перехода на неэффективную сторону (не менее 60 последовательностей в течение сессии). Если животное не достигало критерия обученности в течение одной сессии, обучение этапу продолжали на следующий день. Сессию обучения прекращали, если животное переставало совершать пищедобывательное поведение (реализовывало акты комфортного, поискового поведения и т.д.) более 5 минут. При обучении животного проводили запись поведенческих отметок в компьютер с помощью программы DMAIN и параллельную запись на видеокамеру для последующего анализа.

Мы анализировали следующие переменные: 3 градации независимой переменной: взрослые, старые «наивные» и старые обученные. В качестве зависимых переменных были использованы 1) количество секунд до достижения критерия обученности ЦИПП (10 правильных последовательностей «педаль-кормушка» без перехода на неэффективную сторону установки); 2) количество и длительность (среднее значение, медиана, стандартное отклонение от среднего; в с) актов пребывания в зоне эффективной и неэффективной кормушки (ЭК и НЭК, соответственно), актов нажатия на эффективную и неэффективную

педали (ЭП и НЭП, соответственно), подходов к ЭК, НЭК, ЭП, НЭП; последовательностей «ЭП-ЭК», «НЭП-НЭК», циклов «ЭП-ЭК-ЭП», «НЭП-НЭК-НЭП» в течение сессии обучения;

3) Для того, чтобы оценить динамику обучения ЦИПП на начальном этапе, у крыс сравнивали количество циклов поведения, совершенных в течение пяти последовательных 3хминутных отрезков времени. Для анализа был выбран 15-минутный интервал, потому что самая короткая сессия обучения ЦИПП у одного из животных длилась 16 минут. При использовании более длинных интервалов часть данных была бы потеряна.

2.1.3. Методы острой регистрации активности одиночных нейронов цингулярной коры кроликов в поведении.

У обученных животных регистрировали спайковую активность одиночных нейронов цингулярной коры (P = 8-10 мм, L – 2-3 мм по атласу Ганглофа и Монье (Gangloff H., Monnier M., 1961)) стеклянными микроэлектродами, заполненными 3М раствором KCl, с диаметром кончика 1-3 мкм и реактивным сопротивлением 3-7 Мом на частоте 1 кГц. Поиск нейронов осуществляли при дистанционном погружении микроэлектрода с помощью микроманипулятора, фиксированного на голове животного. В основу конструкции микроманипулятора легла модель, разработанная Ю.В. Гринченко (Авторское свидетельство SU 1507317 A1, 15.09.1989.) и дополненная пневматическим приводом, который позволял пошагово вращать приводное кольцо. Шаг вращения приводил к погружению микроэлектрода на 3,5 мкм. Был разработан, изготовлен и подключен к блоку управления пневмоприводом специальный счетчик, который автоматически отображал глубину погружения микроэлектрода. Нейронную активность, а также поведенческие отметки регистрировали на магнитограф фирмы «Nihon Kohden» (Япония) с последующим воспроизведением с редукцией скорости в 10 раз с выводом на бумажный самописец. Параллельно поведение кролика регистрировали на видеоманитофон. Статистическую обработку полученных данных производили на ПЭВМ «Sega 3000» (Япония).

Основным критерием отбора нейронов для последующего анализа была длительность регистрации нейрона – отбирали те нейроны, которые удавалось зарегистрировать не менее чем в пяти поведенческих циклах животного на каждой стороне экспериментальной клетки. При стабильной регистрации старались зарегистрировать по несколько серий циклов на обеих сторонах клетки, т.е. 3-4 раза поменять эффективную педаль и заставить животное перейти на другую сторону и совершить серию циклов на этой стороне. Серию прерывали и включали другую педаль после 8-10 успешных циклов на конкретной стороне клетки.

В качестве характеристики активности нейрона были выбраны два независимых показателя: средняя частота спайковой активности нейрона в конкретном акте стандартного пищедобывательного поведения (для ее расчета брались только акты с присутствием спайковой активности) и вероятность наличия активности в данном акте. Из этих двух первичных показателей выводились основные показатели нейронной активности в конкретном акте – средняя частота и вероятность наличия активации, которая определялась, как более чем полуторакратное превышение средней частоты активности за все время регистрации. Статистическое попарное сравнение активности нейронов в выделенных актах проводилось по критериям Стьюдента и χ^2 . Для расчета показателей активности каждый поведенческий цикл, т.е. отрезок поведения между двумя последовательными захватами порции пищи из одной и той же кормушки, был предварительно разделен на пять поведенческих актов в соответствии с поведенческими отметками. Название, описание и границы этих актов приведены выше при описании процедуры обучения. В случае отклонения поведения животного от стандартного цикла в анализ включался последний стандартный акт, т.е. ограниченный «правильными» поведенческими отметками, и первый после обратного перехода к циклическому пищедобывательному поведению. Отрезок между этими актами исключался из анализа, но принимался в расчет средней частоты активности нейрона в поведении. В большинстве случаев прерывание циклического поведения было связано с ослаблением мотивации и переключением эффективной педали. Тогда кролики могли вместо пищедобывательного поведения заниматься грумингом или поисково-исследовательским поведением. Как правило, после получения пищи в кормушке после успешного нажатия педали кролики тут же переходили к циклическому пищедобывательному поведению.

Паттерны активности нейронов в поведенческих циклах представляли в виде графиков, на которых соответствующие номера актов указаны по оси абсцисс, а по оси ординат дана средняя частота активности нейрона в соответствующем акте, нормированная относительно частоты активности в акте с максимальной средней частотой активности. Для специализированных нейронов, т.е. специфически активировавшихся в одном или нескольких поведенческих актах, максимальная средняя частота активности наблюдалась в специфическом акте. Критерием специализации нейрона относительно поведенческого акта служило наличие активации нейрона при каждой реализации данного акта в поведении (Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., 1990).

Такие графики, позволяющие оценивать активность нейрона в каждом акте изучаемого поведения в течение всего времени регистрации, были построены для всех проанализированных нейронов. Достоверность различий активности нейрона в актах

определяли по t-критерию Стьюдента при сравнении средних частот активности для каждой пары актов.

2.1.4. Методы острой регистрации активности одиночных нейронов ретроспленальной коры крыс в поведении.

В исследованиях, посвященных анализу активности популяций ретроспленальных нейронов (как аналога цингулярной коры кроликов) на разных этапах консолидации следа памяти и в ЦИПП у животных разного возраста, были использованы капюшонные крысы линии Long-Evans в возрасте от 8 до 12 месяцев и массой 250 – 350 г. Во время обучения и эксперимента они были помещены в индивидуальные клетки и находились на частичной пищевой депривации. Потеря веса за все время исследования не превышала 10-15%.

Всех животных поэтапно обучали нажимать на педаль для получения сыра из кормушки. Этапами обучения были: подход к кормушке, отход от нее, подход к педали, нажатие на педаль. Длительность каждой сессии (этапа) обучения составляла 20-30 минут в день. Подробно последовательность обучения и устройство экспериментальной клетки описаны в работе Е.А. Кузиной (Кузина Е.А., 2013). Животные были разделены на 2 группы: с регистрацией нейронной активности в первую неделю после завершения обучения и с регистрацией активности во вторую неделю после обучения циклическому пищедобывательному поведению.

Все предварительно обученные животные в экспериментах по острой регистрации нейронной активности были прооперированы под наркозом из комбинации золетила (Zoletil, Вирбак Санте Анималь, Франция, 25 мг/кг) и рометара (Rometar 2%, СПОФА, Чехия, 10мг/кг), вводимых внутримышечно. Над ретроспленальной агранулярной корой (P = 4.5–5; L=1.1-1.2) в черепе было просверлено отверстие диаметром около 2 мм, над которым была размещена и зафиксирована зубным пластиком (Paladur, HeraeusKulzer, США) платформа для съемного микроманипулятора. Для регистрации активности отдельных нейронов применялись стеклянные микроэлектроды, заполненные изотоническим раствором NaCl с импедансом 3 – 7 МΩ на частоте 1кГц либо вольфрамовые электроды в лаковой изоляции с импедансом 1.5-2.5 Мом на частоте 1 кГц. Параллельно с записью нейронной активности проводилась видеозапись поведения и запись поведенческих отметок. После окончания экспериментов проводилась морфологическая реконструкция места регистрации. Все опыты проводились в соответствии с директивой Евросоюза № 86/609 ЕС о гуманном обращении в экспериментальными животными.

Обработка нейронной активности и поведенческих характеристик проводилась с использованием программы DMain (Ю.Райгородский). На экране компьютера в этой программе были представлены спайки нейрона и отметки пищедобывательного поведения в файлах записи. Пример интерфейса данной программы с реальным файлом данных представлен на **рисунке 4**.

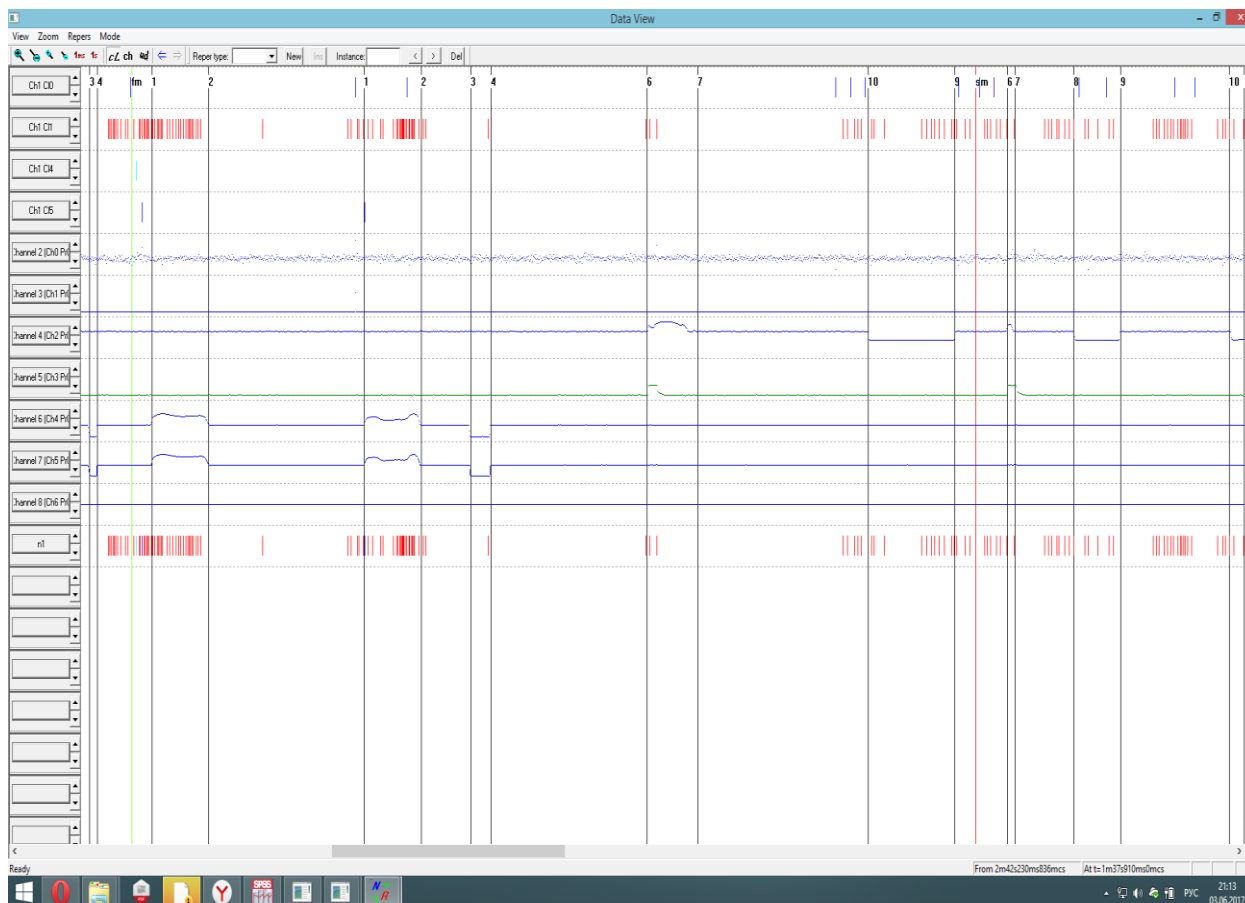


Рисунок 4. Интерфейс программы DMAIN на экране компьютера.

Верхние 4 строки – выделенные обработкой потоки спайков отдельных нейронов. На седьмой сверху строке представлены отметки поведения на одной из сторон клетки. Нажатие педали – вверх, залезание в кормушку – вниз. 9 строка – отметка подачи в кормушку порции пищи. 10-11 – отметки поведения на второй стороне клетки.

Для подсчета отбирались только те записи, где животное осуществляло не менее 10 успешных поведенческих циклов с нажатием на педаль и побегом к кормушке. Для каждого нейрона подсчитывалась средняя частота активности за все время его регистрации. За активацию в одном или нескольких актах принималось превышение частоты активности в этих актах над средней за все время регистрации не менее чем в 1.5 раза.

«Специализированными» относительно определенных систем тех или иных актов

поведенческого репертуара в настоящей работе назывались клетки с вероятностью активации в этих актах, равной не только 1, как это делалось нами ранее при изучении дефинитивного поведения (Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., 1990; Gavrilov V. et al., 1998; Александров Ю.И. и др., 2014), но и 0.75-0.9, учитывая, что в настоящем исследовании регистрация проводилась на ранних этапах формирования поведения. Для сравнения особенностей распределения активности нейронов в двух группах крыс все клетки были отнесены к одной из трех категорий: 1) нейроны, специализированные относительно актов выученного в экспериментальной клетки поведения («новые», Н); 2) с активациями как в актах выученного поведения, так и вне его, которые выглядят как связь с определенными движениями (налево-направо, вверх-вниз и т.п.) в какое бы поведение эти движения ни были включены («старые», Д), и 3) клетки, не имеющие постоянных активаций в циклическом поведении (нейроны с не идентифицированной специализацией, НС) (Александров, 2012; Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., 1990; Gavrilov V. et al., 1998). Для оценки статистической достоверности различий доли нейронов разных специализаций в двух группах животных использовали точный критерий Фишера (Fishers exact). Для сравнения частотных параметров активности нейронов и поведенческих характеристик применялся непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия считались достоверными при $p < 0.05$ (односторонний критерий отклонения нулевой гипотез). Все расчеты проводились с помощью программы Statistica 6.0.

2.1.5. Методика реконструкции субъективного индивидуального опыта животных.

При реконструкции структуры индивидуального опыта (СИО) животных использовали представления об индивидуальном опыте субъекта, сформулированные и получившие экспериментальную разработку в рамках системно-эволюционного подхода (Александров Ю.И. и др. 1997, Швырков В.Б., 1995, Shvyrkov V.B., 1990): 1) поведение реализуется как последовательность актов, выделяемых на основе описания характеристик достигаемых результатов, обстановки, в которой они достигаются, и способов их достижения; 2) элемент индивидуального опыта формируется как целостный поведенческий акт взаимодействия субъекта с миром; 3) элементы индивидуального опыта, представляющие поведенческие акты, находятся в определенных взаимоотношениях; 4) в основе реализации поведенческого акта лежит одновременная актуализация элементов индивидуального опыта, сформированных на разных стадиях видового и индивидуального развития; 5) особенности структуры индивидуального опыта определяются историей обучения; 6) целостные акты взаимоотношения субъекта с миром фиксируются в

специализациях нейронов; по разнообразию специализаций нейронов можно судить о поведенческом репертуаре субъекта. Предполагалось контролировать процесс приобретения опыта и ход обучения у животных. Разнообразие структур опыта предполагали получить, используя разные способы обучения дефинитивному поведению.

Контролируемое формирование индивидуального опыта.

В дефинитивном поведении, чтобы получить пищу в кормушке (К или К'), кролики должны были нажимать на педаль (П или П'), расположенную у той же стенки клетки. Таким образом, дефинитивное пищедобывательное поведение было представлено двумя циклами на левой и правой сторонах клетки: Ц (П–К) и Ц' (П'–К'). Достижению таких этапных результатов (Р), как захват пищи в кормушке (Р1 и Р1'), поворот головы от кормушки в сторону педали до середины стенки клетки (Р2 и Р2'), подход к педали (Р3 и Р3') и нажатие на педаль (Р4 и Р4'), животных обучали специально, в то время как подходу к кормушке (Р5 и Р5') они научались самостоятельно. Исходным для обучения был акт опускания морды животного в кормушку, который затем включался в состав достижения Р5.

При обучении разных групп животных применен различный порядок достижения этапных результатов пищедобывательного цикла (**рисунок 5 Б**).

Первую группу (из 4 кроликов) обучали получать пищу сначала на одной, а затем на другой стороне клетки. В этом случае порядок обучения достижению этапных результатов – Р1, Р5, Р2, Р3, Р4; Р1', Р5', Р2', Р3', Р4' – совпадал с порядком их достижения в дефинитивном поведении (**рисунок 5, Б1**).

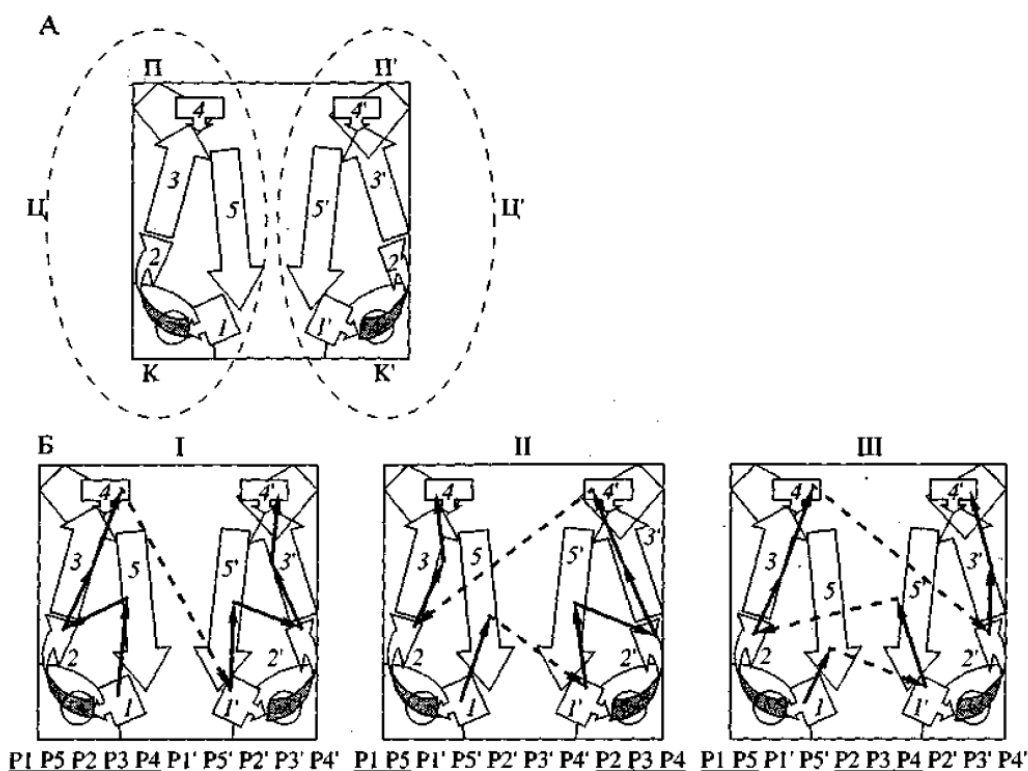


Рисунок 5. Дефинитивное поведение и варианты обучения животных.

А – схема экспериментальной клетки и дефинитивного поведения животных: Ц и Ц' – циклы поведения (выделены эллипсами); К и К', П и П' – кормушки и педали в Ц и Ц' соответственно; стрелки показывают последовательность актов в дефинитивном поведении, цифры – номера актов P1, ..., P5 (Ц), P1', ..., P5' (Ц').

Б – порядок обучения достижению этапных результатов поведения: I, II, III – группы животных, темные сплошные стрелки – порядок приобретения актов, входящих в один цикл, темные штриховые – переход к обучению актам другого цикла. Под фрагментами I, II и III – порядок приобретения актов; подчеркнуты акты, входящие в цикл, с которого начинали обучение. Остальные обозначения, как на А.

Вторую группу (из 3 кроликов) обучали сначала получать пищу из обеих кормушек, а затем нажимать на педали для получения пищи в кормушках. Порядок обучения достижению этапных результатов был таким: P1, P5, P1', P5', P2', P3', P4', P2, P3, P4 (**рисунок 5, БII**). В этом случае цикл Ц' формировали сразу как единую последовательность, а Ц – из результатов, приобретенных в начале и в конце обучения.

Третью группу (из 4 кроликов) также обучали сначала использованию обеих кормушек, а затем обеих педальей, но порядок обучения был иным: P1, P5, P1', P5', P2, P3, P4, P2', P3', P4' (**рисунок 5, БIII**), т.е. оба цикла формировали из результатов, приобретенных на разных этапах обучения.

Единицы анализа поведения и описание репертуара.

Континуум дефинитивного поведения животных описывали как последовательность поведенческих актов, используя критерии, данные выше. Независимо от способа обучения животных репертуар их поведения содержал акты, которые обозначали по достигаемым результатам: P1, P2, P3, P4, P5; P1', P2', P3', P4', P5'. Актам репертуара ставили в соответствие компоненты СИО.

Анализ активности нейронов.

В данной работе рассмотрена активность 485 нейронов, 228 из них были зарегистрированы у животных I группы, 124 – II группы и 133 – III. Нейроны классифицировали по характеристикам их активности, используя метод (Горкин А.Г., 1987, Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., 1990, 1991, 1995), в основе которого лежат следующие предположения: а) характеристики спайковой активности нейрона в конкретном акте определяются двумя независимыми факторами: его специализацией и влиянием активности других нейронов; б) специализация нейрона относительно конкретного поведенческого акта проявляется в обязательности его активации при реализации этого акта; в) влияние

активности других нейронов проявляется в вариациях частоты спайковой активности данного нейрона при реализации конкретного поведенческого акта.

Таким образом, по постоянству связи активности нейрона с реализацией данного акта (при любых вариациях частоты разрядов) судили о специализации нейрона относительно данного акта, а по взаимозависимости частоты спайков при реализации данного поведенческого акта у нейронов, обладающих различными поведенческими специализациями, характеризовали взаимоотношения между системами актов, которым эти нейроны принадлежат.

Типы поведенческой специализации нейронов.

Для того чтобы определить специализацию нейрона, оценивали вероятность наличия активации в каждом из выделенных актов. Нейрон считали специализированным относительно акта, в котором активация наблюдалась с вероятностью 100% (Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., 1990, 1991). На основании анализа типов поведенческих специализаций нейронов выделяли компоненты СИО, представляющие акты репертуара.

Взаимоотношения между системами поведенческих актов по нейронной активности.

Активации в актах, относительно которых данный нейрон не специализирован, рассматривали как дополнительные, отражающие взаимоотношения системы нейрона, обладающего специализацией определенного типа, с системами, представленными нейронами других специализаций. Частоту спайковой активности нейронов в различных поведенческих актах нормировали относительно максимальной частоты разрядов в акте, относительно которого специализирован нейрон.

Рассчитывали частные коэффициенты корреляции между нормированными оценками активности всех нейронов во всех поведенческих актах. Применение частных коэффициентов корреляции позволяет исключить вклад связи активности нейронов, входящих в выборку, в коэффициент корреляции для каждой конкретной пары нейронов. Матрицы частных корреляций между активностью нейронов для каждого поведенческого акта были рассчитаны отдельно для групп кроликов, обученных I, II и III способами. Положительные значения коэффициентов корреляции рассматривали как проявление взаимоотношений синергии, а отрицательные – как отношений оппонентности между компонентами СИО, которые представлены нейронами с различными типами специализации.

Для оценки соотношения нормированных частот дополнительных активаций нейронов различной специализации при реализации акта, относительно которого они не были специализированы, применяли критерии знаков и Вилкоксона. Этот способ оценки не предопределяет характеристики отношений как симметричных.

Группы специализированных нейронов.

На основании анализа матриц частных корреляций нормированных оценок активности нейронов выделяли группы нейронов различной специализации, активность которых в поведении была согласована. В соответствии с этими группами выделяли компоненты СИО, представляющие группы актов репертуара.

Связность СИО оценивали отдельно для групп животных, обученных разными способами. Анализировали нормированные оценки активности нейронов в 10 поведенческих актах: 1) на основании частных корреляций рассчитывали количество групп компонентов СИО, связанных отношениями синергии и конкуренции; 2) определяли возможность разделения компонентов СИО на группы, применяя иерархический кластерный анализ переменных, описывающих активность нейронов в актах P1, ..., P5, P1', ..., P5', в качестве меры расстояния использовали коэффициент корреляции Пирсона; 3) оценивали распределение компонентов СИО в пространстве признаков, установленных методом многомерного шкалирования матрицы евклидовых расстояний оценок активности нейронов.

Временные характеристики поведения.

У 10 обученных животных определяли время выполнения поведенческого цикла (180–200 циклов на разных сторонах клетки для каждого животного). Распределение значений времени приводили к нормальному виду, используя процедуры, которые применялись при обработке значений времени выбора хода у человека. Сравнивали времена первого и второго по порядку обучения циклов в трех группах животных (ANOVA, 2 цикла x 3 группы).

Для трех групп животных сопоставляли время выполнения цикла, а также оценки характеристик СИО: количество синергетических и оппонентных связей между компонентами, результаты кластеризации и многомерного шкалирования характеристик активности нейронов.

2.1.6. Методика идентификации актов разнообразных форм поведения в экспериментах по хронической регистрации нейронной активности тетрами в цингулярной коре крыс. Модификация экспериментальной клетки.

В экспериментах по хронической регистрации нейронной активности в цингулярной коре крыс (линия Лонг Эванс, вес 200-300 г. и возраст 2-6 месяцев) нами была применена модифицированная экспериментальная клетка. Был несколько уменьшен размер пола – 60x60 см в связи с существенно меньшим размером крыс по сравнению с кроликами. Клетка состояла из двух одинаковых квадратных секций, разделенных подвижной перегородкой, правая из которых служила в качестве отсадочной клетки, где крыса находилась до и во

время прикрепления кабеля с предусилителями, при смещении микроэлектродов, при проверке стабильности сигнала после смещения электрода и т.д. Левая часть клетки была оборудована педалями, кормушками, датчиками середины стенки. В эту часть клетки крысу помещали во время регистрации на ПК нейронной активности и в этой части клетки крыса осуществляла циклическое пищедобывательное поведение. Педалями служили переоборудованные педали фирмы World Precision Instruments (США), в которых были поставлены фотоэлектрические датчики положения педали, а из стенки торчал только язычок педали размером 15х30 мм. Также были применены принципиально иные кормушки. Эти кормушки состояли из чаши, сделанной из отрезанного дна металлической пивной банки и размещенной в углу экспериментальной клетки. К этой чаше через дыру в стенке клетки вел пластиковый трубопровод, по которому от расположенного на верху задней стенки диспенсера таблеток фирмы World Precision Instruments (США) в чашу по сигналу от педалей скатывалась одна пищевая таблетка фирмы BioServ весом 45 мГ. Эти таблетки состоят из специального сбалансированного комбикорма и имеют стабильную округлую форму, что обеспечивает легкое скатывание выделенной диспенсером таблетки в кормушку.

В связи с более сложной организацией у крыс побежек к кормушкам от педалей в отличие от «кроличьей» клетки нами был введен еще один светодиод, который располагался прямо над язычком педали. Сигнал с этого светодиода сигнализировал нахождение морды крысы в непосредственной близости от педали. Он был необходим для дробления поведения на отдельные акты подхода в область педали и нахождения вблизи педали, которые присутствовали в регистрируемой сессии обучения на этапе обучения подходу к педали. Этот сигнал был также необходим для дробления цикла на акты в том случае, если крыса поворачивалась от кормушки в сторону педали через центральную зону и отметка прохождения середины стенки отсутствовала. С введением этого сигнала на актограмму мы стали делить весь пищедобывательный цикл на 6 этапов. Был добавлен этап нахождения в углу педали между этапами подхода к педали и нажатия на педаль. Соответственно модифицированная схема экспериментальной клетки представлена на **рисунке 6**.

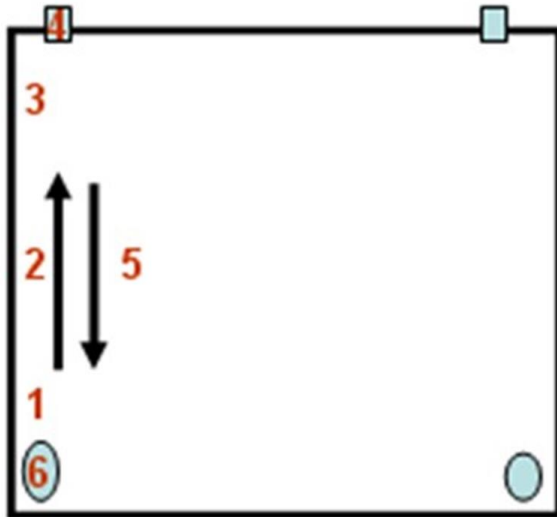


Рисунок 6. Модифицированная экспериментальная клетка для хронической регистрации нейронной активности в поведении крыс. Цифрами помечены акты циклического поведения: 1- поворот головы к педали, 2 – побежка к педали, 3 – нахождение в углу педали, 4 – нажатие на педаль, 5- побежка к кормушке, 6 – захват пищи в кормушке.

В сравнении с ранее приведенными схемами аналогичной клетки для кроликов на схеме видно, что педали утоплены в стены и гораздо меньшего размера, а кормушки находятся в самых углах клетки.

На **рисунке 7** представлен кадр из видеозаписи поведения крысы в эксперименте с хронической регистрацией нейронной активности.



Рисунок 7. Кадр из видеозаписи поведения животного в процессе регистрации нейронной активности.

В левом верхнем углу кадра виден таймер, по которому синхронизировали моменты границ выделенных при просмотре актов поведения и записи нейронной активности. Точность синхронизации составляла 1 с, и такой способ выделения границ актов применялся для всех форм поведения кроме циклического пищедобывательного, границы актов которого определялись по поведенческим отметкам с фотоэлектрических датчиков. В кадре также видны вращающиеся контакты (темно-зеленая крышка контактов недалеко от правой границы кадра), от которых к голове животного идут сплетенные провода. В нижней части кадра видна медная трубка, по которой передвигали держатель вращающихся контактов при перемещении крысы из отсадочной части клетки в «рабочую». На этом кадре задняя стенка клетки находится внизу, а передняя наверху, соответственно правая отсадочная часть клетки (видна частично) находится слева, а «рабочая» с педалями и кормушками справа. В нижней части секции справа видны две круглые кормушки, а наверху – две педали. Морда крысы находится прямо над правой педалью.

Такая конструкция клетки позволяла регистрировать нейронную активность хронически вживленными электродами и сопоставлять ее с разными формами поведения. В качестве актов ориентировочно-исследовательского поведения нами были взяты многократно повторявшиеся в обеих частях клетки эпизоды вставания крысы в позу «столбик» для приноживания и ориентации. Оборонительное поведение было представлено актами пассивного сопротивления крысы при насильственном захвате животного экспериментатором и подъеме над полом клетки на несколько секунд. Для регистрации питьевого поведения по окончании сессии обучения и перевода животного в отсадочную клетку туда помещали чашу с водой и давали животному спокойно пить. Непрерывное питье разбивали на куски по несколько секунд для получения «актов» сопоставимых с актами другого поведения. Социальное поведение животного происходило также в отсадочной клетке. Для запуска социального поведения к животному с регистрируемой нейронной активностью подсаживали или молодого крысенка или крысу другого пола. Соответственно выделяли повторяющиеся акты совместного обнюхивания, подходы к другому животному. Акты других кроме пищедобывательного поведений выделяли на основе просмотра видеозаписи и определяли их начало и конец. После этого моменты начала и конца выделенных актов вносили в файл записи нейронной активности в соответствующей сессии обучения в виде специальных реперов для последующего сопоставления нейронной активности с поведением.

2.1.7. Методика регистрации тетрами в сессиях формирования пищедобывательного поведения.

Для проверки гипотезы исследования о вовлечении в обучение «молчащих» нейронов и для обеспечения длительной стабильной регистрации активности одиночных нейронов во время сессии обучения животного нами была выбрана методика хронической регистрации нейронной активности счетверенными микроэлектродами (тетрами), продвигаемыми вглубь мозга с помощью специального микроманипулятора. Тетродная методика была разработана для выделения активности отдельных нейронов из мультиклеточной активности плотно упакованных пирамид гиппокампа (O'Keefe J., Reece M., 1993, Wilson M.A., McNaughton B.L., 1993). Такая методика не только обеспечивает стабильную регистрацию активности группы близко расположенных клеток, но и позволяет выделять активность большего числа одиночных нейронов с одного электрода, чем другие типы электродов (Gray C.M. et al., 1995, Schmitzer-Torbert N. et al., 2005) при одинаковом отношении сигнала к шуму. Каждый тетрод представлял собой скрученные вместе и залитые цианоакрилатом четыре платино-иридиевые проволочки, каждая из которых имела диаметр 17 мкм. С одной стороны, той, которая погружалась в мозг, тетрод был срезан глазными ножницами под углом близким к 45 градусам. С другой стороны свободные от изоляции кончики проволочек были подпаяны к миниатюрному разъему. Разъем с помощью эпоксидного клея приклеивали к корпусу микроманипулятора, а тетрод пропускали через приклеенный к движку микроманипулятора обрзок инъекционной иглы, которая направляла тетрод в мозг. Микроманипулятор был самой простой конструкции и состоял из металлического П-образного корпуса, в просвет которого были вклеены верхняя и нижняя пластиковые направляющие. Направляющие удерживали свободно вращающийся длинный позолоченный винт диаметром 1,6 мм, который сдвигал пластиковый ползунок с приклеенной к нему иглой. Винт приводился во вращение обычной миниатюрной отверткой.

В процессе операции на крысе в предварительно скальпированном черепе сверлили три отверстия под крепежные винтики, а также отверстия под заземляющий и референтный электроды. Над цингулярной корой сверлили сверлом отверстие диаметром около двух мм с центром с координатами Р 5-5,5 мм, L – 1-1,5 мм. При визуальном контроле через длиннофокусную бинокулярную лупу к черепу приклеивали зубным пластиком микроманипулятор с электродом, направленным в кору. В месте, куда направлялся кончик электрода, с помощью иглы делали маленький надрез в твердой мозговой оболочке для свободного прохождения тетрода. Разъем манипулятора подсоединяли к регистрирующей

аппаратуре и в процессе операции под наркозом погружали тетрод до первых нейронов. После этого отверстие над цингулярной корой закрывали медицинским вазелином. В качестве референта мы использовали обрезанный ножницами платино-иридиевый провод диаметром 50 мкм, кончик которого погружали в мозг на расстоянии нескольких мм от регистрирующего тетрода. Заземляющим электродом служила оплавленная на конце до шарообразной формы и помещенная на твердую мозговую оболочку серебряная проволока диаметром 100 мкм.

К разъему на манипуляторе подсоединяли разъем предусилителей с отводящими проводами, соединявшими предусилитель с разъемом вращающихся контактов. Подсоединявшийся к разъему на голове животного счетверенный предусилитель обеспечивал согласование высокого сопротивления электродов с входным сопротивлением основного предусилителя и обладал коэффициентом передачи напряжения равным 1. Вместе с этим предусилителем на голове животного располагалась фотоэлектрическая пластинка для регистрации поведенческих отметок прохождения середины стенки и нахождения в области педали. Далее от вращающихся контактов, расположенных на штанге в верхней части клетки, провода вели к основному предусилителю, который обеспечивал подавление синфазной помехи, фильтрацию сигнала с полосой пропускания 150-5000 Гц, и усиление сигнала для подачи на вход платы АЦП персонального компьютера. Коэффициент усилителя был около 10000, т.е. сигнал амплитудой 100 мкВ на входе АЦП имел амплитуду в 1В. Плата АЦП и программное обеспечение для регистрации нейронной активности и поведенческих отметок были изготовлены компанией DataWave (США).

После восстановительного периода длительностью от 3 дней до недели животное помещали в экспериментальную клетку, подсоединяли предусилители и погружали электрод в глубину коры до тех пор пока не появлялся на всех электродах сигнал мультиклеточной активности со спайками амплитудой около 100 мкВ. В этом положении электрод оставляли на 30-50 минут и, если сигнал не изменялся, начинали сессию обучения с регистрацией нейронной активности. Регистрацию нейронной активности начинали в «отсадочной» части экспериментальной клетки, затем примерно через 1 минуту открывали перегородку, разделявшую части клетки, и животное переводили в отсек клетки с педалями и кормушками для проведения сессии обучения. После окончания сессии обучения опять открывали перегородку и переводили животное обратно в «отсадочную» часть клетки. После этого еще около минуты регистрировали нейронную активность до отключения программы сбора данных. Такая последовательность применялась нами для обычных сессий обучения. В тех же случаях, когда ставились эксперименты по регистрации активности нейронов в разнообразных формах поведения, до регистрации в пищедобывательном поведении мы

регистрировали в «отсадочной» части активность в эпизодах комфортного, поискового и оборонительного поведения, а после окончания сессии циклического пищедобывательного поведения переводили в «отсадочную» часть и регистрировали активность в комфортном, питьевом, оборонительном и социальном поведении. В этом случае записи активности в отсадочной части клетки были дольше и определялись программой регистрации эпизодов разнообразных поведений.

Сбор мультиклеточной активности и поведенческих отметок мы осуществляли с помощью программы Discovery (DataWave, США) и сохраняли в виде файла на жестком диске. Сортировку спайков для выделения потоков активности отдельных нейронов проводили с помощью программы Act (разработчик Matthew Shapiro (США)). Типовая диаграмма распределения спайков группы зарегистрированных нейронов в двухмерном пространстве, образованном значениями амплитуды спайков на двух из четырех электродов представлена на **рисунке 8**. Качество регистрации, отражающееся в возможности выделения активности отдельных нейронов из мультиклеточной активности соответствует среднему качеству тетродной регистрации (Schmitzer-Torbert N. et al., 2005).

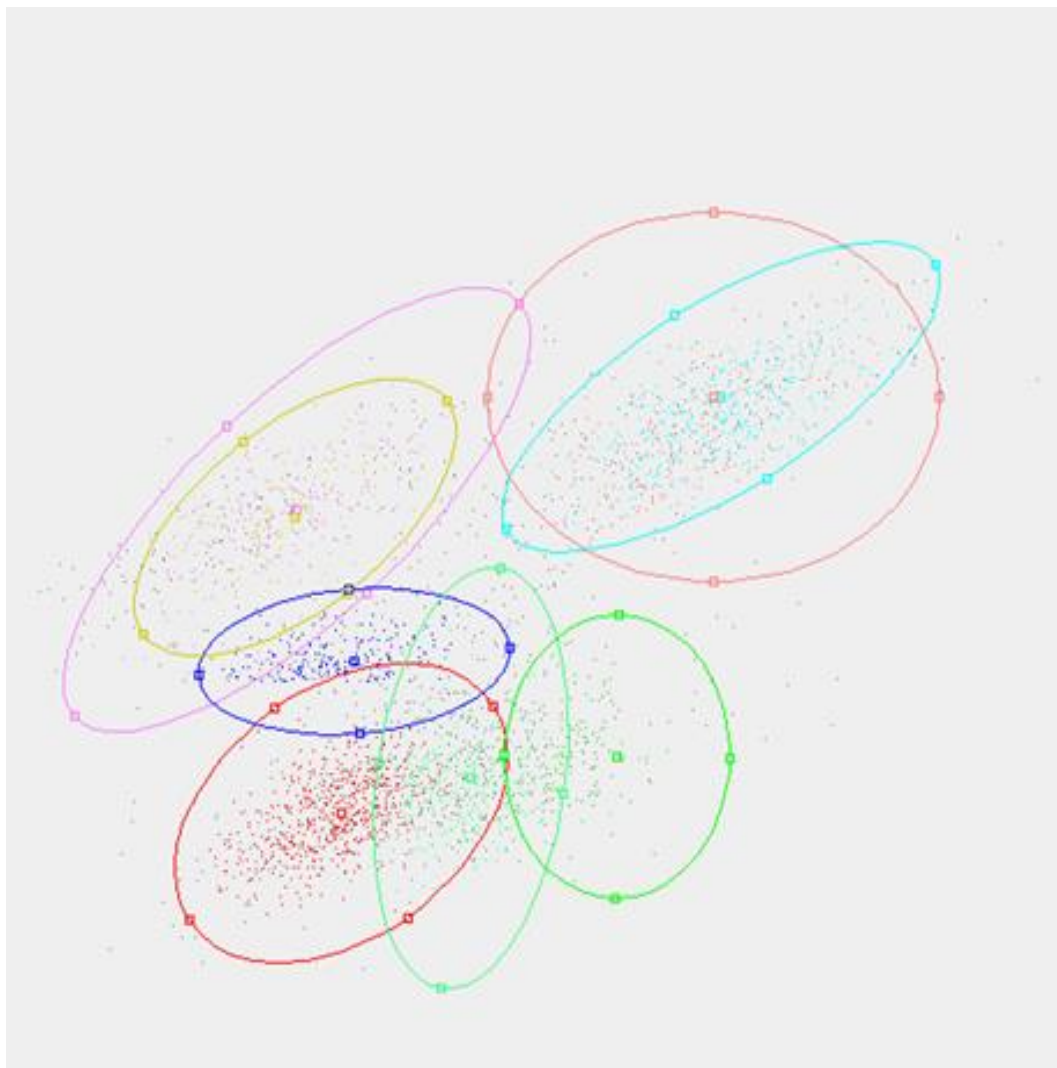


Рисунок 8. Пример диаграммы распределения спайков, зарегистрированных одним тетродом у крысы в наших экспериментах. По оси абсцисс - амплитуда пика спайка на электроде X, по оси ординат – амплитуда спайка на электроде Y. Каждой точке на диаграмме соответствует один спайк. Разным цветом обозначены спайки, принадлежащие разным нейронам. В ряде случаев одно облако обсчитывалось дважды для включения большего количества спайков в связи с особенностями работы программы сортировки (верхние 4 эллипса). Амплитуда спайка растет слева направо и снизу вверх. Серыми точками обозначены неидентифицированные спайки, которые зачастую являлись артефактами регистрации или случайными наложениями нескольких спайков.

На этой диаграмме представлен принцип выделения активности одиночных клеток при тетродной регистрации. Программа Act позволяет визуализировать двухмерные проекции параметров регистрируемых спайков и ограничивать на них «облака» активности отдельных нейронов. Критерием разделения распределения на отдельные облака является наличие зоны разрежения (границы) между отдельными облаками хотя бы на одной проекции. По каждому параметру один тетрод позволяет получить 6 двухфазных пространств распределения спайков, соответствующих комбинациям разных пар из 4 электродов. Программа Act позволяла получать такие пространства для амплитуд пика спайка, времени пика, амплитуды и времени пика обратного отклонения (valley) и ряда других параметров. Однако, наиболее информативными были распределения амплитуд пиков спайка на отдельных электродах, которые и использовались нами для разделения мультиклеточной активности на потоки отдельных нейронов. Наличие серых точек в облаках на диаграмме связано с искажениями формы, возникающими при наложении нескольких спайков или при артефактах. Программа Act очень жестко определяет принадлежность спайка к конкретному облаку, включая в разряд неидентифицированных спайки с крайними значениями хотя бы по одному из выбранных параметров. В этой программе выбирается как минимум 8 параметров для идентификации спайков (минимум по 2 параметра для каждого канала), а обычно 16 параметров (по 4 на канал). Таким образом, основная потенциальная ошибка в идентификации спайка состоит в потере спайков в потоке активности нейрона, и существенно реже неправильная идентификация принадлежности спайка, т.е. спайк одного нейрона относится к потоку активности другого. По некоторым оценкам (Harris K.D. et al., 2000) такой способ идентификации путем установления границ экспертом (в данном случае экспериментатором) имеет погрешность около 8% ошибок, но к сожалению пока более точного метода не разработано. В любом случае тетродная регистрация является уникальным

методом стабильной регистрации активности группы нейронов с возможностью относительно точной идентификации принадлежности спайка конкретному нейрону, что является критически необходимым для проверки включения «молчащих» нейронов во время регистрации. Включение нейрона приведет к появлению нового «облака» спайков на многомерной проекции параметров спайков при сохранении неизменными остальных «облаков».

2.1.8. Методика выявления отношений систем поведенческих актов в структуре памяти индивида при регистрации хронически вживленными электродами.

Теоретическим основанием данной методики является положение о системоспецифичности нейрона и его специализации относительно элемента индивидуального опыта (Швырков В.Б., 1995, Александров Ю.И. и др. 1997, Alexandrov Yu.I. et al., 2018). В основе методики лежит метод длительной регистрации нейронной активности животного (Горкин А.Г., 2011) в дефинитивном инструментальном пищедобывательном поведении, а также в питьевом, оборонительном, межиндивидуальном, поисковом и комфортном поведении. Одновременно с регистрацией активности нейронов ведется видеорегистрация поведения животного и запись поведенческих отметок, что позволяет по окончании сессии регистрации с помощью специальных программ сопоставить спайковую активность нейрона с поведением и выявить специализированные нейроны. Структура опыта, и соответственно структура долговременной памяти, представляет собой набор компонентов, связанных отношениями. Выявляемые специализации нейронов показывают, какие именно компоненты опыта входят в регистрируемое в эксперименте поведение. Паттерн активности специализированного нейрона при выполнении разнообразных поведенческих актов отражает состояние специфического элемента опыта при реализации других компонентов СИО и определяется отношениями между соответствующими компонентами, что позволяет выявить и описать эти отношения. Данная методика разработана с целью реконструкции структуры индивидуальной памяти путем выявления и описания типов отношений между отдельными элементами, принадлежащими одному или разным доменам опыта индивида. Наличие отношений определяется путем анализа специфической и неспецифической активности регистрируемых нейронов в различных формах поведения. По неспецифической активности специализированного нейрона при выполнении другого поведенческого акта мы можем судить о степени актуализации системы акта, представленного специализированным нейроном. В случае наличия отношения в структуре памяти между этими системами степень актуализации системы, относительно

позволяет оценить также долю компонентов из поведенческого репертуара, с которой специфический элемент связан отношениями.

2.2. Методика регистрации нейронов обезьян при выполнении разнообразных поведенческих задач.

2.2.1. Методика регистрации нейронов первичной слуховой коры обезьян при выполнении инструментальной задачи.

Субъекты.

Эксперименты проводились в лаборатории нейробиологии приматов института Нейробиологии им. Лейбница в г. Магдебурге (Германия) на взрослых длиннохвостых макаках (*macaca fascicularis*), обоего пола, не менее двух особей в каждой серии экспериментов. На протяжении всего эксперимента обезьяны были размещены в клетках, в которых они имели свободный доступ к сухому корму, включая гранулы, хлеб, кукурузные хлопья и орехи. Они получали большую часть своего водного рациона во время тренировок, а оставшуюся часть получали в виде свежих фруктов после каждой тренировки. В дни без поведенческих тестов и сессий регистрации активности мозга они получали воду и фрукты. Ежедневно оценивали массу тела и внешний вид обезьян. Все обезьяны, которые ранее приняли участие в поведенческих исследованиях с использованием аудиовизуальных последовательностей очень похожи на те, которые используются здесь (описано в Rahne T. et al., 2008; Selezneva E. et al., 2012). Все эксперименты были одобрены Управлением по уходу за животными и этике штата Саксония-Анхальт (Landesverwaltungsamt Halle) и соответствовали директиве ЕС (2010/63/EU) по защите животных, используемых в научных целях.

Подготовка к экспериментам.

Как подробно описано в статье М. Броша и Х. Шайха (Brosch M., Scheich H., 2008) металлический шлем («halo») для фиксации головы имплантировался под глубоким наркозом (кетамин гидрохлорид [4 мг/кг] и ксилазина [5 мг/кг]) в череп обезьяны для последующей нетравматичной фиксации головы. Он состоял из трех мощных дуг, которые плотно охватывали затылочный, надорбитальный и срединно - сагиттальный гребни головы. Этот шлем был прочно и постоянно прикреплен к голове с помощью нескольких болтов из нержавеющей стали с заостренными кончиками, которые при вращении выдвигались через неповрежденную кожу и мягкие ткани до тех пор, пока они плотно не упирались в череп. Впоследствии на обезьянах проводилась имплантация камеры в левой височной области черепа для микроэлектродной записи из слуховой коры. Для имплантации удаляли кусок

кости с помощью трепана (диаметр: 21 мм) и цилиндр с внешней резьбой из нержавеющей стали ввинчивался в отверстие слегка меньшего размера. Он был центрирован на координатах Хорсли-Кларк А7.5 до А8.5 и D8.5 до 12.5 (обозначения, как у Szabo J. Cowan W.M., 1984). Все хирургические операции на животных проводились под глубоким общим наркозом и сопровождались полным курсом инъекций антибиотика (Байтрил, 0,2 мл / кг) и анальгетика (Карпрофен, 0,1 мл/кг), во время которого они наблюдались несколько раз в день столько дней, сколько было необходимо. Твердую мозговую оболочку ежедневно обрабатывали местным дезинфицирующим и противовоспалительным средством Dexamytrex (Mann).

Установка.

Эксперименты проводились в двухстенном звукоизолированном помещении (IAC 1202-A). Для всех поведенческих тренировок и тестов обезьян помещали в специальное кресло для приматов. В его переднем отсеке размещались зеленый светодиод для визуальной стимуляции (светодиод, диаметр 2 градуса), рычаг и носик для подачи воды (см. также Brosch M., et al., 2004). Носик воды был подключен через пластиковую трубку к магнитному клапану, который находился вне звуконепроницаемого помещения. Для слуховой стимуляции два динамика (Canton Karat 720) были размещены на расстоянии ~1 м слева и справа от обезьяны.

Управляющий компьютер находился за пределами звуконепроницаемой комнаты с обезьяной и использовался для генерации зрительных и слуховых стимулов, а также для управления и мониторинга поведенческой процедуры. Слуховые стимулы генерировались с помощью процессора массива (Tucker-Davis Technologies, Gainesville), взаимодействующего с компьютером, с частотой дискретизации 100 кГц. Сигнал преобразовывали в аналоговую форму, усиливали (Pioneer, A202) и предъявляли обезьяне через громкоговорители. Касание обезьяной рычага и его удержание детектировалось специально разработанным устройством внутри звуконепроницаемой комнаты и передавалось с помощью световода к контроллеру, который подавал сигнал в управляющий компьютер.

Мы использовали многоканальный манипулятор, погружавший в мозг до пяти микроэлектродов (Thomas Recording), для регистрации потенциалов действия, генерируемых небольшой группой нейронов (multiunit activity) из разных участков, в основном в верхних слоях, левой первичной слуховой коры. После предварительного усиления сигналы от каждого электрода усиливались и фильтровались с полосой 0,5–5 кГц прибором PGMA-64 (Томас Recording), конвертировались в цифровую форму системой сбора данных (Neuralynx) с частотой дискретизации 42 кГц. По техническим причинам локальные полевые потенциалы в данном исследовании не регистрировали.

Задача оценки нейронного обеспечения выделения звуковых потоков.

Схема эксперимента представлена на **рисунке 10**.

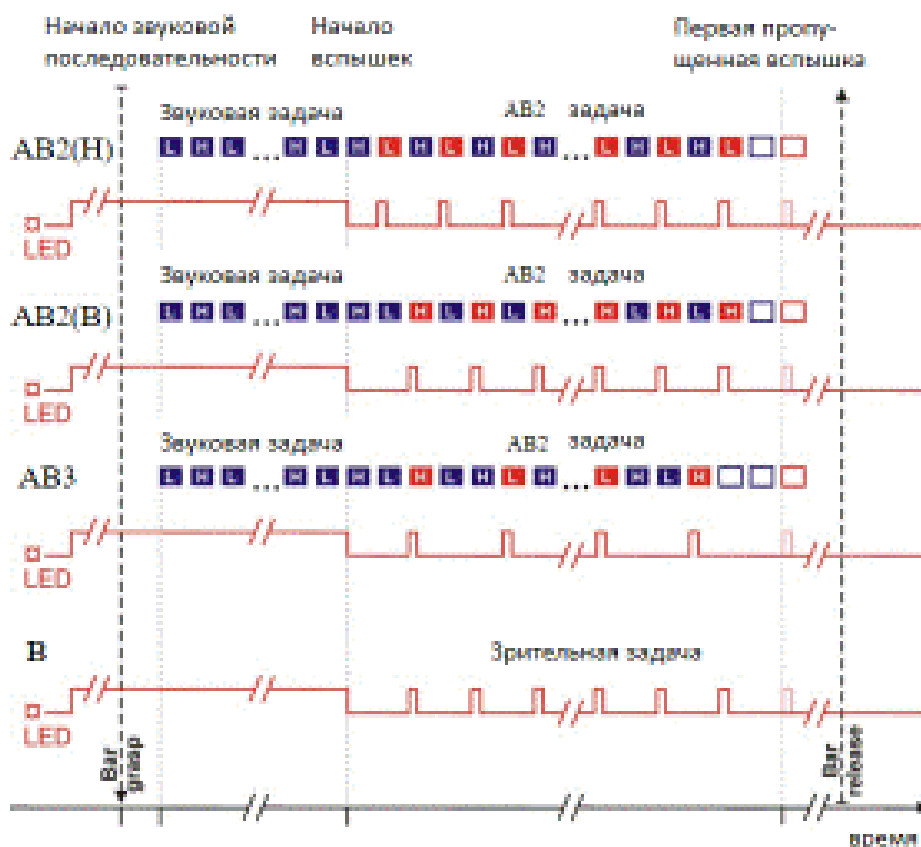


Рисунок 10. Схематическое изображение поведенческих задач и стимулов, использовавшихся для изменения организации восприятия тональных последовательностей. Обозначения: АВ – аудиовизуальная задача, LED - сигнал светодиода.

После загорания светодиода (на что указывает ступенька на нижней красной линии), обезьяны должны были ухватиться за рычаг. После удержания рычага в течение некоторого времени светодиод начал периодически выключаться и включаться (начало мигания). Этот период соответствовал зрительной части задачи. Обезьяны должны были освободить рычаг, когда периодическое мигание светодиода прекратилось, то есть после первой пропущенной вспышки (обозначенной серым затенением). В некоторых пробах (показанных в верхних частях рисунка) звуковые стимулы (заполненные прямоугольники) предъявлялись в сочетании со зрительными стимулами. Звуковые стимулы состояли из серии чистых тонов, которые чередовались между низкой (Н) и высокой (В) частотой. Они начинались во время стационарной фазы зрительной стимуляции (составляли слуховую часть задачи) и продолжались в течение последующей фазы мигания, в которой либо каждый второй тон

(задача АВ2) или каждый третий тон (задача АВ3) были синхронизированы с фазой свечения светодиода. Два варианта условия АВ2 различались в том, был ли низкий или высокий тон синхронизирован со вспышкой. В большинстве проб предъявление тонов останавливалось до того, как мигание было остановлено (обозначено открытыми прямоугольниками). В задаче АВ2 наблюдался один пропущенный тон перед первой пропущенной вспышкой. В задаче АВ3 было два пропущенных тона перед первой пропущенной вспышкой.

Стимулы.

Для выявления рецептивных полей и частоты максимального ответа нейронов мы предъявляли обезьянам случайную последовательность из 400 чистых тонов на 40 различных частотах (от 200 Гц до 15,6 кГц с равными пошаговыми отношениями соседних частот). Тоны имели продолжительность 100 мс и предъявлялись каждые 1000 мс. Уровень звукового давления составлял ~ 70 дБ SPL.

Для поведенческих задач, визуальные стимулы предъявлялись самостоятельно или в сочетании со слуховыми стимулами (**Рисунок 10**). Слуховые стимулы выбирали после предварительного тестирования рецептивных полей, так что каждая из трех обезьян, участвующих в текущем исследовании, сталкивалась с перцептивно неоднозначными тональными последовательностями. Для визуальной стимуляции светодиод изначально включался максимум на 10 с. За этим следовал период 2,52-6 с, в течение которого светодиод периодически выключался и включался по 9-25 раз. Продолжительность фазы включения светодиода составляла 35 мс, а фаза выключения имела фиксированную длительность во время пробы. У обезьяны С, светодиод включался на каждые 280 или 420 мс. У обезьян W и E, светодиод включался на каждое 240 или 360 мс. В аудиовизуальных пробах звуковая стимуляция начиналась примерно через 1-3 с после первого включения светодиода в пробе. Она длилась 3,48 и 9,6 с и состояла из 25-80 чистых тонов, которые чередовались между высокой и низкой частотой. Каждый тон имел длительность 80 мс (включая время подъема/падения 5 мс) и предъявлялся каждые 140 мс у обезьяны С и каждые 120 мс у обезьян W и E соответственно. Интенсивность тонов составила ~60 дБ SPL. От шести до двадцати четырех тонов были предъявлены во время начальной фазы постоянного свечения светодиода, и этот период составлял слуховую часть задачи. Еще 18-49 тонов были предъявлены в последующий период, когда светодиод периодически вспыхивал в течение 2,52-6 с. Этот период составлял аудиовизуальную часть задачи. Использовались два типа аудиовизуальных задач, различающихся по способу синхронизации вспышек и тонов. В задаче АВ2 вспышки были синхронизированы с каждым вторым тоном. В одних пробах вспышки были синхронизированы только с высокими тонами, а в других пробах синхронизация всегда была только с низкими тонами. В режиме АВ3 вспышки

предъявлялись с каждым третьим тоном, Так что вспышки по очереди синхронизовались с высоким и низким тоном. Вспышки включались за 9 мс перед соответствующим тоном, чтобы способствовать перцептивной интеграции двух последовательностей (Vroomen J. Keetels M., 2010).

В исследовании 1 одни и те же высокие и низкие тона использовались во время одной экспериментальной сессии. Их частотное разделение варьировало между сессиями в диапазоне от 6 до 9 полутонов у обезьяны С и 4 - 4,5 полутонов у обезьяны W. В исследовании 2 четыре пары высоких и низких тонов (все центрированные относительно одной и той же средней логарифмической частоты) использовались во время одной экспериментальной сессии. Тональные пары различались по отношениям частот: 1,5, 4,5, 7,5 или 10,5 полутонов. Это позволило нам сравнить нейронные реакции одного пула нейронов на перцептуально неоднозначные последовательности с различными долями восприятия одного и двух слуховых потоков. В обоих исследованиях средняя частота варьировалась от 400 Гц до 15 кГц между экспериментальными сессиями. Средняя частота выбиралась исходя из частотных рецептивных полей нейронов, одновременно регистрируемых с разных электродов в экспериментальной сессии, так что тоны, используемые в поведенческой задаче, попадали в диапазон чувствительности регистрируемых нейронов и возбуждали как можно больше клеток.

Поведенческая процедура.

Проба начиналась с включения светодиода, который был сигналом для субъектов, чтобы схватиться за рычаг в течение 3 с. После поддержания такого контакта в течение 650 мс включалась тональная последовательность. После переменного периода в 720-3960 мс светодиод ненадолго выключался, а затем начинал мигать, отмечая начало последовательности АВ. Ее продолжительность варьировала от 3000 до 6000 мс. Таким образом, тональная последовательность длилась от 3720 до 9960 мс, что больше времени, в течение которого обычно происходит "наращивание" (например, Micheyl C. et al., 2007). Задача испытуемых состояла в том, чтобы освободить рычаг как можно скорее после первой пропущенной вспышки, независимо от наличия тонов. Если они сделали это в течение 1000 мс, время ответа (ВО) сохранялось, проба была оценена как правильная, и обезьяны получали награду в виде воды (никакая обратная связь не давалась человеческим участникам). Следующее проба начиналась после 5-с интервала. Проба была оценена как неправильная, и никакая награда не выдавалась за отпускание рычага за пределами окна 1000-мс ответа. Использование переменной длительности последовательности вместе с относительно короткими окнами поведенческих реакций не позволяло испытуемым просто основывать свои решения на оценке времени, прошедшего после начала испытания.

Все вспышки имели длительность 35 мс, а все тоны имели длительность 80 мс, включая время нарастания/спада в 5 мс. Вспышки включались на 9 мс перед соответствующим тоном, чтобы учесть различные скорости обработки визуальных и слуховых модальностей (Vroomen J., Keetels M., 2010). Временные параметры были выбраны для достижения субъективного впечатления от одновременных аудиовизуальных событий. Интенсивность тонов, использованных в эксперименте, поддерживалась на уровне около 60 дБ.

Поскольку ожидалось, что время ответа (ВО) будет критически зависеть от того, как последовательность вспышек была сопряжена с тоновой последовательностью, и от того, как тоновые последовательности были перцептивно организованы, с уменьшением величины ВО, отражающим, как часто тоновая последовательность будет восприниматься как единый слуховой поток, мы систематически тестировали эффекты следующих манипуляций с АВ-последовательностями. Выбор параметров определялся попыткой создать как можно больше предположительно неоднозначных тональных последовательностей.

(1) АВ-сопряжение: зрительные стимулы могут акцентировать (усиливать) выбранные тона и, таким образом, отделять их от других тонов, что, в свою очередь, может изменить перцептивную организацию тоновой последовательности по сравнению с отсутствием визуальных стимулов (Handel S., 2006). Мы использовали эти визуально индуцированные изменения восприятия, комбинируя последовательности вспышки и тона двумя способами.

Во - первых, мы синхронизировали вспышки с каждым третьим тоном, т. е. вспышки периодически чередовались между синхронизацией с низкочастотным тоном А и высокочастотным тоном Б, и таким образом способствовали временной организации последовательности в периодическую альтерацию между одним акцентированным тоном и двумя невыделенными тонами. Это было названо последовательностью АВ3.

Во - вторых, мы синхронизировали вспышки с каждым вторым тоном, например, только с тонами А, и тем самым способствовали временной организации тоновой последовательности в периодическое чередование между одним акцентированным тоном и одним невыделенным тоном Б. Это было названо последовательностью АВ2. Несмотря на то, что для данного типа АВ-связи ВО не отражает временной организации для небольшого набора параметров последовательности, протестированных в пилотном исследовании (Rahne T. et al., 2008), мы тем не менее протестировали АВ2 последовательности с другими параметрами последовательности, чтобы получить представление о взаимодействии между слуховыми и зрительными стимулами, которые лежат в основе изменений ВО. Условия, при которых каждая вспышка была синхронизирована с тоном, не были включены в дизайн исследования, поскольку испытуемые чувствовали себя некомфортно из-за высокой частоты

вспышки. Все АВ-последовательности сравнивались с визуальными (только В-последовательности).

(2) Частота последовательности: поскольку временная организация тоновой последовательности зависит от частоты ее предъявления (van Noorden L., 1975), мы предъявляли тональные последовательности с четырьмя частотами, указанными как асинхронность начала тонального сигнала (АНТ). Для теста в основном неоднозначных последовательностей, мы использовали АНТ в 100, 120, 140 и 160 мс. Результирующие частоты предъявления вспышек, выраженные как асинхрония начала вспышек (АНВ), составили 200, 240, 280 и 320 мс для АВ2 последовательности и 300, 360, 420 и 480 мс для АВ3 последовательности. Для последовательностей одних вспышек (В) мы использовали все 8 АНВ. Из-за различной длительности последовательности количество тонов и вспышек также значительно варьировало от пробы к пробе. Для АНТ 100 мс, например, начальная часть последовательности АВ состояла из 10-40 тонов. Последующая бимодальная часть состояла из 19-60 тонов и от 10 до 30 вспышек для АВ2 последовательностей и 19-58 тонов и 7 до 20 вспышек для последовательностей АВ3.

(3) Частотное разделение: поскольку временная организация тоновой последовательности зависит от частотного разделения тонов А и В (van Noorden L.P.A.S., 1975), были протестированы три частотных разделения, которые, как известно, приводят к различным процентам сообщений о сегрегированных восприятиях. Для проверки в основном неоднозначных последовательностей мы использовали 0,1243 октавы (1,5 полутона; 'малые'), 0,3741 октавы (4.5 полутонов; "промежуточный"), и 0,8750 октавы (10.5 полутонов; 'большой'). Мы использовали 1000 и 1090 Гц для малого, 1000 и 1296 Гц для среднего и 1000 и 1834 Гц для большого разделения.

Предыдущее экспериментальное исследование (Rahne T. et al., 2008) показало, что ВО зависит от частотного разделения и отражает перцептивную организацию тоновой последовательности только в том случае, если тоновая последовательность завершается незадолго до вспышки. Следовательно, мы также использовали последовательности с асинхронными завершениями, в которых последовательность тонов заканчивалась до последовательности вспышек. Для последовательностей АВ2 последовательность тонов заканчивалась на один тон перед последовательностью вспышек. Для последовательностей АВ3 последовательность тонов завершалась на два тона до последовательности вспышек. Чтобы уменьшить количество ответов чисто на прерывание тоновой последовательности, 5-30% проб были отобранными пробами, в которых тоны продолжались до 1000 мс после того, как мигание было остановлено (это соответствовало концу окна времени ответа, см. выше).

Во время индивидуальных сессий, обезьяны были испытаны с одним разделением частоты, одним АНТ (и таким образом 2 АНВ), 3 типами последовательностей АВ (АВ2, АВ3, и В-только), полным диапазоном продолжительностей последовательности, и последовательностями в которых или тоны или вспышки были остановлены первыми. Для людей одна АНТ со всеми тремя частотными делениями тестировалась за один сеанс.

Все ВО измерялись относительно "начала" первой пропущенной вспышки. Чтобы учесть изменение ВО в поведенческих сеансах, для каждого сеанса мы вычисляли «прирост» ВО. Это было определено как разница между медианой ВО для всех последовательностей только В, предварительно представленных во время сеанса, и ВО для определенной последовательности АВ. Следует отметить, что ВО не зависела систематически от частоты вспышек только для В-последовательностей (**рисунок 10**). Таким образом, ВО, полученные только с В-последовательностями, представленными на различных синхрониях начала вспышек (АНВ), могут быть объединены. Прирост ВО от разных сеансов и от двух обезьян был объединен, чтобы дать медиану ВО отдельно для всех условий АВ. Результаты для АВ2 последовательности, в которой вспышки были синхронизированы только с тонами А были похожи на те последовательности, в которых вспышки были синхронизированы с тонами В. Поэтому данные для двух типов АВ-последовательности были объединены. Несмотря на то, что ВО немного варьировало с длительностью последовательности, а различия ВО были максимальными на промежуточных длительностях, эти вариации были одинаковыми для всех частотных разделений. Таким образом, ВО, полученные для различных длительностей последовательности были объединены. Мы использовали тесты Kruskale Wallis для сравнения образцов из двух или более групп различных условий АВ с уровнем значимости $p < 0,05$.

Задача выявления связи активности нейронов с компонентами инструментальной аудио-визуальной задачи.

В этой серии экспериментов обезьяны должны были выполнять инструментальные задачи оперирования рычагом для получения порции воды или сока. В связи с этим использовалось оборудование экспериментальной установки для детекции касания животного с металлическим рычагом, находившимся на съемной передней стенке приматологического стула, и специальная трубка с ложечковидным кончиком на той же стенке стула для подачи жидкости. Подача жидкости осуществлялась с помощью расположенной снаружи звуконепроницаемой комнаты помпы с пластиковым шприцем, наполненным водой или соком, и соединенной с подающей трубкой через пластиковый шланг, проходивший через дверь в комнату. Порция подкрепления составляла от 0.3 до 0.8 мл.

Регистрация нейронной активности осуществлялась аналогично выше описанных экспериментов за исключением записей у обезьяны We, которой в череп вживляли колодец для крепления съемного микроманипулятора, погружавшего в мозг многоканальный «силиконовый» электрод, диаметром 300 мкм. Контактные площадки расположенных вдоль основного стержня микроэлектродов отстояли друг от друга на 125 мкм и торцевой электрод, имевший максимальную контактную площадку, отстоял от ближайшего микроэлектрода на 700 мкм. Поскольку микроманипулятор непосредственно закреплялся к колодцу в черепе, голова обезьяны не была жестко зафиксирована в этих сеансах записи, а лишь частично ограничена, с помощью коробчатого бокса, который плотно прилегал к голове.

Экспериментальный дизайн.

Для изучения того, как отношения между компонентами экспериментальной задачи влияют на активность нейронов, мы использовали в качестве таких компонентов звук (З), движения руки (Д), и питье воды (В). Из этих компонентов были сгенерированы 6 различных комбинаций различной сложности, включавшие от одного до трех компонентов из этого списка. Схема различных экспериментальных ситуаций представлена на **рисунке 11**.

Выбор условий был ограничен временем, которое требовалось для сбора достаточного количества испытаний для каждого условия в экспериментальной сессии, и когнитивной способностью обезьян переключаться между условиями и выполнять каждое из них на приемлемом уровне. Так как наш основной интерес был сфокусирован на звуках, мы сосредоточились на отношениях компонентов с ними. Чтобы лучше понять, как отношения между компонентами задачи влияют на нейронную активность, мы также включили условия с одним компонентом. Следовательно, мы использовали две ситуации с одним компонентом, одну ситуацию с двумя компонентами, две ситуации с тремя компонентами и одна ситуация с четырьмя компонентами. Двумя однокомпонентными ситуациями были З-задача только со звуками и В-задача, в которой только подавалась вода. Д-задача не использовалась, потому что обезьяны не показали бы достаточное количество повторов аналогичного моторного поведения без подкрепления этого поведения, например, водой. Это обстоятельство также исключало ДЗ-задачу. Единственной двухкомпонентной задачей была ситуация ЗВ, в которой подача звуков сопровождалась водой. Двигательное поведение было включено в виде компонента только в оставшиеся три многокомпонентные задачи. В ЗДВ-задаче для получения воды требовалось определенное моторное поведение после подачи звуков. В ДЗВ-задаче, специфическое движение руки было необходимо, чтобы услышать звуки и получить воду. В ДЗДВ-задаче, специфическое моторное поведение требовалось для запуска звуков и другое движение руки в связи со звуками, чтобы получить воду.

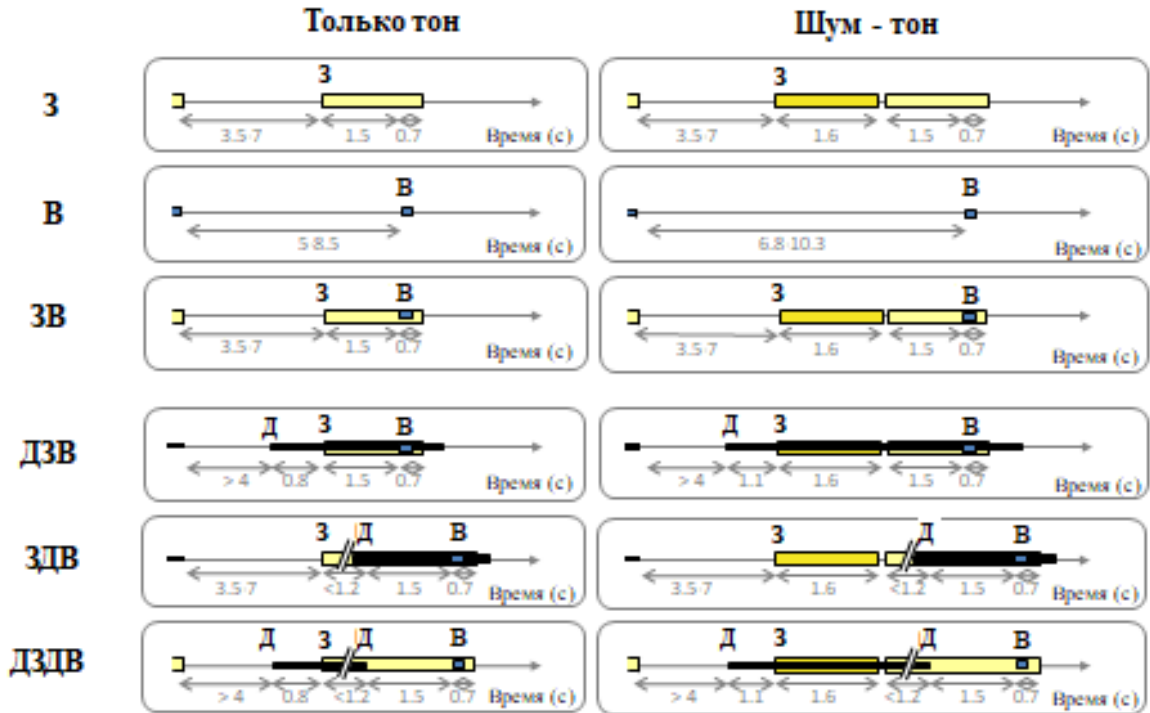


Рисунок 11. Схема экспериментальных ситуаций. В левом и правом столбцах показаны шесть ситуаций с различными номерами и порядком компонентов задачи для однотоновых проб и проб с использованием шума. В З-задаче, проба состояла только из звуков, либо только тон с длительностью 2.2 с (светло желтый прямоугольник) либо - шум с длительностью 1.6 с (желтый прямоугольник), а затем - тон. Интервал тишины между шумом и тоном составлял 0,2 с. Длительность интервала тишины между звуками в последовательных пробах варьировала от 3,5 до 7 с. В В-задаче, в пробе подавали только воду на 0.6 с (голубой прямоугольник) и пауза между последовательными пробами варьировала между 5 и 10.3 с. В ЗВ-задаче проба включала предъявление звуков и подачу воды, которая подавалась через 1,5 с после включения тона. В ДЗВ-задаче обезьяны инициировали пробу моторным актом, прикосновением руки к рычагу. При удерживании рычага (черный прямоугольник), предъявлялись звуки и предъявлялась вода. Продолжительность интервала тишины до того, как обезьяны могли начать следующую пробу, составляла 4 с. В ЗДВ-задаче проба начиналась со звуков, и обезьяны должны были коснуться рычага через 0,3 - 1,2 с после начала тона. После удержания рычага в течение 1,5 с (черный прямоугольник) подавалась вода. Длительность интервала тишины перед звуками следующей пробы варьировала от 3,5 до 7с. В ДЗДВ задаче обезьяны инициировали пробу моторным актом, прикосновением к рычагу. Во время удержания рычаг (черный прямоугольник), предъявлялись звуки. Обезьяны должны были освободить рычаг через 0,3 - 1,2 с после начала тона. Через 1.5 с подавалась вода. Продолжительность интервала времени до того, как обезьяны могли начать следующую пробу, составляла 4 с.

Чтобы облегчить интерпретацию результатов сравнения разных задач, мы использовали компоненты задачи и временные отношения между ними, которые были максимально похожи. Однако необходимо было внести некоторые различия, которые состояли в количестве компонентов, используемых в индивидуальных задачах, и способах их комбинирования.

В качестве звуковой составляющей (З) мы использовали два звука (чистый тон и шум), а не один звук только потому, что мы хотели, чтобы обезьяны различали звуки различным моторным поведением, и чтобы обезьяны не использовали другие сигналы задач для руководства их моторным поведением, включая временной интервал. Два звука, а не один звук переменной продолжительности также имели то преимущество, что эффекты различных звуков и различных отношений звуков к подаче воды могли быть проверено параллельно. Частота тона была постоянной во время экспериментальной сессии, но варьировалась от 0,4 до 10 кГц. Она была скорректирована на частотную чувствительность нейронов, регистрировавшихся в ходе экспериментальной сессии. В трех условиях (З-задача, ЗВ-задача, и ДЗВ-задача), тон имел фиксированную продолжительность в 2200 мс. В двух задачах, в которых обезьяны должны были демонстрировать определенное двигательное поведение на звуки (ЗДВ-задача и ДЗДВ-задача), тон имел переменную длительность от 2500 до 3400 мс. Шумовой сигнал всегда был одинаковым и имел длительность 1600 мс и уровень звукового давления ~60 дБ SPL (как у чистого тона). В отдельных испытаниях, либо предъявляли только чистый тон (тональные пробы), либо первоначально был предъявлен шумовой сигнал, который, после интервала тишины в 200 мс, сопровождался чистым тоном (шумовые пробы). Оба звука имели относительно большую продолжительность, так что нейронный ответ на звуковые переходные процессы имел минимальное перекрытие с нейронной активностью, связанной с другими компонентами задачи.

В качестве моторного поведения мы требовали от обезьян проявления двух вариантов движений. В ДЗВ-задаче и ЗДВ-задаче требуемое поведение состояло в касании рычага и удерживании его в течение некоторого времени. В ДЗДВ-задаче, первоначально это двигательное поведение должно было быть выполнено для генерации звуков, а затем другое двигательное поведение, а именно отпускание рычага, должно было быть выполнено после подачи звуков.

В качестве водного компонента задачи (В) мы подавали через специальную трубку обезьянам небольшое количество жидкости в течение 600 мс.

В З-задаче мы предъявляли либо тон длительностью 2200 мс, либо шумовой сигнал длительностью 1600 мс с последующим тоном. Был интервал тишины, или период бездействия, переменной продолжительности (от 3.5 до 7.0 с), прежде чем звуки следующей

пробы были предъявлены. В В-задаче, вода подавалась в течение 600 мс, за этим пауза от 5.0 до 10.3 с перед следующей подачей воды. В ЗВ-задаче, вода подавалась от 1500 до 2100 мс после начала тона, и в пробах с одним тоном и в пробах с шумом и тоном; период тишины перед звуками следующего испытания составлял от 3,5 до 7,0 с. Каждое касание рычага в течение этих трех пассивных условий приводило к дополнительной паузе от 5,0 до 10,3 с после пробы.

В ДЗВ-задаче, обезьяны получали воду после удержания рычага минимально в течение 2250 мс или 4350 мс. В этот период удержания рычага были предъявлены звуки. В чисто тоновых пробах, тон начинался через 750 мс после касания рычага и продолжался 2200 мс. В пробах с шумом и тоном, шум начинался через 1050 мс после касания рычага и продолжался 1600 мс. После паузы в 200 мс, тон предъявляли на 2200 мс. Для обоих типов проб, воду подавали через от 1500 до 2100 мс после начала тона, так что тон продолжался до 100 мс после подачи воды. Это было сделано, чтобы иметь те же временные отношения между звуками и подачей воды, что и в ЗВ-ситуации. После запуска тона, обезьяны должны были освободить рычаг и бездействовать в течение более 4000 мс, прежде чем они могли бы начать следующее испытание, прикоснувшись к рычагу. Касания рычага в период паузы приводило к сбросу минимального времени паузы до 4000 мс, что обеспечивало мягкий вид наказания. Отпускания рычага в течение минимального периода удержания рычага немедленно останавливало звуки, и проба считалась ошибкой.

В ЗДВ-задаче, тон был предъявлен максимально в течение 3400 мс, либо в одиночку или 200 мс после того, как шум завершился. Обезьяны должны были отличать шум от тона, коснувшись бар не раньше 300 мс, но и не позднее чем через 1200 мс после появления сигнала и удерживать рычаг не менее 1500 мс. Если они так делали, проба считалась правильной и подавали воду. Тон продолжался во время периода удержания рычага и во время подачи воды и выключен через 100 мс после подачи воды, как в ЗВ-ситуации. Касания рычага до периода, в котором было разрешено такое касание, а также отпускания рычага в период удержания, немедленно останавливали звуки и расценивались как ошибки (ложные тревоги). Касания рычага после периода, в котором они были разрешены, также были оценены как ошибки (пропуски). После выключения звука обезьяны должны были освободить рычаг и бездействовать в течение 3500-7000 мс до начала следующего испытания со звуками.

ДЗДВ-задача начиналась идентично ДЗВ-задаче. Обезьяны должны были схватить рычаг. Это инициировало или после 750 мс тон (в только тоновых пробах), или после 1050 мс шумовой сигнал, за которым следовал тон (в пробах шум - тон). Остальная часть пробы была идентична задаче ЗДВ, т. е. обезьяны должны были отпустить рычаг через от 300 до

1200 мс после начала тона, чтобы получить водное вознаграждение. После выключения звука обезьяны должны были бездействовать в течение более 4000 мс, пока они не смогут начать новую пробу, взявшись за рычаг.

Мы определили начало пробы как начало первого компонента задачи. Это было касание рычага в ДЗДВ - и ДЗВ-задачах, звук в ЗДВ -, ЗВ - и З-задачах, и вода в В-задаче.

В ходе индивидуальных экспериментальных сессий различные условия тестировались в отдельных блоках, каждый из которых состоял из 60-160 проб. На инструментально обученных обезьянах мы изначально тестировали три инструментальные задачи вместе с ЗВ-задачей в случайном порядке, который был уравновешен на экспериментальных сессиях. В некоторых сессиях эти четыре условия сопровождалось повторным тестированием ЗВ-задачи вместе с двумя другими пассивными задачами. У слабо обученных обезьян были испытаны только три пассивных задачи. Обезьян информировали о смене задачи, включением одного или двух из трех светодиодов, расположенных перед ними. Хотя мы заметили, что обезьяны явно обращали внимание на светодиоды, неясно, в какой степени они использовали эту информацию.

2.2.2. Особенности экспериментов с параллельной регистрацией активности нейронов слуховой коры и электростимуляцией вентральной зоны покрышки.

Схема треков регистрирующих и стимулирующих электродов в экспериментальных сессиях представлена на **рисунке 12Б**.

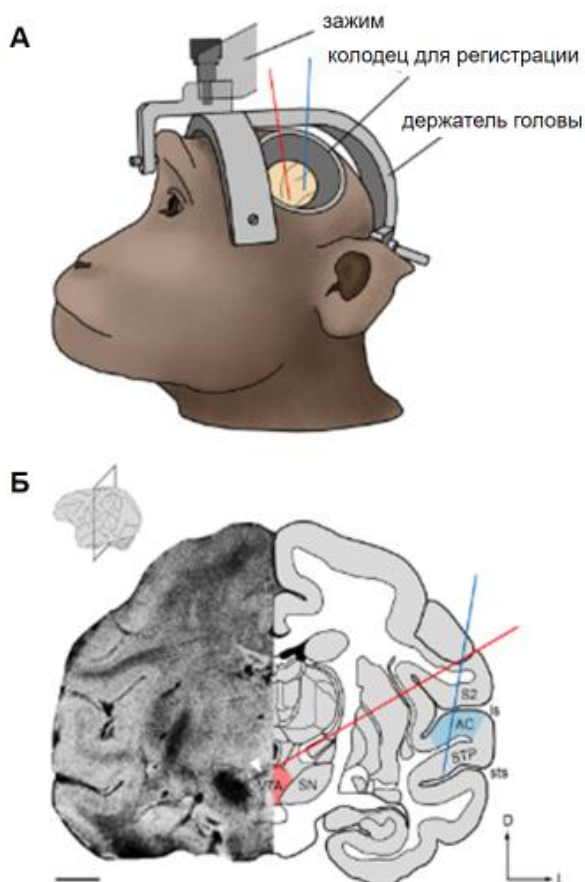


Рисунок 12. Экспериментальный подход. А.- схематическое изображение обезьяны с держателем головы для подголовника и камерой регистрации, обеспечивающей доступ к различным глубоким структурам мозга и коре головного мозга. Красные и синие линии указывают примерную ориентацию электродов стимуляции и регистрации, соответственно. Б - фронтальный срез мозга обезьяны на уровне дофаминергического вентрального среднего мозга и слуховой коры (см. вставку). На левой половине среза показано анатомическое магнитно-резонансное (МР) изображение обезьяны I. Контраст магнитного резонанса был оптимизирован для выделения железосодержащих ядер мозга, таких как черная субстанция (SN), обозначенная округлой темной областью. Белый треугольник указывает на отложения железа вдоль трека электрода, захватывающего вентральную тегментальную область (VTA) и контралатеральную SN. В правой половине среза показана соответствующая анатомическая схема коркового серого и белого вещества, желудочков (выделенных черным

цветом) и различных подкорковых ядер мозга. Мы также выделили другие области мозга, представляющие интерес для текущего исследования, такие как слуховая кора (AC), вторичная соматосенсорная кора (S2), верхняя височная полисенсорная кора (STP), латеральная борозда (ls) и верхняя височная борозда (sts). Шкала 5 мм.

Электростимуляция.

Для электрической стимуляции была использован отдельный семиканальный микроэлектрод (система Eckhorn, Томас Recording). Он был оснащен вольфрамовыми микроэлектродами (диаметром 80 мкм) с импедансами 0,1–0,4 Мом, что позволяло регистрировать также активность нейронов. Один из электродов был подключен к одноканальному стимулятору постоянного тока (STG 1001, Multichannel Systems). Мы применили монополярную стимуляцию (с референтом в виде имплантированных болтов держателя головы), которая состояла из коротких последовательностей с шестью прямоугольными бифазными импульсами (начинавшимися с положительной полярности, длительностью 350 мкс, без пауз) с частотой 1000 Гц и амплитудой 100 мкА. Эти последовательности повторялись 50-100 раз каждые 900 мс. Во время экспериментальной сессии обезьяне подавали 50-150 таких блоков стимуляции. Наши стимуляции, скорее всего, были достаточно сильны, чтобы возбудить большинство кортикальных участков, потому что во время случайных тестов мы обнаружили устойчивые нейронные реакции уже с последовательностями, состоящими из меньшего числа импульсов (3), с меньшей частотой импульсов (400 Гц), меньшими токами (50 мкА) и более высокой частотой повторения (5/с).

Траектории электродов планировались на основе атласов мозга (Szabo J., Cowan W.M., 1984; Martin R.F., Bowden D.M., 1996), которые были уточнены с помощью анатомического магнитно-резонансного (MP) сканирования мозга отдельных обезьян (рис. 1В обезьяна I). MP-изображения были получены на сканере 7Т (Magnetom, Siemens), оснащенном головной катушкой (Nova Medical, Inc.). Градиентные эхо-сканы (TR 266 мс, TE 15 мс, угол поворота 30°, усреднение по 2 сканам, FOV 140 x 105 мм, матрица 640 x 420, толщина среза 1,0 мм, зазор между срезами 20 %) во всех трех плоскостях были оптимизированы для выделения железосодержащих ядер мозга, представляющих интерес для настоящего исследования, таких как черная субстанция и красное ядро.

Электроды вводились в мозг под углом 28° от горизонтальной плоскости между стереотаксическими координатами A10–A14 и Д4-Д7.5 и погружались до 35 мм (**Рисунок 12Б**). У одной обезьяны (I) после последней записи были сделаны небольшие отложения железа в дофаминергическом вентральном среднем мозге с помощью анодных, монофазных импульсов постоянного тока (10 мкА, 90 с) от кончика железного микроэлектрод (диаметр 80

мкм, 0.3-0.6 Мом). После окончания экспериментов был снят головной держатель обезьяны I, что позволило в магнито-резонансном сканере визуализировать железные отложения для восстановления следа электрода (Белая стрелка на **рисунке 12Б**). Исследование на магнито-резонансном сканере проводили немецкие коллеги.

После начальной фазы исследования, во время которой мы погружали электроды под разными углами на разные глубины мозга, мы смогли воспроизводимо размещать электроды на желаемых глубинах и с требуемыми физиологическими ответами. Гистологическая верификация участков стимуляции не проводилась, поскольку у каждой обезьяны было протестировано более 100 участков стимуляции и все 3 обезьяны текущего исследования были также использованы для дополнительных исследований. Кроме того, мы использовали следующие критерии для оценки того, находится ли электрод внутри дофаминергического вентрального среднего мозга или в какой-либо другой глубокой структуре мозга.

1. Мы визуально и на слух контролировали спайковую активность по всему треку электрода, с особым акцентом на идентификацию спайковой активности, которая считается специфической для дофаминергических нейронов среднего мозга, особенно для субстанции nigra pars compacta, таких как медленная тоническая импульсация (1-10 Гц) или пачечная активность (14-20 Гц) с характерными би - или трехфазными потенциалами действия большой длительности, превышающей 2 мс (Guyenet P.G., Aghajanian G.K., 1978; A.R., Grace A.A., 1991 и др.).

2. Некоторые структуры мозга, окружающие дофаминергический вентральный средний мозг, могут быть идентифицированы по их специфическим физиологическим характеристикам. Особенно помогало красное ядро, которое для многих траекторий наших электродов располагалось непосредственно перед вентральной областью покрывки и всегда медиодорсально от черной субстанции. Мы идентифицировали красное ядро по (I) его специфическим связанным с движением разрядам (Gibson A.R. et al., 1985), (II) характерным, вызванным его электростимуляцией, движениям, таким как движения контрлатеральных проксимальных конечностей, плеч и предплечий, закрытием век, оттягиванием угла рта, уплощением щеки (Delgado J.M., 1965; Larsen K.D., Yumiya H., 1980; Gibson A.R. et al., 1985; Kennedy P.R. et al., 1986; Houk J.C. et al., 1988; Lovell J.M. et al., 2014), и (III) его чувствительностью к акустическому стимулированию (Massion J., Albe-Fessard D., 1963; Irvine D.R., 1980; Lovell J.M. et al., 2014).

3. В выбранных местах мы проверили, был ли усредненный электрически вызванный потенциал поля модифицирован антагонистом дофамина D1-рецептора SCH23390.

4. Мы оценили форму электрически вызванного потенциала поля в слуховой коре, который был вызван электрической стимуляцией глубокой структуры мозга и оценили,

соответствует ли он потенциалам от участков, электрически вызванные ответы которых могут быть изменены с помощью SCH23390.

Звуковая стимуляция.

Чистые тоны были сгенерированы компьютером, сопряженным с процессором массива (AP2-card, Tucker-Davis Technologies) с частотой дискретизации 100 кГц и преобразованным ЦАП (DA1, Tucker-Davis Technologies). Предъявлялись тоны 40 разных частоты, каждая повторялась 10 раз. Частоты были равномерно распределены по логарифмической шкале в диапазоне около восьми октав (0,11–27,2 кГц), покрывая спектральную чувствительность рассматриваемых нейронов.

Тоны предъявлялись в псевдослучайном порядке с постоянным интервалом между звуками в 500 или 900 мс. Длительность тона составляла 100 мс, в том числе по 5-мс нарастания и спада. Кроме того, мы протестировали слуховую чувствительность нейронов короткими щелчками (длительность 5 мс, 1-мс нарастания и спада; WG1, Tucker-Davis Technologies), которые повторялись 50-150 раз с постоянным интервалом в 900 мс. Все сигналы были ослаблены программируемым аттенюатором (PA4, Tucker Davis Technologies), усилены (Pioneer, A204) и поданы на громкоговоритель свободного поля (Manger), расположенный примерно в 1,2 м от животного. Звуки были предъявлены на уровне громкости приблизительно 65 dB SPL. Уровень звукового давления измерялся с помощью микрофона свободного поля 1/2' (40AC, G. R. A. S.), расположенного рядом с головой обезьяны.

Введение веществ.

Эта часть работы проводилась немецкими коллегами. В отдельно выбранных локациях мы проверили, активирует ли стимуляция глубинных структур мозга мезокортикальный путь от дофаминергического вентрального среднего мозга к слуховой коре, путем внутримышечных или интракортикальных инъекций антагониста дофамина D1-рецептора SCH23390, т. е. антагониста, который нацелен на наиболее плотно расположенный рецептор дофамина в слуховой коре приматов и человека (Zilles K. et al., 2002; Amunts K. et al., 2012). Интракортикальные впрыски были предназначены проверить на одной обезьяне (E), можем ли мы воспроизвести эффекты внутримышечных инъекций и, таким образом, показать, что SCH23390 оказывает влияние на рецепторы в слуховой коре.

Для системного введения обезьяны получали внутримышечную инъекцию 0,03 мг / кг SCH23390, разведенного в 0,1 мл / кг физиологического раствора, в затылочную часть головы. Для интракортикальных применений мы использовали разные дозы SCH23390, разведенные в физиологическом растворе: 0,3 микролитра 50 миллимолярного или 2,4–3 мкл разведений в 55, 62, 83 и 93 раза. Используя шприц Гамильтона, мы вводили эти растворы в

течение 90 с через микропипетку (Thomas Recordings), которая была введена в зону рядом (менее 1 мм) с записывающими электродами с помощью того же 16-канального микроманипулятора, который использовался для записи из слуховой коры. Большинство наших интракортикальных инъекций были достаточны для воздействия на все места регистрации, поскольку было показано, что инъекция 3 мкл раствора SCH23390 распространяется примерно на 3 мм в ткани мозга (Sawaguchi T., Goldman-Rakic P.S., 1991).

Для изучения временного хода влияния антагониста на результаты стимуляции глубинных структур мозга был использован следующий протокол. (1) мы измерили прединъекционную активность в слуховой коре, вызванную стимуляцией глубинных структур мозга. (2) в течение следующих 5 минут вводили антагонист. Впоследствии вызванная электростимуляцией активность регулярно измерялась каждые 5-10 мин в течение 1-3 ч, до восстановления.

Контрольные эксперименты включали (1) одну электрическую стимуляцию без инъекции и (2) электрическую стимуляцию в сочетании с системной инъекцией 0,9 % физиологического раствора вместо SCH23390.

2.3. Методика формирования долговременной потенциации субикуло-цингулярного тракта у свободно подвижных крыс.

2.3.1. Взаимная локализация стимулирующих и регистрирующих электродов и параметры стимуляции.

Работа была проведена мною в сотрудничестве с Петрой Хайнрих-Ноак в отделе нейрофизиологии института Нейробиологии им. Лейбница в г. Магдебурге (Германия) на 79 самцах крыс линии Вистар массой 250-350 г в возрасте 8 недель к моменту операции по вживлению электродов. Операция проводилась под нембуталовым наркозом (40 мг/кг). При необходимости после 45 минут операции дополнительно вводили нембутал в уменьшенной дозе (20 мг/кг). Во время операции крысы фиксировались в стереотаксисе. Их скальпировали, открывали поверхность черепа от 5 мм спереди от брегмы и 5-7 мм сзади от лямбды, в стороны – до бокового гребня черепа над глазами. После этого удаляли надкостницу и тщательно отскребали остатки мягкой ткани с костей черепа. Череп чистили до сухого состояния поверхности и наносили небольшие количества зубного пластика Paladur на части костей в стороне от зон сверления под шурупы и электроды. Затем в черепе сверлили с помощью бормашины отверстия под регистрирующий, стимулирующие и

заземляющий электроды. Также для более надежной фиксации шлепки в кости черепа крысы вворачивали два-три миниатюрных шурупа.

Биполярные стимулирующие электроды были изготовлены из платино-иридиевой проволоки диаметром 75 мкм путем скручивания двух нитей и их склеивания с помощью цианоакрилата. С одной стороны они были припаяны к разъему, а с другой обрезаны почти перпендикулярно. Таким образом, расстояние между отдельными жилами биполярного электрода было около 50 мкм. Исходно пробовали применять электроды с расстоянием между жилами около 500 мкм, которые обычно применяются для выработки долговременной потенциации в полях CA1, CA3 и зубчатой фасции гиппокампа, но с такими электродами амплитуда вызванных потенциалов (ВП) на электростимуляцию была ниже и при тетанизации наблюдалась депрессия ответов. При использовании биполярных стимулирующих электродов с расстоянием между жилами в 50 мкм вызванные потенциалы были стабильными и высокоамплитудными. В качестве регистрирующего электрода была использована платино-иридиевая проволока диаметром 100 мкм, обрезанная под прямым углом. Регистрирующий и стимулирующий электроды были приклеены к маленьким кусочкам картона, которые вставлялись в лапки манипуляторов стереотаксиса для контролируемого погружения в мозг крысы. Перед погружением электродов твердую мозговую оболочку надрывали инъекционной иглой для свободного прохождения электродов в мозг. В процессе операции сначала имплантировали регистрирующий электрод в заднюю цингулярную кору (координаты P=5.5, L=0.5, D=1-2 мм, здесь и далее - в соответствии с атласом мозга крысы Паксиноса и Уотсона (Paxinos G., Watson C., 1986), потом погружали стимулирующий электрод в субикулум (координаты P=6.7, L=4.5, D=2.5-3.5 мм). Оба электрода помещали в правую половину мозга.

После погружения электродов в мозг на заданную глубину делали 15-минутную паузу для стабилизации положения ткани мозга относительно электродов. Затем на стимулирующий электрод подавали биполярные тестовые импульсы со стимулятора (Science Products, Франкфурт-на-Майне, Германия) длительностью 200 мкс (по 100 мкс на одну полярность) и амплитудой от 50 до 400 мкА. Сигнал с регистрирующего электрода проходил через разъем над головой животного в усилитель с коэффициентом усиления 500 и далее на осциллограф (Nameg GmbH, Франкфурт-на-Майне, Германия), работающий в ждущем режиме. Таким образом, во время операции были видны ответы на электростимуляцию при определенной взаимной локализации электродов. В процессе операции электроды незначительно смещали, добиваясь максимальной амплитуды вызванного потенциала на тестовую стимуляцию субикулума. При этом также добивались выраженного раннего компонента ответа с латентностью пика около 3 мс. Заземляющий электрод был сделан из

оплавленной в виде маленького шарика серебряной проволоки диаметром 125 мкм и помещался трансдурально над противоположным полушарием. После завершения процедуры взаимного позиционирования электродов все электроды и отводящий разъем заливались стоматологической пластмассой Paladur (Heraeus Kuelzer, Hanau, Германия).

Вызванную электростимуляцией активность цингулярной коры регистрировали через недельный восстановительный период у свободно подвижных крыс. Крысы во время эксперимента находились в специальных клетках размером 40x40x40 см, над центром которых размещались вращающиеся контакты, соединявшиеся гибким кабелем с разъемом на голове животного с одной стороны и кабелем с дифференциальным усилителем с другой. Во время экспериментов с регистрацией фоновых и потенцированных вызванных электростимуляцией потенциалов (ВП) сигнал вводился напрямую в персональный компьютер и визуализировался на экране монитора. Последующая обработка проводилась на том же компьютере. Тестовая стимуляция проводилась каждые 15 минут и состояла из блока из 9 биполярных электростимуляций с межстимульными интервалами в 15 сек. В качестве параметров ВП были взяты крутизна нарастания переднего фронта негативного отклонения потенциала и его амплитуда, которые выступают в качестве показателей суммарного количества локальных возбуждательных посттетанических синаптических потенциалов в ответ на выброс глутамата после прихода импульсов, вызванных электростимуляцией волокон СЦТ. Интенсивность фоновой стимуляции для эксперимента по тетаническому раздражению волокон СЦТ определялась на основе полученных зависимостей параметров ответа от тока стимуляции. При определении этой зависимости проводили электростимуляцию блоками по 5 импульсов с 5-минутным интервалом нарастающей амплитуды. Ряд значений тока стимуляции выглядел следующим образом: 30-50-70-100-150-200-300-400-500-600-700-800 мкА. Эта зависимость выглядит как S-образная кривая с зоной подпороговой стимуляции, зоной быстрого изменения амплитуды и крутизны нарастания ВП при росте тока стимуляции и зоны насыщения. Сила тока для тестовой стимуляции выбиралась в зоне быстрого нарастания ответа и составляла 40% от силы тока, вызывавшей максимальный ответ. У разных животных этому соответствовала сила тока в диапазоне 100-400 мкА.

Индукция долговременной посттетанической потенциации достигалась тетаническим раздражением волокон субикуло-цингулярного тракта шестью блоками биполярных импульсов частотой 100 Гц, длительностью 600 мс с 10 секундным интервалом между блоками. Длительность одиночного импульса была такой же, как и для тестовой стимуляции, а сила тока – в два раза выше, чем у тестовых импульсов. Сигналы с вживленных электродов после усиления подавались на аналогово-цифровой преобразователь М-1401 (Великобритания) и далее в персональный компьютер Пентиум. Компьютерный сбор данных

и их последующая обработки проводилась с помощью программы Intracell (Германия). После удаления артефактных реализаций (не более 2 из одного блока) вызванные потенциалы в блоке усреднялись и получали значение их параметров для данной точки эксперимента. Параметры ВП (крутизна нарастания переднего фронта раннего компонента и амплитуда негативного компонента) статистически сравнивали с помощью критерия Вилкоксона для маленьких выборок и с помощью критерия Стьюдента для выборок из 20 и более значений. Крутизна нарастания определялась, как максимальное значение для 5 последовательных точек на фронте раннего компонента (частота дискретизации – 6 кГц), а амплитуда - как значение пиковой точки первого негативного отклонения ВП относительно значения за 1 мс до нанесения электрораздражения.

Во время эксперимента по индукции долговременной потенциации крыс помещали в экспериментальную клетку, проводили измерение зависимости ВП от силы тока стимуляции, а затем через час приступали к предъявлению тестовых стимуляций. Когда уровень тестовых ответов становился стабильным (обычно после тестовых стимуляций сильными токами наблюдался дрейф параметров ВП), предъявляли тетаническую стимуляцию. После тетанической стимуляции регистрировали ВП на блоки тестовых стимулов каждые 15 минут в течение 8 часов после момента индукции. Также через 24 часа после тетанической стимуляции регистрировали ВП на блоки тестовых стимулов в течение часа. У части животных эксперимент по индукции долговременной потенциации повторяли через неделю.

2.3.2. Применение блокаторов разных глутаматэргических рецепторов в экспериментах с электростимуляцией субикуло-цингулярного тракта.

В экспериментах, проведенных мною в отделе нейрофизиологии института Нейробиологии им. Лейбница в г. Магдебурге (Германия), с применением блокаторов разных типов глутаматовых рецепторов во время операции по вживлению электродов 29 крысам дополнительно вживляли канюлю в латеральный желудочек головного мозга ($P = 0.8$, $L = 1.6$, $V = 4.0$ мм в соответствии с координатами желудочка по атласу Паксиноса и Уотсона (Paxinos G., Watson C., 1986)). Во время эксперимента через канюлю в мозг с помощью микродозатора вводили следующие вещества: D-2-амино-5-фосфоновалериановую кислоту (AP 5) для блокады N-метил-D-аспартат (NMDA) рецепторов, 6-циано-2,3-дигидрокси-7-нитрокиноксалин (CNQX) для блокады α -амино-3-гидрокси-5 метил-4-изоксазолепропионат (AMPA) рецепторов и (R,S)- α -метил-4-карбиксифенилглицин (MCPG) для блокады метаботропных рецепторов. Для введения веществ вживленная канюля была соединена тонкой пластиковой трубочкой (внутренним

диаметром около 500 мкм) с микроинъектором, закрепленным на кронштейне рядом с вращающимися контактами, через которые проходили стимулирующие импульсы и регистрируемые сигналы ответов. Во время введения вещества крысы свободно перемещались по клетке. Вещество блокатора вводили в объеме 5 мкл в латеральный желудочек со скоростью 1 мкл/мин (раз в минуту вводили 1 мкл раствора) в концентрациях, которые в пересчете на объем мозга (у крысы около 2 мл) давали следующие концентрации в ткани мозга: AP-5 – 50 мкМ, CNQX – 1 мкМ, MCPG – 500 мкМ. Исследования, проведенные на гиппокампе, показали, что данные концентрации этих веществ надежно блокируют рецепторы соответствующих типов, блокируя соответственно либо ответы на тестовую стимуляцию, либо развитие разных фаз долговременной потенциации (Izquierdo I., 1993).

2.3.3. Регистрация спайковой активности нейронов цингулярной коры в экспериментах с электростимуляцией субикуло-цингулярного тракта.

Импulseацию нейронов цингулярной коры мы регистрировали в отделе нейрофизиологии института Нейробиологии им. Лейбница в г. Магдебурге (Германия) у другой группы крыс ($n = 18$) такого же возраста и веса во время проведения операции под пентобарбиталовым наркозом и после недельного восстановительного периода в условиях свободного поведения в экспериментальной клетке. Мы использовали вольфрамовые электроды фирмы "World Precision Instruments" (США), перед вживлением электролитически покрытые золотом и обрезанные до длины 1,5 см. Исходный импеданс применявшихся электродов на частоте 1 кГц до покрытия золотом составлял 1-2 Мом. После покрытия золотом импеданс снижался до 0.5 - 1 Мом. Такие электроды приклеивали к ползунку микроманипулятора собственного изготовления, который фиксировали с помощью пластмассы на черепе крысы. В процессе операции регистрирующий электрод погружали в верхние слои коры мозга, что определялось по появлению мультиклеточной активности в сигнале с этого электрода, который после усиления подавался на осциллограф. На четырех последних крысах после этого под наркозом проводили плавное погружение в кору с регистрацией вызванной стимуляцией субикуло-цингулярного тракта активности через каждые 50 мкм погружения.

После восстановительного периода вызванные спайковые ответы на стимуляцию СЦТ регистрировались в условиях свободного поведения и после усиления дифференциальным предусилителем, расположенным на голове животного, и основным усилителем подавались на аналого-цифровой преобразователь М-1401 (Англия) для ввода в компьютер с помощью программы "Spike-2". Тестовую стимуляцию производили парами биполярных стимулов с

межстимульным интервалом 50 мс для выявления возможного влияния пресинаптических механизмов долговременной потенциации (ДП). На большинстве животных ($n = 14$) после регистрации мультиклеточной активности в одном месте с помощью микроманипулятора смещали регистрирующий электрод и на следующий день или через несколько дней регистрировали мультиклеточную активность в новом положении микроэлектрода. Накопленные компьютером данные подвергали последующей обработке с выделением импульсных потоков отдельных нейронов по форме и амплитуде спайка с помощью программы "Spike-2", определяли среднюю частоту активности клеток зарегистрированного ансамбля и строили перистимульные гистограммы спайковых ответов на стимуляцию субикуло-цингулярного тракта. В качестве статистического критерия наличия реакции были использованы критерии χ^2 и для малых значений - точный критерий Фишера (программа Eristat). При определении статистически достоверной реакции конкретный бин гистограммы сравнивали с бином в фоне, имеющем крайнее значение соответствующего знака (для активации с бином с максимальным значением, а для торможения - с минимальным). Различия считались достоверными при $p < 0.05$.

После окончания экспериментов животных усыпляли галотаном, вынимали мозг и фиксировали в течение 2 ч в смеси уксусной кислоты, формальдегида и этанола. После этого мозг хранили в 70%-ном растворе этанола, затем проводили замещение этанола хлороформом и мозг заливали парафином. Парафинированный мозг резали на микротоме (серийные срезы толщиной 20 мкм) для определения локализации электродов. Отобранные при визуальном контроле срезы окрашивали крезил-виолетом для точного определения локализации кончиков электродов, которую проводили под микроскопом.

2.4. Методика регистрации мозговой активности и клеточной гибели в процессе и после сублетальной общей ишемии мозга крыс.

2.4.1. Имплантация стимулирующих и регистрирующих электродов и регистрация активности мозга в процессе ишемической операции и после восстановления.

Данное исследование было проведено в отделе нейрофизиологии Лейбниц института нейробиологии Г. Магдебурга совместно с Петрой Хайнрих-Ноак. Операция по вживлению электродов аналогична описанной для экспериментов по индукции долговременной потенциации в цингулярной коре и соответствует процедуре, разработанной в отделе нейрофизиологии института нейробиологии в г. Магдебурге (Manahan-Vaughan D., Reumann K.G., 1996). В данной серии экспериментов были использованы молодые самцы линии

Вистар (вес 250-300 г на момент поставки, Harlan-Winkelmann, Германия). Животные содержались при стабильной температуре воздуха (220С), 12-часовом цикле смены светлого времени и темноты, неограниченном доступе к питью и пище (комбикорм Altromin, Lage). Во время операции по вживлению электродов животных наркотизировали с помощью раствора нембутала (40-50 мг/кг, Sigma) и помещали в стереотаксис (Stoelting, Illinois, USA). Делали надрез скальпа длиной приблизительно 1 см от точки между глазами назад по средней линии черепа. Удаляли надкостницу и обрабатывали поверхность черепа 3% раствором перекиси водорода (Merck, Германия). Два винтика из нержавеющей стали (1.5 мм в диаметре, Optotec, Rathenow, Германия), к которым были припаяны посеребренные проволочки, ввинчивали в контралатеральные кости черепа через предварительно просверленные отверстия до уровня *dura mater*. Один из них служил заземляющим электродом, а другой выступал в качестве референта. Проволочки от винтиков шли на пластиковый разъем, через который электроды соединялись с дифференциальным усилителем. В тот же пластиковый разъем были протянуты провода от регистрирующего и стимулирующего электродов. Нами были применены другие, по сравнению с экспериментами по индукции долговременной потенциации в цингулярной коре, стимулирующие электроды – две параллельные проволочки из нержавеющей стали с лаковым покрытием, отстоявшие друг от друга на 300-500 мкм и срезанные на разном уровне. Разница в длине проволочек составляла около 300 мкм. Для изучения ответов поля СА1 регистрирующий электрод (провод из нержавеющей стали в тефлоновой изоляции диаметром 100 мкм) был погружен в *stratum radiatum* поля СА1 гиппокампа (координаты: P=0.3, L=2.8 мм), а биполярный стимулирующий электрод – в коллатерали Шафера в ипсилатеральном поле СА3 (координаты: P=4.0, L=3.8мм). Регистрация ответов на электростимуляцию в зубчатой фасции гиппокампа проводили с электрода, погруженного в гранулярный слой зубчатой фасции с координатами (P=2.8, L=1.8 мм). Стимулирующий электрод погружали в латеральный перфорантный путь с координатами (P=6.9, L=4.1 мм). В процессе взаимного выставления электродов регистрировали ответы с регистрирующего электрода на электростимуляцию на экране осциллографа (см. выше) и добивались максимальной амплитуды вызванного потенциала и/или популяционного спайка в ответ на электростимуляцию. В поле СА1 регистрировали только ВП, т.к. попытки при операции получить выраженный ответ в виде популяционного спайка приводили к полной потере этого компонента ответа после недельного восстановительного периода. Особенность процедуры по позиционированию электродов для изучения ответов в поле СА1 является необходимость очень длительных интервалов между последовательными тестовыми

стимуляциями вплоть до десятков минут, что связано с очень выраженными процессами латерального торможения в поле CA1.

При позиционировании электродов для регистрации ответов зубчатой фасции также добивались ровного фронта первичного компонента ВП, что означало стимуляцию только волокон латерального перфорантного пути в отличие от W-образного фронта первичного компонента, который возникал при одновременной стимуляции латерального и медиального перфорантных путей. У разных крыс морфология этих путей немного отличается, что требует индивидуальной локализации положения стимулирующего электрода для стимуляции исключительно волокон латерального перфорантного пути. Необходимость такого точного выставления связана с разной скоростью проведения по этим путям – первичный компонент ответа в зубчатой фасции на стимуляцию медиального перфорантного пути начинается несколько позднее, чем первичный компонент на стимуляцию латерального перфорантного пути. Это и приводит к появлению дополнительного компонента на первичном фронте ВП при одновременной стимуляции обоих путей, что затрудняет вычисление скорости нарастания первичного компонента ВП, являющегося одним из основных показателей изменения ВП при изменении тока стимуляции и при изменении эффективности синаптической передачи при формировании долговременной потенциации синапсов в разных отделах гиппокампальной формации. Финальное позиционирование электродов в исследовании ответов зубчатой фасции производилось так, чтобы в ответ на стимуляцию перфорантного пути при повышении тока стимуляции наблюдался ответ в виде популяционного спайка. В процессе операции добивались появления в вызванном ответе популяционного спайка при токах стимуляции в 100-200 мкА. В качестве параметров ответа на электростимуляцию зубчатой фасции гиппокампа вычисляли скорость нарастания первичного компонента ВП (максимальное значение по последовательным 5 точкам фронта при частоте дискретизации 6 кГц) при всех токах стимуляции и амплитуду популяционного спайка – как разницу значений пика поспайка и значения предшествующего минимума на первичном фронте ВП. Эти параметры наиболее часто используются в экспериментах с индукцией долговременной потенциации в гиппокампе (см. например Izquierdo I., 1993).

2.4.2. Методика временной общей ишемии мозга путем двухсосудистой окклюзии каротидных артерий в гипобарических условиях.

Не менее чем через 10 дней после операции по имплантации электродов мы создавали временную общую ишемию мозга при комнатной температуре в соответствии с методом, разработанным Дирнаглем с соавторами (Dirnagl U. et al., 1993). Крысы к моменту

ишемического воздействия весили 350-400 г. В начале операции крыса помещалась в герметичный бокс, куда подавали 3-4% галотан (Sigma, MO, США). После того как крыса засыпала, ее помещали на спине на специальную платформу, интубировали и с помощью малогабаритного аппарата искусственного дыхания для животных (Sachs Electronic, March, Германия) подавали ингаляционную смесь 1% галотана с закисью азота и кислорода. Врезали кожу на шее животного и высвобождали обе каротидные артерии. В хвостовую артерию вставляли канюлю (пластиковую трубочку, смазанную 50 IU гепарином, Ratiopharm, Ulm, Германия) для измерения концентрации газов в крови и кровяного давления. Определение содержания газов в крови проводили с помощью специального прибора (Radiometer, Copenhagen, Denmark), а давление измерялось прибором фирмы Foehr Medical Instruments (Seeheim, Германия). Во время операции нижняя часть тела животного (ниже грудной клетки) с помощью манжеты изолировалась в соединенный с платформой бокс, где создавали пониженное атмосферное давление. Пониженное давление создавали компрессором от пылесоса, соединенным гибкой трубкой с боксом. Установка для проведения сублетальной общей ишемии мозга двухсосудистым методом приведена на рисунке 13.

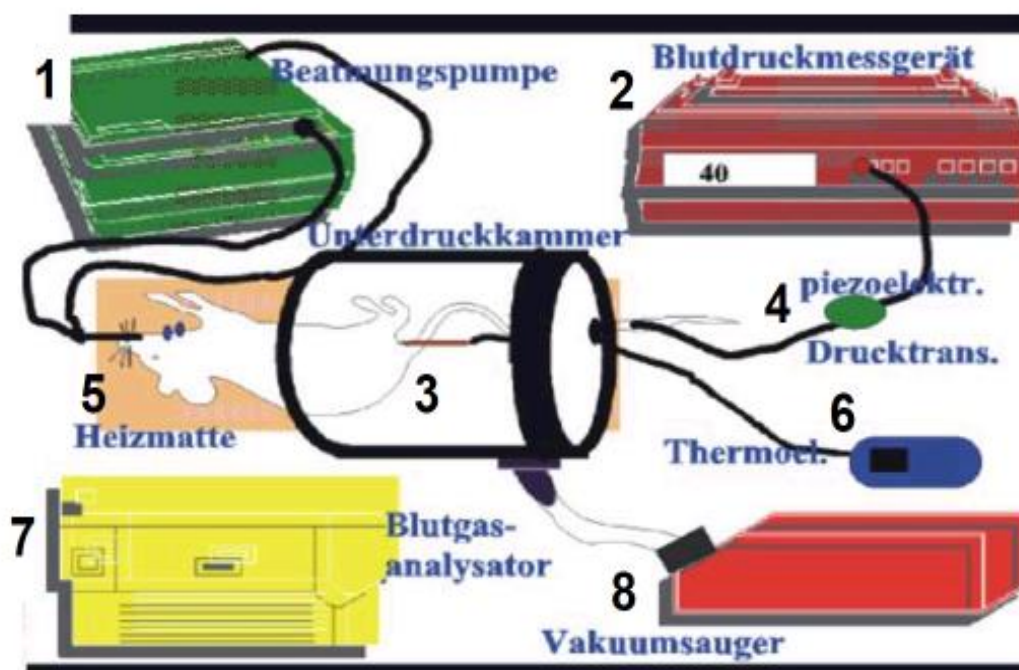


Рисунок 13. Схема экспериментальной установки для создания контролируемой общей ишемии мозга у крыс. Цифрами обозначены: 1 – помпа галотанового наркоза; 2 – измеритель давления крови; 3 – камера пониженного давления; 4 – пьезоэлектрический

датчик давления крови; 5 – термоковрик; 6 – термометр термоковрика; 7 – газоанализатор крови; 8 – вакуумный насос.

У крыс кровоснабжение головного мозга происходит через две каротидные артерии, входящие в мозг с передней стороны и две вертебральные артерии, входящие в мозг с затылочной стороны. Удобный для манипуляций доступ имеется только к каротидным артериям. Поэтому операции по созданию глобальной ишемии путем перекрытия всех артерий, так называемый четырех-сосудистый метод (см. например, Buzsaki G. et al., 1989, Suyama K., 1992), проводят с коагуляцией вертебральных артерий и временным пережимом каротидных. Естественно, в этих условиях после операции кровоснабжение мозга через вертебральные артерии не восстанавливается. Мы создавали общую ишемию мозга одновременным пережимом обеих высвобожденных каротидных артерий в условиях пониженного давления в боксе и соответственно пониженного артериального давления у крысы (так называемый, двух-сосудистый метод). Пережим артерий сопровождался включением компрессора, которое приводило за счет создания гипобарических условий к снижению артериального давления до 35-40 мм ртутного столба (контролировавшегося с помощью измерителя давления в хвостовой артерии). По данным Дирнагль с соавторами (Dirnagl U. et al., 1993) такое снижение артериального давления приводит к прекращению тока крови через две другие, вертебральные артерии, снабжающие мозг кровью в нормальных условиях. Перекрывание артерий осуществляли специальными довольно мягкими миниатюрными зажимами, чтобы не допустить слипания артерий после снятия зажимов. Пережим артерий сопровождали созданием гипобарических условий для нижней части тела крысы. Такое воздействие продолжалось у разных групп животных 7, 10 или 12 минут. У нескольких крыс длительность ишемического воздействия была 15 минут, но в этой группе резко возрастала смертность, и анализ последствий ишемии у выживших животных показал обширную, неселективную по отношению к структурам мозга клеточную гибель. Поэтому для исследования эффектов сублетальной ишемии ее длительность была ограничена нами 12 минутами. После ишемического воздействия зажимы снимались, артерии возвращались в исходное положение, восстановление тока крови наблюдали по изменению цвета артерий. В результате прекращения гипобарического воздействия на нижнюю часть тела восстанавливалось нормальное кровяное давление. Затем зашивали надрез кожи на шее и удаляли зонд из хвостовой артерии. Животное отсоединялось от ингалятора, как только оно восстанавливало самостоятельное дыхание. После этого крыс на 90 минут помещали в теплую камеру с температурой воздуха 30°C.

В группе контрольных животных полностью воспроизводили операцию по ишемии с разрезом на шее и временным освобождением каротидных артерий за исключением перекрытия артерий зажимами и создания гипобарических условий.

2.4.3. Методика регистрации ЭЭГ во время ишемической операции.

Регистрации ЭЭГ с вживленного в процессе предыдущей операции электрода при проведении операции по сублетальной общей ишемии мозга проводилась специально разработанными и изготовленными миниатюрными предусилителями с последующим усилением и визуализацией через усилители и осциллограф, использовавшиеся при операции по вживлению электродов. Для минимизации наводок и шумов предусилители были запитаны от двух миниатюрных аккумуляторов. После усиления ЭЭГ-сигнал подавали на бумажный чернильный регистратор (Philips PM 3335), который из-за ограничений механической системы воспроизводил на бумаге сигнал в диапазоне 0-20Гц. Это ограничение сверху частоты регистрируемого сигнала было оправдано из-за большой неустранимой сетевой наводки (50 Гц) от компрессора, создававшего гипобарические условия, и в силу наибольшей амплитуды в суммарной ЭЭГ низкочастотных компонентов колебаний. Такая конфигурация установки позволяла четко детектировать момент прекращения эффективного кровоснабжения мозга и его последующего восстановления. Зарегистрированный сигнал ЭЭГ записывался на бумагу, протягиваемую со скоростью 1см/мин. В качестве момента прекращения эффективного кровоснабжения мы брали точку снижения в 3 раза максимального размаха ЭЭГ до перекрытия артерий, а в качестве момента восстановления – точку повышения в 3 раза амплитуды ЭЭГ сигнала по сравнению с максимальным размахом уплощенной ЭЭГ при перекрытии артерий. Мы измеряли на бумажной ленте расстояние между этими двумя точками и получали длительность уплощения ЭЭГ в результате ишемической операции в минутах. Гиппокампальную ЭЭГ регистрировали только в одном, правом гиппокампе. Животное отсоединяли от предусилителей и регистратора только после восстановления размаха ЭЭГ, сравнимого с дооперационным уровнем.

2.4.4. Параметры стимуляции для изучения динамики зависимости вызванных электростимуляцией потенциалов от времени после сублетальной глобальной ишемии мозга, параметры стимуляции для формирования долговременной потенциации после ишемии.

В качестве показателя эффективности синаптической передачи нами был выбран такой показатель ВП как крутизна нарастания переднего фронта раннего негативного отклонения ответов в поле СА1 и крутизна нарастания переднего фронта позитивного компонента ответа в зубчатой фасции. Амплитуда вызванного популяционного спайка использовалась нами в качестве показателя уровня возбудимости популяции гранулярных клеток в зубчатой фасции. Крутизна нарастания ВП определялась нами как максимальное значение нарастания потенциала по 5 последовательным точкам на переднем фронте ВП, а амплитуда популяционного спайка, как разница значений максимума позитивного компонента ВП и следующего за ним минимума негативного отклонения. Частота сбора значений вызванных ответов составляла 10кГц, т.е. 1 значение в 100 мкс.

Во время эксперимента крысы могли свободно перемещаться по клетке, т.к. электроды через разъем на голове животного были соединены гибким кабелем с вращающимися контактами на кронштейне над клеткой, а они, в свою очередь – с изолирующим стимулирующим блоком (WPI, США) и усилителями. ВП из зоны stratum radiatum поля СА1 регистрировались в ответ на тестовую стимуляцию очень низкой частоты (один бифазный импульс в 40 секунд, длительностью одной фазы в 100 мкс). Для определения зависимости параметров ответа от силы тока стимуляции до операции и в последующие за ишемией дни стимуляция проводилась блоками из 3 тестирующих импульсов с нарастанием тока стимуляции в блоке приблизительно по логарифмическому закону – 30, 50, 70, 100, 150, 200, 300, 400, 600, 800, 900 мкА. После ишемической операции этот ряд был нами ограничен сверху значением в 600 мкА. Блоки стимуляции проводились с 5 минутным интервалом.

При регистрации ВП и популяционного спайка в зубчатой фасции в ответ на стимуляцию перфорантного пути частота тестовой стимуляции внутри блока была выше – раз в 10 секунд. Применявшийся для определения зависимости амплитуды ответа от тока стимуляции ряд значений токов стимуляции соответствовал упомянутому выше.

Для определения фоновых значений ответа использовали силу тока стимуляции, которая соответствовала 40% от значения, вызывавшего максимальный ответ в первый день определения зависимости параметров ответа от силы тока стимуляции. Это значение использовалось в дальнейшем во все дни эксперимента в качестве силы тока тестовой стимуляции. Оно находилось в пределах 100-600 мкА. Регистрация фонового уровня ответов проводилась не менее часа блоками по 5 стимуляций каждые 15 минут. Измерение зависимости параметров ответа на электростимуляцию от силы тока стимуляции и определение фонового уровня ответов проводили у животных за день до ишемической операции и на 1-й, 2-й, 7-й и 10-й дни после ишемического воздействия.

Индукция долговременной потенциации синаптической эффективности проводилась нанесением тетанического раздражения частотой 200 Гц. Тетаническая стимуляция состояла из 10 блоков по 15 импульсов, длительностью 200 мкс, с интервалом между блоками в 10с. Амплитуда импульсов была равна силе тока тестовых стимуляций. В силу того, что у части животных не удавалось после ишемического воздействия зарегистрировать популяционный спайк во всем диапазоне стимуляций, применявшихся для определения зависимости ответа от силы тока, для них тетанизация проводилась при силе тока в 500-600 мкА, что соответствует максимальным значениям токов при регулярном определении величины ответа от силы тока стимуляции. Относительно низкая меж-индивидуальная вариативность ответов позволила анализировать динамику абсолютных значений вызванных после тетанизации популяционных спайков. Это оказалось необходимым в силу того, что у нескольких животных через 10 дней после ишемии не удалось вызвать ответы в виде популяционного спайка при определении фонового уровня ответов. Соответственно, невозможно было оценить в процентах появившиеся после тетанического раздражения популяционные спайки в ответ на тестовую стимуляцию по отношению к отсутствовавшим в фоне.

В большинстве экспериментов индукция долговременной потенциации проводилась за 1 день до и на 10 день после операции по сублетальной общей ишемии мозга. В отдельной группе животных тетаническое раздражение было проведено на 2-й день после ишемического воздействия.

2.4.5. Методика определения плотности живых клеток в отделах гиппокампа и контроля расположения электродов.

Так как клеточная гибель после глобальной ишемии мозга происходит в течение первой недели после воздействия мы определяли плотность пирамид гиппокампа в поле СА1 по состоянию на 7-й день после проведения операции по сублетальной общей ишемии мозга для крыс с электродами в поле СА1 и коллатералях Шаффера в поле СА3. Всех экспериментальных крыс с таким расположением электродов забивали на 7-й день. Крыс с электродами в зубчатой фасции и латеральном перфорантном пути забивали на 11-й день после проведения операции по сублетальной ишемии мозга сразу после регистрации вызванных ответов через 24 часа после индукции долговременной потенциации.

Для гистологической обработки после забоя крысы из черепа вынимали головной мозг и помещали в фиксирующий раствор, состоявший из спирта, формалина и уксусной кислоты (ингредиенты от фирмы Merck, Darmstadt, Германия). Через несколько дней после

фиксации зафиксированный мозг обезвоживался, проходя через ванны с абсолютным этиловым спиртом, смесью спирта с хлороформом в соотношении 1:1, потом 1:2 и в конце в двух ваннах с чистым хлороформом. Мозг находился в каждой ванне до того, как тонул, что занимало около 1 часа. Обезвоженный мозг затем помещали в термостат в расплавленный парафин, где он находился в течение ночи. На следующий день вынутый из расплавленного парафина мозг помещали в специальную металлическую формочку и заливали парафином. Потом парафинированный мозг резали на микротоме на 10 мкм саггитальные срезы, которые окрашивали для определения живых на момент забоя животного нейронов в гиппокампе раствором толуидина синего и фуксиновой кислоты. Под световым микроскопом нейроны бледно-синего цвета с отчетливым круглым ядром классифицировались как интактные и подсчитывались в поле CA1 и зубчатой фасции в обеих половинах мозга слепым методом. Изображение с микроскопа поступало в компьютер и отображалось на 19” экране высокого разрешения. На экран изображение подавалось с неизменным увеличением и с возможностью смещения отображаемой зоны среза, поэтому на нем были нанесены две отметки, ограничивавшие зону в пересчете на расстояния на срезе протяженность в 500мкм. Подсчет велся вручную – исследователь смотрел на экран и выделял живые клетки, одновременно делая по одному нажатию рукой специального ручного счетчика на одну клетку. Такой метод позволяет, не отрывая внимания от экрана, последовательно считать изображения клеток на мониторе с высокой точностью. Мы оценивали число интактных нейронов на протяжении 500мкм в поле CA1 и в зубчатой фасции, на трех срезах у каждого животного. Эти срезы обычно были из более ростральной части гиппокампа, чем зона расположения регистрирующего электрода. В качестве числа выживших нейронов у конкретного животного брали среднее значение по этим трем измерениям. Число выживших нейронов подсчитывали с обеих сторон мозга. Для подсчета брали срезы, расположенные заведомо в стороне от зон возможной локализации регистрирующего и стимулирующего электродов.

Положение электродов определяли на сериях таких же срезов из зон возможного расположения электродов, окрашенных одним только толуидином синим. Просматривая под световым микроскопом каждый третий срез, выявляли след от электрода, довольно хорошо видимый из-за скопления окрашенных глиальных клеток. След электрода выглядит как протянутое от поверхности мозга вглубь темное пятно на относительно равномерно окрашенном срезе. Находили в последовательности срезов конец такого трека, который соответствовал расположению кончиков регистрирующего и стимулирующих электродов. В большинстве случаев электроды находились в целевых зонах. Если расположение любого

электрода выходило за целевую зону, то электрофизиологические данные, полученные у такого животного, исключались из анализа.

2.5. Методы статистической обработки экспериментальных данных.

Применяли 1) критерий χ^2 ; для оценки матриц, содержащих низкие частоты, использовали точный критерий Фишера; 2) коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s), устойчивый к отклонению распределений переменных от нормальности; 3) частный коэффициент корреляции (R_{part}); 4) дисперсионный анализ (ANOVA); 5) факторный анализ (метод главных компонент с последующим вращением OBLIMIN); 6) много-мерное шкалирование (использовали процедуру ALSCAL, матрицу различий, евклидово расстояние); 7) кластерный анализ; 8) медианный тест и критерий знаков; 9) для оценки нормальности распределений использовали тест Колмогорова–Смирнова; применяли также робастную оценку центральной тенденции Тьюки. Гипотезу H_0 отвергали при $p \leq 0.05$. В некоторых случаях, специально отмеченных в тексте, различия при $0.05 < p \leq 0.075$ рассматривали как проявление тенденции.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Результаты острой регистрации активности нейронов цингулярной коры в сформированном инструментальном пищедобывательном поведении кроликов.

3.1.1. Стабильность связи активности нейронов с этапами инструментального пищедобывательного поведения.

В специальном экспериментальном исследовании для определения стабильности связи активности специализированных нейронов с поведением мы отобрали из зарегистрированных на одном кролике 150 нейронов 24 клетки с длительным временем регистрации. Спайковая активность каждого из этих нейронов была зарегистрирована в 50-150 поведенческих циклах, т.е. при неоднократной смене эффективной педали. Рассматриваемые нейроны были зарегистрированы при восьми погружениях электрода в различных слоях цингулярной коры на глубине 182-1745 мкм, считая от касания электрода поверхности коры.

В качестве характеристик активности нейрона были выбраны средняя частота спайковой активности в конкретном акте и вероятность наличия активации в этом акте.

Предварительно каждый поведенческий цикл на обеих сторонах клетки был разделен в соответствии с поведенческими отметками на пять этапов (как правило, каждому этапу соответствовал конкретный поведенческий акт). Так, в поведенческих циклах на левой стороне клетки были выделены следующие акты: 1 – жевание пищи в комфортной позе или начало поворота к педали (до отметки середины боковой стенки); 2 – подход к педали (от отметки середины стенки до нажатия педали); 3 – нажатие педали; 4 – подход к кормушке; 5 – нахождение морды кролика в кормушке, захват пищи. Аналогичные этапы (акты 1' – 5') были выделены в поведенческих циклах на правой стороне клетки. Средняя длительность каждого акта составляла, с: 1 – 1,4; 2 – 1,5; 3 – 0,9; 4 – 1; 5 – 2,2; 1' – 1,7; 2' – 1,5; 3' – 0,8; 4' – 1,2; 5' – 1,9. С помощью специально разработанной программы для каждого нейрона стоили стандартные графики представления его активности в пищедобывательном поведении. На **рисунке 14** даны обычное представление активности нейрона в виде растров и гистограмм активности относительно усредненных поведенческих отметок и рассчитываемые этой программой графики распределения нормированных относительно максимальной средних частот активности нейрона в поведенческих актах и вероятности наличия активации в этих актах.

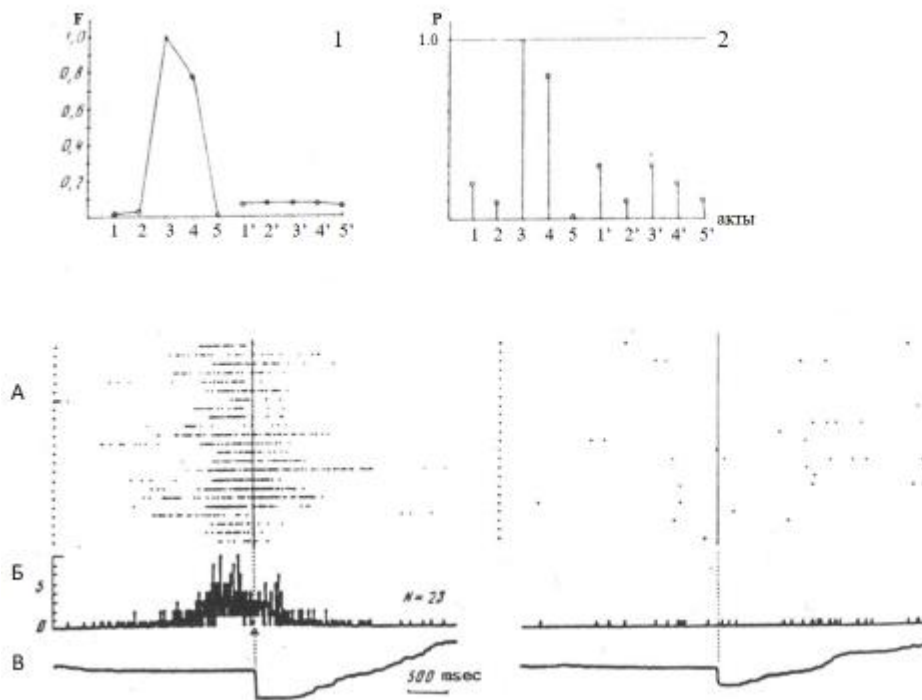


Рисунок 14. Разные способы представления активности нейрона. Вверху – графическое представление активности нейрона. На графике 1 – картина распределения средних частот активности нейрона в актах циклического поведения. По оси абсцисс – номера актов, по оси ординат – нормированная средняя частота активности. На графике 2 – вероятности наличия активации в тех же 10 актах. По оси абсцисс – номера актов, по оси

ординат – вероятность активации нейрона в соответствующем акте. Внизу: А – растры активности того же нейрона, Б – гистограмма, В – усредненная отметка нажатия педали (слева – левой, справа – правой), относительно начала которой совмещены растры и построены гистограммы.

Для каждого нейрона вычисляли среднюю частоту активности за все время его регистрации. Для отобранных нейронов она составила от 0,5 до 11, 6 спайка в 1 с. За активацию принимали превышение частоты активности в одном или нескольких актах над средней частотой активности нейрона за все время его регистрации не менее чем в 1,5 раза. Нейрон считали специализированным относительно определенного поведенческого акта, если активация в этом акте наблюдалась во всех его поведенческих реализациях (100%). На **рисунке 14** представлен нейрон, у которого 100%-ная активация наблюдалась в акте 3, т.е. он был специализирован относительно подхода к левой педали.

Среди проанализированных 24 нейронов у 9 клеток не было обнаружено постоянных изменений активности ни в одном из актов наблюдаемого поведения, у одного нейрона происходило притормаживание активности при наклоне и захвате пищи кроликом из правой кормушки. Эти 10 нейронов были отнесены нами к неспециализированным, т.е. не имеющим постоянных активаций ни в одном из актов изучаемого поведения (**рисунк 15**, слева).

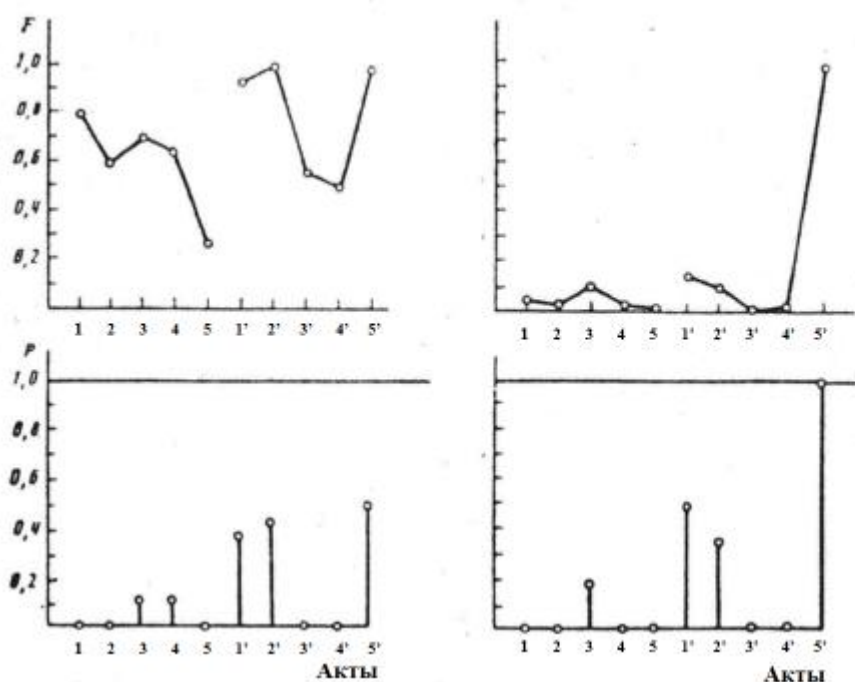


Рисунок 15. Примеры графического представления активности неспециализированного (слева) и специализированного (справа) нейрона по акту № 5'. На

верхних графиках – распределение средней частоты активности в отдельных актах циклического поведения, на нижних – вероятности наличия активаций в соответствующих актах (обозначенная как на **рисунке 14**).

У остальных 14 клеток обнаружены активации, постоянно связанные с каким-либо из выделенных актов циклического поведения (специализированные нейроны). У двух нейронов активации наблюдались при определенных движениях животного – у одного при движениях головы, у другого – при повороте кролика направо. Активность 3 нейронов изменялась при подходе к любой кормушке (1 нейрон) или захвате пищи в ней (2 нейрона). Активность двух нейронов изменялась при подходе и захвате пищи в одной из кормушек, четырех нейронов – только при подходе к одной из кормушек. На **рисунке 15** (справа) представлена активность одного из нейронов этой группы. У трех нейронов активации наблюдались при подходе и нажатии одной педали (у одного из них активность изменялась и при нажатии кроликом другой педали, но не в 100% случаев). Активность одного из нейронов этой группы представлена на **рисунке 14**.

Для специализированных нейронов был проведен анализ вариативности частоты в каждом из 10 выделенных актов. В соответствии со значением коэффициента вариативности каждому из выделенных актов присваивался ранг от 1 до 10. Для каждого нейрона акту с минимальным коэффициентом вариативности присваивался ранг 1, акту с максимальным коэффициентом – ранг 10. Оказалось, что для нейронов, специализированных относительно конкретных актов циклического пищедобывательного поведения (т.е. за исключением двух нейронов, специализированных относительно движений), в специфических актах коэффициенты вариативности высоко достоверно ниже, чем у остальных актов ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента). Средний ранг коэффициента вариативности у специфических актов составил 1,53. У 10 нейронов коэффициенты вариативности оказались минимальными в специфических актах (**таблица 1**).

Номера нейронов	Специализация (номера актов)	Левая					Правая				
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10
52	Подход к правой педали	9	5	3	8	6	10	4	1*	7	2
		8	9	2	5	4	7	6	1*	10	3
59	То же	9	5	3	4	8	7	10	1*	6	2
		10	6	5	4	2	8	7	1*	9	3
113	»	6	9	1	3	10	8	7	2*	5	4
		8	5	2	3	9	10	7	4*	1	6
57	Подход к правой кормушке	—	—	2	6	—	—	4	3	5	1*
		—	—	2	—	—	6	4	3	5	1*
98	То же	2	7	4	9	3	5	6	8	10	1*
		2	4	8	9	3	7	5	10	6	1*
62	Подход к левой кормушке	6	7	8	3	1*	4	5	10	9	2
		9	4	7	3	1*	6	8	10	5	2
136	То же	1	9	5	7	2*	6	8	4	3	10
		1	10	9	7	2*	3	5	6	4	9
104	Наклон, захват в правой кормушке	3	6	5	7	8	1*	4	9	10	2*
		3	7	5	9	6	2*	4	8	10	1*
127	То же	4	5	3	8	7	2*	9	6	—	1*
		7	6	9	4	8	2*	5	3	10	1*
66	Подход к любой кормушке	8	7	9	10	1*	3	4	5	6	2*
		10	4	9	7	2*	3	6	5	8	1*
67	Захват в любой кормушке	2*	8	6	—	5	1*	3	9	7	4
		1*	9	6	8	3	2*	4	10	7	5
132	То же	1*	7	6	10	8	2*	9	5	4	3
		2*	6	5	8	10	1*	7	4	9	3
49	Движение (подъем головы)	—	—	5	1*	2	3	6	7	4*	8
		6	9	1	5*	8	2	4	7	3*	10
50	Движение (поворот направо)	6	8	1*	5	10	2*	3	9	7	4
		4	8	1*	5	7	3*	2	10	9	6

Таблица 1. Распределение по рангам коэффициентов вариативности частот разрядов специализированных нейронов в поведенческих актах кролика, совершаемых по левой и правой сторонам экспериментальной клетки.

Для анализа стабильности установленной поведенческой специализации нейронов время регистрации каждого нейрона разбивали на две половины – начало и конец регистрации, на протяжении которых наблюдали не менее чем по 10 поведенческих циклов на каждой из сторон клетки. Активность нейрона анализировали отдельно в каждой половине: вычисляли среднюю частоту активности за время соответствующей половины регистрации, а также среднюю частоту активности в каждом акте. На основе вычисления вероятности активации в отдельных актах поведенческого цикла в начале и в конце регистрации определяли, не изменилась ли специализация данного нейрона за время его регистрации.

Анализ показал, что из 14 специализированных нейронов у 12 клеток 100%-ная активация наблюдалась в одних и тех же актах в начале и в конце регистрации. В качестве примера на рисунке 16 представлен нейрон 59 (специализация – подход к правой педали).

Из верхнего графика видно, что максимальная средняя частота и в начале, и в конце регистрации наблюдается в акте 8; в этом же акте, как видно из нижнего графика, имеется 100%-ная активация и в начале, и в конце регистрации.

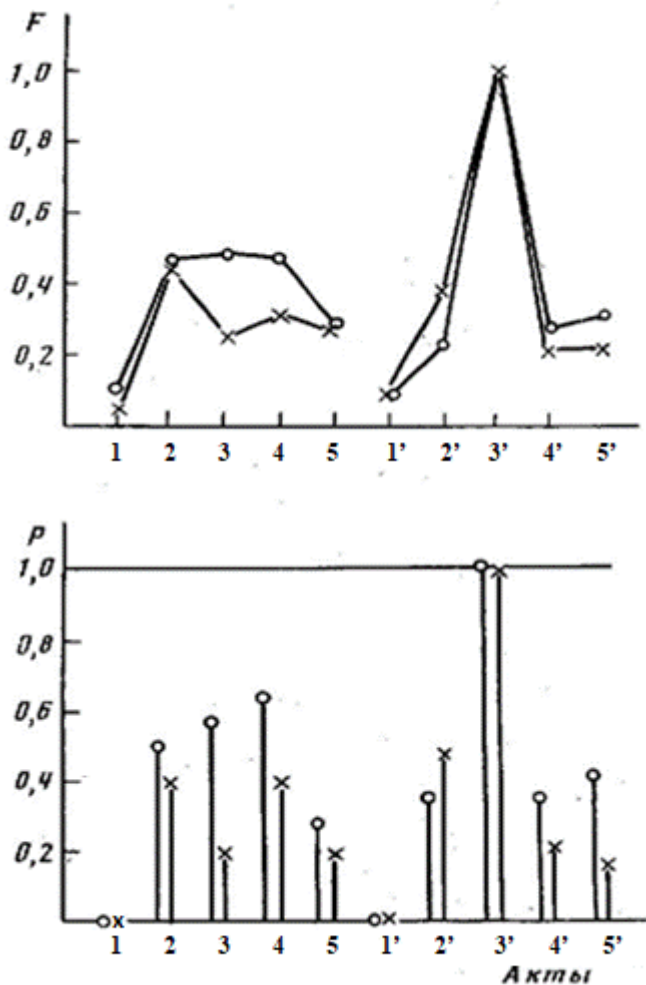


Рисунок 16. Активность нейрона, специализированного относительно подхода к правой педали, в начале и в конце регистрации. На графиках совмещены картины активности нейрона № 59 в начале (кружки) и в конце (крестики) регистрации. Обозначения как на рисунке 14.

У двух нейронов в процессе регистрации произошли некоторые изменения в активности. Так у нейрона 113 (специализация – подход к правой педали) в начале регистрации наблюдалась 100%-ная активация в акте подхода к правой педали, а в конце регистрации в одном из поведенческих циклов соответствующей активации не наблюдалось. На основе анализа видеозаписи было установлено, что отсутствие активации при подходе кролика к правой педали в одном из циклов связано с нестандартным выполнением акта. У нейрона 132 (специализация – захват в любой кормушке) в начале регистрации 100%-ная активация наблюдалась при нахождении морды кролика в правой кормушке. В конце

регистрации эта активация выявилась не в 100, а в 90% случаев. Дополнительный анализ активности этого нейрона по видеозаписи и нейронограмме показал, что активация происходит только до момента захвата кроликом пищи, а не в течение всего времени нахождения морды кролика в кормушке. Поэтому в одной из реализаций, при длительном нахождении морды кролика в кормушке, реальная частота «захватной» активации, отнесенная ко всему времени нахождения морды в кормушке, не достигла критерия активации. По той же самой причине и у нейронов движения вероятность активации в соответствующих актах могла не достигать 100%, так как по длительности движение занимает только часть времени всего акта.

Таким образом, у всех 14 специализированных нейронов поведенческая специализация в процессе регистрации не изменилась. У 10 нейронов, которые в начале регистрации были отнесены к неспециализированным, специализация не выявилась и в конце регистрации.

Для более тонкого анализа стабильности связи активности нейрона с поведением проводили сравнение картин распределения средних частот активности по актам циклического поведения в начале и в конце регистрации, а также средних частот активности за соответствующий период регистрации. Оказалось, что у 10 нейронов средняя частота активности за время регистрации достоверно возросла ($p < 0.05$ по t-критерию Стьюдента). У остальных 14 нейронов изменения не достигали уровня достоверных различий (у 11 клеток наблюдался слабый рост, у 3 – некоторое снижение частоты). На этом основании мы выделили высоко стабильные (I) и относительно стабильные (II) условия регистрации (соответственно отсутствие различий или достоверное различие средней частоты активности в поведении), что оказалось весьма существенным в дальнейшем анализе постоянства связи активности нейрона с поведением.

Объем изменений в картине активности нейрона в процессе регистрации оценивали по количеству актов циклического поведения, в которых изменялись средние частоты активности. Обнаружено, что достоверные изменения затрагивали от 0 до 8 актов (из выделенных 10). В условиях регистрации II изменения затрагивали большее число актов в среднем 4.1), чем в условиях регистрации I – в среднем 2.57 ($p < 0.05$ по критерию Стьюдента).

Кроме того, оказалось, что в условиях регистрации II было зарегистрировано достоверно больше неспециализированных нейронов, чем в условиях регистрации I. Так, в условиях относительно стабильной регистрации (II) из 10 зарегистрированных нейронов было 7 неспециализированных, а в условиях высоко стабильной регистрации (I) – из 14 зарегистрированных 2 неспециализированных ($p < 0.05$ по критерию χ^2).

У специализированных нейронов отношение средней частоты активности в специфическом акте к средней частоте за время регистрации в относительно стабильных условиях регистрации (II) оказалось достоверно выше, чем при высоко стабильной регистрации (I) ($p < 0.05$). В качестве примера небольшой разницы между частотой в специфическом акте и остальных актах может служить нейрон, представленный на **рисунке 16**; высокое отношение этих частот иллюстрирует график, представленный на **рисунке 15** (справа).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о постоянстве связи активности специализированных нейронов со специфическим актом циклического пищедобывательного поведения как по вероятности наличия активации в специфическом акте, так и по картине распределения частот в актах. В то же время некоторые характеристики активности нейрона в поведении зависят от условий его регистрации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Постоянство поведенческой специализации в настоящей работе исследовали на 24 нейронах цингулярной коры, отобранных из 150 зарегистрированных по критерию длительности регистрации. Репрезентативность этой выборки позволяют оценить данные, полученные в наших предыдущих исследованиях (Горкин А.Г., 1988, Шевченко Д.Г., 1987), где классификацию нейронов цингулярной коры проводили по их принадлежности к функциональным системам различного «возраста». Среди 132 проанализированных нейронов было выделено 57 (43%) неспециализированных в данном поведении, 30 (22,7%) специализированных относительно старых систем, «прасистем» (сюда относились нейроны «движения» и «захвата в двух кормушках») и 45 (34%) специализированных в отношении функциональных систем новых поведенческих актов, приобретенных животным непосредственно при обучении в экспериментальной камере (нейроны «захвата в одной кормушке», «подхода и нажатия педали», «нейроны места»). Из отобранных в настоящем исследовании 24 нейронов неспециализированные в данном поведении составили 10 (41%), специализированные в отношении «прасистем» - 5 (20,8%) и специализированные относительно новых систем - 9 (37,5%). Между относительным количеством нейронов в каждой из трех групп в этих выборках различия незначительны и недостоверны, поэтому данную выборку можно считать достаточно репрезентативной.

Основной результат, полученный в работе, о постоянстве поведенческой специализации нейронов согласуется и с данными литературы. Так, в работах Б.Н. Безденежных по изучению ионофоретического воздействия на нейроны зрительной и соматосенсорной областей коры было показано, что структура активации нейрона сохраняется и после изменения в некоторых пределах общего уровня его активности под

воздействием α -глутамата или ацетилхолина (Безденежных Б.Н., 1986, 2004). В целом ряде работ по изучению нейронной активности в различных структурах мозга в поведении сообщается о неизменной связи активности нейрона с поведением в течение нескольких часов регистрации (Ono T. et al., 1981, Ranck J., 1975). В результате анализа многочисленных экспериментальных данных В.Б. Швырков (1985) пришел к выводу о том, что все нейроны являются системоспецифичными относительно поведенческих актов различного фило- и онтогенетического возраста, и эта специализация постоянна в течение всей жизни клетки.

Очевидно, что выявление специализированных нейронов в значительной степени определяется критерием специализации. В нашей работе был применен критерий обязательного (100%) наличия активации нейрона во всех реализациях специфического поведенческого акта. В то же время в работах других авторов в качестве критерия специализации применяется достоверное изменение частоты импульсации нейрона на соответствующем этапе поведения (Андрианов В.В., Фадеев Ю.А., 1976, Батуев и др., 1981, O'Keefe J., 1979 и др.). Однако проведенный Л.В. Бобровниковым (1989) математический анализ показал, что такой критерий при применяемых в биологии для принятия гипотезах уровнях значимости (0.05 – 0.01) не достаточен для утверждения об обязательности одновременной активации всех специфических нейронов на соответствующем этапе поведения. Определенная на основе нашего критерия (100% наличия активации) специфическая активность удовлетворяет рассчитанному в работе Л.В. Бобровникова уровню значимости (0.001), что позволяет говорить о синхронной активации всех специализированных нейронов при реализации соответствующего поведенческого акта.

В то же время значительную группу среди специализированных нейронов составляют так называемые «нейроны движения» (Evarts E.V., 1972 и др.), активность которых связана не с одним из выделенных поведенческих актов, а с определенным движением животного, которое по длительности может составлять разную часть акта. Активации таких нейронов оказываются вариативными по отношению к конкретному акту и не всегда достигают установленного критерия. Как видно из представленной таблицы, у этих нейронов коэффициент вариативности в актах, в которых наблюдается специфическая активация, не является минимальным, как у большинства других специализированных нейронов. Именно такие клетки, относящиеся к «прасистемам», сформированным в раннем онтогенезе (Швырков В.Б., 1986), в значительной мере составляют на наш взгляд, вариативную часть интеграции, обеспечивающей реализацию конкретного поведенческого акта.

Коэффициент вариативности средней частоты в специфических для данного нейрона актах достоверно ниже, чем в других актах. На наш взгляд, это означает, что активация специализированного нейрона в конкретном специфическом акте необходима для

реализации функциональной системы этого поведенческого акта, и, наоборот, вариативная активность в остальных актах означает ее необязательность для реализации функциональных систем соответствующих актов. Таким образом, поведенческая специализация нейрона является содержательной, стабильной характеристикой связи активности нейрона с поведением и означает принадлежность данной клетки к функциональной системе соответствующего акта (Швырков В.Б., 1985, 1986).

При сопоставлении нейронов, активность которых регистрировалась в условиях относительной стабильности регистрации и в условиях высокостабильной регистрации, обнаружено различие этих групп по трем исследованным параметрам. 1) Различие по классификационному параметру – изменение средней частоты активности за время регистрации. Мы связываем достоверное увеличение средней частоты активности нейрона за время регистрации в условиях относительно стабильной регистрации не с функциональными изменениями работы мозга (Котляр Б.Н., Тимофеева Н.О., 1986), а с механическим раздражением тела нейрона кончиком микроэлектрода. В пользу этого свидетельствуют наблюдавшиеся сразу после регистрации ряда таких клеток резкие изменения частоты разряда и формы спайков нейрона. 2) Изменение средней частоты активности в большом количестве актов в относительно стабильных условиях регистрации, что означает большую вариативность активности нейрона в каждом конкретном акте в процессе регистрации в этих условиях. 3) Большая величина отношения средней частоты активности в специализированном акте к средней частоте активности за время регистрации, обнаруженная в относительно стабильных условиях регистрации. Обнаруженные различия свидетельствуют о неблагоприятном влиянии пониженной стабильности регистрации на выявление специализированных нейронов. Это подтверждается тем фактом, что в условиях относительно стабильной регистрации (II) обнаружено достоверно большее количество нейронов с неустановленной специализацией. Механизм этого влияния может быть следующим: если представить специализированную клетку, которая в высоко стабильных условиях регистрации (I) имеет небольшую величину отношения средней частоты активности в специализированном акте к средней частоте активности в поведении, то в условиях относительно стабильной регистрации ввиду роста средней частоты активности в поведении и большей вариативности в акте специфическая активность этой клетки не будет удовлетворять критерию наличия 100% активации.

Основной вывод, который вытекает из данного исследования, состоит в том, что выявляемая в условиях дефинитивного поведения поведенческая специализация нейрона является стабильной содержательной характеристикой связи его активности с поведением и лежащей в его основе структурой индивидуального опыта. В то же время неисследованным

оказывается, в результате каких процессов формируется специализация, на какой стадии научения появляется специфическая активация у специализированных в дефинитивном поведении нейронов. Ответы на данные вопросы можно получить только в результате хронической регистрации специализирующихся нейронов в сессиях научения (см. раздел 4.2.).

3.1.2. Зависимость паттерна активности связанных с поведением нейронов от движений животного, достигаемых результатов, истории обучения животного этому поведению.

Следующее исследование было проведено для решения задачи выяснения по активности специализированных нейронов закономерностей актуализации их специфических элементов индивидуального опыта при реализации других его компонентов. Для этого была проанализирована активность специализированных нейронов вне времени реализации поведенческого акта, относительно которого специализирован нейрон. После завершения обучения животных пищедобывательному поведению мы сравнили параметры поведения в группах кроликов, обученных с использованием разных последовательностей формирования этапов этого поведения. С целью выявления возможной зависимости длительности пищедобывательного цикла животного вдоль каждой стороны клетки от стратегии обучения длительность всех поведенческих циклов на левой и правой сторонах усредняли для каждого животного. Полученные данные приведены в **таблице 2**.

Средняя длительность поведенческих циклов кроликов вдоль правой и левой стороны экспериментальной клетки

Номер кролика	Сторона клетки, с которой начинали обучение	1 сторона $m \pm \sigma$	2 сторона $m \pm \sigma$	Значение t-критерия	p
1	Правая	7004,8 мс ± 2071,6 мс	7680,4 мс ± 2407,6 мс	2,3	0,024
2	»	6737,4 мс ± 2139,0 мс	6599,3 мс ± 2266,5 мс	-0,45	0,656
3	Левая	5758,8 мс ± 2182,9 мс	5885,4 мс ± 2312,6 мс	0,41	0,685
5	»	5579,3 мс ± 1631,4 мс	6868,9 мс ± 1847,8 мс	5,39	0,001
6	»	6079,7 мс ± 1608,6 мс	6513,8 мс ± 1892,2 мс	1,79	0,077
7	Правая	6395,3 мс ± 1277,3 мс	6482,6 мс ± 1408,5 мс	0,46	0,65
8	»	8221,2 мс ± 3326,8 мс	8150,3 мс ± 3534,9 мс	-0,15	0,88

Таблица 2. Средняя длительность поведенческих циклов кроликов вдоль правой и левой стороны экспериментальной клетки.

Как видно из таблицы, достоверные различия циклов на разных сторонах экспериментальной клетки были обнаружены у кроликов № 1 и 5, а у кролика № 6 была выявлена тенденция к достоверному увеличению длительности циклов на правой стороне клетки по сравнению с левой. Все эти кролики обучались по стратегии 1, т.е. во время обучения пищедобывательному поведению у них сначала формировали полный поведенческий цикл на одной стороне клетки и лишь затем приступали к формированию поведения на второй стороне. Нетрудно заметить, что меньшая длительность циклов наблюдалась на стороне, с которой начинали обучение животного. Что касается кроликов, обученных по стратегии 2, т.е. с чередованием обучения отдельным этапам на разных сторонах клетки, достоверных различий в длительности циклов на правой и левой сторонах клетки для них не обнаружено.

В этой серии экспериментов нами была зарегистрирована активность 808 нейронов на семи кроликах. Для последующего анализа были отобраны 543 нейрона; 285 (52,5%) из них оказались специфически связанными с осуществлением каких-либо актов данного пищедобывательного циклического поведения; в активности 258 нейронов такой связи обнаружить не удалось. Число нейронов разных типов специализации приведено в **таблице 3**.

Число нейронов разных типов специализации	
Тип специализации	Число нейронов
«Педальные»	
Подход к конкретной педали	48
Подход и нажатие конкретной педали	23
Нажатие конкретной педали	15
Подход и нажатие обеих педалей	6
«Кормушечные»	
Подход к конкретной кормушке	24
Подход и захват пищи в конкретной кормушке	20
Захват пищи в конкретной кормушке	25
Подход и/или захват пищи в обеих кормушках	27
«Нейроны места», «нейроны движений»	
Различные движения головы	32
Разнообразные повороты тела кролика	47
Грызение и жевание	6
Всего специализированных нейронов	285

Таблица 3. Число нейронов разных типов специализации.

Особый интерес для нас представляли нейроны, специализированные относительно тех поведенческих актов, которые были сформированы лишь в экспериментальной клетке

при обучении животного пищедобывательному поведению. К таким поведенческим актам мы отнесли подход к педали и нажатие на педаль, а также доставание пищи из конкретной кормушки, так как впервые кролик столкнулся с педалями и научился различать кормушки в сессиях обучения в экспериментальной клетке. Нейронов таких «педальных» и «однокормушечных» специализаций оказалось более половины от всех проанализированных нами специализированных клеток (161 (56,5%) из 285), что подтверждает сделанный нами ранее (Шевченко Д.Г. и др., 1986, Shevchenko D.G. et al., 1989) вывод о преимущественной представленности в цингулярной коре кролика нейронов, специализированных относительно самого нового поведенческого опыта. Большинство из них было специализировано относительно подхода и/или нажатия на одну из педалей, и несколько меньше – относительно подхода и/или захвата пищи из конкретной кормушки.

Сравнение числа нейронов разных специализаций у кроликов, обученных в разной последовательности, не выявило достоверных различий между группами. Также не было различий между наборами нейронов, специфически активировавшихся на левой и правой сторонах клетки.

Паттерны неспецифической активности.

Сторона клетки, где наблюдалось циклическое пищедобывательное поведение, включающее поведенческий акт, относительно которого была специализирована активность нейрона, была обозначена нами как «сторона специализации». Вторая сторона была обозначена нами как «неспецифическая». Таким образом, неспецифическая активность нейрона, т.е. вся активность за исключением активности в акте или актах, относительно которых нейрон был специализирован, наблюдалась на обеих сторонах экспериментальной клетки. На «стороне специализации» неспецифическая активность имела сходный рисунок у всех нейронов и стабильный паттерн этой активности, видимо, отражает жесткую структуру вовлечения специализированных относительно актов одного пищедобывательного цикла нейронов в реализацию этого цикла. На «неспецифической» стороне паттерн активности специализированных нейронов был весьма разнообразным. В то же время среди разных вариантов этой неспецифической активности можно выделить несколько наиболее типичных и выявить факторы, способствующие появлению дополнительной активации специализированного нейрона.

Фактор общности цели.

Проявление этого фактора в активности нейрона характеризуется тем, что в аналогичном специфическому поведенческому акте на «неспецифической» стороне клетки наблюдалась слабая активация нейрона. При этом различны места в клетке, где наблюдаются эти акты – правая и левая половины клетки. Также при подходах к

аналогичным объектам (например, педалям) двигательный состав этих актов был оппонентным – повороты в разные стороны. Так, у нейронов, специализированных относительно захвата пищи из правой кормушки, наблюдалась слабая дополнительная активация при захвате пищи из левой, а у клеток, специализированных относительно подхода и нажатия на правую педаль – дополнительная активация при подходе и нажатии на левую. Примеры такого типа паттернов активности нейронов различных специализаций приведены на рисунке 17.

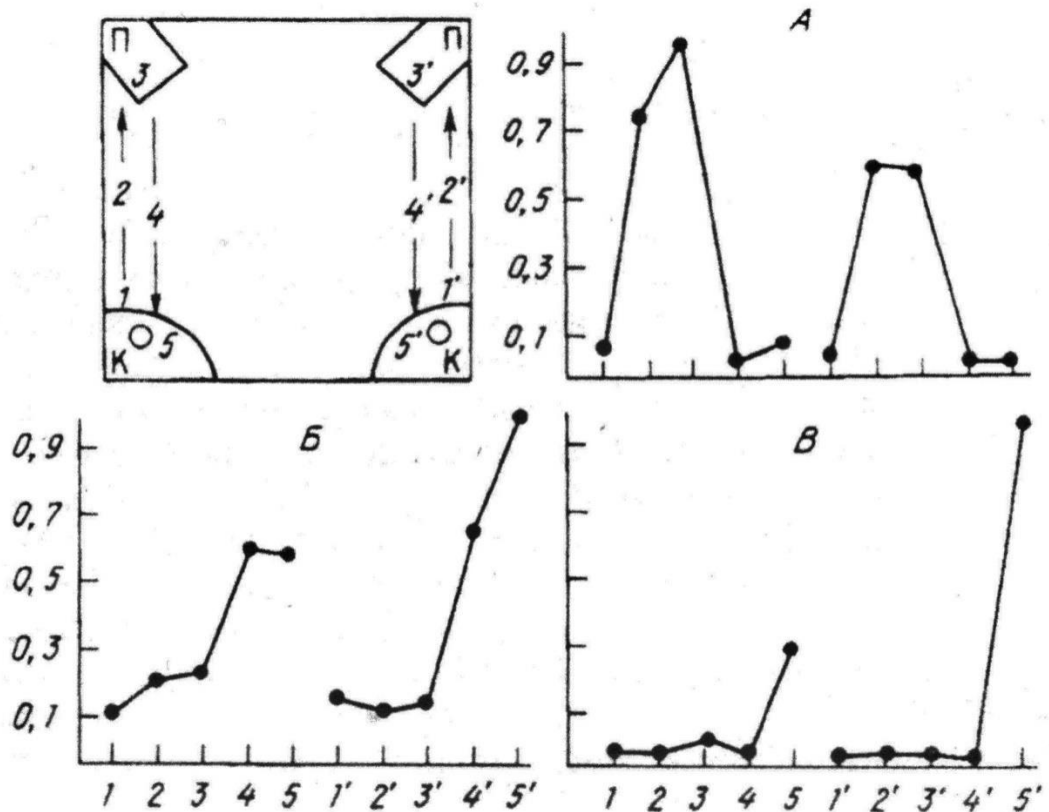


Рисунок 17. Паттерн активности нейронов, демонстрирующих влияние фактора общности цели. Вверху слева – схема экспериментальной клетки. П – педали, К – кормушки; стрелки обозначают стандартные передвижения животного при осуществлении пищедобывательных циклов, цифры – выделенные этапы поведения. А – усредненная активность нейрона, специализированного относительно подхода и нажатия на левую педаль, Б – относительно подхода и захвата пищи из правой и В – из левой кормушки. Здесь и на последующих рисунках: по оси абсцисс – номера этапов поведения (поведенческих актов), по оси ординат – нормированная по частоте импульсации в специфическом акте средняя частота активности.

В верхней левой части рисунка представлена схема экспериментальной клетки, на которой стрелками показаны передвижения животного при осуществлении

пищедобывательных циклов и обозначены номера актов, используемые при построении графиков. На трех графиках приведены усредненные паттерны активности конкретных нейронов разных специализаций, в активности которых проявляется действие фактора общности цели. Так, на А представлен паттерн активности нейрона, специализированного относительно подхода и нажатия на левую педаль (акты 2 и 3). Видно, что на другой стороне наблюдается активация при подходе и нажатии на правую педаль (акты 2' и 3'), но частота импульсной активности в этих актах достоверно ниже. На Б представлен паттерн активности нейрона, специализированного относительно подхода и захвата пищи в правой кормушке (акты 4' и 5), у которого на левой стороне клетки также наблюдается активация при подходе к кормушке и захвате пищи (акты 4 и 5). Сходство рисунка паттерна активности на обеих сторонах клетки видно и из графика В, где представлен паттерн активности нейрона, специализированного относительно захвата пищи из правой кормушки (акт 5'). В представленных паттернах активности проявление фактора общности цели выглядит как одинаковая форма кривой в левом и правом циклах с разницей в амплитуде пика активности. Наиболее ярко этот фактор проявляется в активности нейронов, которые были специализированы относительно обоих аналогичных актов циклического поведения (две педали, две кормушки).

Фактор общности движений.

Кроме нейронов, специализированных относительно движений животного, нами было зарегистрировано большое число клеток, у которых в неспецифической активности появлялась дополнительная активация при движении животного, сходном с его движением при осуществлении специфического поведенческого акта. Так, некоторые нейроны, специализированные относительно подхода к правой педали, дополнительно активировались при подходе кролика к левой кормушке, т.е. при аналогичном повороте налево, так же как клетки, специализированные относительно подхода к правой кормушке, при подходе к левой педали (поворот направо). Общим параметром этих актов было направление поворота тела животного. Примеры паттернов активности отдельных нейронов, для которых существенным оказалось влияние этого фактора, приведены на **рисунке 18**.

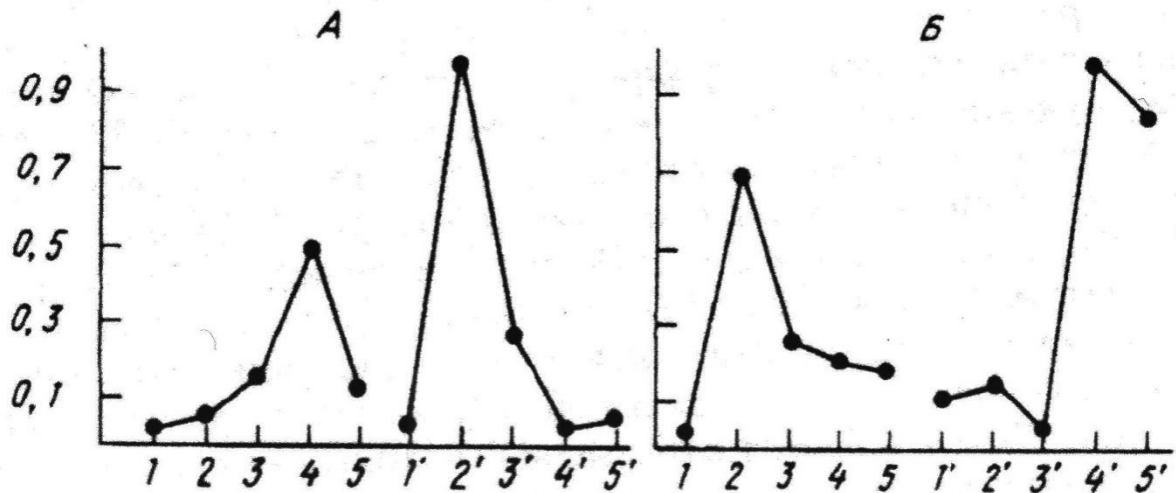


Рисунок 18. Паттерны активности нейронов, демонстрирующие влияние фактора общности движения. А – усредненная активность нейрона, специализированного относительно подхода к правой педали. Б – относительно подхода к правой кормушке и захвата пищи в ней.

В активности нейрона, представленного на **рисунке 18, А**, специфическая активация наблюдается в акте 2' (подход к правой педали), а дополнительная активация – в акте 4 (подход к левой кормушке), который так же, как и специфический акт, осуществлялся при повороте туловища кролика налево. Нейрон, представленный на **рисунке 18, Б**, был специализирован относительно подхода к правой кормушке и захвата пищи в ней (акты 4' и 5'). У него также наблюдалась дополнительная активация при нахождении животного на другой «неспецифической» стороне и повороте тела направо (акт 2 – подход к левой педали), как и в специфическом акте. У каждого из этих нейронов в активности присутствует дополнительная активация при повороте в ту же сторону, что в специфическом акте. Однако в отличие от клеток, специализированных относительно поворота в определенном направлении, т.е. конкретного движения, у данных нейронов активность при подходе к педали и подходе к кормушке достоверно различалась.

Фактор истории обучения.

Мы сопоставили паттерны активности нейронов, специализированных относительно подхода и нажатия на конкретную педаль в зависимости от очередности формирования данного акта в истории обучения конкретного животного (первая или вторая педаль в последовательности формирования этапов поведения) и в зависимости от стратегии обучения животного (I-я стратегия, кролики № 1, 2, 5, 6 и II-я стратегия, кролики № 3, 7, 8). Паттерны активности нейронов, специализированных относительно подхода и нажатия на

первую по порядку обучения педаль представлены на **рисунке 19** при обучении животного по стратегии I (А) и II (Б).

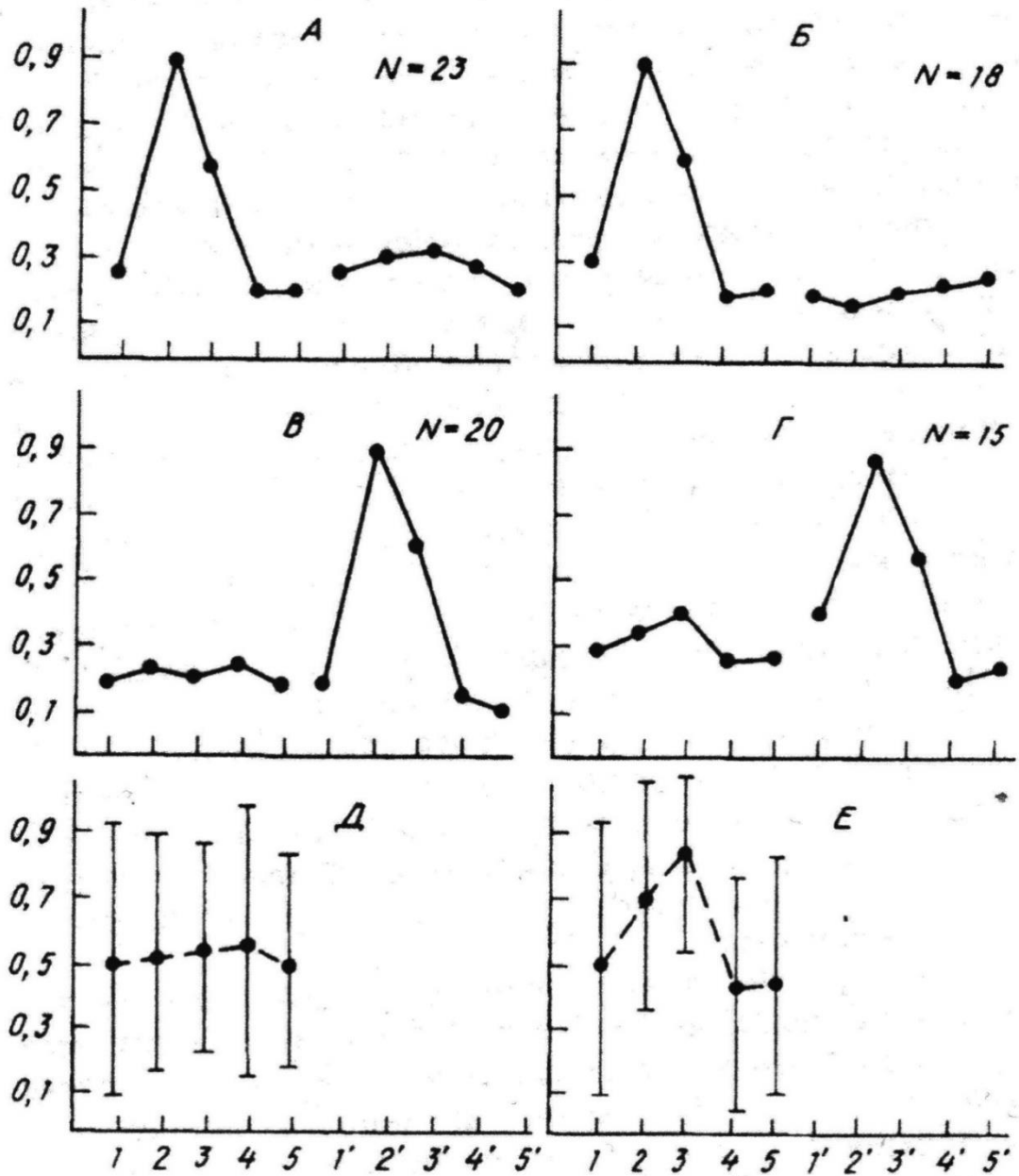


Рисунок 19. Паттерны активности «педальных» нейронов в зависимости от истории обучения. Суммарная активность нейронов, специализированных относительно нажатия на первую (А, Б) и вторую (В, Г) по порядку обучения педаль у кроликов, обученных по стратегии I (А, В) или II (Б, Г). Д – суммарная активность нейронов, представленных на В, в неспецифических актах, нормированная по максимальной частоте активности на своей стороне, с доверительными интервалами; Е – то же для нейронов, представленных на Г, N – число нейронов в усреднении.

Из рисунка видно, что активность таких нейронов в актах на «неспецифической» стороне клетки приблизительно одинакова (активность в актах 1'-5' достоверно не

различалась). Ниже на рисунке представлены паттерны активности нейронов, специализированных относительно подхода и нажатия на вторую по порядку обучения педаль при обучении по стратегии I (В) и стратегии II (Г). В отличие от равномерной активности в актах 1-5 («неспецифическая» сторона) на части В, в таких же актах на части Г виден выраженный пик активности в акте 3. Для более точного сравнения паттерна неспецифической активности этих нейронов мы усреднили активность на «неспецифической» стороне, предварительно пронормировав ее по пику активности на этой стороне для каждого из нейронов. Полученные таким образом усредненные паттерны неспецифической активности изображены на частях Д и Е для тех же нейронов, которые представлены на частях В и Г соответственно. Видно, что на части Е наблюдается выраженная активация в актах 2 и 3 (подход и нажатие на первую педаль). При этом активность в акте 3 достоверно отличается от активности в актах 1, 4 и 5, а активность в акте 2 – от активности в актах 4 и 5. В то же время на части Д различий в активности в разных актах не наблюдается.

Для нейронов, специализированных относительно захвата пищи в конкретной кормушке, усредненные паттерны активности в зависимости от очередности формирования аналогичных актов в истории и в зависимости от стратегии обучения представлены на **рисунке 20**.

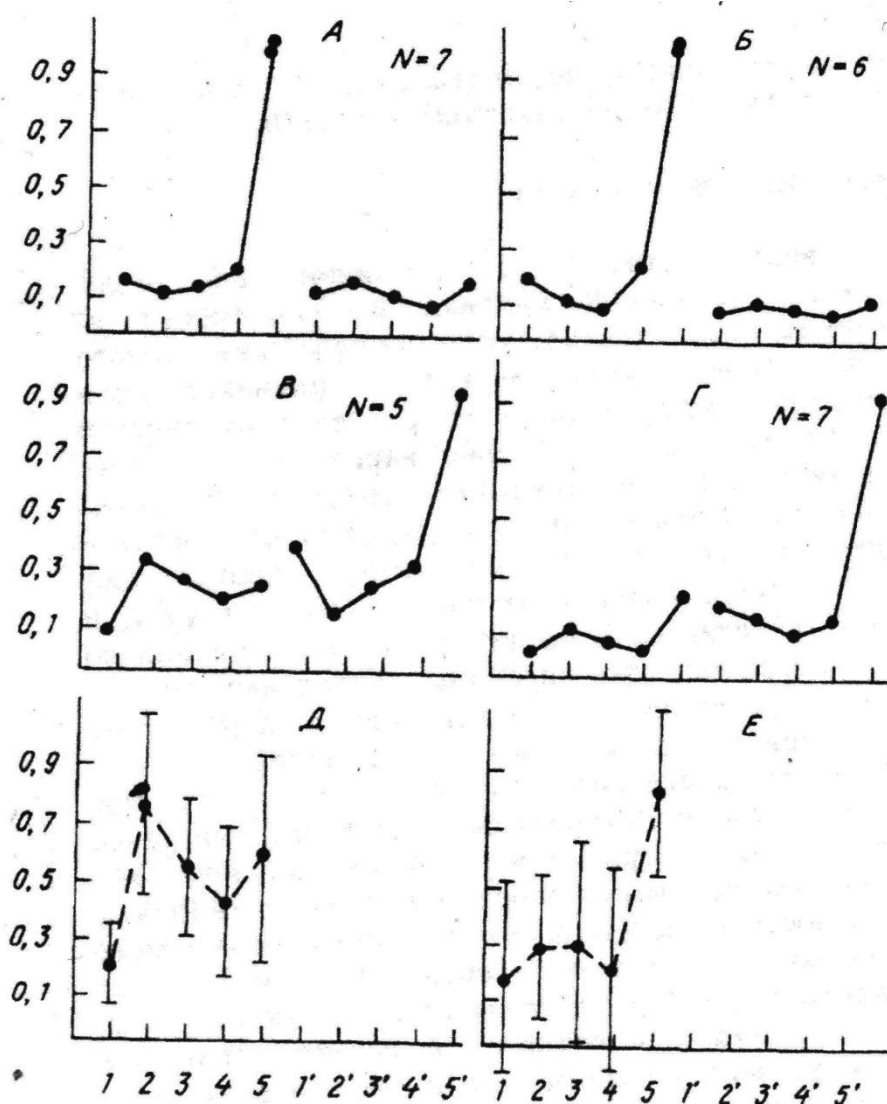


Рисунок 20. Паттерны активности «кормушечных» нейронов в зависимости от истории обучения. Суммарная активность нейронов, специализированных относительно захвата пищи из первой (А, Б) и второй (В, Г) по порядку обучения кормушек у кроликов, обученных по стратегии I (А, В) или II (Б, Г). Д – суммарная активность нейронов, представленных на части В, в неспецифических актах, нормированная по максимальной частоте активности на своей стороне, с доверительными интервалами. Е – то же для нейронов, представленных на части Г.

На **рисунке 20** вверху представлены нейроны, специализированные относительно захвата пищи в первой по порядку обучения кормушке у кроликов, обученных по стратегии I (А) и II (Б). На обоих графиках активность в актах 1'-5' на «неспецифической» стороне клетки довольно монотонна. В то же время в паттернах активности нейронов, специализированных относительно захвата пищи из второй по порядку обучения кормушки у кроликов, обученных по стратегии I (В) и II (Г), неспецифическая активность на стороне,

противоположной специфическому акту, далеко не однообразна (акты 1-5). На частях Д и Е представлена неспецифическая активность тех же нейронов, что и на частях В и Г, но нормированная не по частоте в специфическом акте (5'), а по пику активности в актах на «неспецифической» стороне – акты 1-5. На части Д достоверно отличается активность в акте 2 (подход к первой педали) от активности в акте 1 (жевание и поворот головы к педали). В представленной на части Е активности средняя частота в акте 5 (захват в первой кормушке) отличается от активности в остальных актах с высокой достоверностью.

Как видно из представленных рисунков, если животное находилось на той стороне клетки, где осуществлялся специфический акт, паттерн активности всех нейронов одинаковой специализации оказался сходным независимо от порядка формирования аналогичных актов и стратегии обучения. Подобную активность нейронов в неспецифических актах, входивших вместе со специфическим актом в один поведенческий цикл, можно считать отражением существования жесткой структуры отношений элементов опыта внутри одного поведенческого цикла.

В то же время в неспецифической активности нейронов при нахождении кролика на другой стороне клетки нами были обнаружены различия, связанные с разными стратегиями обучения животного. Так, из **рисунка 19** видно, что у кроликов, обученных по стратегии II, в активности нейронов, специализированных относительно второй по порядку обучения педали, выявляется дополнительная активация в актах, связанных с поведением у другой педали (2, 3), а у кроликов, обученных по стратегии I, дополнительная активация нейронов не обнаружена. В то же время у всех нейронов, специализированных относительно первой по порядку обучения педали, при нахождении животного на «неспецифической» стороне достоверных различий в активности в разных поведенческих актах выявлено не было. Аналогично этому, как видно из **рисунка 20**, у нейронов, специализированных относительно захвата пищи из второй по порядку обучения кормушки, при нахождении животного на «неспецифической» стороне в спайковой активности достоверных различий не обнаружено. У нейронов, специализированных относительно захвата пищи из второй по порядку обучения кормушки, для кроликов, обученных по стратегии I, выявляется дополнительная активация при акте нажатия на педаль на «неспецифической» стороне, а у кроликов, обученных по стратегии II, дополнительная активация выявляется в акте захвата пищи из другой кормушки.

Нужно отметить, что в том случае, когда связанная с историей обучения дополнительная активация наблюдалась в акте, аналогичном специфическому, она была более выраженной (**рисунок 19, Е** и **рисунок 20, Е** по сравнению с **рисунком 20, Д**). На наш взгляд, это связано с суммацией факторов общности цели и истории обучения. В то же время

наличие активации «кормушечных» нейронов кроликов, обученных по стратегии I, при подходе к педали (**рисунок 20, Д**) свидетельствует о независимости этих двух факторов. Такую активацию нельзя связать и с влиянием фактора общности движения, так как движения животного при наклоне головы в кормушку и захвате пищи принципиально отличаются от движений при подходе к педали.

Приведенные результаты свидетельствуют о различии временных характеристик пищедобывательного поведения кролика в зависимости от использованных стратегий обучения. Так, длительность пищедобывательного цикла на разных сторонах экспериментальной клетки может быть одинаковой или различаться. Надо отметить, что этот факт не зависит от средней длительности поведенческого цикла каждого кролика, которая сильно варьирует у разных животных и, видимо, отражает индивидуальные особенности кроликов. Различие в длительности поведенческих циклов на левой и правой сторонах клетки было обнаружено только у тех кроликов, стратегия обучения которых предполагала формирование всего поведенческого цикла сначала на одной стороне клетки, и только затем на второй стороне (стратегия I). В то же время при обучении по стратегии II, предполагающей поочередное формирование отдельных этапов поведенческого цикла (обучение «вразбивку»), длительность поведенческих циклов на разных сторонах экспериментальной клетки не различалась.

Обнаруженная нами разница в длительности поведенческих циклов, сформировавшихся в начале и конце обучения, свидетельствует о том, что ранее приобретенный опыт реализуется легче по сравнению с более поздним. Эти результаты согласуются с данными, полученными в работе ЮИ Александрова с соавт. (Alexandrov Yu.I. et al., 1990), о большей чувствительности к введению алкоголя элементов нового опыта по сравнению с более старым. Кроме того, зависимость длительности поведенческих циклов от конкретной стратегии обучения, на наш взгляд, свидетельствует о формировании в памяти животного не только элементов, соответствующих отдельным поведенческим актам, но и объединений этих элементов, приобретающих свойство целого. Данное явление хорошо известно из экспериментов, проводившихся на людях (печатанье текста и игра в рэндзю) (Безденежных Б.Н., Пашина А.Х., 1987, Alexandrov I.O., Maksimova N.E., 1988) или на животных (пищедобывательное поведение в лабиринте) (Воронин Л.Г. и др., 1983) и показывающих, что при многократном выполнении одной и той же последовательности актов формируются группировки актов, которые выступают в качестве целостной единицы памяти.

Из результатов, полученных нами при исследовании нейронной активности, следует, что в неспецифической активности специализированных нейронов в циклах поведения при

нахождении животного на другой стороне клетки (т.е. противоположной той стороне, где выявляется специфическая активность) могут быть обнаружены дополнительные активации. У нейронов определенной специализации дополнительная активация выявлялась на том этапе, который в процессе обучения формировался непосредственно перед специфическим актом. Так, у нейронов, специализированных относительно доставания пищи из конкретной кормушки, могут быть обнаружены дополнительные активации в актах подхода и нажатия на педаль на другой стороне, если кролики обучались по схеме: кормушка-педаль-кормушка-педаль. У тех животных, которые обучались по иной схеме (кормушка-кормушка-педаль-педаль), дополнительная активация нейронов той же специализации (доставание пищи из конкретной кормушки) выявлялась на этапе доставания пищи из первой кормушки, т.е. на этапе, который формировался в процессе обучения непосредственно перед специфическим актом. У нейронов, специализированных относительно подхода и нажатия на конкретную педаль, дополнительная активация в неспецифической активности наблюдалась в актах подхода и нажатия на педаль на другой стороне. Эта активация выявлялась только у кроликов, обученных по схеме: кормушка-кормушка-педаль-педаль, т.е. эта дополнительная активация была также обнаружена на этапе, предшествовавшем формированию специфического акта в ходе обучения.

По-видимому, дополнительная активация, выявленная нами в неспецифической активности специализированных нейронов, отражает активирующее влияние предшествующего опыта на опыт, формирующийся впоследствии. Эффект влияния предыдущего опыта был обнаружен только для непосредственно следующих друг за другом этапов формирования поведения животного в экспериментальной клетке. В то же время для нейронов, специализированных относительно подхода и нажатия на вторую педаль у кроликов, обученных по схеме кормушка-педаль-кормушка-педаль, дополнительной активации в неспецифической активности не выявлено. Это связано с тем, что данный этап формировался сразу после обучения кроликов доставанию пищи из кормушки на той же стороне клетки. По-видимому, отношения актов, связанных в единый поведенческий цикл, в первую очередь подчинены логике этого цикла и отражают существование жесткой структуры связи элементов памяти внутри него, что не позволяет выявить влияние, связанное с фактором истории обучения.

Дополнительным аргументом в пользу существования жесткой структуры отношений между отдельными актами, входящими в единый поведенческий цикл, может служить обнаруженная нами высокая повторяемость паттернов активности в цикле, включающем специфический акт, для всех нейронов одинаковой специализации.

Выявленное нами в этой работе влияние истории обучения на паттерны активности нейронов цингулярной коры соответствует данным Е. Бостока с соавт. (Bostock E. et al., 1991) о зависимости активности нейронов гиппокампа крыс от опыта, приобретаемого животным в экспериментальной клетке. В то же время полученные результаты подтвердили сделанный нами ранее (Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., 1991, 1993) вывод об активирующем влиянии предшествующего опыта на формирующийся непосредственно за ним поведенческий опыт. Можно предположить, что такое же влияние существует между всем опытом, на базе которого формируется новый акт, и самим актом. Однако из-за относительной слабости влияния предшествующего опыта его трудно выявить. Тем не менее, оно может оказаться определяющим в некоторых ситуациях (поисковая активность, проблемные ситуации).

Проведенное исследование показало, что в активности специализированных нейронов можно выявить дополнительные активации, которые отражают наличие факторов общности цели и движений. Кроме того эти активации также зависят от истории обучения и могут свидетельствовать о существующих в целостной структуре индивидуального опыта отношениях между конкретными его элементами, задаваемых упомянутыми факторами. Наряду с ними неспецифическая активность специализированных нейронов отражает логику поведенческого цикла, что также можно проинтерпретировать, как определенные отношения элементов в структуре индивидуального опыта.

3.1.3. Реконструкция структуры субъективного индивидуального опыта животных по активности специализированных нейронов цингулярной коры.

В рамках той же задачи выяснения закономерностей актуализации элементов опыта в следующем исследовании на большой выборке нейронов кролика (485 клеток), зарегистрированных в пищедобывательном поведении, по связи активности всех зарегистрированных нейронов с поведением была проведена реконструкция типов отношений между компонентами индивидуального опыта.

1. Компоненты структуры индивидуального опыта (СИО), представляющие акты репертуара и их группы.

У животных трех групп, обученных ЦИПП с помощью разных последовательностей этапов (см. Методику), были зарегистрированы нейроны, специализированные относительно всех выделенных нами актов репертуара. Распределения частот встречаемости специализаций нейронов относительно 10 актов двух циклов не различались в трех группах

животных ($\chi^2 = 22.39$, $df = 18$, $p = 0.21$). Распределение специализаций по актам было неравномерным ($\chi^2 = 13.45$, $df = 4$, $p = 0.009$) за счет большего количества нейронов, специализированных относительно подхода к педалям (акты P3 и P3'), подхода к кормушке и захвата пищи (акты P5 и P5', P1 и P1'), и меньшего – относительно поворота от кормушки к педали и нажатия на нее (акты P2 и P2', P4 и P4').

Кроме нейронов, специализированных относительно одного акта, были выявлены нейроны, постоянные активации которых наблюдались при выполнении не одного, а двух актов репертуара. Например, нейроны активировались при реализации двух последовательных актов: при подходе к кормушке и при захвате пищи, т.е. акты P5 и P1 (P5' и P1'), или при подходе к педали и нажатии на нее, т.е. акты P3 и P4 (P3' и P4'). Другой тип феноменологически "двойной" специализации – постоянная связь активности нейрона не с последовательными, а с разделенными во времени актами, например с нажатием на обе педали, т.е. с актами P4 и P4', или с опусканием морды в обе кормушки, т.е. актами P1 и P1'. Заметим, что нейроны с такой формой специализации наблюдались относительно редко.

Оценка пропорции количества нейронов, специализированных по отношению к актам нажатия на две педали в обоих циклах, и нейронов, специализированных по отношению только к одной педали (либо в одном, либо в другом цикле), показала, что "двойная" специализация наблюдалась в группе животных, обученных I способом (сначала целиком цикл на одной стороне, потом – на второй), чаще (7 из 15), чем в группах животных, обученных II и III (см. Методику) способами (4 из 27) (точный критерий Фишера, $p = 0.031$). Для других специализаций такого рода какой-либо связи со способом обучения выявлено не было.

Таким образом, найдены группы нейронов со сходной специализацией, представляющие компоненты СИО. Некоторые из этих групп нейронов специализированы относительно одного акта репертуара, другие – относительно двух актов репертуара.

Набор компонентов СИО первого типа (представленных нейронами с одинарной специализацией) не зависит от способа обучения животных, в то время как набор компонентов СИО второго типа ("двойная" специализация нейронов) зависит от способа и соответственно истории научения.

2. Взаимоотношения между компонентами СИО, представляющими акты репертуара.

Активация специализированных нейронов в специфическом акте сопровождается дополнительными активациями других нейронов в этом же акте. Например, активация

группы нейронов, специализированных относительно подхода к кормушке (акт P5) в цикле Ц, сопровождается повышенной активностью нейронов, связанных с захватом пищи в том же цикле (P1) ($R_{part} = 0.31$, $p < 0.0001$), и при этом по-разному влияет на частоту активности нейронов, специализированных относительно подхода к педалям: понижает ее у нейронов, связанных с актом P3 в том же цикле Ц ($R_{part} = -0.11$, $p = 0.022$), и повышает – у нейронов, специализированных относительно P3' из другого цикла (Ц') ($R_{part} = 0.28$, $p < 0.0001$).

Активация нейронов, специализированных относительно аналогичного акта в Ц' (P5'), оказывает "симметричное" влияние на дополнительные активации нейронов – повышает активность нейронов, связанных с P1' (Ц') ($R_{part} = 0.31$, $p < 0.0001$), и P3 (Ц) ($R_{part} = 0.29$, $p < 0.0001$), и снижает – у нейронов, специализированных относительно P3' (Ц') ($R_{part} = -0.15$, $p = 0.0011$). Применение этого метода позволяет диагностировать асимметричные отношения, однако ни одного случая асимметрии отношений синергии и оппонентности зафиксировано не было. Общими для трех групп животных являются только положительные связи между группами нейронов, активирующихся в актах подхода к кормушкам и захвата в них пищи.

Приведем в качестве примера синергичных отношений пары P5–P1 в цикле Ц ($R_{part} = 0.27$, $p = 0.0019$) и P5'–P1' в Ц' ($R_{part} = 0.31$, $p = 0.0004$), захвата пищи в Ц и Ц' (акты P1 и P1') ($R_{part} = 0.28$, $p = 0.0012$), подхода к педали и нажатия на нее: пары P3–P4 ($R_{part} = 0.39$, $p < 0.0001$) и P3'–P4' ($R_{part} = 0.28$, $p = 0.0021$), а также между актами подхода к кормушке в одном цикле и подхода к педали – в другом: пары актов P3–P5' ($R_{part} = 0.20$, $p < 0.031$) и P3'–P5 ($R_{part} = 0.19$, $p < 0.038$).

Отрицательные коэффициенты корреляции, соответствующие отношениям оппонентности, в группах животных, обученных разными способами, связывали активность нейронов разноименных актов в Ц и Ц'. Так, были выявлены отрицательные корреляции между актами подхода к педали P3 и к кормушке P5 на каждой стороне клетки, т.е. в Ц ($R_{part} = -0.14$, $p = 0.038$) и в Ц' ($R_{part} = -0.18$, $p = 0.0069$), которые были обнаружены лишь в I группе. Во II группе выявлена лишь тенденция к отрицательной связи для пары актов P3' и P5' ($R_{part} = -0.17$, $p = 0.069$). А вот для III группы не было найдено даже тенденции такой связи. Негативная связь между P1 (захват пищи в кормушке цикла Ц) и P2' (жевание и поворот от кормушки к педали в цикле Ц') была выявлена для II ($R_{part} = -0.26$, $p = 0.006$) и III групп ($R_{part} = -0.20$, $p = 0.024$), а между P5 (подход к кормушке в цикле Ц) и P4' (нажатие педали в цикле Ц') – для I ($R_{part} = -0.15$, $p = 0.028$) и II групп ($R_{part} = -0.24$, $p = 0.008$). Только у животных, обученных I способом, выявлены отрицательные корреляции, не встречающиеся у животных, обученных II и III способами: между актами P5' (подход к кормушке в Ц') и P4 (нажатие педали в Ц) ($R_{part} = -0.21$, $p = 0.002$), в паре актов P3' и P5' (подход к педали и к

кормушке в Ц') ($R_{\text{part}} = -0.18$, $p = 0.007$), и для актов P5 (подход к кормушке в Ц) и P1' (захват пищи в кормушке в Ц') ($R_{\text{part}} = -0.16$, $p = 0.021$); следует также отметить тенденцию к отрицательной корреляции между аналогичной парой актов P5' и P1.

Проведенный анализ показал, что отношения синергии связывают компоненты СИО, обладающие определенной общностью, проявляющейся в сходстве актов, которые представляют эти компоненты: по целям (аналогичные акты в двух циклах), по двигательной активности (например, в актах подхода к педали P3 в цикле Ц и подхода к кормушке P5 в цикле Ц'). В то же время оппонентные отношения компонентов СИО наблюдаются при значительных несоответствиях содержательных характеристик актов, которые представляют эти компоненты, например, подход к кормушке P5 и нажатие педали P4' или P1 и P2' – в большинстве случаев это акты, совершающиеся в разных циклах Ц и Ц'.

Установлено, что группы специализированных нейронов имеют сложную структуру. В группе нейронов с общей специализацией (относительно определенного поведенческого акта) выделяются подгруппы, имеющие «дополнительные специализации» (закономерные активации меньшей выраженности по сравнению со специфической при реализации одного или нескольких других актов). «Дополнительные специализации» также не соответствовали критерию обязательного наличия активации нейрона при всех реализациях соответствующего акта. Таким образом, все нейроны каждой группы эквивалентны по их общей специализации, но различаются по «дополнительным специализациям». В свою очередь группы нейронов с различными основными специализациями могут содержать сходные по «дополнительным специализациям» подгруппы. На **рисунке 21** показана геометрическая модель организации групп специализированных нейронов, построенная при помощи процедуры многомерного шкалирования.

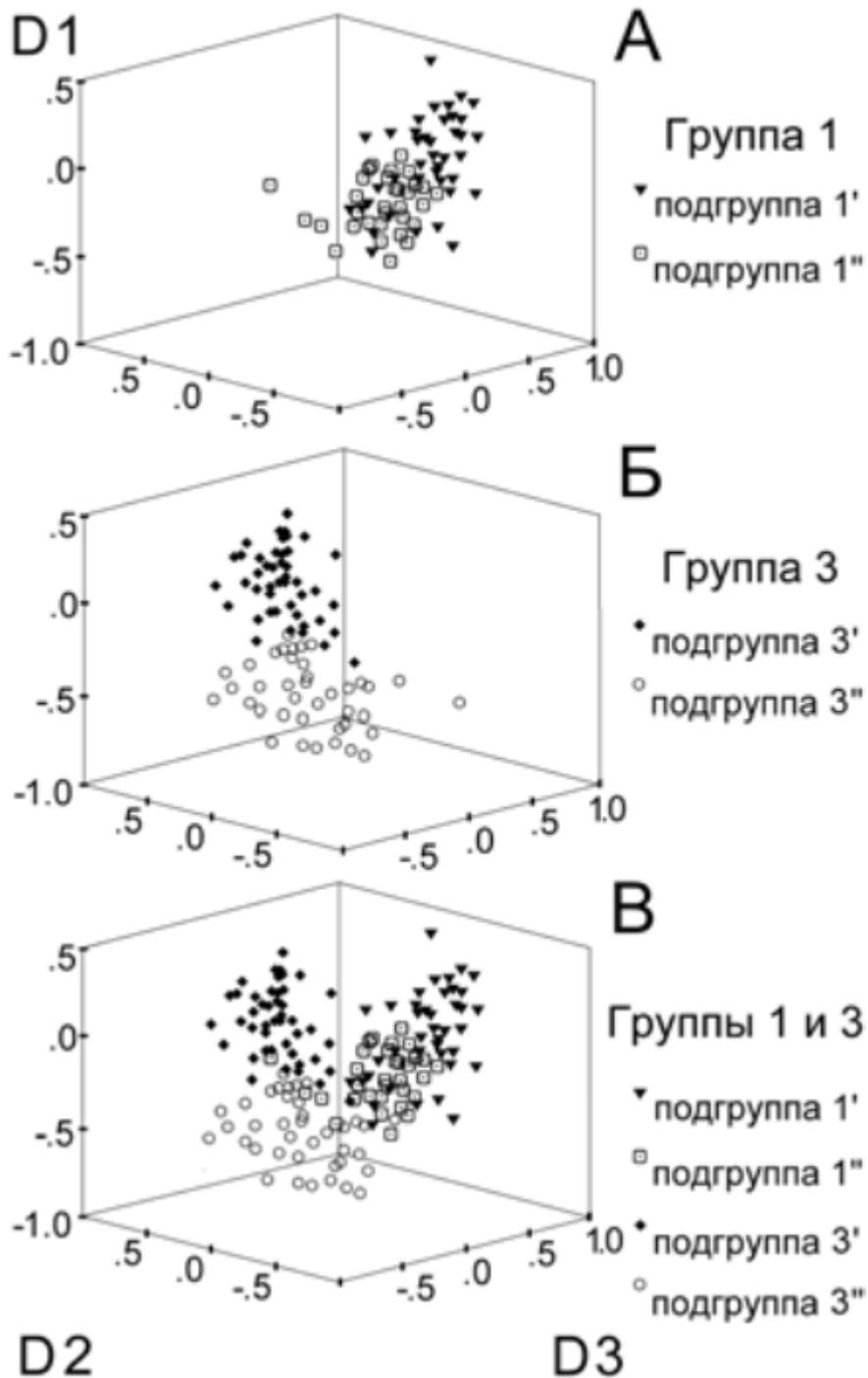


Рисунок 21. Суборганизация групп специализированных нейронов. D1, D2, D3 – оси пространства. На А – суборганизация группы 1. Подгруппы нейронов 1' (▼) и 1'' (□) специализированы относительно акта P3 (основная специализация), но подгруппа 1'' (□) также имеет «дополнительную специализацию» относительно акта P4. На Б – суборганизация группы 3. Основная специализация подгрупп 3' (■) и 3'' – акт P3', у подгруппы 3'' (○) – «дополнительная специализация» относительно акта P4. На В – взаимное расположение этих групп нейронов.

Нейроны группы 1 имеют общую специализацию относительно акта подхода к педали, расположенной на левой стороне клетки (P3), а группы 3 – подхода к педали на правой стороне (P3'). Часть нейронов этих групп имеет «дополнительную специализацию» – относительно акта нажатия на педаль: соответственно, для подгруппы 1'' – левую (P4) или, для подгруппы 3'' – правую (P4'). Как видно из рисунка, те нейроны, которые не имели «дополнительной специализации» в многомерном пространстве, представлены непересекающимися множествами, а нейроны с «дополнительной специализацией» имели сильно перекрывающиеся множества в пространстве с теми же осями. Показано, что компоненты, начавшие формироваться на ранних стадиях обучения, обладают более сложной суборганизацией, чем сформированные на поздних стадиях. Это соответствует предположению, что суборганизация фиксирует историю взаимодействий индивида с предметной областью.

3. Связность СИО.

Сравнение количества достоверных ($p \leq 0.05$) частных корреляций между переменными, описывающими активность групп нейронов в 10 поведенческих актах, показало, что в I группе животных таких связей больше, чем в III ($\chi^2 = 4.22$, $df = 1$, $p = 0.039$). Если учитывать только высокие коэффициенты корреляции, для которых $p < 0.001$, то количество связей компонентов СИО в I и II группах животных не различается ($\chi^2 = 0.43$, $df = 1$, $p = 0.83$), а в III группе достоверно меньше, чем в I и II группах ($\chi^2 = 4.52$, $df = 1$, $p = 0.033$).

Эти результаты показывают, что отношения, связывающие компоненты СИО в целостное образование, наиболее развиты и разнообразны в I и II группах животных, и наименее – в III группе.

Иерархический кластерный анализ 10 переменных, описывающих активации нейронов в поведенческих актах циклов Ц и Ц', показал, что для группы животных, обученных Испособом, переменные разделяются на 3 кластера (**рисунок 22, I**). Первый кластер включал две пары наиболее тесно связанных переменных, характеризующих активность нейронов в актах подхода к педалям и нажатие на них в циклах Ц' и Ц (P3–P4' и P3–P4). Второй кластер включал описание активности в актах захвата пищи в обеих кормушках (P1 и P1' в циклах Ц и Ц'). Третий кластер описывает активность в актах, связанных с получением пищи (P2 и P2' – жевание и поворот от кормушки; P5 и P5' – подход к кормушкам). Для животных, обученных II и III способами (**рисунок 22, II и III**), также были выделены попарные группировки переменных, описывающих одноименные акты в

циклах Ц и Ц'. Наиболее тесно связанная пара для животных всех групп – акты подхода к педалям и нажатия на них в Ц или Ц', т.е. P3 и P4 или P3' и P4'.

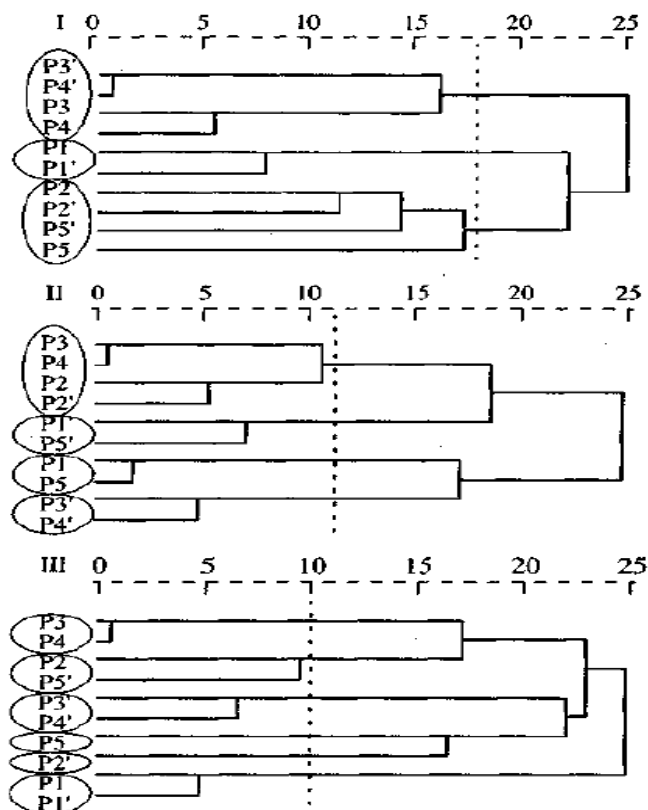


Рисунок 22. Дендрограммы разбиения нормированных оценок частоты спайковой активности нейронов в актах пищедобывательного поведения на кластеры у животных, обученных разными способами. P1, ..., P5 – акты цикла Ц, P1', ..., P5' – Ц'; I, II, III – группы животных, обученных разными последовательностями этапов; по горизонтали – нормированное расстояние между кластерами, вертикальными штриховыми линиями отмечены «значимые скачки» коэффициента слияния. Кругами обведены объекты, объединенные в кластеры.

Три кластера, определенные для I группы животных, включали 2, 4 и 4 объекта, для II группы – определено разбиение на четыре кластера – один крупный (4 объекта) и три кластера по два объекта, а для III группы шесть мелких кластеров – четыре кластера по два объекта и два кластера по одному объекту в каждом. Таким образом, СИО животных, обученных III способом, содержит большее количество групп компонентов СИО меньшего объема по сравнению с животными, обученными I и II способами (**рисунок 22**, ср. I, II и III).

Анализ активности нейронов методом многомерного шкалирования показал, что данные могут быть описаны в двухмерной системе координат достаточно хорошо (для

моделей по трем группам животных $S\text{-stress} < 0.025$, $R^2 > 0.58$). Качество моделей не улучшалось существенно при переходе к трехмерному пространству и ухудшалось при переходе к одномерному.

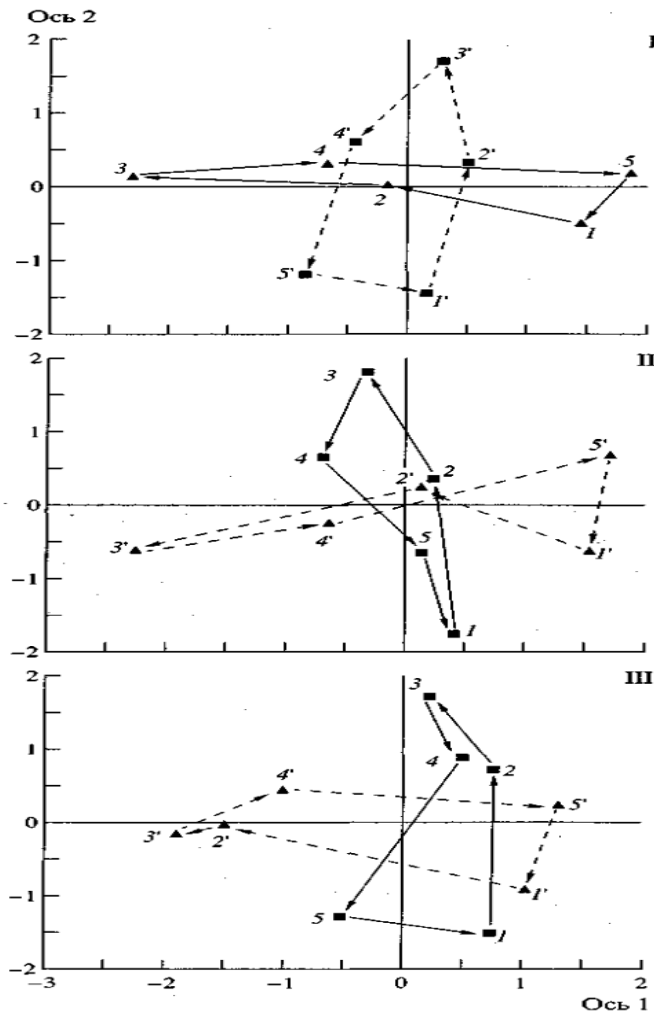


Рисунок 23. Геометрическая модель соотношения активности нейронов в актах пищедобывательного поведения кролика, построенная методом многомерного шкалирования. I, II, III – группы животных; 1, 2, 3, 4, 5 – акты цикла Ц, траектория их смены обозначена сплошными стрелками; 1', 2', 3', 4', 5' – акты цикла Ц', траектория их смены обозначена штриховыми стрелками

Сопоставление расположения точек, представляющих активность нейронов на плоскости, для трех групп животных (**рисунок 23**, I, II и III) показало, что точки, представляющие активность в актах цикла Ц, расположены так, что на один полюс оси 1 проецируются акты P5 и P1 (подход к кормушке и захват пищи), а на другой полюс – P3 (подход к педали). Проекция P2 и P4 (поворот от кормушки к педали и нажатие на нее) располагаются между ними так, что траектория, соединяющая все точки, воспроизводит порядок реализации актов в цикле. Проекция точек, соответствующих актам цикла Ц', на ось

2 упорядочены таким же образом. Можно полагать, что оси 1 и 2 отображают особенности и соотношение активности нейронов при реализации актов, составляющих циклы Ц и Ц'.

Отображения данных на плоскость для групп I, II и III совпадают с точностью до ортогонального поворота осей. Заметим, что евклидово расстояние инвариантно относительно вращения системы координат.

Хотя расположение актов на плоскости для всех трех групп животных обладает значительным сходством, отметим, что для I и II групп точки, представляющие активность нейронов в актах P2, P3, P4 (цикл Ц) и P2', P3', P4' (цикл Ц'), располагаются в непосредственно примыкающих друг к другу областях плоскости отображения. Для III группы точки, представляющие активность в этих актах, занимают области плоскости, далеко отстоящие друг от друга (ср. рис. 21, I, II и III), так что центральная часть плоскости остается незаполненной.

По сравнению с I и II группами в III группе животных, обученных при чередовании этапов обучения из разных циклов, между компонентами СИО формируется меньше взаимоотношений, причем в наибольшей степени это касается отношений оппонентности (частные корреляции); СИО содержит больше мало связанных кластеров компонентов (кластерный анализ); компоненты СИО, представляющие акты циклов Ц и Ц', меньше связаны друг с другом (многомерное шкалирование). Таким образом, СИО, сформированные при I и II способах обучения, обладают высокой связностью и сходны в этом отношении, СИО в III группе животных характеризуется существенно меньшей связностью.

4. Временные характеристики поведения.

Средняя длительность выполнения пищедобывательного цикла составила $M = 6.33$ с, медиана = 5.85 с, $\delta = 2.38$ с, размах распределения – от 2.0 до 21.9 с. Оценка нормальности распределения по критерию Колмогорова–Смирнова для выборки $KS=4.24$, $p < 0.0001$. После применения процедуры нормализации: $M = 0.0$, медиана = -0.003 , $\delta = 1.00$; $KS = 0.27$, $p = 1.0000$.

Результаты сопоставления времени выполнения цикла пищедобывательного поведения для кроликов, обученных различными способами, приведены в **таблице 4**.

Способ обучения	I	II	III
I	6.265 0.207	$F = 0.003$ $p = 0.957$ I = II	$F = 181.99$ $p < 0.0001$ I > III
II	$\chi^2 = 13.5$ $p = 0.246$ I = II	6.090 0.155	$F = 134.42$ $p < 0.0001$ II > III
III	$\chi^2 = 104.65$ $p < 0.0001$ I > III	$\chi^2 = 85.16$ $p < 0.0001$ II > III	4.783 -0.574

Примечание. По диагонали показаны оценки среднего времени по Тьюки: сверху – секунды; снизу – нормализованное время; над диагональю матрицы – величины F (ANOVA), оценка достоверности (p) и направленность различий; под диагональю – то же для медианного теста (X^2).

Таблица 4. Сопоставление времени выполнения пищедобывательного цикла при разных способах обучения животных.

Показано, что у животных, обученных III способом, длительность цикла значимо меньше, чем при обучении I и II способами.

Сопоставление времени выполнения циклов II и II' (медианный тест) не выявило достоверных различий ни для одной группы животных. При проведении индивидуальных сравнений установлена достоверная разница времени выполнения циклов только у двух животных, обученных I способом – у кроликов №1 ($\chi^2 = 6.48$, $df = 1$, $p = 0.011$) и №5 ($\chi^2 = 9.98$, $df = 1$, $p = 0.002$). В обоих случаях быстрее исполнялся цикл, бывший первым по порядку обучения.

5. Обсуждение результатов реконструкции и верификации СИО у кролика

1. Компоненты СИО, представляющие акты репертуара, и их группы.

При исследовании поведенческой специализации нейронов установлено существование двух типов компонентов СИО, представляющих акты репертуара. Одному из них соответствуют группы нейронов, специализированных относительно определенного акта репертуара, другому – группы нейронов, специализированных относительно двух актов репертуара.

Феноменологическая специализация нейрона относительно двух актов репертуара не означает совмещения двух отдельных специализаций на одной клетке. Группа нейронов, феноменологически специализированных относительно двух или даже большего числа актов репертуара, представляет такой же унитарный компонент СИО, как и группа нейронов, специализированная относительно одного акта, поскольку нейроны обладают только единичной поведенческой специализацией, фиксирующей один этап научения (см. Александров Ю.И. и др. 1997, Швырков В.Б., 1995, Shvyrkov V.B., 1990).

Группа специализированных нейронов, сформированная на начальных этапах обучения, является «прасистемой» для компонентов СИО, обладающих общностью цели/результата, способа или обстоятельств действия, которые образуются в процессе дифференциации «прасистемы» при усложнении взаимоотношений субъекта с миром и увеличении их дробности (Александров Ю.И., 1989, Александров Ю.И. и др., 1997, Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., 1995, Shvyrkov V.B., 1990). Специализация группы нейронов относительно прасистем дефинитивного поведения проявляется в феномене «двойной» или «множественной» специализации. Таким образом, компоненты СИО, представленные группами нейронов с «двойной» специализацией (им соответствует не конкретный акт репертуара дефинитивного поведения, а пара или группа актов), могут рассматриваться как протокомпоненты для компонентов СИО, представляющих единичные акты репертуара.

Все обсуждаемые группы специализированных нейронов и представленные ими компоненты СИО сформированы при обучении кроликов пищедобывательному поведению в экспериментальной клетке. Это согласуется с данными о преимущественной специализации нейронов лимбической коры относительно наиболее новых компонентов индивидуального опыта (Шевченко Д.Г. и др., 1986, Shevchenko D.G. et al., 1989).

2. Взаимоотношения между компонентами СИО.

Взаимоотношения компонентов СИО, представляющих акты репертуара, формируются в соответствии с общностью характеристик актов. Общность цели/результата одного акта и начальных условий реализации другого проявляется в «облегчающем» влиянии предшествующего акта на последующий. Этой общности соответствует отношение следования, определяющее последовательность актов пищедобывательного цикла. Заметим, что особенности общности компонентов, связанных отношениями следования, предопределяют нетранзитивность и несимметричность такого отношения.

Общности целей/результатов, ситуации и/или способа действия соответствуют отношению синергии, разрешающему одновременную актуализацию компонентов СИО. Несовместимости или противоречия в содержательных характеристиках компонентов СИО лежат в основе отношения оппонентности, которое ограничивает возможности одновременной актуализации компонентов СИО или налагает на нее запрет. Нами показано, что отношения синергии и оппонентности обладают свойством симметричности.

Иной тип отношений связывает компоненты СИО, представленные нейронами, специализированными относительно двух актов, и компоненты СИО, представленные нейронами со специализациями относительно каждого из этих актов. Отношение между протокомпонентом и компонентами, представляющими результат его дифференциации, можно идентифицировать как отношение генерации, нетранзитивное, антирефлексивное,

несимметричное (Осипов Г.С., 1997). Заметим, что влияние компонента СИО, представленного нейронами с «двойной» специализацией, обеспечивает одновременную актуализацию компонентов СИО, имеющих широкий спектр общностей, не определяя порядок реализации соответствующих актов, т.е. обладает сходством с инструментальной связью.

Судя по вариациям коэффициентов частной корреляции, характеризующих тесноту отношений следования, синергии и оппонентности, интенсивность этих типов отношений изменяется градуально.

Все рассмотренные типы отношений могут реализовываться одновременно на одном и том же множестве компонентов СИО. Отношения синергии/оппонентности определяют специфику целостного состояния структуры опыта в каждый данный момент времени, отношения же следования – последовательность этих состояний в процессе реализации поведения.

3. Связность СИО.

Применение различных способов обучения, в данном исследовании – разных последовательностей формирования идентичных этапов пищедобывательных циклов, определяет не только отдельные характеристики СИО, но и связность структуры, характеризующую ее целостность; при этом СИО, сформированные при I и II способах обучения, обладают наибольшей, а при III способе – наименьшей связностью. Чем меньше соответствие между порядком приобретения актов и последовательностью их реализации в дефинитивном поведении, тем меньшей связностью обладает СИО.

Установлено, что животные, обученные III способом, совершают поведенческий цикл значительно быстрее, чем обученные I и II способами, причем максимальное время выполнения цикла отмечено в I группе животных. Различия групп по времени выполнения цикла можно сопоставить с характеристиками связности СИО, сформированных у животных этих групп. Установлено, что количество отношений синергии и оппонентности, связывающих компоненты структуры опыта, достоверно больше в I группе животных, чем в III. Эти отношения определяют состав наборов одновременно актуализированных компонентов структуры. Чем больше компонентов СИО связано взаимоотношениями этих типов, тем больше разнообразие актуализированных компонентов опыта, представляющих множество альтернатив в развитии поведения. Судя по данным литературы (см., например, Хофман И., 1986, Luce R.D., 1986), именно меньшее количество актуализированных компонентов структуры опыта и меньшее их сходство у животных III группы может служить объяснением наиболее быстрого выполнения цикла, по сравнению с I и II группами.

Таким образом, конкретная подструктура (домен) индивидуального опыта, фиксирует результаты взаимодействий с предметной областью (Аверкин А.Н. и др., 1992) среды, которая понимается как совокупность объектов, взаимосвязанных определенными отношениями. Составляющие СИО находятся в зависимости и от истории обучения, и от заданных экспериментатором объективных условий пищедобывательного поведения и последовательности событий, необходимой для достижения результата животным, т.е. структуры домена опыта взаимодействий с предметной областью.

Наборы компонентов СИО и распределение нейронов, специализированных относительно актов, представляющих эти компоненты, а также отношения следования, не зависят от способа обучения и, следовательно полностью определяются структурой предметной области.

Формирование групп компонентов СИО, отношений синергии, оппонентности, генерации и инструментальных связей зависит от истории взаимоотношения животного с предметной областью. Заметим, что в наибольшей степени это касается отношений оппонентности.

Сопоставление структур индивидуального опыта кроликов и структур индивидуальных знаний игроков в игре «крестики-нолики на поле 15x15 клеток» (Александров И.О. и др., 1999, Александров И.О., 2006) позволил выявить некоторые общие характеристики этих структур:

– Базовые компоненты таких структур фиксируются в типах поведенческой специализации нейронов, а отношения базовых компонентов – исходные и производные — реализуются как взаимовлияния групп специализированных нейронов. Интенсивность этих отношений изменяется градуально, поэтому применение для их описания логических операторов имеет определенные ограничения.

– Отношения между базовыми компонентами связывают компоненты второго типа в группы: 1) базовых компонентов второго типа с общим происхождением; 2) устойчивых последовательностей компонентов, обеспечивающих прогноз и достижение отдаленных целей; 3) доменов, которые объединяют компоненты по принципу общности их соответствия содержательным характеристикам предметной области. Домены обладают сложной структурой, отражающей разнообразие общностей входящих в них компонентов. Группам базовых компонентов второго типа соответствуют специфические базовые компоненты первого типа, обеспечивающие существование этих групп как структурных образований.

3.1.4. Различия в активности популяции ретроспленциальных нейронов на разных стадиях консолидации инструментального навыка у крыс.

В следующей серии экспериментов, проведенных на крысах, была предпринята попытка проследить динамику формирования специализаций относительно актов циклического пищедобывательного поведения путем сравнения наборов нейронов разных специализаций в разные дни после завершения формирования пищедобывательного цикла. В этой работе животные были обучены пищедобывательному поведению только на одной из сторон стандартной экспериментальной клетки (см. Методика.).

Регистрация активности нейронов у первой группы животных ($n=5$) проводилась в течение первых шести дней сразу после обучения нажатию на педаль, а у животных второй группы ($n=7$) - спустя неделю, в течение которой животные не выполняли выученный навык.

Наборы нейронов. В **таблице 5** приведены данные сопоставления активности с поведением всех зарегистрированных нейронов ($n=379$) в двух группах животных.

Группа животных		1–6 дней после обучения $n = 6$			7–15 дней после обучения $n = 5$			
		педаль	кормушка	всего	педаль	кормушка	всего	
Н-нейроны	специализация							
	Вероятность активации	100%	11	4	15	13	9	24
		Менее 100%	10	0	10	0	1	1
Д-нейроны			25			28		
НС			150			126		
Всего			200			179		

Таблица 5. Классификация активности нейронов ретроспленальной коры крыс в пищедобывательном поведении на ранних и поздних этапах консолидации навыка.

Для обеих групп был характерен неразличимо высокий процент нейронов с неустановленной специализацией (НС) (точный критерий Фишера (КФ), $p=0.18$), по количеству нейронов движения (Д) они также значимо не отличались (КФ, $p=0.23$). Но, при сравнении доли «новых» (Н) нейронов со стабильными (100%-ми) активациями в выученном поведении, оказалось, что в первые дни после обучения таких клеток было меньше, чем через неделю после завершения обучения (КФ, $p=0.042$). Кроме нейронов, связанных с кормушками и педалями, были и другие новые специализации, что выражается в большем числе новых нейронов через неделю после обучения, чем сумма нейронов в столбиках таблицы: «кормушка» и «педаль». Для этой категории нейронов были также посчитаны средняя частота за все время регистрации, частота в специфическом акте и отношение частоты во время активации к средней. Отношение частот в специфическом и остальных

актах поведенческого цикла была значимо больше у специализированных нейронов в первые дни после обучения (медиана – 3,18), чем на более поздних сроках регистрации (медиана – 2,46) ($M-W(U)=2.22, p=0.026$). Ранее нами было обнаружено, что в первые дни после обучения можно выделить группу клеток, специфически активных не во всех, а только в 75-90% актах (Кузина, 2013) выученного поведения – примеры активности нейронов со 100% и не-100% вероятностями активаций приведены на **рисунке 24**.

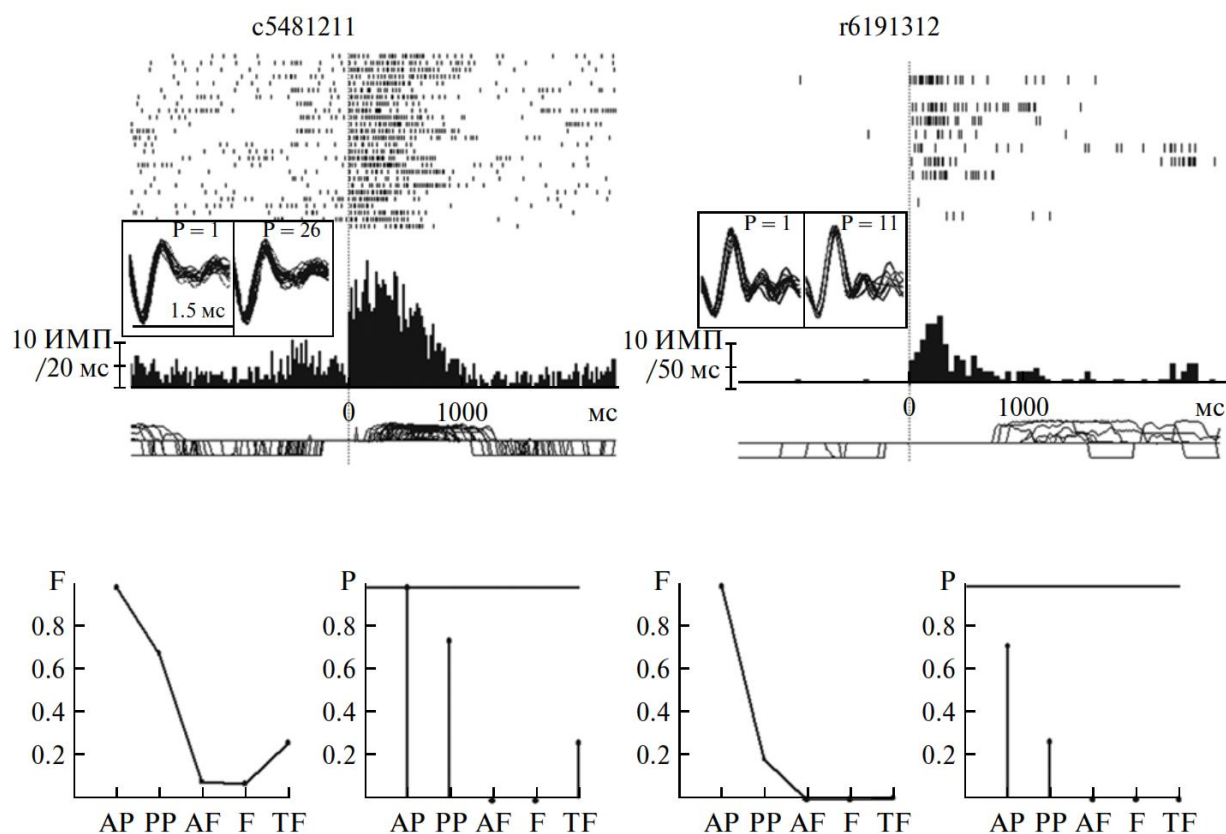


Рисунок 24. Н-нейроны с разными вероятностями появления активаций в актах подхода и нажатия на педаль. Вверху: Растры и гистограммы активности нейронов: А. нейрон, у которого активация при подходе к педали (с5481211, средняя фоновая частота – 9.35 Гц, частота в специфическом акте – 33 Гц) появлялась с вероятностью 100%. Б. нейрон, у которого активация при подходе к педали появлялась только в 75% актов (r6191412, средняя фоновая частота – 1.9 Гц, частота в специфическом акте – 9.45 Гц). Усредненные перистимульные гистограммы активности нейронов. По оси абсцисс – время в мс; «0» соответствует началу подхода к педали. По оси ординат - число спайков в канале гистограммы. Над гистограммой – растры активности: строка – отдельная реализация, точка – спайк нейрона. В рамках в левом нижнем углу каждого растра приведены примеры формы спайков соответствующих нейронов в первых и последних реализациях (P) актов подхода к педали. Под гистограммой - актограмма поведения (суперпозиция); отклонение вверх –

нажатие на педаль, вниз – опускание морды в кормушку. Ширина канала гистограммы нейрона r6191312 – 50 мс, нейрона c5481211 – 20 мс. Внизу: Ордината: F - нормализованная средняя частота, P - вероятность активации нейронов в актах циклического поведения. Абсцисса – обозначения актов: AP – подход к педали, PP – нажатие на педаль, AF – подход к кормушке, F – захват пищи в кормушке, TF – отход от кормушки.

В группе «неделя после обучения» было достоверно меньше ($n=1$) новых нейронов с не-100% вероятностью активации, по сравнению с группой «первые дни после обучения» ($n=10$) (КФ, $p=0.01$). Все нейроны новых специализаций с не-100% активациями в первые дни после обучения ($n=10$) имели повышенную частоту активности в актах подхода и нажатия на педаль, тогда как в эти дни все клетки, специализированные относительно «кормушечных» актов ($n=4$) имели 100% активации (КФ, $p=0.003$). Наличие нейронов с не 100% вероятностью активации на конкретном этапе в первые дни может быть связано с большей вариативностью способов осуществления этапа и связью активаций конкретного нейрона с одним из способов реализации этапа. При последующем сопоставлении нейронной активности с отдельными способами осуществления этапов это предположение подтвердилось (Кузина и Александров, 2016). Объединение групп Н-нейронов с разной вероятностью активации в первые дни после обучения привело к тому, что процент Н-нейронов стал одинаковым на двух временных этапах (13% и 13.96%). Тем не менее, соотношение доли «педальных» и «кормушечных» нейронов значимо поменялось: в первые дни нейронов «педальных» актов было значимо больше, чем «кормушечных» (КФ, $p=0,0003$), а через неделю – достоверно не различалось (КФ, $p=0.28$). Также, хотя не было обнаружено значимых различий в частоте встречаемости всех Н-нейронов в нижних и верхних слоях коры (КФ, $p=0.233$ (1 группа); $p=0.5$ (2 группа)), в первые дни после обучения у клеток верхних слоев была выше средняя частота активности ($F_{cp} = 3.8 \pm 1.9$ Гц), чем в нижних ($F_{cp} = 1.78 \pm 1$ Гц) (M-W=2, $p=0.045$), и большее отношение специфической частоты к фоновой у нейронов нижних слоев (4,12 против 3,09: M-W=-2, $p=0.045$). При анализе плотности активных нейронов в треке (отношения числа встреченных нейронов за одну проходку электрода вниз к длине трека, выраженной в сотнях микрон) оказалось, что среднее число активных нейронов на 100 мкм трека, в проходках с числом Н-нейронов ≥ 1 , было больше у крыс через неделю после обучения: 1.5 – через неделю, 1.1 – в первые дни (M-W(U)=-2.22, $p=0.026$).

Поведение. В первые дни после обучения нажатие на педаль у крыс из группы регистрации нейронной активности сразу после обучения («первые дни») происходило уменьшение длительности (t) и вариативности (v) выполнения поведенческого цикла по

мере ежедневного повторения навыка (у разных животных от 5 до 10 дней). Сравнение средней длительности и стандартного отклонения времени цикла в первой половине регистрации (1-5 дни) и во второй (6-10 дни) в этой группе выявило достоверные различия: $M-W(t,v) > 2.61$, $p < 0.009$. В то же время при попарных сравнениях поведения в последующие друг за другом дни достоверные различия выявлены не были. В отличие от предыдущей в группе «неделя после обучения» различий параметров поведенческого цикла в первые 5 дней регистрации и во вторые 5 дней выявлено не было: $M-W(t) = 0.57$, $p = 0.56$; $M-W(v) = 0.28$, $p = 0.77$). Однако, в группе крыс с регистрацией нейронной активности через неделю после первоначального обучения, при попарных сравнениях соседних дней, было выявлено достоверное увеличение длительности и вариативности реализации от первого к третьему дню повторения (наименьшие значения критерия при попарных сравнениях: $M-W(t) = -3.28$, $p = 0.0011$; $M-W(v) = -2.37$, $p = 0.017$), а к седьмому, наоборот- уменьшение ($M-W(t) = 3.93$, $p < 0.0001$; $M-W(v) = 2.08$, $p = 0.036$).

При сравнении процентного соотношения нейронов ретроспленальной коры разной поведенческой специализации у животных в первые дни и через неделю после формирования циклического пищедобывательного навыка нажатия на педаль оказалось, что в первые дни после обучения достоверно большая доля клеток, специализированных относительно подхода и нажатия на педаль (40% - первые дни и 4% - через неделю), имели нестабильные (не-100%-ые) активации в специфических актах. Поскольку через неделю и в первые дни после обучения между сравниваемыми выборками нейронов не было выявлено достоверных различий по частотным характеристикам и распределению в нижних и верхних слоях коры, постольку нестабильность специфических активаций части этих клеток в дефинитивном поведении может отражать как процессы реорганизации системы предшествующего по времени обучения (Сварник О.Е. и др., 2014) и по последовательности в поведенческом континууме акта (подхода к педали) (Александров Ю.И. и др., 2014), так и особенности формирования новой системы (см., например, Smith D.M. et al., 2012; Weible A.P. et al., 2012). В том числе процессы формирования межсистемных связей между ней и другими элементами опыта, т.е. процессов «вписывания» данной системы в целостную структуру опыта, ведущих к дальнейшей дифференциации этой структуры. У животных, которые после обучения в течение недели находились в домашней клетке, в первые дни тестирования время и вариативность выполнения циклического поведения не отличались от группы животных сразу после обучения. В то время как у крыс группы «первые дни» наблюдалось плавное снижение времени и вариативности цикла по мере ежедневного повторения, во второй группе, наоборот, длительность увеличивалась. Наряду с достоверным увеличением числа активных нейронов в треке, по сравнению с выборкой на

ранних этапах после обучения, обнаруженные различия показывают, что при актуализации опыта, по крайней мере, через неделю после его формирования процессы аккомодационной реконсолидации (реорганизации ранее сформированных систем при «вписывании» в структуру опыта вновь формируемой системы Александров Ю.И., 2012, Alexandrov Yu.I. et al., 2001) могут протекать не в меньшем объеме, чем в первые дни после обучения. На той же модели ЦИПП, но на кроликах в ретроспленальной коре также была продемонстрирована динамика связи активности нейронов с поведением на второй неделе после формирования поведения по сравнению с первой неделей (Созинов А.А. и др., 2015).

Не было обнаружено достоверных различий в паттернах специализации нейронов ретроспленальной коры на ранних и поздних этапах консолидации инструментального навыка. Однако, характеристики активности внутри группы нейронов, специализированных относительно выученного поведения, различаются. На ранних этапах после обучения 40% нейронов, специализированных относительно систем выученных актов, вовлекались в новое поведение не в 100% реализаций поведения. Все эти клетки имели повышенную частоту активности в актах подхода и нажатия на педаль, которым животные обучались непосредственно перед экспериментом. На поздних этапах доля таких клеток достоверно уменьшалась (до 4%).

3.1.5. Сравнение паттернов активности популяций нейронов ретроспленальной коры крыс у разных индивидов и в разном возрасте.

В следующем исследовании для изучения вопроса о том, как временные и точностные характеристики поведения представлены в активности нейронов, было проведено сравнение активности популяции нейронов ретроспленальной коры (РК) у групп индивидов разного возраста: взрослых и старых. Причем группа старых крыс, которых обучали ЦИПП в старом возрасте, была разделена на две подгруппы – «наивных», и «предварительно обучавшихся» во взрослом возрасте разным формам поведения в той же экспериментальной клетке (см. Методика).

Поведение. В группах старых, ранее не обучавшихся, и взрослых крыс не было обнаружено значимых различий в средней длительности реализации пищедобывательного цикла на первой и второй по порядку обучения сторонах экспериментальной клетки (средние значения времени цикла у старых крыс: 4.64 ± 1 с на первой стороне, 5.17 ± 1.37 с – на второй; у взрослых: 4.54 ± 1.59 с – на первой стороне и 5.14 ± 2 с – на второй, тест Манна–Уитни (M–W), $Z=1.05-0.92$, $p = 0.29-0.35$). Однако старые крысы достоверно чаще проверяли пустые кормушки, по сравнению со взрослыми животными (у старых среднее

значение отношения проверочных посещений кормушки к результативным составляло 40.7% для первой кормушки и 33.3% для второй кормушки; у взрослых – 29.8 и 25%, соответственно, $M-W, Z = -8.379, p < 0.001$ для первой стороны, $Z = -4.179, p < 0.001$ – для второй). Аналогичные результаты были получены в двух сравнительных исследованиях, которые обнаружили, что старые крысы проводят больше времени у кормушек, по сравнению с молодыми животными (Caetano M.S. et al., 2012; Samson R.D. et al., 2014). Причем именно данная особенность, по-видимому, помогала старым животным быстрее перестроить свое поведение в случае потери его результативности (Samson R.D. et al., 2014).

Стоит отметить, что при отсутствии различий поведения между группами была выявлена высокая индивидуальная вариативность временных характеристик актов пищедобывательного поведения. На **рисунке 25** приведены индивидуальные паттерны длительности и вариативности длительности отдельных поведенческих актов в ЦИПП.

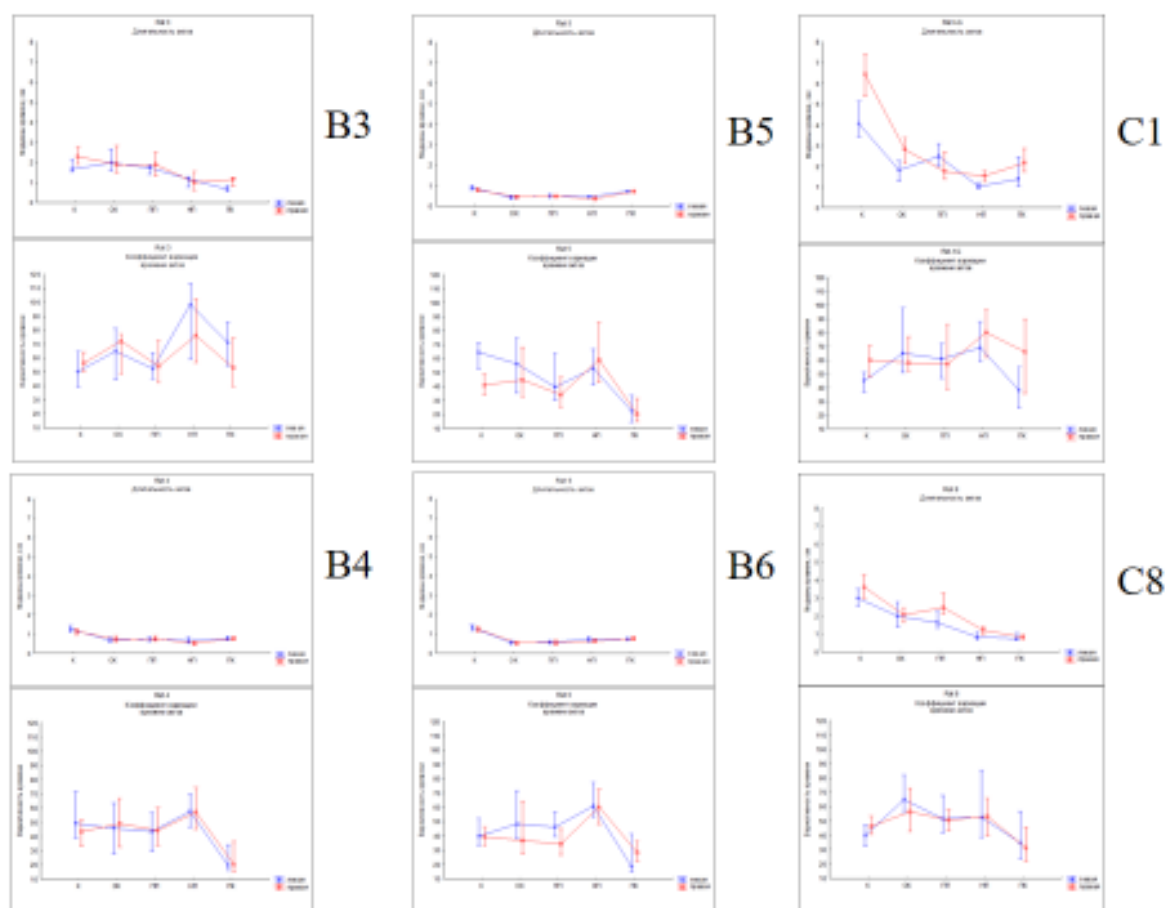


Рисунок 25. Индивидуальные паттерны длительностей и вариативностей длительности отдельных актов в ЦИПП. В3-В6 – четыре взрослые крысы, С1, С8 – две старые крысы. Ряд паттернов с номерами крыс – медианы и квантили длительности актов в секундах, ряды под ними – то же для вариативности длительности актов в процентах. Обозначения актов: К – нахождение морды в кормушке; ОК – отход от кормушки; ПП –

подход к педали; НП – нажатие педали; ПК – подход к кормушке. Цветом выделены паттерны на конкретной стороне клетки.

Импульсная активность нейронов РК в поведении. Нами была зарегистрирована активность 241 нейрона у 4 взрослых крыс и 268 нейронов у 4 старых крыс. Сравнение средней частоты импульсации нейронов в пищедобывательном поведении выявило достоверно более высокий уровень активности у нейронов РК взрослых животных (средняя частота импульсации ($F_{ср.}$) у взрослых = 5.01 Гц, $F_{ср.}$ у старых = 2.71 Гц, $M-W$, $Z = -5.506$, $p < 0.001$). Эти данные согласуются с результатами других исследований на корковых структурах, в которых также было обнаружено уменьшение с возрастом средней частоты активности нейронов префронтальной коры (Caetano M.S. et al., 2012), и снижение доли высокоактивных (с частотой 6–30 Гц) нейронов гиппокампа и сенсомоторной области коры (Копытова Ф.В. и др., 2003; Kopytova F.V. et al., 1992).

Критерию специализации относительно сформированных при обучении в экспериментальной камере новых систем поведенческих актов (полуторакратному превышению частоты активности над средней во всех, без исключения, реализациях данного акта или группы актов) отвечала активность 8 нейронов из 268, зарегистрированных у старых животных, и 21 нейрона из 241 – у взрослых. Пример активности нейрона, специализированного относительно актов подхода и залезания во вторую по порядку обучения кормушку, показан на **рисунке 26, А**. Статистическое сравнение долей таких нейронов по критерию Хи-квадрат (χ^2) выявило достоверное превышение их числа у взрослых животных, по сравнению со старыми ($\chi^2 = 6.687$, $p < 0.01$). Другие авторы используют в качестве критериев связи активности с поведением только статистически достоверные отличия частоты разряда, что приводит к увеличению доли связанных с поведением нейронов (см., например, в (Tabuchi E. et al., 2005)). Однако авторы не указывают, насколько стабильно возникают эти активации, а, следовательно, не известно, какие из этих нейронов являются специализированными (в соответствии с нашим критерием) относительно новых систем поведенческих актов, сформированных при обучении в экспериментальной клетке. Обнаруженное нами уменьшение доли специализированных нейронов РК при старении в совокупности с данными, полученными при регистрации импульсной активности в других структурах мозга (Barnes C.A. et al., 1997; Burke S.N. et al., 2012; Caetano M.S. et al., 2012; Schoenbaum G. et al., 2006; Wilson I.A. et al., 2004), указывает на то, что при старении снижается специфичность связи активности нейронов со вновь сформированным поведением.

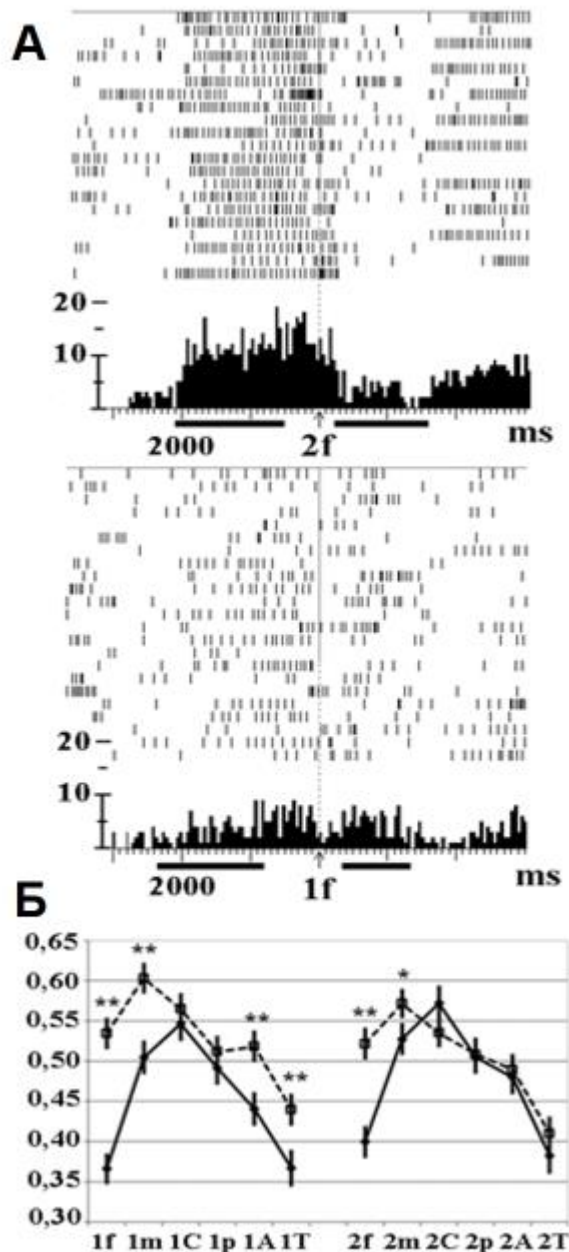


Рисунок 26. Растры и усредненные поактовые гистограммы активности нейрона, специализированного относительно подхода и залезания в правую кормушку (вторую в истории обучения), и паттерн активности популяции нейронов в ЦИПП.

А. Верхний график – растр и гистограмма активности на правой стороне экспериментальной клетки, усреднение от вынимания головы из кормушки (2f). Нижний график – растр и гистограмма активности на левой стороне, усреднение от момента вынимания головы из левой кормушки (1f). По оси абсцисс – время в мс. По оси ординат – число спайков в канале гистограммы. Под гистограммой черными прямоугольниками показаны распределения времен актов залезания в кормушку (слева) и начала отворота к педали (справа). Ширина канала гистограммы нейрона 50 мс.

Б. Усредненные паттерны нормированных средних частот активности всех зарегистрированных нейронов РК у взрослых и старых крыс. По оси абсцисс: акты поведения на первой в истории обучения (индекс 1) и второй (индекс 2) сторонах клетки, соответственно; f - нахождение морды животного в кормушке с пищей, m - подъем головы из кормушки и поворот к середине боковой стороны клетки, С - подход в угол педали, р - нажатие на педаль, А - побежка от педали к кормушке, Т – нахождение морды животного в пустой кормушке. По оси ординат — нормированная средняя частота разрядов. Сплошными линиями и ромбами даны значения взрослых крыс, пунктирными линиями и квадратами — старых. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка измерения. *- $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$ – попарное сравнение нормированных средних частот в актах поведения у взрослых и старых крыс по критерию Манна-Уитни.

Сравнение усредненного паттерна активности всех зарегистрированных нейронов взрослых крыс и всех нейронов старых крыс в выделенных 12 актах циклического инструментального поведения выявило достоверные различия нормированной средней частоты активности в 6 актах. Этот результат представлен на **рисунке 26, Б**. Нормализованная частота разрядов нейронов у старых животных была достоверно выше, по сравнению со взрослыми, в актах подхода к первой в истории обучения кормушке (акт 1А) (M–W, $Z = -3.344$, $p < 0.01$), при наклоне и захвате в ней пищи (1f) (M–W, $Z = -6.682$, $p < 0.001$), при ее проверке без нажатия педали (1Т) (M–W, $Z = -2.875$, $p < 0.01$), вынимании из нее головы и повороте к середине стенки (1m) (M–W, $Z = -3.869$, $p < 0.01$), наклоне во вторую кормушку и захвате в ней пищи (2f) (M–W, $Z = -4.815$, $p < 0.001$), а также вынимании из нее головы и повороте к середине стенки на второй стороне (2m) (M–W, $Z = -1.974$, $p < 0.05$). Все эти акты входят в “кормушечную” часть поведенческого цикла и являются исходными, “базовыми” (Александров Ю.И., 1989) для всего инструментального пищедобывательного поведения в экспериментальной клетке. Значимость базовых актов для старых индивидов была продемонстрирована в работе Schoenbaum G. с соавторами (Schoenbaum G. et al., 2006).

Попарное сравнение аналогичных актов из двух разных поведенческих циклов (например, нажатия первой и второй педалей) не выявило достоверных различий нормированных средних частот активности по критерию Манна–Уитни в обеих группах животных. В то же время из возможных 45 пар актов нами были обнаружены достоверные различия нормированных частот для 18 пар актов в группе старых животных и для 28 пар в группе взрослых животных (по критерию Вилкоксона, с $p < 0.05$). По этому показателю группы достоверно различались (точный критерий Фишера, $p = 0.029$ односторонний). В

результате этих попарных сравнений в каждой группе крыс было выявлено по одному акту, отличавшемуся от всех остальных, за исключением аналогичного акта на второй стороне. Для группы взрослых животных это был акт посещения первой по порядку обучения кормушки с захватом в ней пищи (акт 1f, **рисунок 26, Б**) с наименьшей нормализованной частотой по всей выборке нейронов, а для группы старых животных таким актом был акт подъема головы из первой кормушки с поворотом до середины стенки (1m, **рисунок 26, Б**), нормализованная частота активности в котором была максимальной, по сравнению с остальными актами. Количество различий между отдельными актами по нормированным частотам активности выборок зарегистрированных нейронов может служить показателем селективности активности данной структуры в поведении (Caetano M.S. et al., 2012), аналогично используемому в работах с функциональным картированием критерию «дифференцированности» активации областей мозга при выполнении различных задач (Sala-Llonch R. et al., 2015). В таком случае, паттерн активности РК в ЦИПП у старых животных может быть охарактеризован одним сильно отличающимся компонентом, соответствующим “базовым” кормушечным актам, и меньшей селективностью активности в остальных актах выученного поведения. Поскольку в исследованиях с регистрацией активности клеток в других структурах мозга у старых животных были обнаружены сходные закономерности, связанные, в том числе, с меньшей поведенческой селективностью наборов нейронов (Caetano M.S. et al., 2012), сниженной долей специфически активных на определенных этапах поведения нейронов (Burke S.N. et al., 2014; Wilson I.A. et al., 2004), меньшей средней частотой активности клеток (Burke S.N. et al., 2014; Caetano M.S. et al., 2012; Копытова F.V. et al., 1992), можно предположить, что в старости формирование нового поведения в меньшей степени увеличивает дифференцированность системной структуры опыта индивида. Одним из важных факторов этого уменьшения является сравнительно большая роль нейронов, специализированных относительно систем прошлого опыта, в обеспечении данного поведения.

У той же популяции животных было проведено сопоставление дифференцированности активности нейронов в поведении, определяемой как неравномерность частот импульсации в разных поведенческих актах, с временными параметрами реализуемых актов поведения. В качестве показателя дифференцированности нейронной активности в поведении было выбрано значение непараметрического критерия Фридмана для оценки неравномерности частот активности в поведенческих актах. Из проанализированных 274 клеток доля нейронов с неравномерной импульсацией, соответствовавших уровню достоверности данного критерия в 5% ($p < 0,05$), значительно не различалась в поведении на первой и второй по порядку обучения сторонах клетки. Однако

доля случаев корреляции частоты импульсации с длительностью акта была достоверно выше для активности в поведении на первой стороне (X^2 , $p < 0,001$). Расчет корреляций частоты активности нейрона в выделенных пяти актах пищедобывательного поведения на одной стороне клетки с их длительностью показал (**рисунок 27**) для обеих групп животных достоверно большую долю корреляций с длительностью поведенческих актов для нейронов с дифференцированной активностью, чем без таковой. В достоверно большем числе случаев корреляция частоты импульсации нейрона и длительности поведенческого акта была положительной, по сравнению с числом случаев с отрицательной корреляцией.

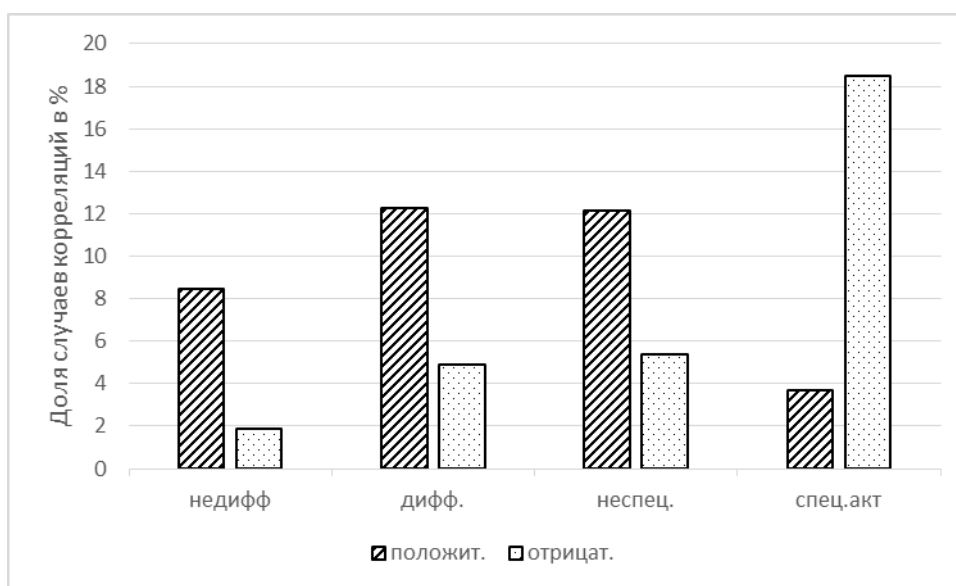


Рисунок 27. Доли положительных (1) и отрицательных (2) корреляций частоты импульсации нейрона с длительностью поведенческого акта в разных формах активности нейронов. По оси ординат дана доля сравнений с обнаруженной достоверной корреляцией частоты импульсации нейрона и длительности акта. По оси абсцисс представлены последовательно следующие варианты нейронной активности: недифференцированная активность; дифференцированная активность нейронов с неустановленной специализацией; неспецифическая активность специализированных нейронов; активность специализированных нейронов в специфических поведенческих актах.

На **рисунке 27** представлены доли случаев положительных и отрицательных корреляций для разных вариантов дифференцированности импульсации корковых нейронов в поведении. Во всех случаях (**рисунок 27**) доли положительных и отрицательных корреляций достоверно отличаются по точному критерию Фишера. Различие суммарной доли положительных и отрицательных корреляций также было достоверно между случаями

недифференцированной активности, по сравнению с дифференцированной и специфической. Обращает на себя внимание инвертированное по отношению к другим формам активности соотношение корреляций разного знака для специфической активности. Исследование показало, что может быть выявлена связь частоты активности нейронов с длительностью поведенческих актов, и эта связь различна для нейронов с разной степенью дифференцированности активности в поведении.

Нами был разработан и применен другой способ оценки дифференцированности активности нейрона в поведении. Оценка дифференцированности нейронной активности выводилась на основе попарных сравнений выборок частоты импульсации нейрона в актах ЦИПП. В качестве оценки степени дифференцированности мы брали отношение числа пар с выявленными достоверными (по непараметрическому критерию Вилкоксона) различиями частоты импульсации к общему числу пар сравниваемых актов. Оказалось, что средние значения определяемой таким способом дифференцированности нейронной активности (категоризация на основе сравнений по критерию Вилкоксона) выборки зарегистрированных у конкретного животного нейронов высоко коррелируют с показателями поведения при межиндивидуальных сравнениях. В качестве примера на следующем **рисунке 28** приведены значения двух выше описанных показателей дифференцированности активности нейронов и такой поведенческий показатель, как доля ошибок исполнения поведенческой задачи. На этом рисунке представлены те же крысы, что и на **рисунке 25**.

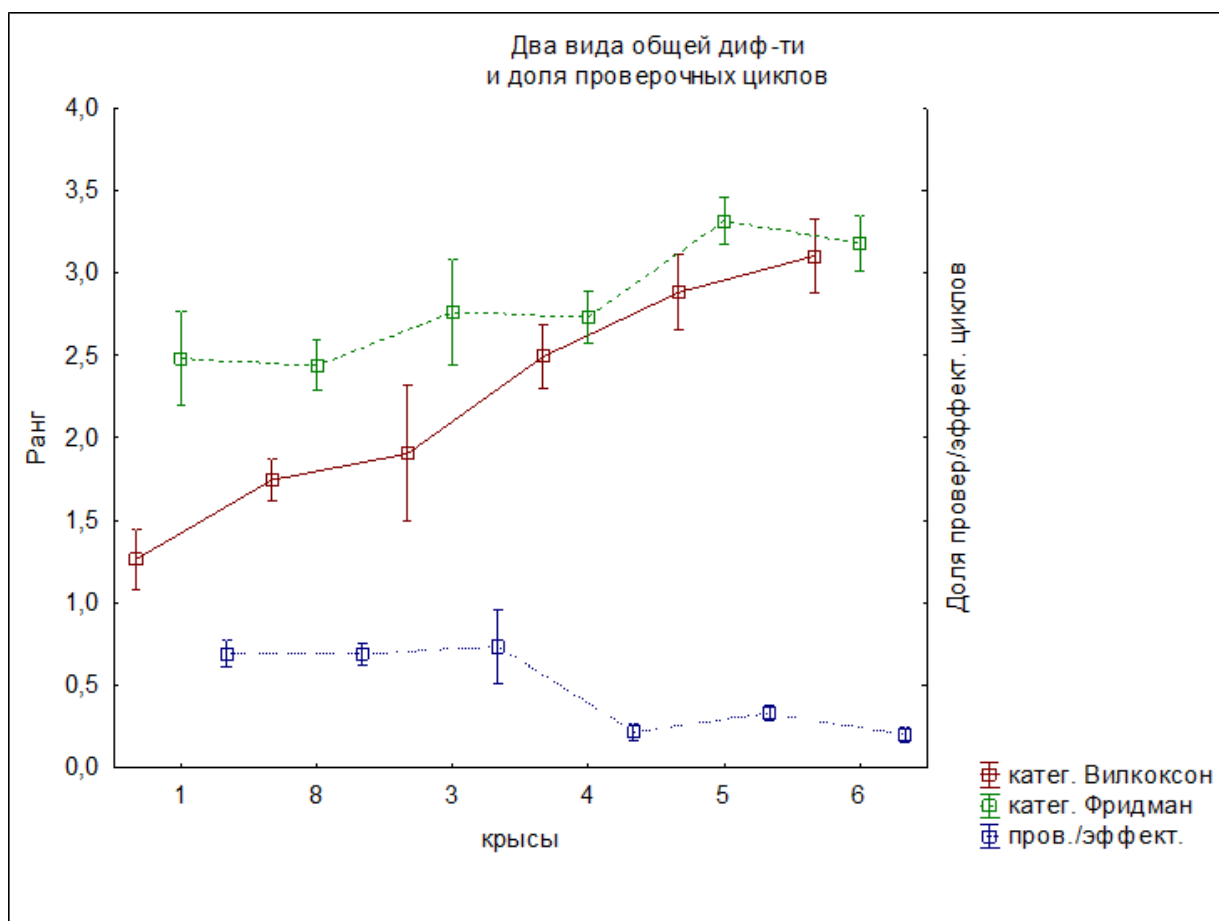


Рисунок 28. Индивидуальные значения показателей дифференцированности нейронной активности (категоризация на основе критерия Фридмана и категоризация на основе парных сравнений по критерию Вилкоксона) и доли ошибочных реализаций ЦИПП. По оси абсцисс представлены данные показателей в виде рангов для совмещения их на одном рисунке. Данные даны как средние значения и стандартные ошибки по выборкам нейронов и поведенческих циклов у конкретного животного.

На следующем **рисунке 29** представлена расширенная выборка животных (за счет включения еще 2 старых животных) и поведенческих показателей (добавлены параметры длительности и вариативности длительности поведенческого цикла).

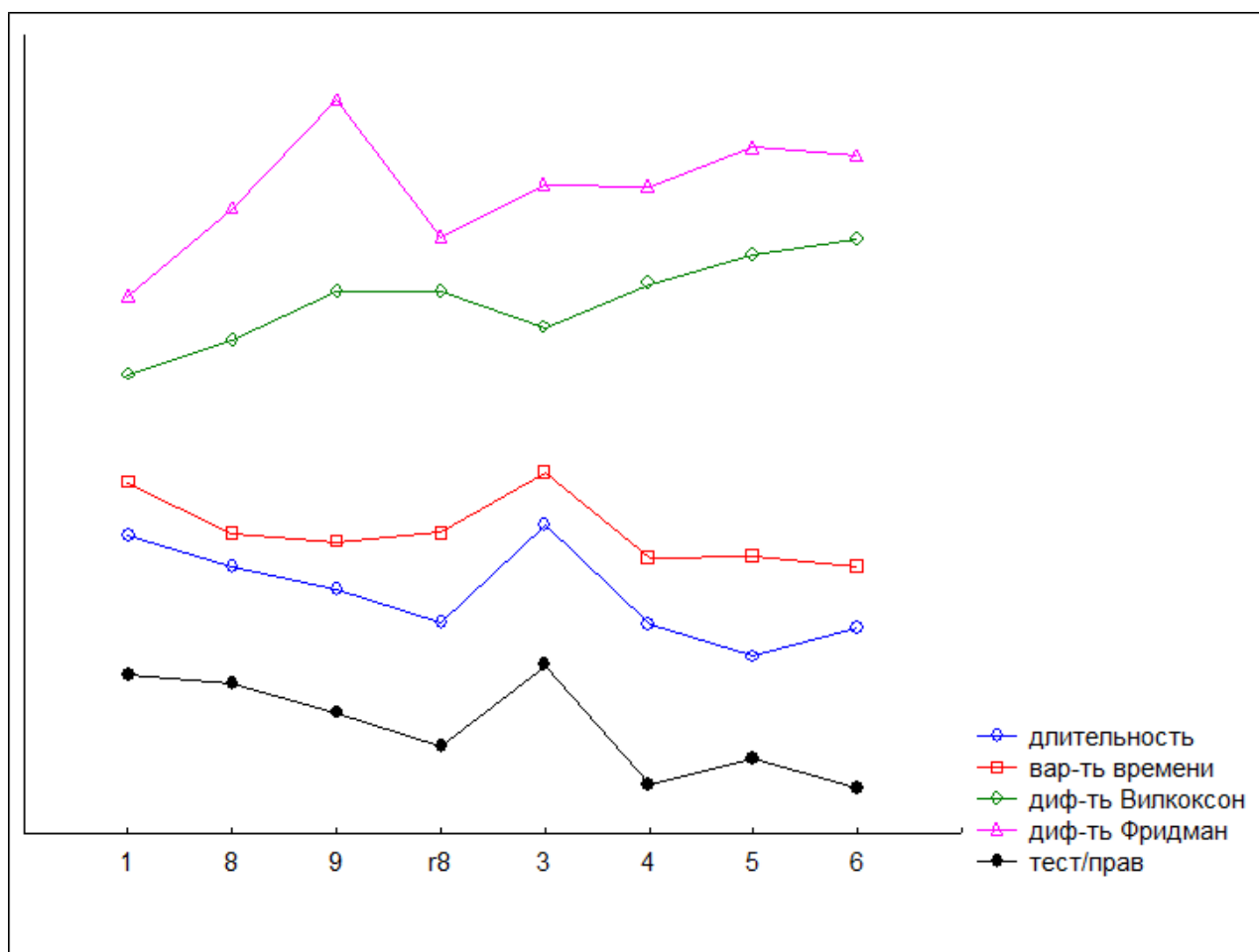


Рисунок 29. Паттерны средних показателей дифференцированности нейронной активности и разных поведенческих показателей. По оси абсцисс – номера крыс (1-r8 – старые животные; 3-6 – взрослые). Показатели даны в нормированных условных единицах.

В представленной ниже **таблице 6** даны результаты расчета корреляции между представленными на рисунке показателями. Показателями поведения являются средняя длительность (Dur) цикла ЦИПП и ее вариативность (Vardur), а также соотношение неэффективных циклов к эффективным (NtestNcor). Один из показателей дифференцированности рассчитан по критерию неравномерности Фридмана (difFried), а другой по доле достоверных различий при попарных сравнениях активности нейронов в актах по критерию Вилкоксона (difWilk).

	Valid	Spearman	t(N-2)	p-value
	N	R		
Dursum & VardurSum	8	0,881	4,560	0,004
Dursum & difWilk	8	-0,952	-7,651	0,000
Dursum & difFried	8	-0,381	-1,009	0,352
Dursum & Ntest/Ncor	8	0,929	6,128	0,001
VardurSum & difWilk	8	-0,881	-4,560	0,004
VardurSum & difFried	8	-0,405	-1,084	0,320
VardurSum & Ntest/Ncor	8	0,952	7,651	0,000
difWilk & difFried	8	0,429	1,162	0,289
difWilk & Ntest/Ncor	8	-0,952	-7,651	0,000
difFried & Ntest/Ncor	8	-0,286	-0,730	0,493

Таблица 6. Значения критерия Спирмена для разных пар переменных. Достоверные корреляции даны красным цветом.

При том, что индивиды характеризуются высоким разнообразием показателей поведения и дифференцированности нейронной активности в циклическом пицедобывательном поведении, при межиндивидуальном сравнении была выявлена высоко достоверная корреляция между выбранными показателями поведения, такими как доля неэффективных циклов, длительность и вариативность времени актов, с одной стороны, и дифференцированностью частоты активности нейронов в наборе актов, составляющих ЦИПП, с другой. Эта высоко достоверная корреляция (крит. Спирмена: 0.881-0.952, $p < 0.004$) между показателями поведения и нейронной активностью оказалась отрицательной и проявилась только для предложенного нами показателя дифференцированности нейронной активности, основанного на попарных сравнениях частоты активности нейронов в поведенческих актах. Другой показатель дифференцированности, рассчитанный на основе критерия неравномерности (критерий Фридмана) нейронной активности в поведенческих циклах не продемонстрировал достоверных корреляций с поведенческими показателями. Обнаруженная нами корреляция проявляется в том, что у крыс с более высокими показателями длительности и вариативности реализации циклов ЦИПП было в среднем больше нейронов с высокой вариативностью частоты активности и меньше – с дифференцированной активностью в этих циклах, а у животного с наименьшей длительностью и вариативностью времени циклов было наибольшее число нейронов с дифференцированной активностью. Выбранные поведенческие показатели также оказались связаны достоверной корреляционной связью между собой. При этом следует отметить, что клетки с разными вариантами связи их активности с поведением вносят разный вклад в

общий показатель дифференцированности. Так, специализированные нейроны всегда имеют довольно высокий показатель доли достоверных различий при попарных сравнениях частоты активности в отдельных поведенческих актах. Соответственно их вклад в общий показатель дифференцированности является высоким. Однако в силу того, что их относительно мало, основной вклад в усредненный показатель дифференцированности вносят клетки с неустановленной специализацией, но с достоверно различающейся активностью в разных актах. Таких клеток может быть до 70% от общего состава популяции (Кузина Е.А., Александров Ю.И., 2019). С высокой долей вероятности можно предположить, что они являются специализированными, но относительно тех поведенческих актов, которые не входили в репертуар выделяемых нами актов в поведении животного в экспериментальной клетке. В пользу этого также может свидетельствовать сходная картина распределения доли положительных и отрицательных корреляций частоты активности и времени поведенческих актов для неспецифической активности специализированных нейронов и дифференцированной активности нейронов с неустановленной специализацией, которые представлены выше на **рисунке 27**. Таким образом, можно выделить три уровня дифференцированности нейронной активности в поведенческих актах: первый уровень – недифференцированная активность неспециализированных нейронов (в том числе и практически молчащих с крайне низкой активностью в поведении); второй уровень – неспецифическая активность специализированных нейронов (ее паттерн связан с отношениями специфического элемента опыта с другими элементами, представленными соответствующими поведенческими актами); третий уровень – активность специализированного нейрона в специфическом акте, соответствующая реализации специфического элемента индивидуального опыта. И общий усредненный уровень дифференцированности активности популяции ретроспленциальных нейронов оказывается высоко скоррелирован с такими показателями поведения, как индивидуальные временные и точностные характеристики исполнения поведенческих актов.

Нами также были выявлены различия в поведении на разных сторонах экспериментальной клетки у большинства животных. При сравнении показателей поведения и дифференцированности активности внутри поведенческих циклов на отдельных сторонах клетки выявленная выше корреляция тоже наблюдалась, но в гораздо меньшей степени, что видно на **рисунке 30**.

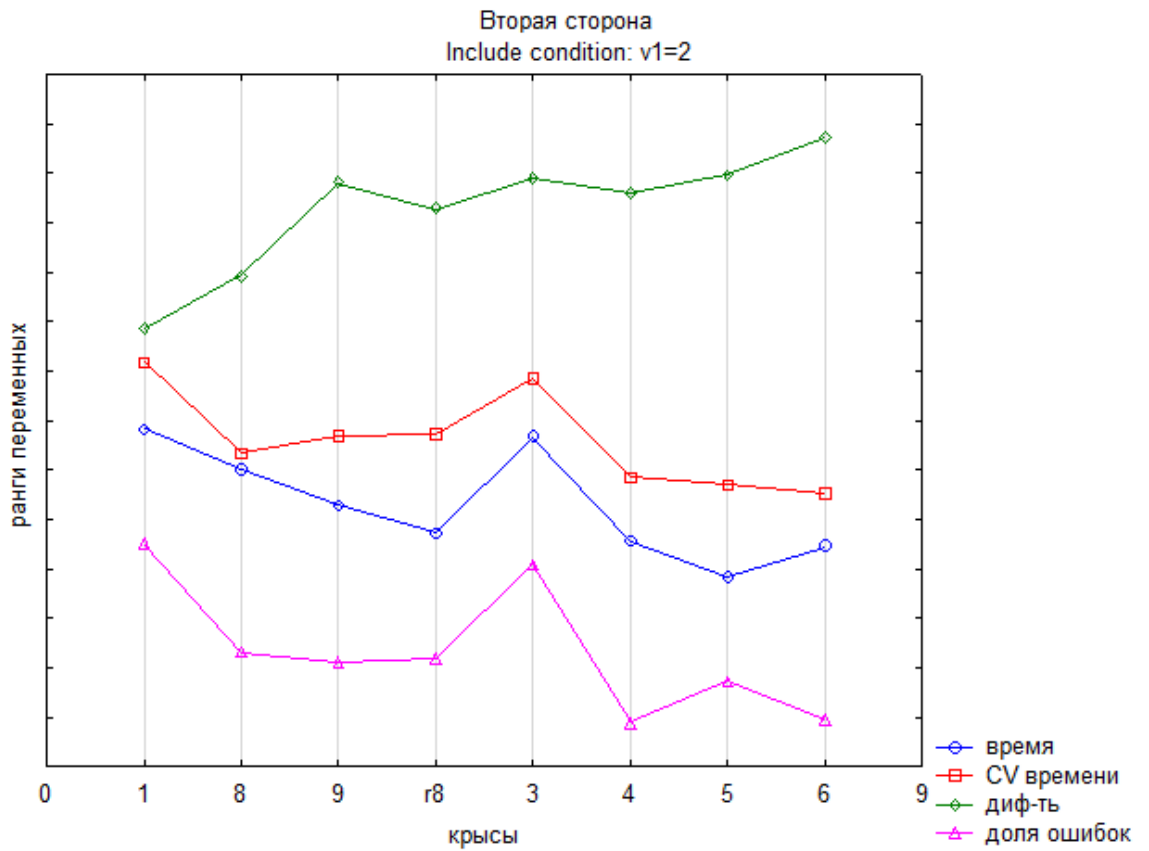
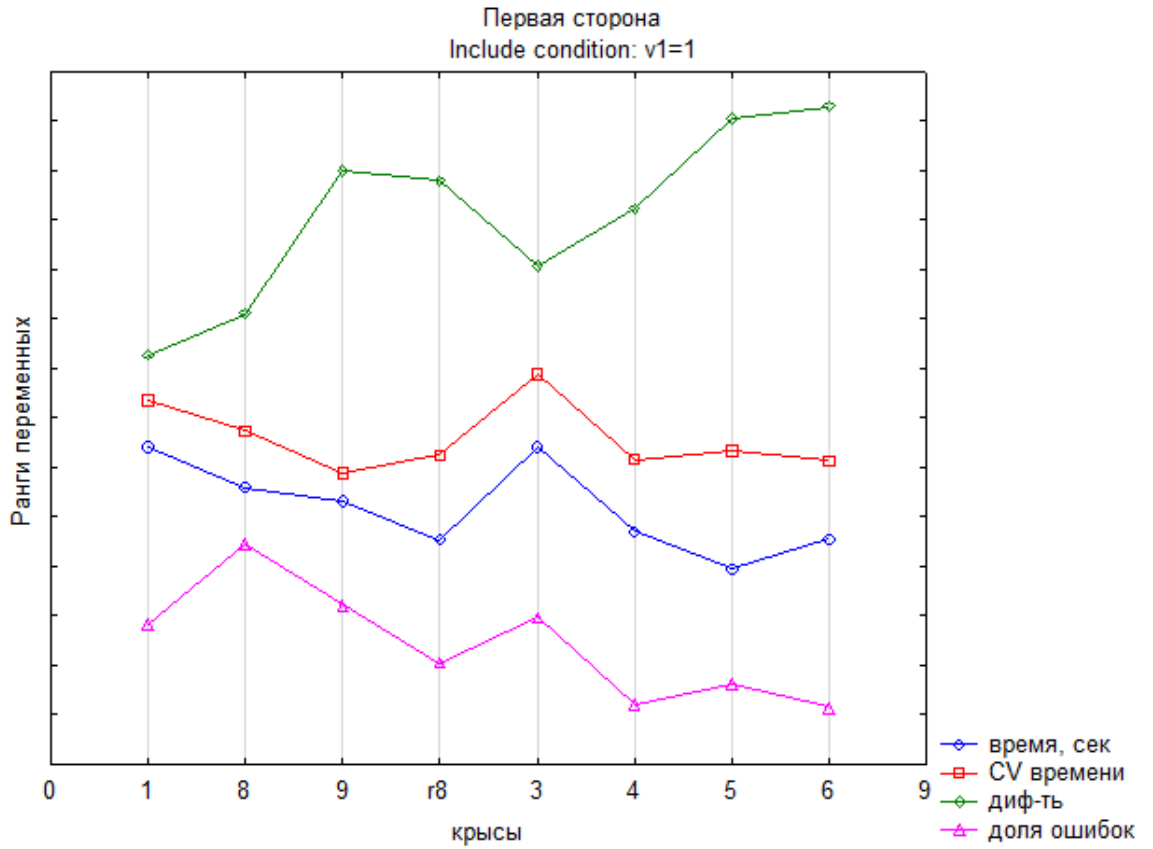


Рисунок 30. Паттерны средних значений поведенческих показателей (среднего времени цикла, коэффициента вариативности (CV) времени цикла и доли ошибочных проверок кормушки) и показателя дифференцированности нейронной активности в

отдельных пищедобывательных циклах. Верхняя часть – паттерны в первом по порядку формирования пищедобывательном цикле. Нижняя часть – паттерны во втором по порядку формирования поведенческом цикле. Остальные обозначения, как на **рисунке 29**.

Из **рисунка 30** видно, что для первого по порядку обучения цикла с меньшей достоверностью также выполнялась закономерность, описанная выше: меньшей длительности и вариативности времени выполнения поведенческого цикла соответствовала большая дифференцированность активности нейронов. Для второго цикла эта закономерность была слабо выражена и не достигала значимой корреляции. Это может свидетельствовать о том, что такой показатель, как дифференцированность нейронной активности связан с общей структурой поведения, а не с отдельными его составляющими. Также в отдельных циклах менее связанными между собой оказались и выбранные нами поведенческие показатели. То, что при более детальном рассмотрении индивидуального поведения показанная выше корреляция уменьшается или совсем пропадает может свидетельствовать о том, что усредненный по всей популяции нейронов конкретного индивида показатель дифференцированности отражает целостную структуру опыта индивида. При этом подструктуры этой целостной структуры могут иметь разную степень вклада в общую дифференцированность и различаться по показателям связи дифференцированности с поведенческими параметрами. Если исходить из 3 уровней дифференцированности, то можно предположить, что сильно структурированное в индивидуальном опыте поведение характеризуется большей долей в популяции специализированных относительно актов этого поведения нейронов, и будет иметь более высокий уровень корреляции дифференцированности нейронной активности и параметров поведения.

В отдельном исследовании, посвященном выявлению возможности изменения способности к обучению в старости, все экспериментальные животные без исключения смогли сформировать ЦИПП на обеих сторонах установки. Для обучения ЦИПП на первой в истории обучения стороне установки старым крысам требовалось от 3 (самец № 42, 20 месяцев на начало обучения, группа «наивных») до 8 сессий (самка № 70, 31 месяц, группа «наивных», самая старая из исследовавшихся животных), большинству взрослых - 4 сессии.

Был проведен анализ особенностей обучения ЦИПП на первой в истории обучения стороне экспериментальной установки у животных из трех групп: взрослых (n=8), старых «наивных» (n=8) и старых ранее обученных (n=9). Исходно в зрелом возрасте разным формам поведения было обучено 15 животных, однако к сроку обучения в старом возрасте часть животных погибла и обучены были только 9 животных этой группы. Такая гибель

части животных свидетельствует о действительно старом возрасте, в котором проводили обучение (см. по адресу в Интернете - <http://www.ratbehavior.org/RatYears.htm>, возраст крысы в 24 месяца примерно соответствует возрасту человека в 60 лет).

Подгруппа старых ранее обученных крыс включала животных, которые были в зрелом возрасте обучены либо только межиндивидуальному, питьевому и оборонительному поведению, либо – также ЦИПП в другой установке. Они не отличались друг от друга по исследованным параметрам, что указывает на то, что эффекты формирования ЦИПП в зрелом возрасте не отличаются от эффектов формирования других, непищедобывательных навыков. Старые «наивные» крысы достигли критерия обученности ЦИПП при обучении на первой стороне установки позже взрослых (критерий Манна-Уитни: $U=15.0$, $Z=-1.785$, p (односторонний)=0.041), взрослые и старые ранее обученные крысы не различались по этому параметру ($p>0.1$). У животных из разных групп сравнивали параметры эффективных актов и циклов поведения, поскольку неэффективных было недостаточно для анализа (за исключением проверок неэффективной кормушки, нЭК). Анализ поведения проводили в двух направлениях: анализ временных показателей, усредненных за сессию обучения животных ЦИПП, и анализ динамики обучения на начальном (первые 15 минут) отрезке сессии формирования самостоятельных нажатий на первую педаль. Было обнаружено, что старые крысы (как «наивные», так и ранее обученные в зрелом возрасте) статистически значимо дольше взрослых животных проверяют кормушки на стороне клетки, где находится эффективная педаль (ЭК). За счет этого у них длиннее, по сравнению с взрослыми крысами, циклы поведения, состоящие из нажатия эффективной педали (ЭП), подхода и проверки ЭК.

У взрослых крыс средняя длительность проверки ЭК варьировала в пределах 0.83 - 1.22 с (мед. (медиана) - 1 с), у старых «наивных» — в пределах 0.95 - 2.24 с (мед. - 1.31 с), у старых обученных — 0.75 - 2.39 с (мед. - 1.26 с) (критерий Манна-Уитни: взрослые vs. старые «наивные»: $U=6.0$, $Z=-2.731$, p (1-сторонний)=0.0025; взрослые vs. старые обученные: $U=16.0$, $Z=-2.309$, $p=0.01$). Стандартное отклонение длительности проверки ЭК от среднего значения составило у взрослых крыс 0.44-1.36 с (мед. -0.68 с), старых «наивных» — 0.81-3.39 с (мед. - 1.04 с), старых обученных—0.58-3.39 с (мед. - 1.32 с). Следует отметить, что у обеих групп старых крыс длительность проверок ЭК была вариативнее, по сравнению с взрослыми животными (взрослые vs. старые «наивные»: $U=11.0$, $Z=-2.205$, $p=0.014$; взрослые vs. старые обученные: $U=12.0$, $Z=-2.309$, $p=0.01$).

Средняя длительность циклов поведения, состоящих из нажатия ЭП, подхода и проверки ЭК («ЭП-ЭК»), у взрослых крыс составила 2.26 - 3.81с (мед. - 2.54 с), старых «наивных» — 2.54 - 4.5 с (мед.-3.73 с), старых обученных — 2.29 - 6.15 с (мед. - 3.86 с)

(взрослые vs. старые «наивные»: $U=10.0$, $Z=-2.31$, $p=0.011$; взрослые vs. старые обученные: $U=15.0$, $Z=-2.021$, $p=0.037$).

Внутри-индивидуальная вариативность длительности циклов «ЭП-ЭК» была статистически значимо выше в группе старых обученных крыс, по сравнению с взрослыми крысами, и составила у взрослых от 0.83 до 2.29 с (мед.-1.19 с), у старых обученных — 1.0-3.82 с (мед. - 1.89 с) (взрослые vs. старые обученные: $U=11.0$, $Z=-2.406$, $p=0.008$), и была выше на уровне тенденции у старых «наивных» — 0.75-2.92 с (мед. -1.94 с), (взрослые vs. старые «наивные»: $U=17.0$, $Z=-1.575$, $p=0.065$).

Группы животных различались по количеству проверок неэффективной кормушки (нЭК): взрослые проверяли ее от 0 до 32 раз (мед.-2), старые «наивные» крысы — 2 - 26 раз (мед. - 13), старые обученные — 2 - 59 раз (мед. - 21) (взрослые vs. старые «наивные»: $U=17.5$, $Z=-1.526$, $p=0.068$; взрослые vs. старые обученные: $U=15.5$, $Z=-1.976$, $p=0.025$).

Средняя длительность подхода к ЭП варьировала у взрослых крыс от 1.35 до 4.98 с (мед. - 1.93 с), старых «наивных» — 1.17 - 2.82 с (мед. - 2.01 с), старых обученных — 1.46 - 3.94 с (мед. - 2.96 с) ($U=18.0$, $Z=-1.732$, $p=0.046$). У обученных старых крыс была тенденция большее число раз за сессию проверять нЭК, по сравнению со старыми «наивными» животными ($U=21.0$, $Z=-1.445$, $p=0.08$). Старые обученные крысы за время формирования поведения на первой стороне совершили от 30 до 119 циклов «ЭП-ЭК-ЭП», старые «наивные» — от 12 до 189 ($U=18.5$, $Z=-1.685$, $p=0.049$).

Таким образом, при сравнении временных параметров сформированного в экспериментальной установке ЦИПП на протяжении сессии обучения нажатия на первую педаль фактор возраста (старения) в обеих группах — «наивных» и дополнительно обученных крыс — был связан с увеличением длительности проверки первой в истории обучения эффективной кормушки и, соответственно, общей длительности циклов поведения, включающих этот акт. Одновременно, у старых крыс этот акт оказался в большей степени подвержен внутри-индивидуальной вариативности, по сравнению с взрослыми. Старые экспериментальные крысы отличались от старых контрольных («наивных») только по трем параметрам, характеризующим обучение ЦИПП в целом, из 50 анализированных.

При оценке результатов сравнения поведенческих показателей в группах старых «наивных» и старых, обученных в зрелом возрасте, животных надо иметь в виду, что животное №42 из группы старых «наивных» по показателям поведения отличалось от показателей других старых животных. Наличие этого животного в группе «наивных» существенно сдвинуло групповые показатели в сторону взрослых животных. Однако, из-за относительной малочисленности группы «наивных» старых крыс его нельзя было исключить

как артефакт по критерию Шовене (выход значений за 3 стандартных отклонения от среднего значения по группе).

На основе сессии обучения ЦИПП на первой в истории обучения стороне установки у животных был посчитан индекс первой кормушки — суммарная длительность проверок ЭЖ, нормированная на суммарную длительность подходов от этой ЭЖ к эффективной педали (ЭП). У взрослых крыс индекс варьировал от 0.58 до 2.31 (медиана - 0.9), что было достоверно меньше значений индекса как у старых «наивных» крыс (мин. - 0.89, макс. - 4, мед. - 1.77, критерий Манна-Уитни, $U=9$, $Z=-2.415$, p (односторонний)=0.007), так и значений старых ранее обученных крыс (мин. - 0.99, макс. - 2.33, мед. - 1.6, $U=12$, $Z=-2.311$, $p=0.01$).

Вариативность индекса была статистически значимо выше в группе старых «наивных» крыс по сравнению с группами как взрослых (тест Левена, $L=10.322$, $df1=1$, $df2=14$, $p=0.006$), так и старых ранее обученных крыс ($L=15.884$, $df1=1$, $df2=15$, $p=0.001$). Вариативность индекса в группах взрослых и старых ранее обученных крыс статистически значимо не различалась ($L=0.027$, $df1=1$, $df2=15$, $p=0.872$) (см. Рис. 1). В совокупности эти данные указывают на то, что старые животные, в отличие от взрослых, при формировании нового для них навыка ЦИПП склонны больше времени тратить на проверки кормушки, чем на подходы к педали. При этом в группе старых, ранее обученных в зрелом возрасте крыс, произошло снижение вариативности индекса за счет того, что в этой группе не было животных с большими (> 3) значениями индекса, в то время как у трех из 8 старых «наивных» крыс индекс находился в пределах между 3 и 4.

Для того чтобы оценить динамику обучения ЦИПП на начальном этапе, у старых и взрослых крыс сравнивали количество циклов поведения (нажатие ЭП, подход к ЭЖ и ее проверка), совершенных в течение пяти последовательных трех-минутных отрезков времени. На протяжении первых 3-х минут взрослые крысы совершили от 0 до 22 (мед. - 10.5) циклов, старые наивные — от 0 до 6 (мед. - 1.5), старые обученные — от 1 до 17 (мед. - 4) (критерий Манна-Уитни, взрослые vs. старые «наивные»: $U=12.000$, $Z=-2.113$, $p=0.018$; взрослые vs. старые обученные: $U=26.0$, $Z=-0.966$, $p=0.178$; старые «наивные» vs. старые обученные: $U=19.0$, $Z=-1.651$, $p=0.053$).

На протяжении 4-6 минут взрослые крысы совершили от 0 до 16 (мед. - 7.5) циклов, старые «наивные» — от 0 до 16 (мед. - 4), старые обученные — от 1 до 19 (мед. - 4) (критерий Манна-Уитни, взрослые vs. старые «наивные»: $U=19.000$, $Z=-1.372$, $p=0.094$; взрослые vs. старые обученные: $U=24.5$, $Z=-1.112$, $p=0.143$; старые «наивные» vs. старые обученные: $U=32.0$, $Z=-0.386$, $p=0.363$).

На протяжении 7-9 минут взрослые крысы совершили от 3 до 37 (мед. - 12) циклов, старые «наивные» — от 0 до 10 (мед. - 5.5), старые обученные — от 1 до 23 (мед. - 6) (критерий Манна-Уитни, взрослые vs. старые «наивные»: $U=15.000$, $Z=-1.793$, $p=0.038$; взрослые vs. старые обученные: $U=20.0$, $Z=-1.543$, $p=0.066$; старые «наивные» vs. старые обученные: $U=34.5$, $Z=-0.145$, $p=0.457$).

На протяжении 10-12 минут взрослые крысы совершили от 4 до 33 (мед. - 21) циклов, старые «наивные» — от 0 до 12 (мед. - 3.5), старые обученные—от 0 до 29 (мед. - 5) (критерий Манна-Уитни, взрослые vs. старые «наивные»: $U=9.000$, $Z=-2.419$, $p=0.007$; взрослые vs. старые обученные: $U=16.5$, $Z=-1.880$, $p=0.032$; старые «наивные» vs. старые обученные: $U=28.0$, $Z=-0.774$, $p=0.233$).

На протяжении 13-15 минут взрослые крысы совершили от 2 до 45 (мед. - 16.5) циклов, старые «наивные» — от 0 до 25 (мед. - 5), старые обученные — от 0 до 27 (мед. - 6) (критерий Манна-Уитни, взрослые vs. старые «наивные»: $U=9.500$, $Z=-2.37$, $p=0.007$; взрослые vs. старые обученные: $U=17.5$, $Z=-1.783$, $p=0.039$; старые «наивные» vs. старые обученные: $U=29.5$, $Z=-0.628$, $p=0.278$).

Эти данные указывают на то, что несмотря на то, что старые крысы могли сформировать новый навык при предоставлении им дополнительного времени, старые «наивные» животные совершали статистически значимо меньше циклов за единицу времени, то есть медленнее формировали поведение по сравнению с взрослыми почти на всем исследованном интервале сессии обучения (кроме периода 4-6 минут). Старые обученные крысы совершали достоверно меньше циклов, по сравнению с взрослыми, на протяжении двух последних отрезков времени, что скорее демонстрирует не более медленное обучение, а утомление старых животных. Также стоит отметить выраженную тенденцию реализации меньшего числа поведенческих циклов у «наивных» старых крыс по сравнению со старыми, ранее обученными, в первые 3 минуты обучения.

Из 9 животных экспериментальной группы при проведении операции по вживлению электродов 3 крысы не вышли из наркоза, у всех перенесших операцию животных была зарегистрирована нейронная активность в ретроспленальной коре. Таким образом, в процессе выполнения этого исследования была зарегистрирована нейронная активность в ретроспленальной коре у 6 животных экспериментальной группы, обученных в зрелом возрасте разнообразным формам поведения, у 4 старых животных контрольной группы («наивные») и 4 взрослых животных. На момент начала регистрации нейронной активности возраст старых обученных животных составлял 22-27 месяцев (по шкале примерного соответствия возрасту человека соответствует 55-70 годам), возраст «наивных» старых

животных был 20,5 – 26 месяцев, а возраст взрослых животных – 9 -13 месяцам (по шкале примерного соответствия возрасту человека – 25 – 30 лет).

Всего было проанализировано 160 нейронов у старых «наивных» животных, 185 у старых животных, обученных в экспериментальной ситуации во взрослом возрасте и 172 нейронов у взрослых животных контрольной группы.

У старых «наивных» крыс ни один нейрон (0%) из 160 проанализированных не был отнесен к специализированным нейронам со 100% вероятностью активации в актах ЦИПП. У старых обученных таких нейронов было 6 (3%) из 185, у взрослых—20 (12%) из 172 (точный критерий Фишера, старые «наивные» vs. старые обученные: хи-квадрат=5.28, $p=0.023$; старые «наивные» vs. взрослые: хи-квадрат=19.28, $p < 0.00001$; старые обученные vs. взрослые: хи-квадрат=9.25, $p=0.0019$). Тем не менее, у старых «наивных» животных было выявлено 18 (11%) специализированных нейронов с не-100% вероятностью активации из 160. У старых обученных крыс к специализированным нейронам с не-100% вероятностью активации (более 75%) были отнесены 12 (7%) клеток из 185, у взрослых — 10 (6%) из 172 (старые «наивные» vs. старые обученные: хи-квадрат=2.45, $p=0.085$; старые «наивные» vs. взрослые: хи-квадрат=3.17, $p=0.056$; старые обученные vs. взрослые: хи-квадрат=0.07, $p=0.484$).

Если просуммировать число специализированных нейронов (со 100% вероятностью и с более низкой), то их доля у старых животных из разных групп были практически одинаковой, а доля таких клеток у взрослых животных - несколько больше (различия на уровне тенденции). При анализе импульсной активности нейронов была отмечена значительная межиндивидуальная вариативность долей специализированных нейронов, относящихся к разным категориям, у животных с разными показателями обучаемости ЦИПП. Так, у старого «наивного» животного № 42 (самец, 20,5 месяцев) было зарегистрировано 14 (18% у данного животного) нейронов этой категории (с не 100% вероятностью наличия активации в специфическом акте) из 76. Нетрудно заметить, что именно это животное внесло основной вклад в общее число специализированных нейронов в группе старых «наивных» животных. Эта крыса научилась ЦИПП за 3 сессии; в то время как у остальных 3 животных из этой группы было обнаружено 4 таких нейрона в сумме на всех (эти животные обучились ЦИПП за 4-8 сессий).

К активирующимся в актах ЦИПП нейронам (с вероятностью активации не менее 0.6) у старых «наивных» крыс были отнесены 42 клетки из 160, у старых обученных—61 из 185, у взрослых—38 из 172 (старые «наивные» vs. старые обученные: хи-квадрат=1.85, $p=0.107$; старые «наивные» vs. взрослые: хи-квадрат=0.78, $p=0.225$; старые обученные vs. взрослые: хи-квадрат=5.26, $p=0.015$).

У животных из разных групп также различались доли нейронов, вовлекающиеся (с вероятностью активации 60-100%) в разные по содержанию акты ЦИПП.

Как было показано нами ранее специализированные нейроны имеют жесткую структуру активности в пищедобывательном цикле (Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., 1993, 1995). Она проявляется в том, что нейроны, активирующиеся на этапах пищедобывательного цикла, связанных с подходом и манипулированием с педалью, снижают свою активность ниже средней за время регистрации на этапах, связанных с поведением у кормушки. И наоборот, нейроны, активирующиеся при подходах к кормушке и захватах пищи в ней, снижают активность на этапах, связанных с педалью. Нейроны, специализированные относительно движений могут активироваться и на «педальных» и на «кормушечных» этапах в зависимости от специфического движения. Поэтому индивидуальная структура опыта ЦИПП может проявиться в соотношении нейронов, специализированных относительно «педальных» и «кормушечных» этапов ЦИПП. Тем более, что по поведенческим показателям одно из основных отличий в поведении взрослых и старых животных состояло во времени, проводимом в области кормушки.

К нейронам, связанным с нажатием педали(ей) и подходом к ней(им), у старых «наивных» и обученных крыс было отнесено по 15 клеток из 160 и 185 нейронных совокупностей, соответственно ($\chi^2=0.17$, $p=0.410$); у взрослых—26 из 172 (старые «наивные» vs. взрослые: $\chi^2=2.52$, $p=0.077$; старые обученные vs. взрослые: $\chi^2=4.31$, $p=0.028$). Поскольку у одного из старых «наивных» животных (№ 42) доля специализированных (в т.ч. «педальных») нейронов была повышена по сравнению с другими животными из этой группы, также было проведено сравнение выборок нейронов без включения долей нейронов этого животного. Между старыми «наивными» (4 нейрона из 84) и старыми обученными (15 из 185) животными повторно не было обнаружено статистически значимых отличий ($\chi^2=0.07$, $p=0.484$), однако, они были выявлены при сравнении выборок нейронов старых «наивных» (4 из 84) и взрослых (26 из 172) крыс ($\chi^2=5.85$, $p=0.01$).

К нейронам, связанным с проверкой(ами) кормушки(ек), отходами от нее(их), подходами к ней(им), у старых «наивных» крыс было отнесено 23 клетки из 160, старых обученных—24 нейрона из 185, у взрослых—9 из 172 (старые «наивные» vs. старые обученные: $\chi^2=0.14$, $p=0.412$; старые «наивные» vs. взрослые: $\chi^2=7.95$, $p=0.004$; старые обученные vs. взрослые: $\chi^2=6.37$, $p=0.009$).

К нейронам, связанным с движениями, включенными в реализацию ЦИПП, у старых «наивных» крыс была отнесена 41 клетка из 160, старых обученных—66 нейронов из 185, у взрослых—59 из 172 (старые «наивные» vs. старые обученные: $\chi^2=4.05$, $p=0.029$;

старые «наивные» vs. взрослые: хи-квадрат=2.97, $p=0.054$; старые обученные vs. взрослые: $p > 0.1$).

Таким образом, исходя из того, что в обеих группах старых крыс была значимо снижена, по сравнению с взрослыми животными, доля специализированных нейронов, активирующихся во всех реализациях специфических актов, можно полагать, что у старых «наивных» (в большей степени) и старых обученных (в меньшей) затруднено обучение новому навыку—циклическому пищедобывательному поведению. Это подтверждается снижением у старых животных доли нейронов, участвующих в обеспечении «педальных» актов (принципиально новых актов, которые животные формировали в экспериментальной установке). При этом у старых животных отмечается достоверное, по сравнению с взрослыми индивидами, увеличение доли нейронов, участвующих в обеспечении «кормушечных» актов (формируемых на начальном этапе обучения в установке). У старых обученных крыс выявлено увеличение, по сравнению с «наивными» крысами, доли нейронов, обеспечивающих специфические движения при реализации ЦИПП. Не исключено, что эти и активирующиеся в ЦИПП нейроны вовлекаются у старых ранее обученных крыс в построении модели нового навыка, которая приближается к модели взрослых индивидов. В целом старые животные с дополнительным обучением заняли промежуточное положение между старыми «наивными» и взрослыми — как по характеристикам поведения, так и показателям нейронной активности.

3.1.6. Общее обсуждение результатов острой регистрации нейронной активности в пищедобывательном поведении.

Серия экспериментов по регистрации активности нейронов ретроспленальной коры у крыс и лимбической коры у кроликов показала, что специализация нейронной активности (наличие активации нейрона во всех реализациях конкретного акта) является содержательной, стабильной характеристикой связи активности нейронов с актами дефинитивного (сформированного и регулярно воспроизводимого) поведения. Термин специализации нейрона относительно функциональной системы конкретного поведенческого акта был предложен В.Б. Швырковым (Швырков В.Б., 1987 и др.). Им же на основании анализа большого экспериментального материала было высказано положение о системоспецифичности нейрона, утверждающее о принадлежности конкретного нейрона только одной функциональной системе поведенческого акта разного филогенетического и онтогенетического возраста (Швырков В.Б., 1995). В соответствии с этими представлениями специализация нейрона фиксирует в памяти организма (в структуре его индивидуального

опыта) конкретный этап формирования поведения (Shvyrkov V.B., 1987, Швырков В.Б., 1988) и сохраняется неизменной на протяжении жизни индивида. В пользу этого положения о стабильности поведенческой специализации нейрона свидетельствуют как наши данные, так и данные литературы о длительном сохранении специфической связи активности нейронов с параметрами поведения, продемонстрированные для нейронов других структур мозга (Thompson L.T., Best P.J., 1990, Bondar I.V. et al., 2009, McMahon D.B.T. et al., 2014 и др.). Таким образом, можно сделать ключевой вывод моего исследования: поведенческая специализация нейрона является стабильной, содержательной характеристикой связи его спайковой активности с поведением и поэтому можно объединять данные по активности разных специализированных нейронов, зарегистрированных в одном и том же поведении в разные моменты времени и у разных индивидов. Такое объединение позволяет реконструировать паттерны активности популяции нейронов конкретной структуры в последовательности повторяющихся поведенческих актов и получать данные о закономерностях мозгового обеспечения реализации поведения и реконструировать структуру индивидуальной памяти.

В работах В.Б. Швыркова также было высказано предположение, что специализированные нейроны рекрутируются в процессе обучения из нейронов «запаса», представленных молчащими в дефинитивном поведении клетками. Важным основанием для этого предположения было зарегистрированное в моих экспериментах достоверное различие среднего числа активных нейронов в одной проходке через лимбическую кору кролика в «простом» пищедобывательном поведении и «сложном» (Shvyrkov V.B., 1987). «Простое» пищедобывательное поведение заключалось в поочередных сериях добывания пищи из двух кормушек на двух сторонах экспериментальной клетки, а «сложное» - в добывании пищи из тех же кормушек после нажатий на педали. При сравнении числа активных нейронов, встреченных при автоматическом погружении микроэлектрода в толщу лимбической коры в процессе исполнения животным этих форм поведения, было выявлено достоверно большее их число в ситуации «сложного» поведения (Горкин А.Г., 1988). Это увеличение соответствовала относительной доле нейронов в «сложном» поведении, специализированных относительно новых поведенческих актов, приобретенных кроликом в процессе доучивания от «простого» поведения к «сложному», что также свидетельствует в пользу гипотезы о специализации относительно приобретаемых в обучении новых поведенческих актов «молчащих» нейронов запаса. В пользу этой гипотезы говорят многочисленные и давние оценки высокой доли молчащих нейронов в популяции корковых клеток (см. напр. Мелехова М.А., Шульгина Г.И., 1966). К «молчащим» в дефинитивном поведении могут также быть отнесены нейроны с крайне низкой фоновой активностью

(менее 1 спайка в 10 секунд), которые в большом количестве были обнаружены среди популяции пирамид гиппокампа (Pavlidis C., Winson J., 1989, Barnes C.A., et al., 1990, Jung M.W., McNaughton B.L., 1993, Skaggs W.E. et al., 2007 и др.) а также в структурах новой коры (Warren, Dykes, 1992, Brecht M., et al., 2004, Feldman D.E., Brecht M., 2005 и др.). Однако, для однозначного подтверждения гипотезы о специализации в процессе научения «молчащих» нейронов запаса необходимы данные хронической регистрации активности конкретного нейрона до, в процессе и после формирования конкретного акта, относительно которого специализируется нейрон. При этом надо иметь в виду, что как было показано в изложенных выше моих и моих соавторов работах в первые дни после формирования нового поведенческого акта в силу использования разных способов его исполнения многие нейроны демонстрируют активации не во всех, а только в большинстве реализаций такого акта. Видимо, часть этих нейронов после завершения процесса консолидации навыка становится специализированными (в соответствии с критерием 100% активации) относительно этого акта. Таким образом, гипотезе о становлении специализированных нейронов из резерва «молчащих» не будут противоречить и данные о переходе прежде молчащего нейрона в ситуации формирования нового акта в разряд активизирующихся с высокой (но не 100%) вероятностью в новых, реализуемых в сессии обучения поведенческих актах.

В других, проведенных с моим участием экспериментальных исследованиях, изложенные выше представления о связи активности корковых нейронов с поведением были расширены за счет анализа активности специализированных нейронов вне времени реализации специфического поведенческого акта. Вся спайковая активность специализированного нейрона в рамках системно-эволюционного подхода (Швырков В.Б., 1995, Александров Ю.И. и др., 1997) рассматривается как актуализация элемента индивидуального опыта и соответствующей ему функциональной системы поведенческого акта, относительно которого нейрон специализирован (Александров И.О., 2006). С позиций этого подхода мы называем активность специализированного нейрона во время реализации элемента опыта, относительно которого он специализирован, «**специфической**». Такая активность вне времени реализации специфического акта была названа нами «**неспецифической**» и оказалась связанной с проявлением таких факторов отношений системы специфического акта и реализуемых в разные моменты циклического инструментального пищедобывательного поведения других систем поведенческих актов, как: общность отдельных аспектов поведения (цели, движения), логическая структура поведенческого цикла и индивидуальная история формирования ЦИПП. Последняя заключалась в разной последовательности формирования отдельных его этапов. Исходя из положений концепции В.Б. Швыркова о фиксации в специализации нейрона отдельного

этапа обучения и соответствия поведенческого акта компоненту индивидуального опыта, можно сделать вывод, что продемонстрированные нами факторы детерминации «неспецифической» активности являются примерами отношений, которые связывают отдельные элементы индивидуального опыта в целостную систему, обеспечивающую динамику поведения индивида во взаимодействии с окружающей средой. Выявленные в этом исследовании отношения компонентов индивидуального опыта животного были сопоставлены с полученными в результате анализа последовательностей ходов в игре в безразмерные «крестики-нолики» у людей. Полученные на большой выборке реальных игр индивидуальные структуры знаний оказалось имеют ряд отношений между компонентами, сходные с выявленными у животных (Александров Ю.И. и др., 1999). Это на наш взгляд, может служить аргументом в пользу того, что по «неспецифической» активности нейронов мы выявляем реальные отношения скрытых от непосредственного наблюдения компонентов индивидуального субъективного опыта. Соответственно можно сделать вывод, что отношения элементов индивидуального опыта фиксируются в «неспецифической» активности специализированных нейронов в виде определенного закономерного паттерна этой активности в других поведенческих актах.

«Неспецифическая» активность специализированных нейронов неравномерно распределена между другими актами пищедобывательного поведения и актами других форм поведения, наблюдавшихся в экспериментальной ситуации. Эта неравномерность может быть количественно оценена параметром дифференцированности нейронной импульсации в репертуаре исследуемых актов. Простейший способ оценки этой неравномерности – применение статистического критерия Фридмана. Однако он недостаточно удобен для количественной оценки неравномерности и соответственно дифференцированности нейронной активности в разных поведенческих актах. Мы предложили другой показатель на основании доли достоверных различий активности во всех возможных комбинациях пар выборок идентичных поведенческих актов, выделенных нами в поведении животного в экспериментальной ситуации. Кроме того, что он позволяет количественно оценить дифференцированность связи активности нейрона с поведенческими актами, этот критерий оказался более чувствительным. Распределение неспецифической активности популяции ретроспленциальных нейронов, зарегистрированной у конкретного животного, которое оценивалось нами по этому показателю дифференцированности, при меж-индивидуальном сравнении оказалось связанным с временными и точностными параметрами реализовывавшегося животным поведения. При этом с параметрами исполняемого ЦИПП оказалась связанной именно дифференцированность активности во всем ЦИПП, а не только на конкретной стороне клетки. На мой взгляд, это служит дополнительным доказательством

того, что оценивая по нашему показателю дифференцированность активности популяции ретроспленциальных нейронов является характеристикой именно общей структуры индивидуального опыта, а не отдельных его подразделов. Видимо, индивидуальные различия в исполнении одного и того же ЦИПП связаны с разной структурой опыта этих животных, выражающейся в разной структуре отношений между системами поведенческих актов из одинакового репертуара, а возможно и в выделении разными индивидами несколько разного репертуара актов во внешне сходном ЦИПП. И это различие проявляется в связанной с индивидуальными особенностями поведения разной степенью дифференцированности нейронной активности в ретроспленциальной коре у разных индивидов. Для более точной реконструкции отношений в структуре индивидуального опыта и выявления закономерностей их формирования и реализации необходимо как увеличить выборки однотипных поведенческих актов, так и расширить поведенческий репертуар при регистрации одного нейрона. Этого можно достичь за счет применения хронической регистрации нейронной активности многоканальными микроэлектродами.

3.2. Результаты хронической регистрации нейронов цингулярной коры при формировании инструментального пищедобывательного поведения крыс.

3.2.1. Изменение поведения в сессиях обучения с регистрацией нейронной активности.

Для решения задачи выявления перестроек спайковой активности нейронов, связанных с формированием новой функциональной системы поведенческого акта и обеспечивающих переход от пробных реализаций этой системы к ее фиксации в виде компонента дефинитивного поведения были проведены эксперименты с регистрацией нейронной активности хронически вживленными микроэлектродами. В этих экспериментах была проведена регистрация вживленными тетрами во время сессий обучения и нейронная активность была зарегистрирована у 7 животных. В основном мультиклеточная нейронная активность была зарегистрирована в сессиях обучения нажатием на педаль на второй по порядку обучения стороне. Дополнительно у 2 из этой группы животных была проведена регистрация активности в сессиях обучения подходу и нажатием на педаль на первой стороне. Большинство (5 из 7) крыс обучилось нажимать на вторую педаль в течение одной 45-минутной сессии обучения, что свидетельствует о выраженном переносе навыка нажатия на педаль у крыс. Для сравнения нажатием педали на первой стороне обучали в течение минимум трех сессий и даже последний этап научения, когда крыса научилась находиться в углу педали, и ей требовалось лишь научиться нажимать на педаль, обычно

требовал более одной сессии обучения. Обучение нажатию на вторую педаль протекало в следующей последовательности. После исполнения в начале сессии обучения около 30 пищедобывательных циклов на первой стороне эффективную педаль переключали. Если животное после отключения первой педали и включения второй в течение 2 минут не нажимало на вторую педаль, ему подавали таблетку пищи на подход ко второй педали. Как правило, после получения таким образом пищи во второй кормушке крыса через несколько поведенческих циклов сама нажимала на педаль и после нескольких таких нажатий экспериментатор переставал подавать корм на подход животного к педали. Типичная динамика длительности акта подхода ко второй педали в сессии обучения представлена на **рисунке 31**. Длительность акта подхода крысы к педали определяли, как временной интервал между отметкой отворота головы от кормушки (сигнал аналогичный «середине стенки» в экспериментах на кроликах) и конца нарастания сигнала от светодиода, расположенного над педалью.



Рисунок 31. Динамика длительности акта подхода ко второй педали в сессии обучения нажатию на эту педаль крысы №26. По оси ординат представлено время подхода в секундах, а по оси абсцисс – последовательные номера актов подхода в сессии.

Из **рисунка 31** видно, что это типичная кривая обучения с близкой к экспоненциальной зависимостью длительности подхода от порядкового номера акта с выходом у обученного животного на плато значений. В первых 34 реализациях экспериментатор подавал порцию пищи при подходе в угол педали и попытках ее нажатия.

После 34 реализации животное научилось самостоятельно так нажимать на педаль, что это приводило к автоматической подаче пищи в кормушку. Также на рисунке заметно выраженное снижение вариативности длительности акта по мере его повторения и при переходе на самостоятельную подачу пищи. На данном рисунке представлены две серии циклов на второй стороне клетки – между актами 90 и 91 была серия пицедобывательных поведенческих циклов на первой стороне клетки. Некоторое увеличение длительности подхода и ее вариативности в конце графика связано с тем, что животное получило уже много пищевых таблеток и стало «работать» менее мотивированно. Также из рисунка видно, что хорошо обучавшееся животное успевало в течение 45 мин сессии обучения получить до 200 пищевых таблеток (количество актов на первой стороне было несколько меньше, т.к. вторую педаль включали после приблизительно 30 успешных циклов на первой стороне). У 5 крыс в течение первой сессии обучения поведению на второй стороне удалось зарегистрировать по несколько серий вновь выученного поведения на этой стороне. Если животное начинало стабильно исполнять поведенческий цикл на второй стороне и нейронная активность была уже зарегистрирована более чем в 30 циклах, то экспериментатор опять переключал эффективную педаль и животное было вынуждено переходить на поведение на первой стороне. Потом опять после 30-40 циклов на первой стороне эффективную педаль переключали. Таким образом, у части животных удалось в первой сессии обучения зарегистрировать две или даже три серии циклического поведения на второй стороне, которое было сформировано в течение этой сессии.

У двух животных после включения второй педали в первой сессии обучения нажатий животного на вторую педаль не наблюдалось или было одно-два случайных нажатия. В таком случае обучение нажатия на вторую педаль продолжали на следующий день. Одна из этих крыс научилась самостоятельно нажимать на педаль во вторую сессию обучения, а другой понадобилось 3 сессии обучения.

3.2.2. Динамика нейронной активности, связанной с формируемыми актами, во время и после первых реализаций этих актов.

В этой серии экспериментов с регистрацией нейронной активности хронически жививленными тетрадами нами была зарегистрирована мультиклеточная активность в 12 сессиях формирования новых актов циклического пицедобывательного поведения. Из зарегистрированной в этих сессиях мультиклеточной нейронной активности были выделены 55 потоков активности одиночных нейронов. Выделенные потоки спайковой активности нейронов были сопоставлены с поведением. В качестве границ отдельных поведенческих

актов выступали вставленные в запись нейронной активности реперы, которые соответствовали определенным уровням сигнала поведенческих отметок (см. методы). В отдельных случаях моменты смены поведенческих актов верифицировались на основании просмотра видеозаписи поведения с таймером в кадре. Для зарегистрированных одиночных нейронов были построены распределения частот импульсации в выделенных актах пищедобывательного поведения, графики вероятности наличия активации в выделенных актах, а также гистограммы активности относительно реперов, соответствующих границам поведенческих актов. Соотношение этих вариантов представления нейронной активности в сессии обучения крысы №4 представлены на **рисунке 32**. На этом рисунке также представлены «облака распределения» зарегистрированных у данного животного спайков и черной рамкой отмечено, какое именно «облако» соответствует спайкам нейрона, активность которого представлена на графиках. Качество экстраклеточной тетродной регистрации было достаточным для выделения потоков высокоамплитудных нейронов с минимальным количеством ошибок (Schmitzer-Torbert N., et al., 2005).

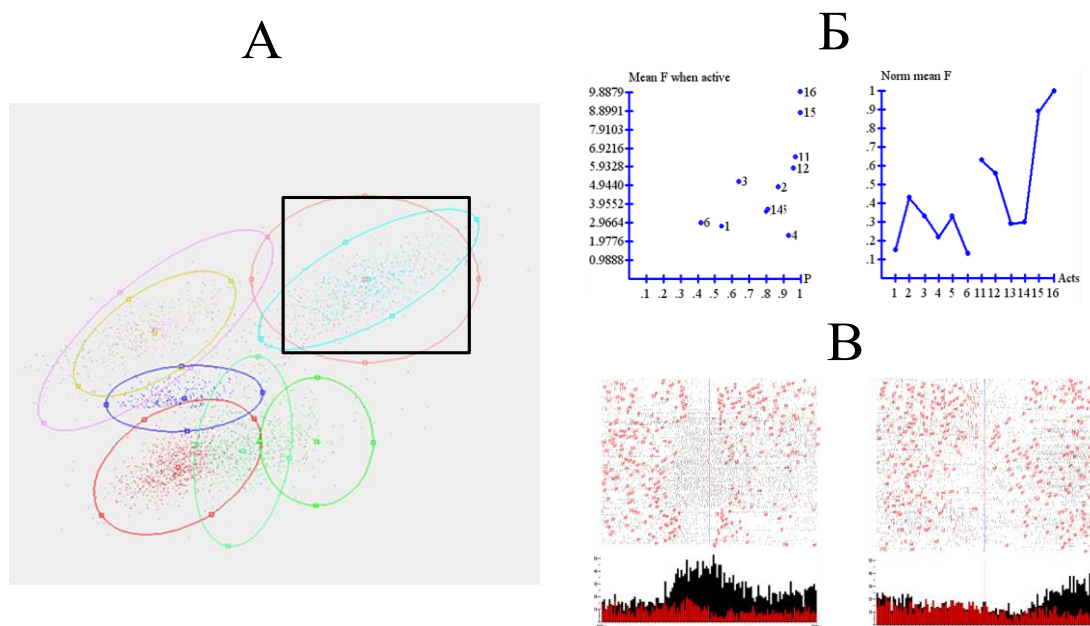


Рисунок 32. Слева (А) представлена диаграмма распределения амплитуды пика спайков на электродах X и Y тетрода 40103. Черной рамкой ограничена область облака спайков нейрона 40103-1. Справа на части Б для этого нейрона представлены графики распределения средних частот импульсации в актах, когда нейрон был активен, и вероятности наличия активности (левый график) и нормированной по максимальной средней

частоты активности во всей выборке конкретных актов (правый график) в пищедобывательных циклах на первой (акты 1-6) и второй сторонах клетки (акты 11-16). На части В представлены растры и гистограммы активности того же нейрона, построенные относительно момента касания животного второй педали (справа) и относительно момента входа морды животного во вторую кормушку (слева). Моменты усреднения находятся в центре гистограмм, эпоха – 3с до и 3с после соответствующего момента.

На основании сопоставления нейронной активности с поведением нами были выделены специализированные нейроны, у которых наблюдалась обязательная активация при выполнении конкретного акта или группы актов, и «неспециализированные» нейроны, в активности которых такой обязательной активации выявлено не было (см. Методику). Для выявления специализированных нейронов мы строили еще один график – вероятности наличия активации в выборке одинаковых актов. «Неспециализированные» в данном случае нейроны не обязательно не специализированы – они не специализированы относительно поведенческих актов, которые мы наблюдали в экспериментальной ситуации. Однако, это не гарантирует, что они не могут быть специализированы относительно других поведенческих актов, которые не наблюдались в поведении в экспериментальной клетке. В других работах нашей лаборатории для таких нейронов применяется термин «нейроны с неустановленной специализацией» (Кузина Е.А. и др., 2015 и др.). Из всех зарегистрированных нейронов только у 13 была выявлена специализация. У 6 «неспециализированных» нейронов были обнаружены закономерно возникающие на определенном этапе поведения выраженные изменения частоты импульсации, однако вероятность их наличия была значительно ниже 100%. Остальные 36 «неспециализированных» нейронов не имели в активности активаций, регулярно возникавших на каком-либо этапе циклического пищедобывательного поведения.

Из 13 зарегистрированных специализированных нейронов два были специализированы относительно движений головы, одна клетка активировалась во время пищедобывательного поведения на одной (первой) стороне экспериментальной клетки, остальные 10 нейронов специфически активировались при выполнении актов циклического пищедобывательного поведения. Стоит отметить, что 8 из этих 10 нейронов были клетками, обозначенными на диаграмме распределения спайков как 1 или 2 облако, что соответствует наиболее отчетливо выявляемым облакам и нейронам с наибольшими амплитудами спайков. Из группы нейронов, специализированных относительно актов пищедобывательного поведения, большинство были специализированы относительно актов на второй стороне клетки – той, на которой формировались новые акты во время сессии регистрации. Мы зарегистрировали 6 нейронов специализированных относительно актов поведения у второй

педали и 2 нейрона специализированных относительно подхода и захвата пищи во второй кормушке. Были также зарегистрированы один нейрон, специализированный относительно наклона и захвата пищи в первой кормушке, и один нейрон, специализированный относительно подхода к любой педали. У последнего нейрона активации наблюдались при подходе к обеим педалям, выраженность которых статистически не различалась.

В связи с целями работы особый интерес представляла динамика в сессии обучения активности нейронов, которые оказались специализированными относительно формировавшихся в этой сессии актов. Один из них, зарегистрированный при обучении крысы №27 нейрон 27904-1 был специализирован относительно подхода ко второй педали. На **рисунке 33** представлен паттерн его активности в пищедобывательном поведении. Во время первой же сессии обучения поведению на второй стороне животное быстро научилось нажатию на вторую педаль и самостоятельному исполнению циклического пищедобывательного поведения на этой стороне. Так как нам удалось зарегистрировать активность нейрона 27904-1 попеременно в нескольких сериях циклов на первой и второй стороне, то на **рисунке 33** паттерн активности в конкретной серии представлен одной линией, цвет которой соответствовал номеру серии по порядку. Сессию обучения начинали с первой серии актов на первой стороне, затем следовала первая серия актов на второй стороне и т.д.

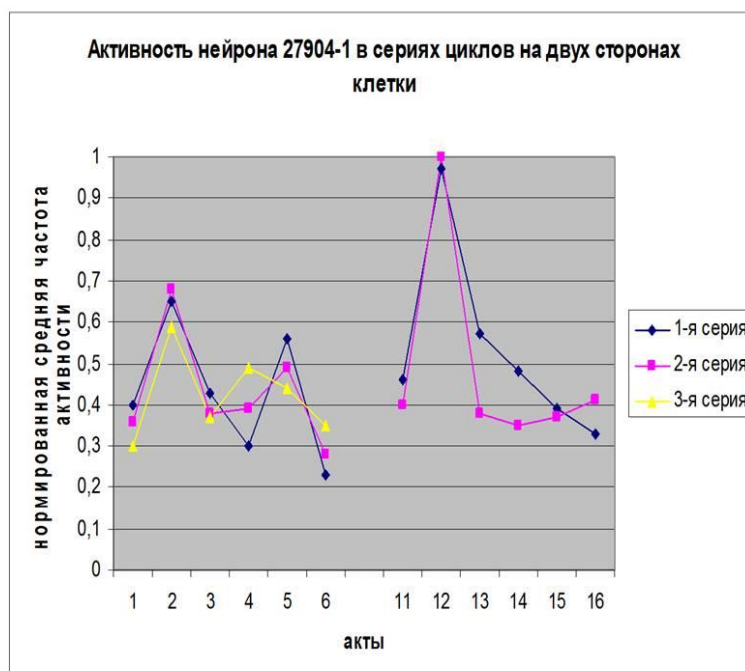


Рисунок 33. Паттерн активности нейрона 27904-1 в пищедобывательном поведении. По оси абсцисс представлены номера актов. Акты 1-6 соответствуют поведению на первой стороне клетки, акты 11-16 – поведению на второй. По оси ординат дана нормированная по частоте в специфическом акте средняя частота активности нейрона в соответствующих

поведенческих актах. Разным цветом обозначены паттерны активности в последовательности серий циклов на соответствующей стороне.

Из представленного рисунка видно, что максимальная активность данного нейрона наблюдалась в акте подхода ко второй педали (акт 12). Активность во второй серии актов при подходе ко второй педали была несколько выше, чем в первой, однако это различие было недостоверным. На следующем **рисунке 34** представлена динамика частоты активности этого нейрона в пищедобывательных циклах на второй стороне, зарегистрированная в первой сессии обучения поведению на этой стороне.



Рисунок 34. Динамика активности нейрона 27904-1 в первой сессии обучения поведению на второй стороне клетки. На части А представлены частоты импульсации этого нейрона в последовательности актов подхода ко второй педали. По оси ординат частота импульсации в спайках в секунду. Красной пунктирной линией обозначен уровень критерия активации. На части Б представлена динамика длительности акта подхода к педали в этой же сессии обучения. По оси ординат дана длительность акта в с. На обеих частях по оси абсцисс представлены номера последовательных подходов к педали; вертикальная черта на 40 акте означает границу между первой и второй сериями циклов на второй стороне.

Как видно из представленного рисунка, в активности нейрона 27904-1 при подходе ко второй педали стабильно наблюдалась активация, соответствующая нашему критерию – в 1,5 раза выше средней активности в сессии обучения. Исключением являются лишь первый подход к педали и два подхода в конце сессии обучения. Наличие последних может быть связано с разницей обеспечения эффективных нажатий на педаль, приводивших к

получению пищи, и неэффективных нажатий на уже отключенную педаль. В остальных актах подхода активация нейрона соответствовала нашему критерию и таким образом мы классифицировали данный нейрон, как специализированный относительно подхода к эффективной второй педали или иначе акта подхода к педали в стандартном пищедобывательном цикле на второй стороне.

Другой из представителей данной группы, зарегистрированный у крысы №26 нейрон 262704-1, был специализирован относительно подхода ко второй педали и ее нажатия, т.е. его активация возникала всегда на отрезке пищедобывательного цикла, который включал подход ко второй педали, нахождение в углу второй педали и ее нажатие (номера 12-14 на **рисунке 35**). Паттерн активности данного нейрона в пищедобывательном поведении представлен на **рисунке 35**.

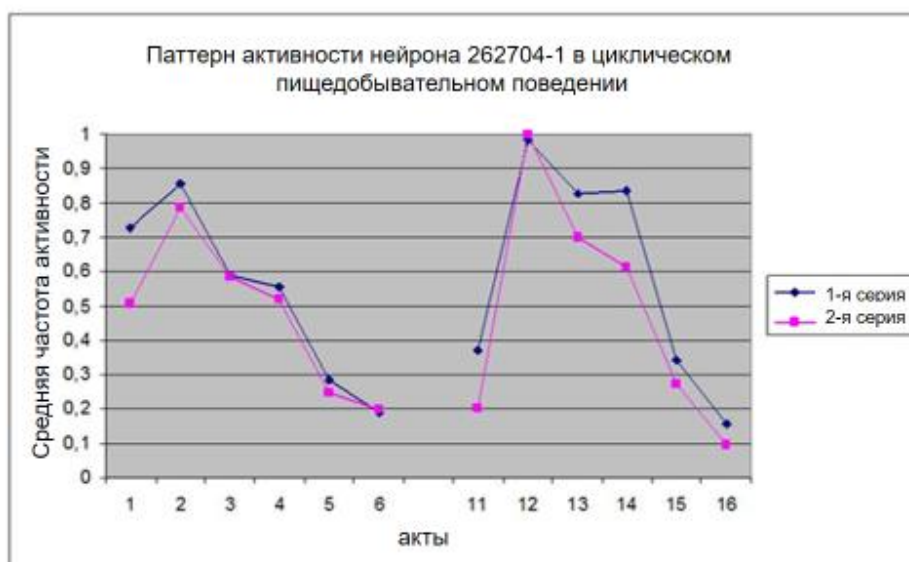


Рисунок 35. Паттерн активности нейрона 262704-1 в пищедобывательном поведении. По оси абсцисс представлены номера актов. Акты 1-6 соответствуют поведению на первой стороне клетки, акты 11-16 – поведению на второй. По оси ординат дана нормированная по частоте в специфическом акте средняя частота активности нейрона в соответствующих поведенческих актах.

Как видно из представленного рисунка, максимальная частота активации наблюдалась при подходе ко второй педали. Эта активация продолжалась при нахождении животного в углу педали и при ее нажатии. Также у данного нейрона наблюдалась активация и при побежке крысы к первой педали, однако менее выраженная и с вероятностью ниже 100%. Активность этого нейрона удалось зарегистрировать в течение

одной сессии обучения в двух сериях сформированных на второй стороне пищедобывательных циклов. Перед первой серией циклов на второй стороне и между двумя сериями циклов на этой стороне были зарегистрированы серии пищедобывательных циклов на первой стороне экспериментальной клетки. На **рисунке 36** представлена динамика средней частоты активности нейрона 262704-1 в серии пищедобывательных циклов на второй стороне экспериментальной клетки. У данного животного это была третья сессия обучения поведению на второй стороне, во время которой крыса научилась самостоятельно нажимать на вторую педаль.

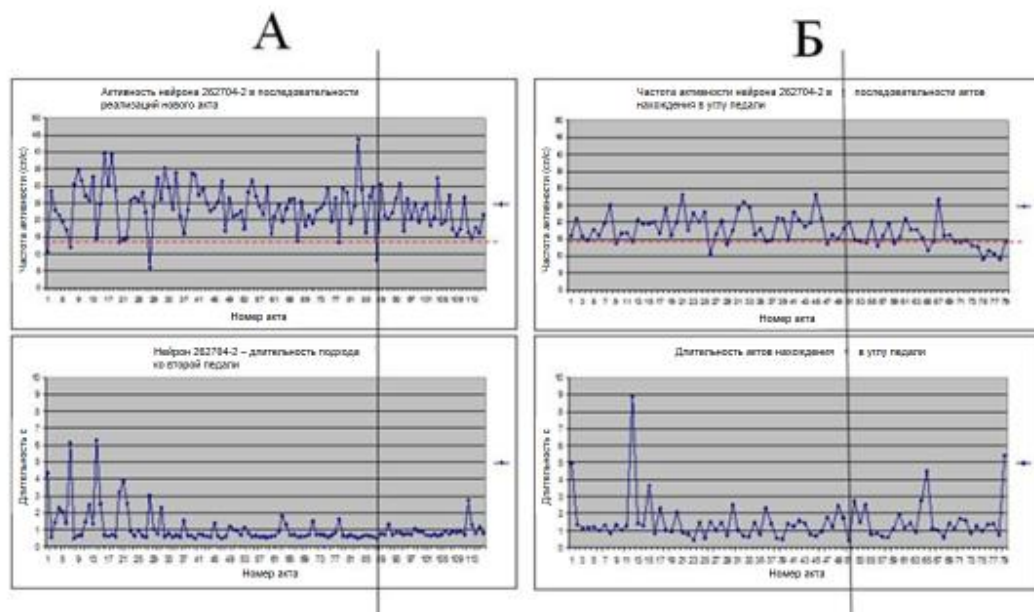


Рисунок 36. Частота спайковой активности нейрона 262704-1 и длительность актов в сформированных в этой сессии обучения пищедобывательных циклах на второй стороне экспериментальной клетки. А – вверху график частоты активности в последовательности подходов ко второй педали, внизу – длительность соответствующих актов подхода к педали. Б - вверху график средней частота активности в последовательности актов нахождения в углу второй педали, внизу – длительность соответствующих актов нахождения в углу педали. По оси абсцисс на всех графиках номер акта. По оси ординат на верхних графиках представлена средняя частота активности в спайках в секунду, а на нижних – длительность акта в секундах. На верхних графиках красная пунктирная линия соответствует минимальному критерию активации; вертикальные черные линии обозначают конец первой серии циклов на второй стороне и начало второй серии циклов.

Представленный нейрон иллюстрирует тип феноменологической специализации относительно группы последовательных поведенческих актов. График длительности

подхода к педали в последовательности циклов этой сессии обучения также имеет ярко выраженный экспоненциальный вид, соответствующий стандартной кривой научения. Из графиков частот активности в отдельных реализациях актов подхода к педали и нахождения в углу педали видно, что активность в большинстве представленных актов соответствовала критерию активации. В тех же случаях, когда активность в конкретном акте была ниже уровня активации, во втором из выделенных актов наблюдалась активация. Таким образом, во всех пицедобывательных циклах на второй стороне клетки мы наблюдали активацию нейрона на этапе подхода и нахождения в углу педали, что позволило считать этот нейрон специализированным относительно соответствующего этапа пицедобывательного цикла. Стоит отметить, что так же, как и у нейрона 27904-1, представленного на **рисунках 33 и 34**, у этого нейрона в первом подходе к педали активация выявлена не была, и в последних циклах при снижении мотивации наблюдалось снижение активности на специфическом этапе. Хотя это снижение и не привело к недостижению критерия активации в последних подходах к педали на второй стороне, которые в отличие от сессии 27904 являлись эффективными и заканчивались подачей пищи после нажатия на педаль.

Пример паттерна активности нейрона, специализированного относительно актов наклона и захвата пищи во второй кормушке представлен на следующем **рисунке 37**. У данного нейрона 100% активация наблюдалась в акте подхода ко второй кормушке (акт 15). В большинстве случаев эта активация продолжалась и в начале нахождения морды животного в кормушке, что соответствует захвату пищевой таблетки (акт 11). В этой сессии обучения животное №3 не делало попыток нажатия на вторую педаль, и поэтому экспериментатор подавал пищу при нахождении крысы в углу второй педали. Соответственно акта нажатия на вторую педаль не было и циклы на второй стороне были разбиты нами на 5 актов.

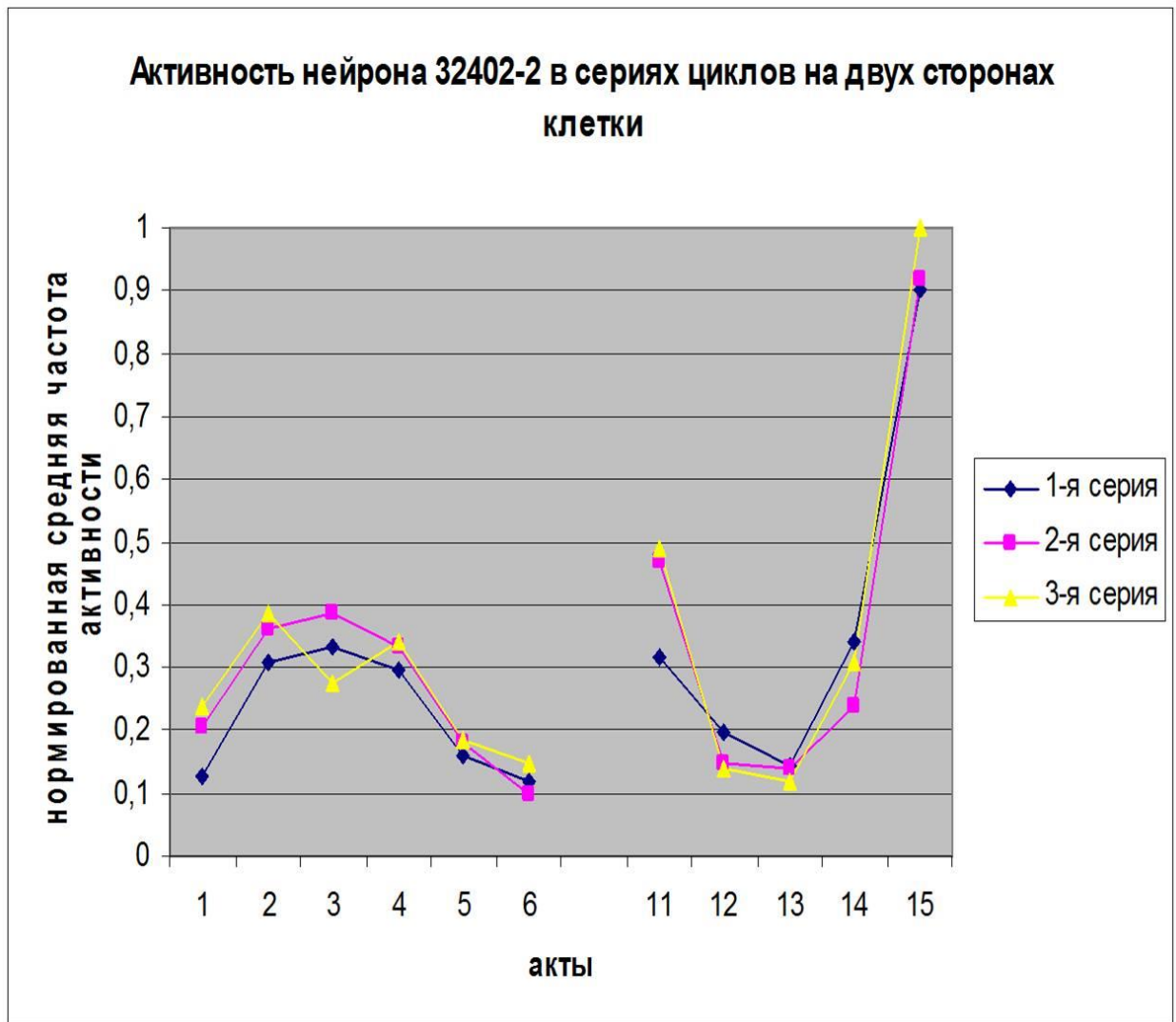


Рисунок 37. Активность нейрона 32402-2 в последовательных сериях пищедобывательных циклов на первой и второй сторонах клетки в сессии обучения крысы №3 подходу к второй педали. По оси ординат представлена нормированная средняя частота активности, а по оси абсцисс – номера актов (1-6 – акты на первой стороне, 11-15 акты на второй стороне клетки).

Паттерны в разных сериях актов на одной стороне показаны разным цветом.

У представленного на этом рисунке нейрона специфическая активация появлялась также с первых реализаций пищедобывательных циклов на второй стороне клетки. Обнаруженное нами появление специфических активаций с первых реализаций формируемых актов лучше согласуется с представлением об отборе пробных реализаций в случае их успешности (Швырков В.Б., 1987), чем с представлениями о постепенной выработке временной связи (ассоциации) при формировании инструментального условного рефлекса (Jenkins Н.М., 1984 и др.). **Таким образом, полученные в этих экспериментах результаты соответствуют предложенной В.Б. Швырковым системно-селекционной**

теории обучения, которая предполагает в ситуации обучения генерацию пробных актов и их отбор по критерию достижения требуемого результата (Shvyrkov V.B., 1986).

Также стоит отметить, что у всех специализированных по отношению к актам на второй стороне клетки нейронов в серии циклов на первой стороне, предшествовавшей поведению на второй стороне, ни в одном из актов не наблюдалось активации, соответствовавшей критерию специфической. То есть вся активность этих нейронов до формирования актов на второй стороне была неспецифической, что соответствует положению системно-селекционной теории о специализации в обучении неспециализированных нейронов. В то же время эти нейроны не были «молчащими» в циклах на первой стороне, что противоречит высказывавшемуся ранее предположению о том, что специализированные нейроны происходят из молчащих, т.е. не демонстрирующих спайковой активности, клеток.

В сессиях обучения пищедобывательному поведению на второй стороне нами было зарегистрировано достоверно больше нейронов специализированных относительно актов на этой стороне по сравнению с нейронами, специализированными по отношению к актам на первой стороне ($p < 0.05$ по критерию Хи-квадрат). Этот результат отличается от распределения нейронных специализаций, зарегистрированных в сессиях дефинитивного, т.е. давно сформированного и многократно повторенного, пищедобывательного поведения. Ранее нами было показано, что в аналогичном дефинитивном пищедобывательном поведении кроликов количество нейронов ретроспленальной коры, специализированных относительно актов на первой и второй сторонах клетки примерно равно (Горкин А.Г., 1988, Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., 1991, 1993, 1995). В экспериментах, проведенных на крысах по аналогичной методике в дефинитивном поведении другими авторами, также было обнаружено примерное равенство числа специализаций на разных сторонах экспериментальной клетки (Svarnik O.E. et al., 2005). Такое различие в представленности нейронных специализаций может быть связано с особенностью локализации регистрирующих электродов в цингулярной коре. В экспериментах по хронической регистрации в большинстве случаев тетрод находился примерно в 4-м слое коры, где наблюдается максимальная плотность клеток. В экспериментах же по регистрации в дефинитивном поведении электроды проходили через всю толщу коры и регистрировали нейроны в разных слоях равномерно. Кроме того, одной из причин такого различия может быть повышенная активность нейронов цингулярной коры в сессии обучения, связанная с повышенной активацией животного в поисковом поведении и соответствующая известной еще по работам классиков исследований мозга стадии генерализации формирования инструментального рефлекса (Jenkins H.M., 1984 и др.). В последнем случае можно ожидать,

что часть нейронов, демонстрировавших в сессии обучения специфические активации, в последующие дни по мере перехода к стадии концентрации перестанут демонстрировать в пищедобывательных актах активации, соответствующие применявшемуся нами критерию. Для проверки такой возможности необходимо было зарегистрировать активность специализированных нейронов в последовательности сессии обучения и ряда сессий выполнения сформированного нового поведения в течение нескольких дней. Такие эксперименты были проведены позднее (Кузина Е.А. и др, 2015) и описаны выше в главе, посвященной результатам острой регистрации активности нейронов в ЦИПП. Их результаты дополнили картину различия доли специализированных нейронов в ретроспленальной коре в последовательные дни формирования ЦИПП, однако в той работе акцент сделан на изменении доли нейронов с вероятностью активации менее 100%.

О наличии некоторой динамики состояния вовлекающихся в процесс специализации нейронов также свидетельствует обнаруженное нами в экспериментах с регистрацией хронически вживленными тетрами достоверное повышение на популяционном уровне средней частоты активности специализирующихся нейронов от начала сессии обучения к ее завершению.

В то же время многодневные исследования активности одних и тех же префронтальных нейронов в задаче альтернативного выбора (Go-Nogo) у обезьян привело других авторов к выводу о функциональной стабильности нейронов этой области коры (Greenberg P.F., Wilson F.A.W., 2004). Как отмечают авторы «такая стабильность может быть общим свойством префронтальных нейронов, имея в виду, что нейроны 4-х разных типов связи с задачей оказались функционально стабильными» (там же, с.1042).

3.2.3. Изменение паттерна активности нейронов в инструментальном пищедобывательном поведении в сессиях формирования новых актов поведения.

У представленных выше нейронов сравнение активности в первой, второй и последующих сериях актов на второй стороне клетки показало, что частота активности в специфическом акте (у этих нейронов им был акт подхода ко второй педали или акт подхода ко второй кормушке) достоверно не различалась, незначительно увеличиваясь от первой серии циклов ко второй и третьей. У нейрона специализированного относительно подхода ко второй кормушке и захвата пищи в ней во второй и третьей сериях актов частота активности в кормушке (акт 11 на **рисунке 37**) достоверно выросла по сравнению с первой серией. В то же время, частота активности в остальных, неспецифических, актах на этой стороне либо снижалась, либо оставалась неизменной на относительно низком уровне. Таким образом,

относительная выраженность или «яркость» специфической активации данного нейрона в циклах на второй стороне клетки возрастала. Также и для других нейронов, представленных выше на рисунках 33 и 35, между последовательными сериями циклов на второй стороне клетки присутствует следующая тенденция – минимальное соотношение частоты активности в специфическом акте к активности в других актах наблюдается в первой серии, а в последующих оно нарастает. В то же время частота активности этих нейронов в актах на первой стороне практически не менялась, а изменения паттерна активности на первой стороне от серии к серии носили случайный характер. В ряде случаев относительное снижение частоты активности в конкретном неспецифическом акте между последовательными сериями достигает статистически достоверного уровня. На другой стороне клетки такая тенденция не прослеживается. Данная закономерность динамики спайковой активности специализированных относительно вновь приобретенных актов нейронов похожа на выявленный в работе Барнс Т. с соавторами (Barnes T.D. et al., 2005) феномен концентрации спайковой активности в связанных с этапами поведенческой задачи активациях по мере формирования и упрочения поведения.

В этой работе Барнс Т. с соавт. (2005) на активности стриарных нейронов в последовательности сессий формирования, упрочения, угашения и повторной выработки инструментального поведения в Т-образном лабиринте была показана выраженная динамика участия нейронов в обеспечении разных этапов этого поведения в последовательности сессий. Примененный авторами метод представления нейронной активности не позволяет сравнить их данные с нашими критериями специализации, однако, данные Барнс Т. с соавторами (Barnes T.D. et al., 2005) могут свидетельствовать в пользу предположения о перестройке активности популяций нейронов от сессии к сессии. Изменение другого типа связи нейронной активности с поведением между сессиями обучения навигационному поведению были продемонстрированы в гиппокампе другой группой авторов (Kobayashi T. et al., 2003). В этой работе авторами определялись «плейс поля» нейронов гиппокампа в ряде сессий обучения поиску места подкрепления при его случайном перемещении и в задаче запоминания фиксированных мест локализации подкрепления для их последовательного посещения. Представленные авторами данные демонстрируют изменений выраженности активации в «плейс поле» вплоть до ее полного исчезновения в некоторых сессиях.

У двух других животных нами были зарегистрированы специализированные нейроны, которые меняли паттерн активности на первой стороне после формирования актов на второй. Пример такого нейрона приведен на следующем **рисунке 38**. Это тот же нейрон, на примере которого были на **рисунке 32** приведены разные формы представления спайковой активности нейрона в сессиях обучения.

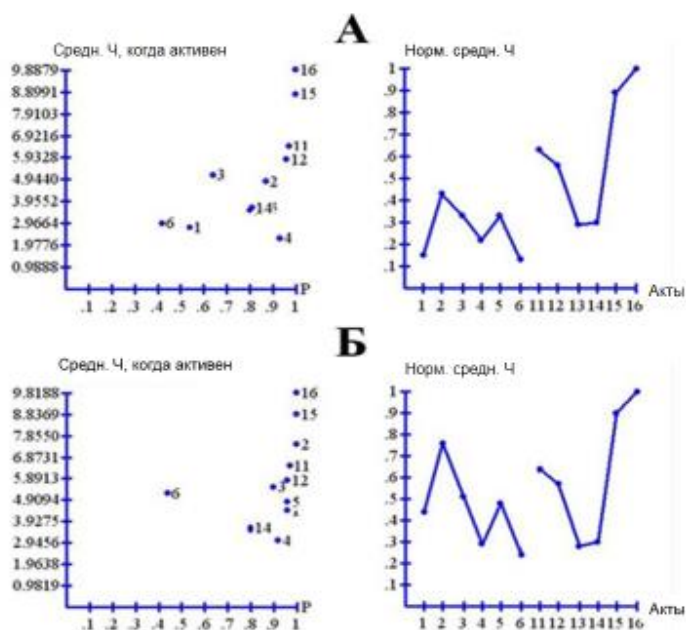


Рисунок 38. Паттерны активности нейрона 40103-1 в первой и второй сериях циклов на первой стороне клетки в сравнении с активностью в серии циклов на второй стороне. На части А представлено распределение частоты активности в первой серии циклов на первой стороне клетки и последующей за ней серии циклов на второй стороне. На части Б даны такие же графики для второй серии циклов на первой стороне в сравнении с той же серией циклов на второй стороне. На левых графиках по оси ординат даны средние частоты активности в спайках в с; по оси абсцисс дана вероятность наличия активности в соответствующем акте; номера актов даны на поле графика цифрами рядом с точкой среднего значения частоты и значением вероятности для соответствующего акта. На правых графиках по оси ординат отложена нормированная по частоте в специфическом акте частота импульсации, а по оси абсцисс даны номера поведенческих актов; акты с 1 по 6 на первой стороне клетки, а с 11 по 16 – на второй.

Из представленного рисунка видно, что во второй серии актов на первой стороне после формирования поведения на второй стороне возросла частота активности во всех актах. При этом это повышение активности оказалось статистически достоверным (критерий Вилкоксона, $p < 0.05$) для актов 1, 2, 3 и 5. Наиболее сильно изменилась активность в актах поворота головы, подхода к первой педали и нахождения в углу первой педали (акты 1-3). Причем это изменение выразилось как в повышении вероятности наличия активности, так и в росте ее частоты. Для сравнения в акте захвата пищи из первой кормушки (акт 6) частота несколько выросла, а вероятность наличия активности не изменилась. Изменение

импульсации нейрона в циклах на первой стороне хорошо видно на растрах спайковой активности этого нейрона в сессии обучения, приведенных на **рисунке 39**.

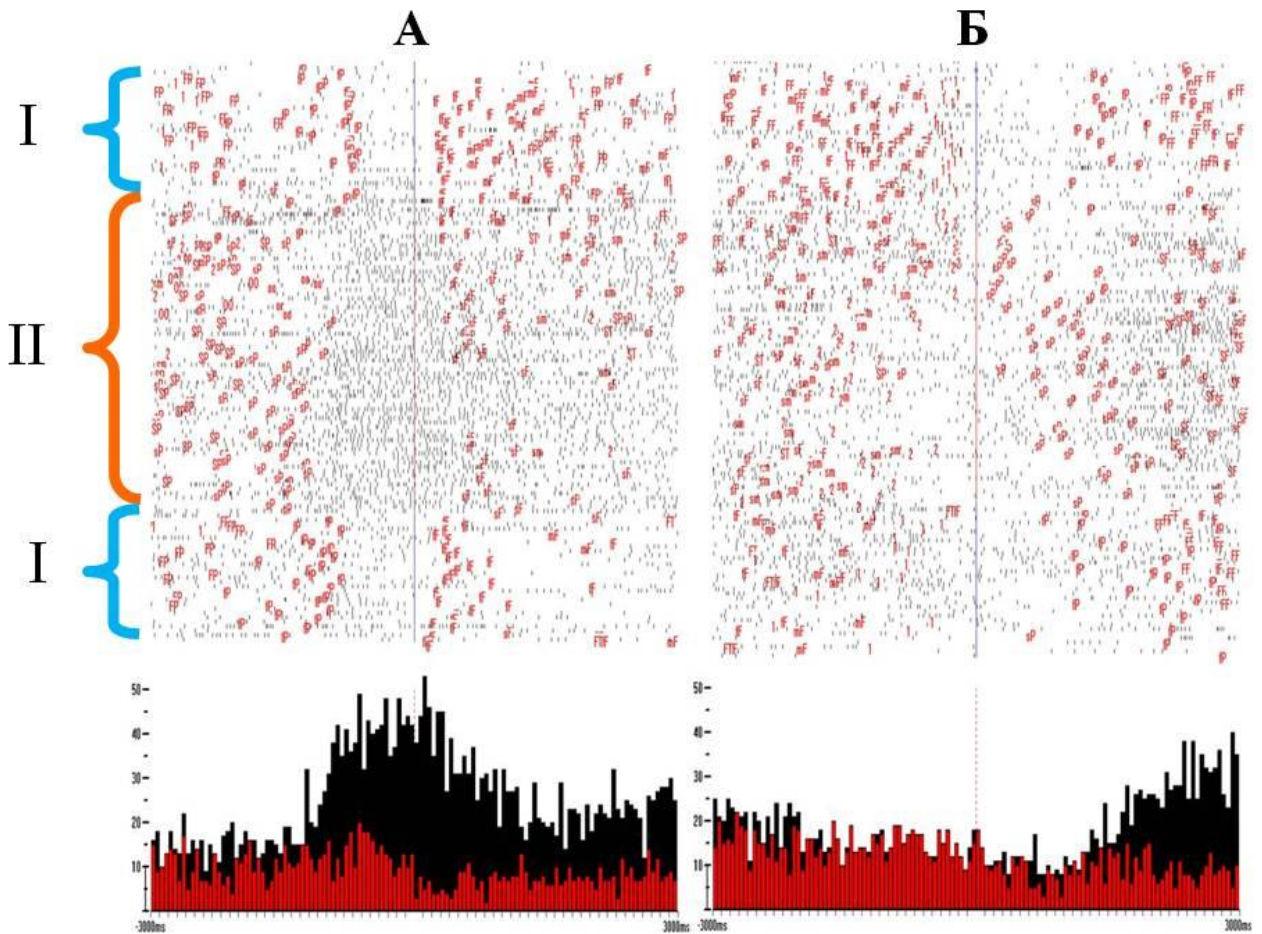


Рисунок 39. Растры и гистограммы импульсной активности нейрона 40103-1 в последовательных поведенческих циклах в сессии обучения на второй стороне клетки. А – растр и гистограмма активности относительно момента нажатия на педаль. Б – растр и гистограмма активности относительно момента входа морды животного в кормушку. На растрах фигурными скобками обозначены серии циклов на первой (I) и второй (II) сторонах клетки. Розовыми пятнами отмечены реперы, обозначающие границы выделенных поведенческих актов. Внизу - накопленные гистограммы активности с бином в 50 мс. По оси ординат дано количество спайков, а по оси абсцисс - время. Красным цветом дана активность на первой стороне клетки, а черным – на второй. Эпоха растров и гистограмм – 3 с до и 3с после момента соответствующей поведенческой отметки.

На представленном выше рисунке отчетливо видна специфическая активация в серии циклов на второй стороне клетки (оранжевая фигурная скобка), которая начиналась при подходе к педали и продолжалась при нахождении животного в углу педали и ее нажатии.

Также видно, что во второй серии циклов на первой стороне появилась активация нейрона при подходе к первой педали, однако она была менее выражена, чем специфическая активация на второй стороне.

На наш взгляд, появление такой дополнительной активации может отражать перестройку системной структуры пищедобывательного поведения животного после включения в нее новой группы актов, сформированных при научении животного циклическому поведению на второй стороне клетки. Такая перестройка соответствует выдвинутому Ю.И. Александровым (2005, Alexandrov Yu.I. et al., 2001) представлению об «аккомодационной реконсолидации» систем прошлого опыта при добавлении в него новых систем. Подобные изменения ранее сформированных систем после научения следующему акту обнаружены и на нейрогенетическом уровне (Сварник О.Е. и др., 2014, Svarnik O. E. et al., 2015).

Наши данные по регистрации хронически вживленными электродами нейронной активности в цингулярной коре крыс во время сессий формирования второго из аналогичных пищедобывательных циклов показали, что специализированные нейроны включаются в обеспечение новых актов с их первых реализаций. В то же время обычно при сопоставлении нейронной активности с обучением анализируется динамика нейронной активности в ряду последовательных реализаций поведения. Так, например, в упомянутой выше работе Гринберг и Вилсона (Greenberg P.F., Wilson F.A.W., 2004) из всей выборки нейронов, связанных с выполнением поведенческой задачи, авторами были выделены в качестве связанных с обучением только две клетки, которые достоверно меняли частоту своей связанной с одним из этапов задачи активации в течение сессии обучения.

Таким образом, проведенная серия экспериментов по регистрации нейронной активности в ретроспленальной коре крыс в сессиях формирования пищедобывательного поведения показала, что при формировании второй группы аналогичных актов (циклическое поведение на второй стороне клетки) специализированные относительно новых актов нейроны демонстрируют специфическую активацию, начиная с первых реализаций нового акта. Также было показано, что предшественниками этих нейронов являются «неспециализированные» нейроны, имеющие на первой стороне мало структурированную активность. В ряде случаев после обретения специализации при формировании поведения на второй стороне эти клетки достоверно меняют паттерн активности в циклах на первой стороне.

3.2.4. Активность специализированных нейронов в разных формах поведения и реконструкция отношений в структуре индивидуального опыта.

Для решения задачи выявления закономерностей вовлечения нейронов, специализированных относительно актов разных форм поведения, в реализацию других актов той же и других форм поведения животного была проведена следующая серия экспериментов. В этих экспериментах по регистрации активности нейронов ретроспленальной коры крыс хронически вживленными многоканальными микроэлектродами животные кроме актов ЦИПП выполняли акты других форм поведения, в том числе оборонительного. Из всего репертуара зарегистрированных в экспериментальной ситуации актов животного были выбраны акты, наиболее четко соответствующие доменам «приближения» (approach) и «избегания» (withdrawal) (Alexandrov Y.I. et al., 2007, Александров Ю.И., 2009). Из совокупности зарегистрированных нейронов были выбраны 11 специализированных нейронов (зарегистрированных у 4 разных животных), для которых специфическими были либо акты пищедобывательного поведения (домен «приближения») или пассивно оборонительного поведения (домен «избегания»). Отношения между компонентами опыта определялись на основании статистического анализа активности нейрона при осуществлении неспецифических актов его «родного» домена и актов другого домена. Исходная гипотеза состояла в том, что компоненты этих доменов будут связаны оппонентными отношениями, то есть нейроны, специфически активизирующиеся в актах домена «приближения» будут подавлять свою активность при выполнении актов домена «избегания» и наоборот. Такого типа изменения активности были действительно обнаружены для части этих нейронов (6 клеток), однако у остальных были выявлены другие варианты активности в актах «чужого» домена. Это может быть связано с тем, что кроме междоменных отношений в активности специализированных нейронов проявляются и другие факторы, наподобие описанных ранее факторов общности цели, движения (Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., 1995).

Для выявленных специализированных нейронов проводили попарное сопоставление частот активности в конкретных актах. Проведение такого типа анализа активности нейронов, специализированных относительно актов этих двух доменов, позволяет сравнить количество отношений между элементами памяти внутри домена и между доменами. Количество отношений оценивалась по доле достоверных различий в активности нейронов в парах актов из одного или двух доменов, которая является косвенным показателем числа отношений элементов памяти, которые могут быть выявлены в данном репертуаре поведенческих актов. Для определения количества отношений внутри одного домена был

выбран домен циклического пищедобывательного поведения, т.к. мы выделили в нем по критерию этапов формирования довольно много отдельных актов (по 6 на каждой стороне клетки и всего – 12). Для определения количества отношений, которые связывают акты разных доменов, были выбраны пары актов, один из которых принадлежал домену пищедобывательного поведения, а второй – оборонительного, которое в свою очередь было разделено на 3 акта, соответствующих захвату животного рукой и подъему вверх, удержанию его в поднятом положении и акту плавного опускания на пол с выпусканием из рук. Обе выборки сравниваемых пар актов были относительно многочисленными, что позволяло проводить статистическое сравнение долей выявляемых отношений по выборке специализированных нейронов. В отличие от выборки пар актов ЦИПП, в оборонительном поведении можно было взять только 3 пары актов, что недостаточно для точного выявления доли различий в парах актов внутри одного поведенческого домена. Кроме того, мы не фиксировали этапы формирования этого оборонительного поведения, поэтому разделение оборонительного поведения на отдельные акты достаточно условное.

Для расширенной выборки из 20 нейронов этих специализаций (13 клеток с пищедобывательной специализацией и 7 с оборонительной), зарегистрированных у 6 животных было посчитано количество попарных различий между актами этих форм поведений. Для сравнения были посчитаны попарные различия у 7 других нейронов этих животных с неустановленной специализацией. Доли достоверных попарных различий из всех возможных комбинаций актов ЦИПП представлены на **рисунке 40**.

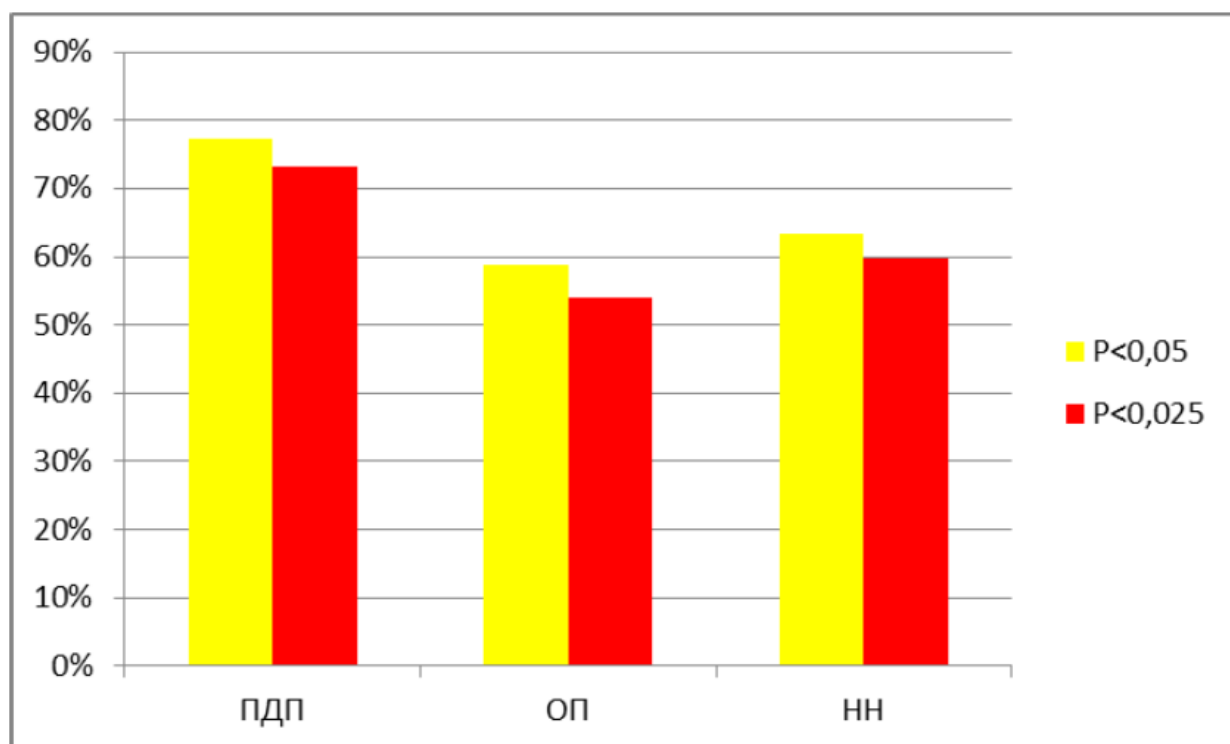


Рисунок 40. Доля достоверных различий активности специализированных нейронов в парах актов ЦИПП. Желтым и красным цветом представлены доли различий с разной достоверностью. Обозначения: ПДП – специализации относительно актов пищедобывательного поведения; ОП – специализации относительно актов оборонительного поведения; НН – нейроны с неустановленной специализацией.

Для разных специализированных нейронов, которые были зарегистрированы в разных экспериментальных сессиях число одноименных актов пищедобывательного поведения могло сильно отличаться (от 10 до более чем 100 актов), при этом число одноименных актов оборонительного поведения варьировало существенно меньше (от 5 до 22 актов). Нами было установлено, что при увеличении выборки одноименных актов вероятность обнаружения достоверных различий возрастала. Поэтому мы привели для сравниваемых групп значения доли пар актов с различиями в активности с двумя разными уровнями значимости. На рисунке видно, что средние доли различающихся пар актов в наборе комбинаций пар актов ЦИПП достоверно различаются для специализаций относительно пищедобывательного и оборонительного поведений при обоих уровнях значимости ($p < 0.05$ по точному критерию Фишера). Доля выявленных различий в выборке нейронов с неустановленной специализацией занимала промежуточное положение между выборками специализированных нейронов и достоверно не отличалась ни от одной из них.

На следующем **рисунке 41** представлены доли достоверных различий при попарных сравнениях активности ретроспленциальных нейронов в парах актов из оборонительной и пищедобывательной форм поведения. Так как число одноименных актов оборонительного поведения было относительно невелико (обычно около 10 актов), то наряду с долей достоверных различий приведены на рисунке и доли выявленных тенденций различия в парах актов из этих двух форм поведения. Из рисунка видно, что и по значению доли достоверных различий и по доле тенденций выборка нейронов пищедобывательных специализаций достоверно отличается от выборки нейронов оборонительных специализаций ($p < 0.05$ по точному критерию Фишера). Доля выявленных различий для нейронов с неустановленной специализацией оказалась равной выборке пищедобывательных специализаций и достоверно отличной от выборки нейронов оборонительных специализаций. Последний результат может означать, что значительная часть нейронов с неустановленной специализацией имели пищедобывательную специализацию, но относительно актов, которые не демонстрировались животным в нашей форме ЦИПП.

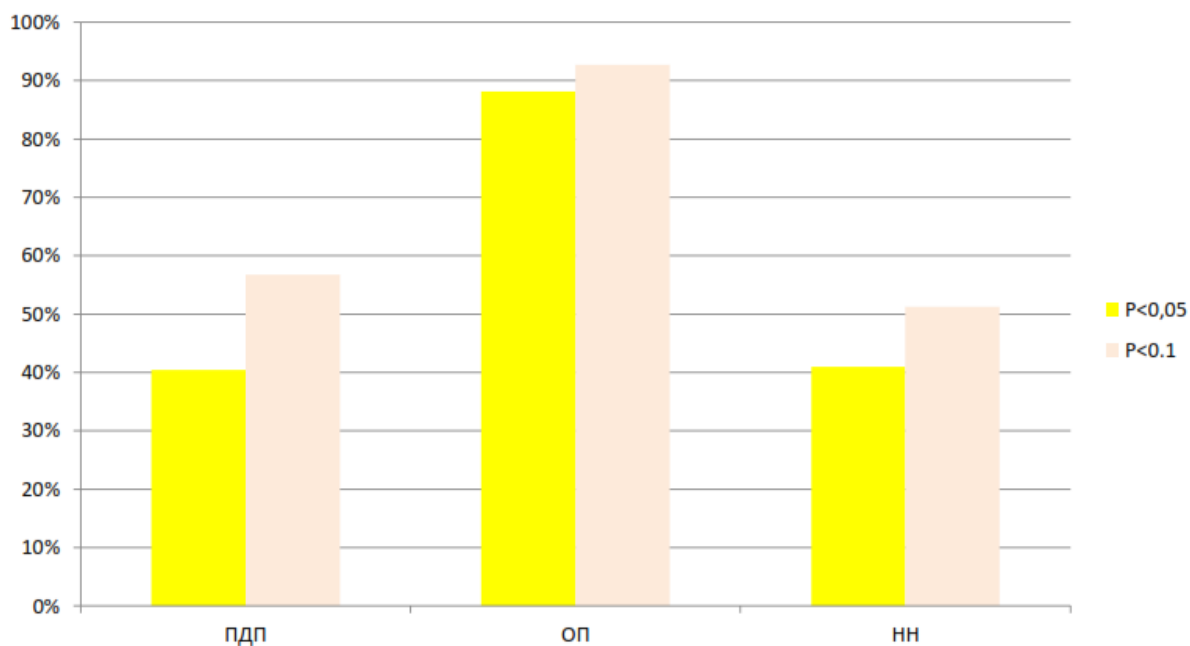


Рисунок 41. Доля достоверных либо на уровне тенденции различий активности специализированных нейронов в парах актов из доменов пищедобывательного и оборонительного поведений. Желтым и розовым цветом представлены доли различий с разной достоверностью. Обозначения: ПДП – специализации относительно актов пищедобывательного поведения; ОП – специализации относительно актов оборонительного поведения; НН – нейроны с неустановленной специализацией.

Сравнение представленных на рисунках долей достоверных различий отдельно для пищедобывательных и оборонительных специализаций показывает, что количество обнаруженных различий в выборках пар актов достоверно различалось для выборки пар актов из пищедобывательного поведения и пар актов из пищедобывательного и оборонительного поведений. При этом направление различий было противоположным: для нейронов пищедобывательных специализаций доля различий в парах актов пищедобывательного поведения была достоверно выше, чем в парах актов оборонительного и пищедобывательного поведений. Для оборонительных специализаций было характерно большее количество различий в парах актов из разных форм поведения по сравнению с парами актов пищедобывательного поведения. Стоит отметить, что для оборонительных специализаций доля достоверных различий в парах актов из разных форм поведения близка к 100% и вряд ли можно ожидать, что внутри домена оборонительного поведения доля различий будет больше. Это свидетельствует об определенной асимметрии в отношениях, связывающих акты разных доменов, и особенностях организации и вовлеченности в целостную структуру индивидуального опыта разных доменов.

Таким образом, проведенный анализ на примере домена пищедобывательного поведения показал, что внутри домена опыта конкретного поведения число межкомпонентных отношений может быть достоверно больше, чем между компонентами из разных доменов. А на примере доменов пищедобывательного и оборонительного поведений была выявлена асимметрия в отношениях между компонентами опыта из этих доменов.

Для крыс социальное поведение составляет важную часть их поведенческого репертуара и в другом исследовании мы сопоставляли активность регистрируемых хронически вживленными микроэлектродами нейронов наряду с актами этих форм поведения также и с актами межиндивидуального взаимодействия крыс. Для этого в сессиях регистрации нейронной активности после выполнения программы пищедобывательного и оборонительного поведения к крысе с вживленными электродами в процессе регистрации подсаживали другую особь. В разных экспериментах это была взрослая крыса другого пола, либо крысенок в возрасте около 1 месяца. В процессе взаимодействия крыс велась запись активности нейронов ретроспленальной коры и видеорегистрация поведения. На основании просмотра видеозаписей взаимодействия в 12 сессиях регистрации нейронной активности у 5 крыс в поведении межиндивидуального взаимодействия были выделены 6 типичных, неоднократно повторяющихся, актов взаимодействия. К ним были отнесены: следование за другой особью, избегание взаимодействия, физический контакт с другой особью, обнюхивание тела и отдельный акт – обнюхивания хвостовой области, а также обнюхивание меток на полу клетки. В 12 сессиях с эпизодами межиндивидуального взаимодействия было зарегистрировано 58 потоков активности одиночных нейронов. Сопоставление их активности с межиндивидуальным поведением не привело к обнаружению клеток, специализированных относительно выделенных актов. В то же время в этой выборке были обнаружены 4 клетки с пищедобывательной специализацией и 3 клетки с оборонительной специализацией. За счет добавления к этим нейронам клеток с активациями в пищедобывательных или оборонительных актах с вероятностью превышающей 60% нами были сформированы группы нейронов преимущественно активных в оборонительном и пищедобывательном поведении. Каждая из составленных групп включала по 10 нейронов. Сравнение нормированного паттерна активности этих групп нейронов показало, что при выполнении актов межиндивидуального взаимодействия они характеризовались достоверно разными паттернами, что позволяет говорить о наличии различных отношений между актами межиндивидуального взаимодействия и актами этих форм поведения в структуре опыта. При этом активность группы «пищедобывательных» нейронов была достоверно ниже в большинстве актов межиндивидуального поведения по сравнению с «оборонительными», а паттерн активности оборонительных нейронов был практически идентичен усредненному

паттерну всей популяции зарегистрированных ретроспленальных нейронов. Из этого можно сделать вывод, что акты пищедобывательного и межиндивидуального поведенческих доменов находятся в оппонентных отношениях. Стоит особо отметить, что в проведенных экспериментах не было обнаружено ни одного нейрона, который бы демонстрировал активации, соответствующие критерию специфических в двух актах разных форм поведения, что является свидетельством в пользу предложенного В.Б. Швырковым (1995) принципа системоспецифичности нейрона.

3.2.5. Активность корковых нейронов в ситуации потери результативности ЦИПП.

В следующей серии экспериментов в рамках решения той же задачи выявления закономерности вовлечения специализированных нейронов в реализацию других актов и в разные формы поведения было проанализировано изменение активности популяции ретроспленальных нейронов в ситуации, когда после формирования дефинитивного пищедобывательного поведения налагали запрет на его исполнение путем устранения прежде эффективной педали.

Эксперимент с регистрацией нейронной активности был проведен на 7 животных. Для части животных после продолжительного «запрета» (несколько дней, и соответственно, экспериментальных сессий) (4 крысы) была проведена сессия «возврата» – возвращение ранее изъятой педали и восстановления ее эффективности, далее 2 животных были поставлены в ситуацию «запрета» повторно – была изъята вторая в истории обучения животного в экспериментальной клетке педаль.

Из имеющейся картины поведения разных животных в ситуации «запрета» были выделены наиболее часто встречающиеся специфические акты, связанные с модифицированным неэффективным инструментальным пищедобывательным поведением: «подход к отверстию в месте изъятой педали», «нахождение в углу изъятой педали», «обнюхивание отверстия», «обнюхивание угла в месте изъятой педали», «подход к кормушке», «опускание морды в кормушку», «прохождение середины стенки» (Чистова Ю.Р. и др., 2018). Данные поведенческие акты были выделены с учетом возможности сравнения с актами успешного инструментального поведения. Они были либо сходными с актами успешного пищедобывательного поведения, либо наблюдались в том же месте экспериментальной клетки.

В сравнение параметров поведения и нейронной активности брались только акты, количество реализаций которых было не менее 3. Необходимо также отметить, что животные, поставленные в ситуацию «запрета», демонстрировали реализацию

фрагментированного цикла инструментального пищедобывательного поведения, например, после нахождения в углу педали крайне редко подходили к кормушке. Это косвенно свидетельствует о том, что при невозможности реализации элемента индивидуального опыта в целостной структуре опыта происходят изменения. В сессиях во время наложения «запрета» наблюдались также поведенческие акты других форм поведения: акты груминга, которые преимущественно совершались животным у отверстия на месте изъятой педали, и акты ориентировочно-исследовательского поведения (стойки, обнюхивания стенок клетки). Обнаружено общее снижение частоты реализаций актов пищедобывательного и связанного с ним поведения в ситуации «запрета» (критерий Манна – Уитни, $p < 0.05$), а также снижение длительности реализаций этих актов (критерий Манна – Уитни, $p < 0.05$), и изменение соотношения количества реализуемых актов пищедобывательного и других форм поведения (см. **рисунок 42**).

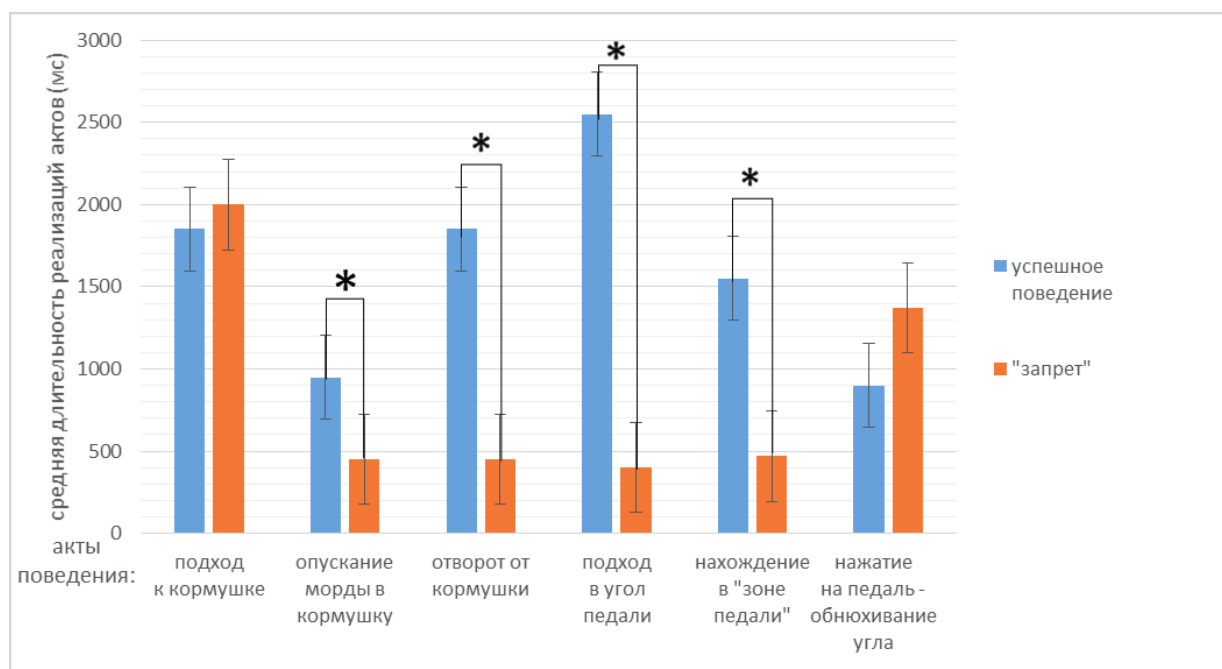


Рисунок 42. Сравнение средних длительностей (мс) реализаций актов успешного пищедобывательного поведения (обозначены синим) с модифицированными актами после изъятия педали (оранжевый). Значения даны, как среднее \pm стандартная ошибка. Звездочками отмечены достоверные ($p < 0.05$) различия по критерию Манна – Уитни.

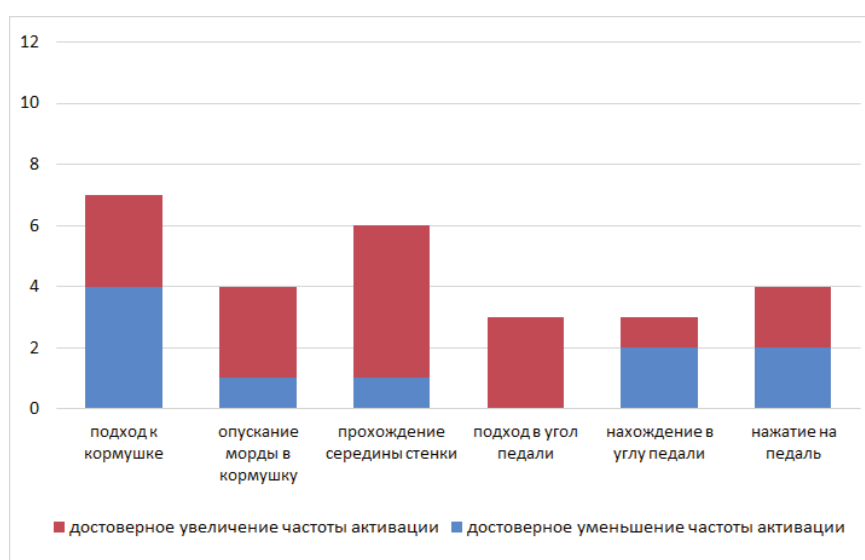
Частота актов ориентировочно-исследовательского поведения (стойки), по критерию Манна – Уитни оказалась достоверно меньше ($p < 0.05$) в дефинитивном поведении (частота реализаций актов в минуту – $0,60 \pm 0,15$), чем во время «запрета» (частота реализаций актов – $0,15 \pm 0,05$). При этом среднее время реализации таких актов в ситуации «запрета» не изменилось. Также не изменились частота и средняя длительность актов груминга после введения запрета.

Для контроля неизменности положения регистрирующих электродов было проведено сравнение активности популяции нейронов, зарегистрированной на отдельном животном, до процедуры удаления педали и после, во время реализации разных форм поведения в той части экспериментальной клетки, куда животное помещали в начале и конце экспериментальной сессии. В результате такого сравнения общепопуляционной активности с помощью статистического критерия Вилкоксона было показано, что в 7 из 9 случаев (сессии «запрета») средняя частота активности популяции нейронов достоверно не изменилась ($p > 0.05$). 2 случая достоверного снижения общепопуляционной активности были исключены из сравнительного анализа нейронной активности в ситуации наложения «запрета».

Из зарегистрированной мультиклеточной активности было выделено 30 потоков активности отдельных нейронов, при этом не было обнаружено специализированных относительно выделяемых нами актов пищедобывательного поведения в экспериментальной клетке. Активность зарегистрированных нейронов была проанализирована при реализации модифицированных актов в ситуации «запрета», но у одного животного (для 4 нейронов) количество реализации актов было недостаточным для поактового статистического сравнения. Анализ средней частоты активности нейронов при постановке животного в ситуацию «запрета» не выявил достоверных изменений по сравнению с активностью нейронов за время реализации дефинитивного поведения. Поактовое статистическое сравнение показало, что 15 из 26 нейронов достоверно изменили частоту активности хотя бы в одном из актов в ситуации «запрета» (рис. 3) (критерий Манна – Уитни, $p < 0.05$). Причем наибольшее количество изменений наблюдается в следующих парах сравниваемых актов: «успешное нажатие педали» с актом «обнюхивание стенок в месте изъятых педали» и «успешное нажатие педали» с актом «обнюхивание отверстия на месте изъятых педали» (11 и 8 соответственно). Все достоверные изменения частоты импульсной активности были однонаправленными в рамках принадлежности к одному нейрону, то есть частота активности конкретного нейрона или снижалась, или увеличивалась, причем снижение частоты активности наблюдалось только в актах, связанных с отсутствующей педалью («подход в угол», «обнюхивание угла» и «обнюхивание отверстия»). Были обнаружены нейроны, активные в поведении на стороне клетки, не подвергающейся «запрету», т. е., в сохранившемся поведении, которые изменили свою активность в ситуации «запрета». Был проведен более подробный анализ «сохранившегося» инструментального пищедобывательного поведения по отдельным потокам нейронной активности. Поактовое статистическое сравнение по критерию Манна – Уитни показало, что частота активности 14 нейронов при реализации «сохранившегося» поведения, достоверно не изменилась после

постановки животного в ситуацию «запрета» ($p > 0.05$). В активности 16 нейронов были выявлены достоверные изменения в отдельных актах сохранившего эффективность поведения ($p < 0.05$): в акте «подход к кормушке» – 7 нейронов; «опускание морды в кормушку» – 4 нейрона; «прохождение середины стенки» – 6; «подход к педали» – 3; «нахождение в углу педали» – 3; «нажатие на педаль» – 4. Достоверные изменения частот активности нейронов в актах «сохранившегося» поведения по сравнению с этими актами до наложения «запрета» в целом по популяции имеют разнонаправленный характер – как увеличение частоты, так и снижение (**рисунок 43**), – но у 15 из 16 проанализированных нами нейронов частота активности отдельных клеток изменялась однонаправленно.

А



Б

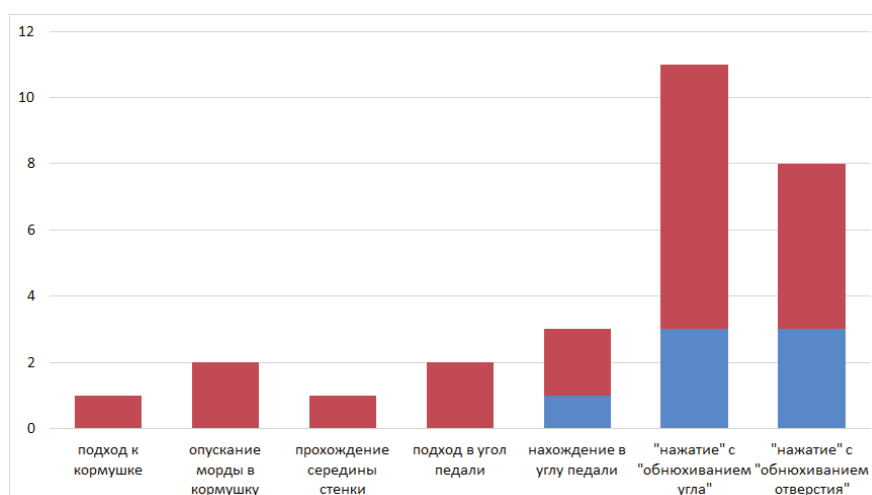


Рисунок 43. Гистограммы количества потоков нейронной активности с достоверным изменением частоты активности при постановке животного в ситуацию «запрета».

Распределение количества достоверных различий активности отдельных нейронов в актах: (а) сохранившего эффективность пищедобывательного цикла по актам: «подход к кормушке» – 7 нейронов; «опускание морды в кормушку» – 4 нейрона; «прохождение середины стенки» – 6; «подход к педали» – 3; «нахождение в углу педали» – 3; «нажатие на педаль» – 4; и по актам (б) модифицированного пищедобывательного поведения: «подход к кормушке» – 1 нейрон; «опускание морды в кормушку» – 2 нейрона; «прохождение середины стенки» – 1; «подход к педали» – 2; «нахождение в углу педали» – 3; сравнение частоты активности в актах «нажатие на педаль» и «обнюхивание угла в зоне педали» – 11; сравнение частоты активности в актах «нажатие педали» и «обнюхивание отверстия» – 8.

В проведенных экспериментах наблюдались изменения в активности нейронов, благодаря чему можно говорить о модификациях в структуре опыта, связанных с невозможностью реализации одного из его элементов.

Обнаружены разнонаправленные достоверные отличия частоты активности нейронов при реализации животным актов в «зоне педали» до и после ее изъятия. Отметим, что большая часть нейронов, изменивших активность на стороне «запрета», увеличивали частоту активаций. Нейроны, уменьшившие свою активность, до «запрета» также демонстрировали очень низкую частоту. Снижение ими активности может быть связано с отсутствием поведения, во время которого данные клетки показывали неспецифические активации. Увеличение же частоты активности большей частью клеток, изменивших активность в «педальной зоне», предположительно связано с рассогласованием и попытками его устранения. Максимальные перестройки активности связаны с замещением акта нажатия педали на новые поведенческие акты, и носят разнонаправленный характер. Наибольший уровень изменений активности нейронов в поведении, связанном с актами исследования места изъятых педали (обнюхивание стенок в месте изъятых педали, обнюхивание отверстия в месте изъятых педали) отражают на наш взгляд рассогласование от потери возможности совершать поведенческий акт, приводящий к достижению результата.

Изменили показатели частоты активности не только нейроны, специфически связанные с поведенческим циклом, на элемент которого налагался «запрет», но и нейроны, активные в сохранившемся поведении, косвенно связанным с поведением «запрещенным». Это демонстрирует, что изменения затрагивают не только элемент опыта, который невозможно реализовать при «запрете», но и связанные элементы из другого пищедобывательного цикла, что может свидетельствовать о модификациях в межсистемных отношениях. Нейроны, неспецифически активные в «сохранившемся поведении», изменили свою активность (относительно того же поведения «до запрета»), в основном, в актах,

связанных с получением результата всего цикла (подход к кормушке, проверка, и т.д.). Можно утверждать, что введение «запрета» на реализацию поведенческого цикла на одной стороне клетки приводит к изменению активности нейронов во время реализации актов сохранившего свою эффективность поведения, и соответственно перестройке структуры индивидуального опыта. Этот эффект сходен с процессом аккомодационной реконсолидации при формировании нового элемента опыта (Александров Ю.И., 2004, Сафразьян Ю.Р. и др. 2019, Alexandrov Yu.I., 2018).

3.2.6. Обсуждение результатов регистрации нейронов в ЦИПП хронически вживленными электродами.

1. Какова роль специализированных нейронов в функциональной системе поведенческого акта?

Полученные нами результаты показывают, что специфическая активация специализированного нейрона является особой формой спайковой активности клетки, а не просто крайним случаем выраженности активации. В пользу этого говорит продемонстрированная нами пониженная вариативность выраженности этой активации в специфическом акте по сравнению с активностью в других актах, а также тот факт, что нарушение естественной активности нейрона в случае его механического раздражения (что проявляется в постепенном повышении средней частоты разряда в поведении) приводит к усложнению выявления специфических активаций.

Также в пользу этого утверждения говорит показанная разная чувствительность специфической и неспецифической активности к действию этанола (Alexandrov Yu.I. et al., 1991, 1993). Сам критерий 100% активации является следствием принятия положения системо-специфичности нейрона (Швырков В.Б., 1978, 1995), согласно которому нейрон неизменно связан с конкретной системой и обеспечивает ее реализацию. В то же время критерий активации в 50% превышения средней частоты активности в поведении связан скорее с обеспечением статистической достоверности различия (выполнение такого условия обеспечивает на выборке из 10 и более актов уровни достоверности по непараметрическим критериям не хуже $p < 0.01$). В приведенном выше исследовании динамики связи активности нейронов после формирования пищедобывательного поведения (Кузина Е.А. и др., 2015) были указаны медианные отношения частоты в специфическом акте по сравнению с «фоновой» активностью. Эти значения были в диапазоне 2,5 – 3,5 для разных этапов консолидации навыка.

В исследовании нейронной активности в сессиях формирования поведения все выявленные по критерию специализации нейроны имели соотношение в том же диапазоне (2,5 – 3,5). При этом на **рисунке 24** приведены примеры нейронов с более ярко выраженной специфической активацией. Обнаруженные другими авторами специализированные нейроны, в частности нейроны «концепта гнезда», имели существенно большую разницу в выраженности специфической активации по сравнению с активностью в остальном поведении (Lin L., et al., 2007). Также существенно большее соотношение характерно для нейрона энторинальной коры мозга человека, специфически активировавшегося при просмотре кадров мультфильма про Симпсонов, показе слова «Симпсоны» на экране и воспоминании о показанных ранее фрагментах мультфильма (Gelbard-Sagiv H. et al., 2008). Также выше было это соотношение для другого примера человеческого нейрона, специфически активировавшегося на фотографию конкретного человека (Quiroga R.Q. et al., 2008, Rey H.G. et al., 2014). В работах той же группы авторов были приведены примеры и других нейронов медиальной височной доли коры больших полушарий мозга человека со специфическими активациями при предъявлении фотографий других известных людей и природных объектов с таким же высоким соотношением специфической активации по отношению к активности при предъявлении других фотографий. В нашей работе также встречались нейроны со сходным высоким соотношением специфической активности к активности в остальном поведении, однако их доля в общей совокупности специализированных нейронов была невелика. Можно предположить, что нейроны с такими разными соотношениями специфической активации с активностью в другом поведении могут играть разную роль в организации поведения.

В соответствии с этим предположением можно ожидать, что распределение в популяции специализированных нейронов значений отношений частоты специфической активации к частоте в другом поведении будет иметь бимодальный характер. Это предположение мы проверили на относительно большой выборке специализированных нейронов, зарегистрированных в выше приведенной работе об активности ретроспленальных нейронов на разных этапах консолидации памяти о формируемом циклическом пищедобывательном поведении (раздел результатов острой регистрации нейронной активности 4.1г (Кузина Е.А. и др., 2015)). В данном исследовании на выборке из 379 зарегистрированных нейронов было обнаружено 60 специализированных клеток. Они имели разную специализацию, в основном относительно актов сформированного в клетке пищедобывательного поведения. Для этих нейронов было рассчитано отношение частоты в специфическом акте (максимальной из частот в группе последовательных актов, если нейрон был специализирован относительно этапа поведения, включающего более одного акта) к

средней частоте активности вне пищедобывательного поведения (в основном это было пассивное нахождение на полу экспериментальной клетки). Гистограмма распределения случаев разных соотношений этих частот в логарифмической шкале представлена на следующем **рисунке 44**.

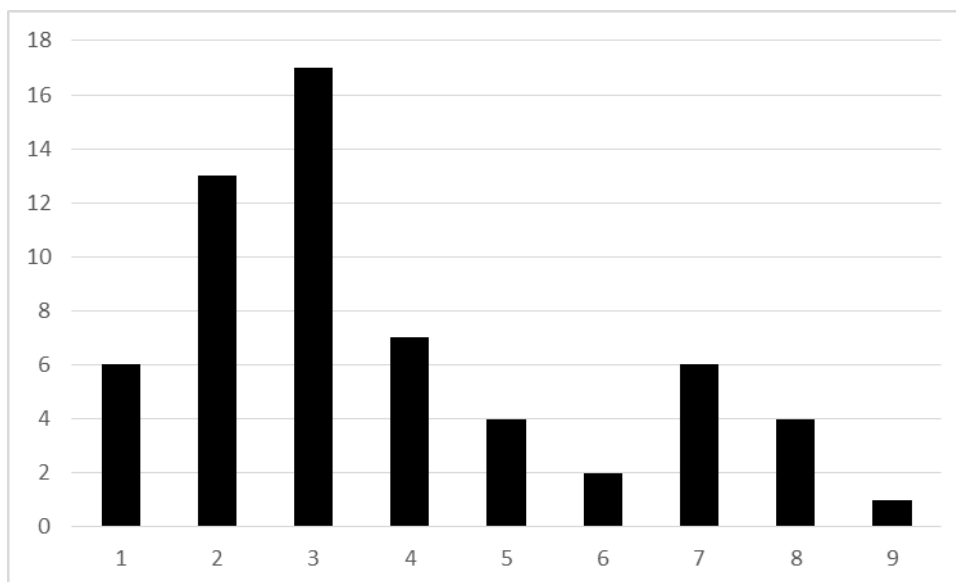


Рисунок 44. Гистограмма распределения отношений частот в специфическом поведенческом акте и вне пищедобывательного поведения. По шкале ординат – число нейронов. По шкале абсцисс – номера интервалов от ношений в логарифмической шкале с шагом в 30%. 1 – 1.5-2; 2 – 2-2.6; 3 – 2.6-3.4; 4 – 3.4-4.4; 5 - 4.4-5.7; 6 – 5.7-7.4; 7 – 7.4-9.6; 8 – 9.6-12.5; 9 - >12.6.

Как видно из представленного рисунка, распределение действительно получилось бимодальным с двумя выраженными пиками. Первый соответствует интервалу 3 (отношение – 2.6 – 3.4 раза), а второй пик меньшей амплитуды, но тоже довольно выраженный наблюдается на интервале 7 с соотношением частот 7.4 – 9.6. Все нейроны с высоким соотношением частот специфической активации к активности в остальном поведении имели максимальную частоту только в одном из 5 выделенных в пищедобывательном цикле актов. Даже в соседних актах их активность была в несколько раз меньше, чем в специфическом. То есть в эту группу не попали нейроны, активировавшиеся на этапе поведения, включающем последовательные акты, например – подход и нажатие педали или подход к кормушке и захват пищи в ней. Как нетрудно заметить, к первому пику отношений относятся все представленные выше нейроны из экспериментов по регистрации хронически вживленными электродами в сессиях формирования новых актов пищедобывательного поведения (приведены на **рисунках 33 – 39**). Именно для таких клеток мы показали включение специфической активации с первых реализаций формируемого поведенческого акта. В то же

время нейронов с отношением, соответствующим второму пику, в этих сессиях зарегистрировано не было.

Появление специфической активации с первых реализаций новых актов означает, что данный нейрон с необходимостью входит в интеграцию, обеспечивающую достижение нового результата и, скорее всего, связан с определенными исполнительными механизмами организации телесной активности для достижения соответствующего результата. Такие нейроны и составляют новую интеграцию вместе с другими элементами тела, которые своей согласованной активностью в виде взаимодействия (Анохин П.К., 1975) обеспечивают достижение требуемого результата новой функциональной системы поведенческого акта. В противоположность этим нейронам в упомянутых выше работах с регистрацией нейронов у человека, которые своей активностью продемонстрировали связь с субъективным опытом в виде понятий, было выявлено соотношение частоты специфической активации к активностью в остальном поведении скорее соответствующее второму пику. Также ко второму пику можно отнести описанный для мышей нейрон «концепта гнезда» (Lin L., et al., 2007). Как и в приведенных тут работах, в нашем исследовании нейроны с высоким соотношением частоты активности в специфической активации к активности в остальном поведении характеризовались низким уровнем импульсации в отличном от специфического акта поведении. У большинства таких нейронов средняя частота импульсации была менее одного спайка в секунду, и лишь у нескольких достигала уровня 2-2,5 спайков в секунду. Такие нейроны с высоким соотношением частоты в специфической активации и активностью в остальном поведении очень ярко обозначают конкретные понятия из индивидуального субъективного опыта. Аналогичного рода концептуальный опыт мог быть сформирован и в нашем обучении.

Возможность формирования при обучения грызунов некоего концептуального знания была убедительно продемонстрирована довольно давно в экспериментах по обучению песчанок дифференцировке пар звуков нарастающей и нисходящей частоты (Ohl F.W. et al., 2001). В связи с этим можно предположить, что специализации с высоким соотношением специфической активации к активности в другом поведении представляют «концептуальный» тип специализации относительно выделенных животным этапов поведения в экспериментальной клетке. Как было показано в этой работе «концепция» формируется не с первых успешных реализаций правильного поведения, в данном случае различения пар восходящих и нисходящих тонов. Она формируется позже, когда после успешного решения ряда типовых задач формируется модель такого типа задачи. Это приводит к тому, что в результате формирования такой модели уже с первых предъявлений новой типовой задачи с ранее не применявшимися сигналами вероятность правильного ее

решения значительно превосходит уровень успешности решения первых предъявлений ранее дававшихся задач этого типа.

Применительно к нашей модели циклического пищедобывательного поведения такими «концептами» могут быть логические этапы цикла – например подход и нажатие педали, или получение таблетки пищи в кормушке. В соответствии с этим предположением специализации с высоким отношением специфической активации к остальной активности должны появляться не сразу, а тогда, когда животное выделит данный этап, как необходимый для достижения финального результата. До этого момента результативные циклы будут в определенной мере получаться в результате случайных вариантов поискового поведения. Также можно предположить и определенной различие между ролями, которые играют эти варианты специализаций относительно одного и того же элемента индивидуального опыта. Так специализации с относительно небольшим отношением частот специфической и неспецифической активности являются необходимыми компонентами телесной интеграции для достижения конкретного результата. А специализации с высоким соотношением этих активностей могут выполнять роль идентификации в субъективном мире индивида конкретного элемента опыта и поддержания необходимой для его реализации интеграции телесных элементов в активном состоянии до момента завершения реализации специфического поведенческого акта, соответствующего моменту достижения результата. И соответственно специализации такого типа могут появляться в процессе научения в разные моменты у разных индивидов, как и «категория» в выше описанной работе на песчанках (Ohl F.W. et al., 2001). Более того, у некоторых индивидов такие «концепты» могут и не появиться совсем несмотря на относительно успешное поведение.

В другом, изложенном выше в разделе 4д исследовании, также была зарегистрирована большая выборка нейронов в модели инструментального пищедобывательного поведения, но уже на двух сторонах экспериментальной клетки. В этом исследовании участвовали взрослые и старые крысы. Как было упомянуто выше, средняя частота активности ретроспленциальных нейронов у старых крыс была примерно вдвое ниже, чем у взрослых животных. Также у них было достоверно меньше специализированных нейронов. Анализ средней частоты специализированных нейронов в этих двух группах также показал достоверно меньшую частоту активности специализированных нейронов (7,16 импульсов в сек против 15,56) у старых животных. При сравнении доли специализированных нейронов с высоким соотношением специфической частоты к частоте активности в остальном поведении у этих двух групп была выявлена тенденция к большей доли таких клеток у взрослых животных (9 из 143) по сравнению со старыми – 3 из 267 ($p < 0.056$ по критерию Хи-квадрат). Все клетки с высоким соотношением частот специфической и остальной

активности характеризовались низкой частотой импульсации вне специфического акта. Максимальная частота была 2,75 импульса в секунду для одного нейрона взрослой крысы, а у остальных она была ниже 1,5 импульсов в сек. Эти значения существенно ниже средней частоты активности всей популяции специализированных нейронов в этом поведении, которая равнялась 5,01 импульсам в секунду для взрослых крыс и 2,69 импульсам в секунду для старых. При этом, несмотря на разные частоты активности, средние соотношения частот активности в специфическом акте и остальном поведении для этих двух групп были сходными (3,57 для группы взрослых животных и 3,1 для группы старых животных).

Не исключено, что особенно при малых объемах выборки примененному нами критерию может случайно соответствовать нейрон, принадлежащий другой функциональной системе, которая в этих актах находится в активированном состоянии, например, «прасистеме», которая обеспечивает компонент, включенный в достижение этапного результата при выполнении исследуемого целого поведенческого акта. С этим может быть связана меньшая доля специализированных нейронов при такой же регистрации в условиях пищедобывательного поведения на двух сторонах экспериментальной клетки из второго, упомянутого выше исследования. В силу большей вариативности поведения на одной стороне у крыс, попеременно выполнявших поведение на двух сторонах нейроны, специфически связанные с реализацией «прасистем» переставали соответствовать критерию 100% активации во всех реализациях конкретного акта пищедобывательного поведения.

В пользу предположения о том, что в ситуации регистрации нейронов у животных, обученных поведению только на одной стороне клетки часть нейронов, активации которых соответствуют критерию специализации, принадлежит «прасистемам», также может свидетельствовать достоверно меньшая доля специализированных нейронов в условиях хронической регистрации при многократных повторениях одних и тех же комбинаций поведенческих актов. В то же время, такое снижение доли специализированных нейронов в условиях регистрации хронически вживленными тетрами может быть связано и с ухудшением качества выделения спайковых потоков отдельных нейронов при снижении амплитуды спайков. При обычном «экспертном» подходе к выделению облаков активности отдельных нейронов в мультиклеточной активности, зарегистрированной с тетрами, при малой амплитуде спайков ошибка идентификации принадлежности спайка может достигать 30% (Henze D.A. et al., 2000). А как уже было отмечено выше искажение естественной активности нейрона, в данном случае за счет добавления спайков другой клетки, приводит к снижению вероятности выявления специфической активности. Что также может приводить к относительному снижению доли специализированных нейронов в выборке клеток соответствующей области коры мозга.

В соответствии с положениями теории функциональных систем результат достигается за счет согласованной активности элементов организма различной морфологической принадлежности (Анохин П.К., 1968). Данные, полученные в нашей лаборатории (Шевченко Д.Г. и др., 1986), показывают, что специализированные относительно актов исследовавшегося циклического пищедобывательного поведения нейроны распределены в разных зонах коры животных крайне неравномерно. Так, если в цингулярной (ретроспленальной) коре доля таких нейронов доходит до 40% (Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., 1995, Svarnik O.E. et al., 2005), то в других областях коры она значительно ниже – например, в моторной коре такие специализации имеют менее 3% клеток (Горкин А.Г., 1988, Шевченко Д.Г. и др., 1986).

Учитывая, что для достижения результата функциональной системы поведенческого акта кроме активности нейронов коры головного мозга требуется еще активность других клеток тела, включая мышечные, клетки внутренних органов, эпителиальные и т.д., на мой взгляд, совершенно очевидно, что активация только специализированных клеток в головном мозге не может обеспечить достижение результата функциональной системы. Даже в головном мозге в функциональную систему поведенческого акта наряду со специализированными относительно данного акта включаются нейроны, специализированные относительно других систем, например, «прасистем» или субсистем, которые обеспечивают достижение промежуточных подрезультатов поведенческого акта (Александров Ю.И., 1988, Швырков В.Б., 1995). То есть для достижения результата поведенческого акта необходима согласованная работа огромного числа элементов тела в дополнение к активации специализированных нервных клеток.

Конечно существует точка зрения, что есть командные нейроны (Соколов Е.Н., 1990, 1993), которые своими импульсами отдадут команду, а ее исполнение приводит к необходимому результату. Наряду с общетеоретическими возражениями против того, что один нейрон может давать команду целому организму (Соколов Е.Н., 1993), этому противоречит тот факт, что специализированные нейроны активируются на протяжении всего поведенческого акта, а не в его начале. Из выделявшихся П.К. Анохиным узловых механизмов функциональной системы активации специализированных нейронов по времени в наибольшей степени соответствует исполнению программы действия. Приведенные выше данные по активности специализированных нейронов в первых реализациях специфического поведенческого акта показывают, что в первой реализации активации, отвечающей критерию специфической не наблюдается, т.е. требуемый результат поведенческого акта может быть достигнут и без активации специализированных нейронов. В то же время все последующие реализации сопровождаются такими активациями.

На мой взгляд, это может означать, что активации специализированных нейронов способствуют достижению результата при разнообразных состояниях организма путем блокирования включения других альтернативных функциональных систем. В таком случае становится понятным, почему активация специализированных нейронов длится все время совершения поведенческого акта вплоть до момента достижения его результата. С другой стороны активация специализированных нейронов может выполнять и иную важную роль – идентификации состояния организма, как выполнения конкретного поведенческого акта в отличие от относительно случайных комбинаций телесной активности в поисковом поведении, которые и приводят к первой успешной реализации такого поведенческого акта. Также можно предположить, что специализированные нейроны своей активностью выделяют такие организации активности всего мозга, которые сходны с организацией мозговой активности, наблюдающейся при выполнении соответствующего поведенческого акта, что облегчает переход к реализации такого поведенческого акта. В таком случае относительно небольшая добавка специализированных нейронов к общей массе активных нервных клеток мозга может играть ключевую роль в фиксации поведенческого акта в качестве элемента индивидуального опыта животного и его повторных реализациях для удовлетворения соответствующей мотивации.

Таким образом, можно заключить, что группа нейронов, специализированных относительно конкретного элемента индивидуального опыта и соответствующего поведенческого акта неоднородна и конкретный специализированный нейрон в своей неспецифической активности может отражать, как определяемые телесными детерминантами отношения систем, так и отношения, связанные с закономерностями среды, с которой индивид взаимодействует.

У конкретного индивида при обучении некоторому стандартному поведению в силу особенностей его пола, возраста и предыдущей истории жизни может формироваться разное соотношение специализированных нейронов этих двух типов. Кроме того, некоторые поведенческие задачи могут решаться индивидом не с формированием отчетливой модели формируемого поведенческого акта или их группы, что и связано с формированием нейронных специализаций, а за счет вероятностного комбинирования прежде сформированного поведения. Особо ярко это проявляется при формировании дифференцировок. Так в сотрудничестве с финскими коллегами мы формировали решение задачи Конорского на различение сходных и различных пар звуков у крыс. В качестве звуков были применены короткие тоновые посылки длительностью 100 мс одинаковой или значительно различающейся частоты, отставленные друг от друга на 1 с.

Животное в зависимости от сходства или различия частот должно было получать в поилке капельку воды в случае правильного выбора. Мы пытались научить этой задаче около 10 животных. На отдельных временных интервалах сессии обучения удавалось получить статистически достоверное различие правильных и неправильных решений. Однако, дальнейшего улучшения правильности выбора не происходило. То есть в этой ситуации крысы выбирали путь регулярных проверок поилки, не обращая внимание на отсутствие воды при неправильном выборе. Таким образом, эффективность их поведения составляла приблизительно 30% удачных проб (этот процент ниже 50% так как кроме ошибки неправильного выбора была еще ошибка раннего старта). Во время сессии обучения основная динамика поведения состояла в сокращении времени ответа на звуки и повышение частоты проб при сохранении практически случайной правильности выбора. То есть животные решали задачу напиться воды не за счет формирования правильной модели задачи и снижения доли ошибочных действий, а за счет частой реализации повторяющихся пробных реализаций ранее приобретенных поведенческих актов. То есть они продемонстрировали устраивающее их решение задачи путем получения низко-вероятного подкрепления. Это пример ситуации, когда обучение происходит без научения новым поведенческим актам, и на нейронном уровне, видимо, без формирования новых специализаций.

Результаты приведенных выше наших исследований формирования циклического инструментального пищедобывательного поведения у крыс разного возраста показали, что у разных индивидов при формировании некоторого стандартного поведения может в результате формироваться различная активность популяции нейронов ретроспленальной коры. Это различие проявляется в разной доле специализированных относительно формируемого поведения нейронов, а также в различном соотношении нейронов с дифференцированной по отдельным поведенческим актам формируемого поведения активностью и недифференцированной. Наилучшие по временным и точностным параметрам показатели сформированного поведения имеют индивиды, у которых при обучении формируется относительно большая доля специализаций относительно формируемых актов и высокая доля нейронов в популяции с дифференцированной по актам активностью.

2. Какие нейроны становятся специализированными относительно приобретаемых поведенческих актов?

Многие теоретические представления о приобретении индивидом принципиально нового опыта исходили из существования в мозге некоего резерва нейронов для фиксации такого опыта (Конорски Ю., 1970, Крушинский Л.В., 1977, Edelman G.M., 1987, Shvyrkov V.V., 1986 и др.). В качестве представителей такого резерва нейронов обычно

рассматривались «молчащие» нейроны, т.е. нейроны, которые не были активны до эпизодов научения с формированием принципиально нового поведения (например, экстраполяционного по Крушинскому Л.В., 1975), с обеспечением которого они в результате научения становились связаны.

Основными аргументами в пользу гипотезы о вовлечении в обучение «молчащих» нейронов были несколько групп фактов. Во-первых, это данные регистрации активности нейронов гиппокампа, которые показали, что большинство принципиальных клеток этой структуры (пирамид полей CA1, CA3 и гранулярных клеток зубчатой фасции) имеют очень низкий уровень «спонтанной» активности (Pavlides C., Winson J., 1989, Barnes C.A., et al., 1990, Jung M.W., McNaughton B.L., 1993, Skaggs W.E. et al., 2007 и др.). Для нейронов гиппокампа было показано включение молчащих или имеющих очень низкий уровень импульсации в поведении (менее 0.1 в с) клеток во сне во время синхронизированных разрядов (Pavlides C., Winson J., 1989). Нейроны такого типа в гиппокампе имеют в импульсной активности «комплекс-спайки» и в случае импульсации в поведении имеют выраженные «плейс поля». Также было показано, что ранее активировавшиеся в поведении нейроны имели повышенную частоту импульсации и во сне (Pavlides C., Winson J., 1989, Wilson M.A., McNaughton B.L., 1994). Имеющие очень низкий уровень спонтанной активности нейроны были обнаружены также в структурах новой коры (Warren R.A., Dykes R.W., 1992, Feldman D.E., Brecht M., 2005).

Вторая группа работ была посвящена косвенному определению доли импульсирующих нейронов в корковых структурах мозга на основе подсчета числа нейронов, зарегистрированных при одном погружении микроэлектрода через толщу коры, и сравнения этого числа с морфологически определяемой плотностью нейронов в колонке мозга, расположенной вокруг оси погружения электрода. Для такого вычисления крайне важно определить пространственную чувствительность электрода, т.к. от нее зависит диаметр колонки и соответственно количество потенциально доступных для регистрации нейронов. Основным методом расчета был метод «срединной хорды», предложенный еще Ливановым М.Н. (Ливанов М.Н., 1965). Этот метод состоял в следующем: при погружении определялась выборка расстояний проходимых электродом при регистрации одиночных нейронов. Предполагалось, что нейроны приблизительно одинакового размера, и длина трека, на которой регистрируется нейрон, обратно пропорциональна расстоянию от оси трека до тела регистрируемого нейрона.

На основании таких расчетов были получены доли числа импульсирующих нейронов в коре от единиц до долей одного процента от общего числа нейронов (Мелехова М.А., Шульгина Г.И., 1966). В соответствии с логикой «срединной хорды» при регистрации

каждого нейрона должна в широких пределах и плавно меняться амплитуда спайков данного нейрона по мере погружения микроэлектрода. Так по данным Р. Лемон (Lemon R., 1984) при приближении к нейрону смещение микроэлектрода на 20 мкм приводит к росту амплитуды спайка в 2-3 раза. Однако, в наших экспериментах по регистрации нейронной активности стеклянными микроэлектродами, аналогичными применявшимся в упомянутых выше работах, мы не видели такого плавного изменения амплитуды. Обычно при небольшом смещении микроэлектрода в несколько микрон сразу появлялись спайки близкой к максимальной амплитуде, а дальнейшее смещение электрода приводило, как правило, к изменению частоты разряда в связи с механическим раздражением нейрона. В тех же случаях, когда один нейрон регистрировался в проходке на протяжении более 100 мкм, амплитуда спайка менялась незначительно, постоянно присутствовали признаки механического раздражения нейрона в виде повышенной частоты разряда и генерации спайкой с переменной формой. Это свидетельствует, на наш взгляд, что электрод «тащил» нейрон вслед за собой в проходке.

Эти наблюдения позволяют предположить, что приведенные выше оценки доли активных нейронов в коре были не совсем правильными и, скорее всего, значительно занижены. Для более точного определения доли молчащих нейронов нужны новые, более современные методики. Примером такой методики может служить работа Хензе с соавторами (Henze D.A. et al., 2000), в которой одни и те же нейроны регистрировали одновременно вне- и внутриклеточно. В этой работе для пирамид гиппокампа была определена максимальная ограниченная шумом дистанция регистрации нейрона в 150 мкм. На основании этого значения также был рассчитан потенциально доступный для регистрации из одной точки объем мозга и получена очень низкая доля импульсирующих нейронов соответствующего поля гиппокампа. Однако примененная в этой работе для расчетов давно известная сферическая модель чувствительности экстраклеточного микроэлектрода (Lemon R., 1984) не совсем соответствует действительности, на что указывает опыт погружения в мозг микроэлектродов – при погружении вниз количество импульсирующих нейронов оказывается в несколько раз больше, чем при подъеме наверх. Кроме того, мозговая ткань содержит большое количество мембран, которые делают распространение электрических токов крайне неравномерным, что также не соответствует основам сферических моделей чувствительности электрода. Таким образом, и приведенная выше оценка оказывается несколько завышенной. Такой вывод согласуется с более новыми данными о количестве активных пирамид гиппокампа в свободном поведении. Так в работе Гузовски с соавторами количество активных нейронов в поле CA1 оценивается в 40% (Guzovski J.F. et al., 2006). В то же время несмотря на коррекцию рассчитанных значений все

равно большая доля нейронов оказывается «молчащей» и может служить в качестве резерва клеток для формирования специализаций.

Третья группа фактов относится к исследованиям нейронной активности в ситуациях экстренного обучения или активности нейронов места при изменениях среды. В работе Швырковой Н.А. (1986а, б) проводили экстренное обучения кроликов манипулированию второй педалью для получения пищи. В этих экспериментах было показано, что нейроны гиппокампа и новой коры, специфически активировавшиеся при нажатии первой педали, после активации в первых реализациях нажатия на новую педаль прекращали активироваться при последующих нажатиях второй педали. В то же время не было зарегистрировано нейронов, специфически активировавшихся при нажатии новой педали. А так как эксперимент начинали с регистрации спайковой активности в исходном пищедобывательном поведении, то логично предположить, что нейроны, специализированные относительно второй педали не были зарегистрированы в силу того, что они молчали в исходном поведении. В экспериментах Вилсона М.А. с Мак Нотоном Б.Л. (Wilson M.A., McNaughton B.L., 1993) было показано, что при расширении экспериментальной клетки нейроны места, имевшие «плейс поля» в исходной части клетки, не были активны во вновь открытой части клетки, а те нейроны, которые показали «плейс поля» в дополнительной части клетки, не были активны в исходной части клетки. Результаты этого эксперимента показали, что для формирования «когнитивной карты» дополнительного пространства используются нейроны гиппокампа, которые не были активны в исходной части клетки, т.е. «молчащие» нейроны. В то же время как было показано в других исследованиях активности нейронов места при перемещении животного из одной клетки в другую многие нейроны места имели «плейс поля» в обеих клетках (McNaughton B.L. et al., 1996). Эти исследования показали, что действительно в ситуации добавления нового поведения в пределах одной клетки (при расширении экспериментальной клетки в работе Вилсона М.С. и Мак Нотона Б.Л. (1993) таким новым поведением было обследование и картирование открывшейся части клетки) для обеспечения нового поведения используются молчащие нейроны, которые можно считать нейронами «резерва».

Четвертое - в наших предыдущих исследованиях (Горкин А.Г., 1988, Shvyrkov V.B., 1986) на основе сравнения количества нейронов специализированных относительно актов «простого» (подход к двум кормушкам и получение в них порций пищи) и «сложного» (инструментальное поведение нажатия двух педалей для получения пищи из тех же двух кормушек) пищедобывательного поведения мы также предположили вовлечение в обеспечение добавленных к «простому» поведению актов «сложного» поведения молчащих нейронов. Позднее нами было проведено сравнение числа активных нейронов в проходке

через толщу лимбической коры кролика в «простом» и «сложном» поведении. Мы получили достоверное увеличение числа активных нейронов в одной проходке через всю толщу коры в «сложном» поведении по сравнению с одной аналогичной проходкой в «простом» (Горкин А.Г., 1988).

На наш взгляд, приведенные выше основания позволяют с уверенностью утверждать о вовлечении нейронов с крайне низкой частотой импульсации в поведении в обеспечение новых форм поведения. В то же время наши результаты регистрации хронически вживленными тетрами в сессиях формирования пищедобывательного поведения на второй стороне экспериментальной клетки показали, что все выявленные нами по критерию обязательной активации в специфическом поведенческом акте специализированные относительно актов на второй стороне нейроны имели довольно высокую активность на первой стороне, т.е. не были «молчащими». Также относительно недавно другими авторами были получены данные о динамике мембранного потенциала при внутриклеточной регистрации пирамидных клеток поля CA1 гиппокампа при обследовании новой среды (Epszhtein J. et al., 2011). В этой работе показано, что в обследование новой среды и формирование полей включаются не все нейроны, а ограниченная популяция клеток, которые характеризуются повышенным уровнем исходного мембранного потенциала и повышенной амплитудой колебаний этого потенциала по мере перемещений животного по клетке. Это отличает данную группу нейронов от другой, которую авторы называют молчащими нейронами и которая характеризуется пониженной амплитудой колебаний потенциала и пониженным уровнем исходного потенциала мембраны. При этом авторы отмечают, что эти группы отчетливо разделены и между ними нет перекрытия.

Возможное разрешение этого расхождения состоит в том, что нейроны, относимые нами в единую группу специализированных по критерию наличия 100% активации в конкретном акте представляют разные группы. Как было отмечено в предыдущем разделе, у всех зарегистрированных в сессиях обучения специализированных нейронов соотношение частоты в специфическом акте к активности в других актах поведения было относительно небольшим (2-3 раза). В то же время другие специализированные нейроны имеют это соотношение больше 5. Именно для последней группы клеток характерна очень низкая активность в других поведенческих актах. Однако, такой, «категориальный» тип поведенческой специализации нейронов формируется на наш взгляд не сразу а после некоторого индивидуально различного количества успешных реализаций нового поведенческого акта. В таком случае «категориальные» специализации могли появляться в конце сессии научения новому поведенческому акту, или даже позже – на следующие дни его реализации. А для первой группы специализированных нейронов используются

неспециализированные «фоновоактивные» нейроны, которые после формирования нового акта также сохраняют свою специализацию неизменной по крайней мере на протяжении сессии обучения.

Таким образом, можно заключить, что обычно приводимые цифры доли молчащих нейронов в корковых структурах завышены. С учетом того, что нейроны с ярко выраженной специфической активацией «молчат» в других поведенческих актах, молчащих неспециализированных нейронов существенно меньше, и в обеспечение новых поведенческих актов они вовлекаются наряду с «фоновоактивными» неспециализированными.

5.3. Что отражает паттерн неспецифической активности поведенчески специализированных нейронов?

Как было отмечено в разделе 4.1.б, эксперименты, проведенные на кроликах, позволили выявить такие факторы появления неспецифической импульсации специализированных нейронов, как общность цели или движения исполняемого акта со специфическим актом, «логические» отношения, определяемые структурой поведенческой задачи и расположением объектом, с которыми кролик взаимодействовал. Также в качестве еще одной детерминанты появления неспецифической активности было показано влияние истории научения в виде активирующего действия реализации поведенческого акта, формировавшегося на предыдущем этапе научения, на состояние нейронов, специализированных относительно акта, формировавшегося на следующем этапе обучения. С позиции системно-эволюционного подхода в психофизиологии (Швырков В.Б., 1995, Александров Ю.И., 1995, 2003, Александров И.О., 2006) спайковая активность специализированного нейрона вне времени реализации его специфического акта означает актуализацию элемента опыта или специфической функциональной системы, к которой принадлежит данный нейрон. В таком случае факторы, определяющие неспецифическую активность специализированного нейрона, выступают как определенные отношения между соответствующими функциональными системами их поведенческих актов и, соответственно, элементов опыта индивида (Alexandrov Yu.I. et al., 1991, 1993). Эти отношения связывают элементы поведенческого репертуара в целостную структуру индивидуального опыта, которая, развертываясь в процессе реализации поведенческого континуума, определяет последовательность реализуемых актов поведения. Данная структура индивидуального опыта является субъективной и скрытой от непосредственного наблюдения. В то же время в силу ее определяющей роли в развертывании поведения ее реконструкция у конкретного индивида является необходимым условием относительно успешного предсказания динамики его поведения. Поэтому задача разработки методов реконструкции структуры

индивидуального опыта представляется достаточно актуальной. Изучение активности нейронов в поведении позволяет по набору выявленных специализаций нейронов описать выделяемый самим индивидом, а не внешним наблюдателем, репертуар поведенческих актов конкретного индивида. А анализ неспецифической активности определить, в каких отношениях находятся элементы этого выявленного репертуара, и предсказывать последовательность смен поведенческих актов в тех или иных условиях взаимодействия со средой. В разделе 4.1 такой анализ был проведен по большой популяции нейронов кроликов, выполнявших циклическое инструментальное пищедобывательное поведение. В силу объединения нейронов, зарегистрированных у разных животных, он позволил выявить только наиболее общие, типичные для группы индивидов отношения между компонентами опыта этого поведения. Сравнение выделенных таким образом типов отношений элементов опыта животных показал их частичное сходство с отношениями, которые были выделены в индивидуальном опыте людей при игре в «крестики-нолики на поле 15X15».

Такой «популяционный» анализ был проведен по нейронной активности кроликов в сформированном в процессе эксперимента циклическом пищедобывательном поведении. В силу контроля отдельных этапов обучения и их последовательности, а также наличия в сформированном поведении двух практически идентичных, но «зеркально» организованных циклов на двух сторонах клетки, и удалось выявить указанные выше факторы появления неспецифической активности специализированных нейронов. В то же время, поведенческий репертуар конкретного животного гораздо шире, включает множество поведенческих актов разнообразных форм поведения, сформированных в онтогенезе до помещения животного в ситуацию эксперимента. Также в него входят и формирующихся в процессе нахождения животного в экспериментальной клетке, но не контролируемые процедурой специального обучения другие поведенческие акты взаимодействия со средой этой клетки.

Закономерности формирования этих актов репертуара скрыты от экспериментатора. Для выявления отношений систем поведенческих актов разных форм поведения, формировавшихся до начала эксперимента, а также формировавшихся неконтролируемо в процессе экспериментальных сессий, были проведены описанные в разделе 4.2 эксперименты по длительной регистрации активности нейронов ретроспленциальной коры хронически вживленными тетрами и стереотродами. Анализ записей нейронной активности в длительных (около часа) экспериментальных сессиях позволил выявить не только типичные акты циклического пищедобывательного поведения, но и акты других форм поведения и сопоставить с ними активность одних и тех же нейронов. Конечно, в отличие от сформированных обучением в экспериментальной клетке поведенческих актов пищедобывательного поведения выделение актов других форм поведения было значительно

более произвольным, так как динамика их формирования не контролировалась. Основным критерием для их выделения были достаточная повторяемость в экспериментальной ситуации. Поэтому выделенные акты других форм поведения не исчерпывают поведенческий репертуар этих форм у исследовавшихся животных. Также границы выделенных актов были гораздо менее точные по сравнению с пищедобывательными из-за ограничений анализа видеозаписи и ее синхронизации. Однако, несмотря на эти ограничения нам удалось выявить наличие в данной области коры нейронных специализаций относительно актов этих, отличных от пищедобывательного, форм поведения. Максимально были представлены специализации относительно этапов оборонительного поведения, когда экспериментатор захватывал на полу крысу, поднимал ее высоко над полом и через несколько секунд опускал. Эта форма поведения была частично знакома животному до помещения в экспериментальную клетку, так как применялась сотрудниками вивария при уборке клеток. В то же время частично она была сформирована специально параллельно с формированием пищедобывательного поведения – экспериментатор делал такие подъемы в «отсадочной» части клетки после завершения обучающих сессий формирования циклического пищедобывательного поведения. В силу контролируемости числа повторов этой процедуры в сессиях регистрации для большинства нейронов нам удалось получить достаточные для статистических сравнений выборки актов этого оборонительного поведения, выделенных как его этапы. Это позволило не просто провести сопоставление с поведением на предмет выявления специализированных нейронов, но также проанализировать структуру опыта данной формы поведения и сопоставить со структурой циклического пищедобывательного поведения. Анализ структуры опыта конкретной формы поведения проводился на всей зарегистрированной выборке нейронов, специализированных относительно актов этой формы поведения. За счет попарного сравнения выборок активности специализированных нейронов в актах «своей» (пищедобывательной для пищедобывательных специализаций и оборонительной – для оборонительных) формы поведения а также «другой» формы мы получили для нейронов этих специализаций оценку количества отношений между системами поведенческих актов в рамках одного домена и между доменами (подробно изложено в разделе 4.2.Г). В силу ограниченности числа специализированных нейронов, зарегистрированных в экспериментальных сессиях у одного животного, мы объединили данные по всем животным и, таким образом, получили «усредненную» картину отношений между элементами опыта конкретной формы поведения в популяции клеток ретроспленальной коры крыс. Однако, несмотря на это ограничение, такой анализ позволил выявить различия в количестве связей между компонентами опыта в

рамках одного его домена (в этом качестве выступала конкретная форма поведения) и между разными доменами опыта индивида.

Группы нейронов, специализированные относительно актов разных доменов индивидуального опыта, могут быть по-разному активны в других формах поведения. На представленном ниже **рисунке 45** показан паттерн активности группы нейронов, активирующихся преимущественно в пищедобывательных актах, и группы клеток, активирующихся в оборонительных актах, в актах меж-индивидуального поведения. Видно, что активность этих двух групп нейронов достоверно (непараметрический критерий Вилкоксона, $p < 0.05$) различается во всех выделенных нами поведенческих актах взаимодействия животного с вживленными электродами и подсаженного к нему молодого крысенка. На этом рисунке также видно, что активность группы пищедобывательных нейронов сильно отличается от паттерна усредненной активности всей популяции зарегистрированных у этих животных нейронов ретроспленциальной коры.

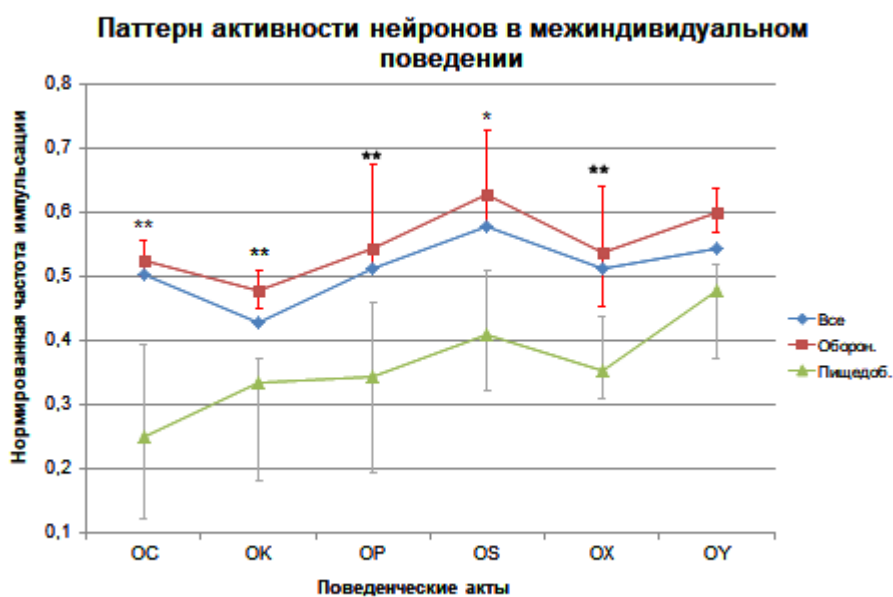


Рисунок 45. Паттерн активности разных групп нейронов ретроспленциальной коры в меж-индивидуальном поведении. По оси ординат дана нормированная по максимальному значению у конкретного индивида частота активности группы нейронов в соответствующем поведенческом акте меж-индивидуального поведения. По абсциссе – акты меж-индивидуального поведения. ОС – физический контакт; ОК- обнюхивание тела; ОП – обнюхивание меток на полу; ОС – следование за другой особью; ОХ – обнюхивание хвоста; ОУ – отход от другой особи. Для «оборонительных» (N=10) и «пищедобывательных» (N=10) нейронов значения даны как медианы с квантилями, а для всей популяции (48 нейронов) –

только медианы. Звездочками отмечены достоверные различия (* - <0.05 ; ** - <0.01) между группами оборонительных и пищедобывательных нейронов.

Продемонстрированный на рисунке результат показывает, что отношения между разными доменами и компонентами субъективного опыта можно выявлять по паттернам активности групп нейронов со сходными специализациями. В данном случае они имели разный паттерн неспецифической активности в выборке актов другой формы поведения.

В выборке нейронов, зарегистрированных в ретроспленальной коре, большинство составляли нейроны с неустановленной специализацией. Это могли быть как клетки, не прошедшие процесс специализации, так и нейроны, специализированные относительно других поведенческих актов. Такие акты либо входили в домены опыта, не использовавшиеся животным в экспериментальной клетке, либо не повторялись в экспериментальной ситуации достаточное количество раз, чтобы быть выявленными для сопоставления с зарегистрированной нейронной активностью. Как было показано выше в разделе 4.1Д, усредненный паттерн активности всех зарегистрированных нейронов ретроспленальной коры в циклическом пищедобывательном поведении был сходным для обоих пищедобывательных циклов. По уровню активности популяции нейронов, представленной на рис 26, отчетливо видно различие этапов пищедобывательного цикла – в актах «кормушечной» части пищедобывательного цикла импульсация ретроспленальных нейронов была снижена относительно уровня импульсации в актах «педальной» части. Такое распределение активности соответствует выявленному в активности нейронов пищедобывательных специализаций отношению компонентов индивидуального опыта, отражающему «логику» пищедобывательного цикла. На том же рисунке видно, что у животных разного возраста при сохранении общей картины популяционного паттерна в этом поведении наблюдаются достоверные различия уровня активности в отдельных аналогичных актах. Продуктивность анализа популяционной активности для выявления скрытых субъективных факторов организации поведения была убедительно продемонстрирована в относительно новых исследованиях из лаборатории Эйхенбаума (McKenzie S. et al., 2014, 2016 и др.). В этих оригинальных исследованиях была показана возможность выявления в популяционной активности нейронов гиппокампа и ряда областей новой коры таких факторов поведения, как принадлежность к конкретной поведенческой задаче (контексту), валентности, местоположению объектов для взаимодействия, четного или нечетного номера пробы. На основании этих результатов авторы приходят к выводу, что нейроны имеют много-модальную селективность и демонстрируют множественную размерность индивидуального опыта. К сожалению, обнаруженные факты интерпретируются авторами

как «популяционное кодирование» таких характеристик поведения в экспериментальной ситуации, т.е. они рассматриваются с позиции внешнего наблюдателя, а не как закономерности строения индивидуального опыта.

Таким образом, полученные нами результаты вместе с данными литературы позволяют сделать вывод о том, что паттерн активности специализированных нейронов демонстрирует отношения компонентов опыта в структуре памяти индивида. Это позволяет по активности совокупности нейронов реконструировать как отдельные отношения компонентов опыта, так и части целостной структуры опыта, включающие несколько ее доменов.

Также стоит особо отметить, что существенное расширение поведенческого репертуара в экспериментах с регистрацией хронически вживленными микроэлектродами не привело к фальсификации (см. Popper K.R., Eccles J.C., 1977) положения В.Б.Швыркова о специализации нейрона относительно только одной функциональной системы и соответственно одного компонента индивидуального опыта. Мы не зарегистрировали нейронов, активность которых отвечала бы принятому нами критерию специализации в нескольких несвязанных актах пищедобывательного поведения или хотя бы двух актах разных форм поведения. Это противоречит выдвинутому в работах Квируги (Quiroga R.Q. et al., 2005, 2008), исследовавшего активность нейронов человека и обезьян при предъявлении зрительных образов, предположению о специализации нейрона относительно небольшого набора разных объектов.

3.3. Результаты регистрации нейронов первичной слуховой коры обезьян при выполнении инструментальной задачи.

3.3.1. Эффекты потокового восприятия звуковой сцены при разных отношениях звуковых и зрительных потоков сигналов.

Время ответа зависит от асинхронности завершения

Для решения задачи сравнения формы вовлечения в обеспечение поведения нейронов первичных сенсорных и ассоциативных структур коры больших полушарий были проанализированы результаты экспериментов по регистрации активности нейронов первичной слуховой коры в разных поведенческих задачах. В первом из таких экспериментов на обезьянах мы подтвердили ранее полученный результат (Rahne T. et al., 2008), что обезьяны быстрее отвечали на окончание последовательности вспышек, когда она была синхронизирована с тоновой последовательностью и когда эта последовательность

завершалась незадолго до последовательности вспышек (рисунок 46). Мы также подтвердили, что время ответа (ВО) зависит от частотного разделения между тонами.

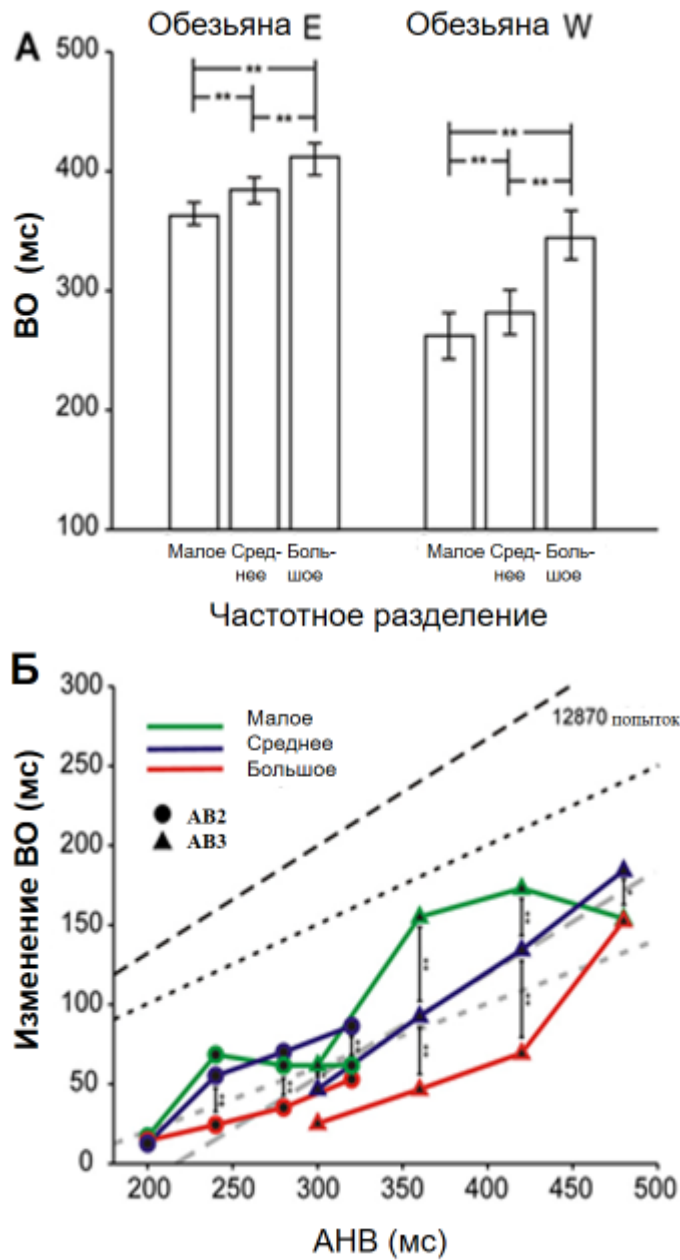


Рисунок 46. Слуховые стимулы влияют на время ответа на зрительные стимулы у обезьян. (А) ВО, необходимое для обнаружения прекращения последовательности вспышек, различается между последовательностями АВ3 (см. схему на рис.10), состоящими из тонов с малым, средним и большим частотным разделением для двух обезьян. Для каждого частотного разделения данные с разными асинхрониями начала вспышки (АНВ) были объединены. (Б) значения времени ответа для АВ последовательностей, в которых последовательности тонов прекращаются до завершения видеоряда. График показывает, как изменение ВО зависит от асинхронности вспышки (АНВ), частотного разделения (малые [1,5 полутона], зеленая линия; средние [4.5 полутона], синяя линия; большие [10.5 полутона],

красная линия), и тип АВ связи (круги: АВ2 последовательности; треугольники: АВ3 последовательности). Статистически значимые различия между сокращением ВО измеренные для различных частотных разделений отмечены ‘*’ ($P < 0,05$) или ‘***’ ($P < 0,01$). Точечные и пунктирные серые линии обозначают кривые линейной регрессии для значений ВО последовательностей АВ2 и АВ3 без учета частотного деления. Значения ВО, которые ожидаются, если субъекты отвечают исключительно на прекращение тоновой последовательности, обозначены точечными (АВ2) и пунктирными (АВ3) черными линиями.

Основной фактор, влияющий на сокращение ВО, был асинхронностью завершения между тоном и последовательностями вспышек, определенными как время между первым пропущенным тоном и первой пропущенной вспышкой. Изменения ВО были выражены как сокращение ВО. При измерении ВО для АВ-последовательностей с различным частотным разделением, но с одинаковой асинхронией начала тона (АНТ), сокращение ВО увеличивалось с асинхронией начала вспышек (АНВ) относительно звуковых тонов (**Рисунок 46 Б**, серые линии). Изменения в ВО для асинхронно завершенных АВ-последовательностей не были вызваны изменениями в АНВ, потому что для чисто В-последовательностей ВО не изменялась с разными АНВ (тест Фридмана, $P = 0.64$). Зависимость сокращения ВО от АНВ может быть хорошо смоделирована с помощью линейной регрессии (АВ3: $P_2 = 0.63$, $F = 16.9$, $p = 0.0021$, $df = 11$; АВ2: $P_2 = 0.59$, $F = 14.5$, $p = 0.0034$, $df = 11$) хотя и с разным наклоном для АВ2 и АВ3 последовательности (0.414 и 0.655, соответственно.) Однако эти два наклона были более похожи друг на друга, когда сокращение ВО выражалось как функция асинхронности завершения (0,817 и 0,941 соответственно). Рост асинхронности завершения с АНВ демонстрируют синие и красные пунктирные линии на **рисунке 46 Б**. Поскольку соотношение двух наклонов было более сходным друг с другом, чем соответствующие соотношения наклонов, наблюдаемые для зависимости от АНВ, наши результаты убедительно свидетельствуют о том, что для обоих типов АВ-последовательностей сокращение ВО зависело в основном от размера асинхронности завершения.

При продолжении тоновой последовательности после остановки последовательности вспышек систематических изменений ВО не наблюдалось, хотя на отдельных АНВ наблюдались значительные различия (**Рисунок 46, Б**, пунктирные линии). Инвариантность ВО наблюдалась в широком диапазоне частоты вспышек, т. е. для АНВ от 200 до 480 мс, и для АВ2 и АВ3 последовательностей, и она указывает, что прекращение последовательности тоновых сигналов недостаточно, чтобы получить ответы от обезьян.

Хотя сокращение ВО увеличивалось с асинхронностью завершения, абсолютные величины сокращения ВО всегда были меньше, чем асинхронность завершения (обратите внимание, что две черные линии всегда были выше двух серых линий регрессии). Это указывает на то, что поведение обезьян не полностью контролировалось тоновой последовательностью. Интересно, что для АНВ около 300 мс сокращения ВО были аналогичны или даже меньше для последовательностей АВЗ, чем для последовательностей АВ2, хотя асинхронность завершения была больше для последовательностей АВЗ и двух тонов, и для первых двух пропущенных тонов наблюдавшихся до первой пропущенной вспышки. Это предполагает различные усиливающие влияния окончания тоновой последовательности для АВ2 и АВЗ последовательностей.

Время ответа зависит от частотного разделения

Дальнейшее понимание того, как последовательность тонов влияла на обнаружение прерывания последовательности вспышки, можно получить из наблюдения, что ВО зависит от частотного разделения тонов. **Рисунок 46** показывает, что для обеих обезьян сокращение ВО увеличивается с уменьшением частотного разделения тонов. Частотные эффекты присутствовали в большинстве АНВ и были более выраженными, а также более последовательными для АВЗ, чем для АВ2 последовательностей. Это могло бы быть частично связано с большими асинхронностями завершения, которые использовались для последовательностей АВЗ. Последовательности АВЗ, представленные на промежуточных АНВ (360 и 420 мс), дали значительно различающиеся сокращения ВО для малого, среднего и большого частотных разделений (парные U-тесты, каждый $p < 0,01$). При наименьшей АНВ (300 мс), а также при наибольшей АНВ (480 мс) сокращение ВО достоверно отличался только между последовательностями с малыми и промежуточными частотными делениями (U - тест, $p < 0,05$). Для последовательностей АВ2, напротив, значительные различия в сокращении ВО были обнаружены только между промежуточными и большими частотными делениями. Это предполагает различные усиливающие влияния частотного разделения между тонами для последовательностей АВ2 и АВЗ.

Время ответа отражает организацию восприятия

Мы выполнили анализ рабочих характеристик восприятия (РХВ) на значениях сокращения ВО (Britten K.H. et al., 1992; Green D.M., Swets J.A., 1966) для оценки доли проб, в которых тональная последовательность с промежуточным разделением частот воспринималась как единый слуховой поток или как два потока. Чтобы добиться этого, мы сравнили распределение ВО для АВЗ последовательности, которая в большинстве случаев воспринимается как один поток (т. е. последовательность с небольшой частотой деления), с распределением на АВЗ последовательности, которая в большинстве случаев

воспринимается как два потока (т. е. последовательность с большой частотой разделения). Исходя из этого, мы подсчитали, как часто различные значения сокращения ВО будут классифицироваться как взятые из любого распределения (рисунок 47, А, Б).

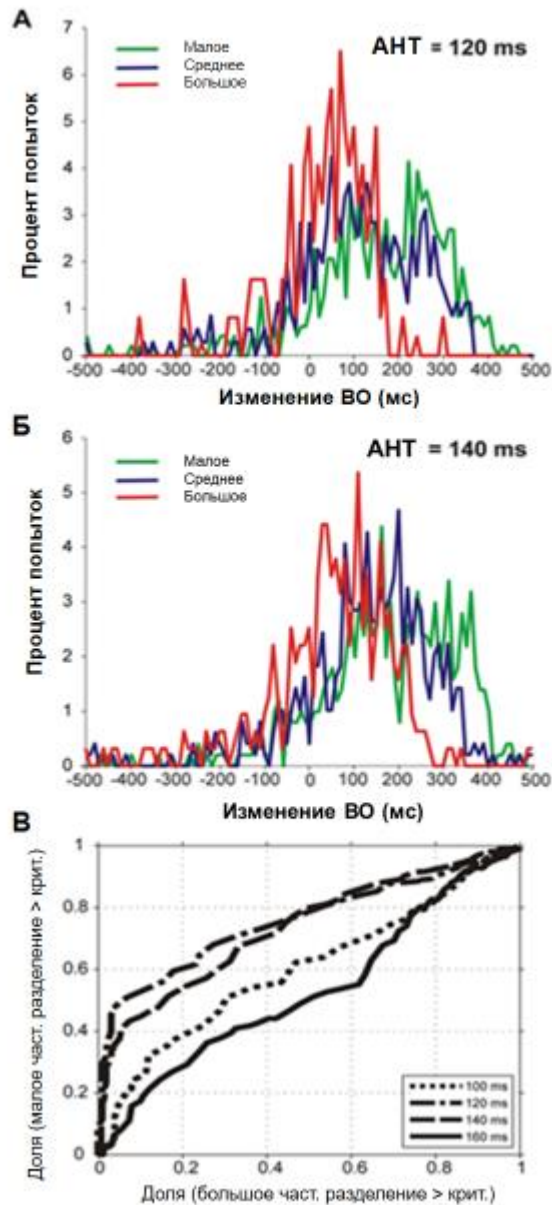


Рисунок 47. Определение значений изменения времени ответа, которые лучше всего различают пробы, в которых последовательность АВ воспринимается как один поток от проб, в которых последовательность АВ воспринимается как два потока. (А): распределения сокращения времени ответа (ВО) для последовательностей АВЗ с различным частотным разделением (малым, средним и большим), полученные при асинхронии начала тона (АНТ) 120 мс. (Б) Соответствующие распределения для АНТ 140 мс. На частях А и В по абсциссе время ответа в мс, а по ординате – доля проб в процентах. (В) РХВ -плот. Доля проб, в которых конкретное значения сокращения ВО относится к распределению ВО с большим

частотным разделением по сравнению с распределением ВО с малым частотным разделением. Обратите внимание, что при АНТ = 120 мс максимальный d' был 1.80, а при АНТ = 140 мс максимальный d' был 1.55. Для наименьшего (100 мс) и наибольшего (160 мс) АНТ значение d' было <1 .

Рисунок 47, Б показывает результирующие кривые РХВ, полученные из всех испытаний, проведенных двумя обезьянами для каждого из четырех тестируемых АНТ. Чтобы найти значение сокращения ВО, которое лучше всего разделяет малое от большого частотного разделения, мы искали точку на кривой РХВ, ближайшую к верхней левой координате плоскости РХВ. Для АНТ 120 мс, этот момент был при сокращении ВО на 100 мс. Таким образом, это сокращение ВО лучше всего различало распределения ВО, полученные для последовательностей с большими и малыми частотными разделениями. Применение того же критерия для последовательностей с промежуточным частотным разделением позволило предположить, что в 49% проб эта последовательность воспринималась как два потока, а в остальных - как один поток. Для АНТ 140 мс, лучшее разделение было при сокращении ВО на 130 мс. Это предполагает, что АВ-последовательности с промежуточным частотным разделением воспринимались в 52% проб как два потока и в 48% проб как один поток. Следовательно, эти конфигурации потоков казались неоднозначными. На самых больших и самых маленьких АНТ распределения ВО были практически идентичны. Поэтому, не были определены значения сокращения ВО для лучшего разделения.

Другой аргумент о том, что АВ-последовательности с промежуточным частотным разделением перцептивно неоднозначны, возникает из форм распределений ВО, которые, особенно при АНТ 120 мс, были бимодальными. Это может отражать суперпозицию двух распределений ВО, одного для АВ-последовательностей, которые воспринимаются как один поток, и другого для АВ-последовательностей, которые воспринимаются как два потока.

Сравнение данных у обезьян с данными, полученными на людях

Четыре человека были протестированы в тех же условиях, что и обезьяны, с теми же асинхронно завершающимися АВ - последовательностями и чистыми В-последовательностями (см. в методике **рисунок 10**). Результаты, полученные в экспериментах на людях приведены на **рисунке 48**.

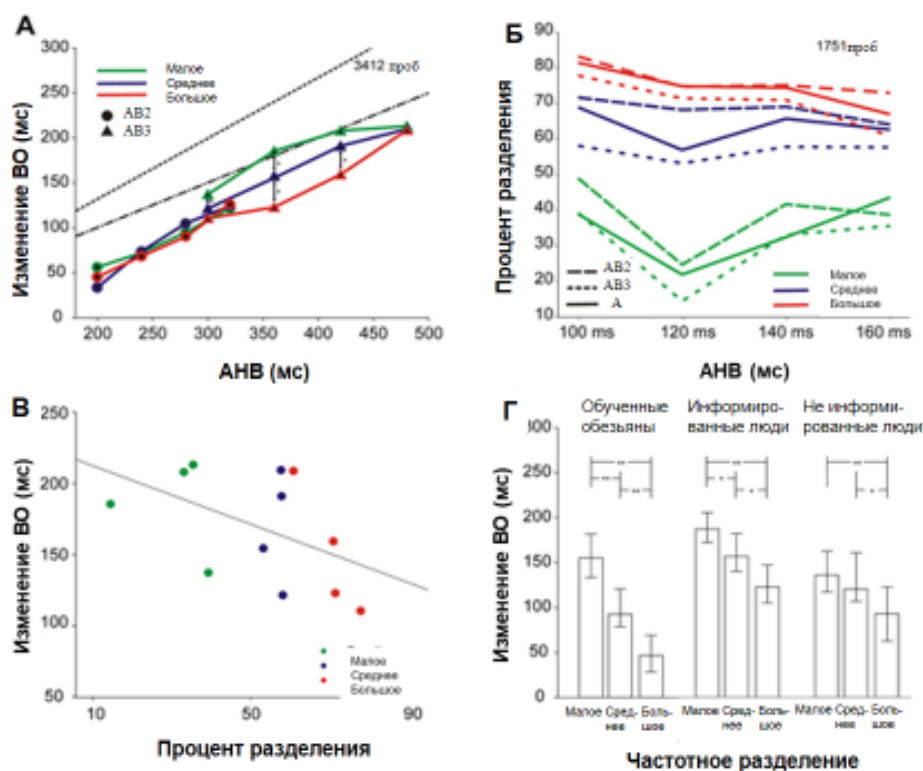


Рисунок 48. Результаты экспериментов, проведенных на людях. (А) увеличения ВО для различных АНВ, разделений частоты, и комбинаций АВ (обозначения как в Рис. 46, Б). Пунктирная (АВ2) и точечная (АВ3) черные линии представляют те значения ВО, которые ожидаются, если субъекты отвечают исключительно на прекращение последовательности тона. Отметим, что результаты были аналогичны полученным у обезьян. (Б) слуховая перцептивная организация АВ2, АВ3 и аудиальных (а-only) последовательностей для различных асинхронностей начала тона (АНТ) и частотных разделений. Процент сегрегации отражает общее время, в течение которого испытуемые сообщали о двух потоках, деленное на общее время предъявления последовательности. (В) взаимосвязь между организацией слуховых потоков и усилением ВО у людей для данных по АВ3, отображаемых на частях А и В. Черная линия показывает линейную регрессию. (Г) сравнение частотной зависимости усиления ВО при АНТ 120 мс между двумя обезьянами (сравните рис. 46) и людей с ('информированными', N = 4) и без ('не информированными'; N = 7) знаниями о цели исследования.

На **рисунке 48, А** показано, что у людей наблюдались зависимости сокращения ВО от частоты вспышек, частотного разделения и варианта АВ-связи, аналогичные наблюдаемым у обезьян (рис. 2, Б). Сокращение ВО увеличивалось с ростом АНВ (т. е., уменьшалось с ростом частоты вспышек), а для последовательностей АВ3, также с разделением частоты. Что касается обезьян, сокращение ВО увеличивалось с ростом асинхронности завершения,

но всегда было меньше, чем она. Это указывает, что завершение тоновой последовательности не инициировало ответ, а скорее позволило субъектам ответить быстрее на завершение последовательности вспышек. По сравнению с обезьянами, человеческие субъекты, как правило, сильнее модифицировали ВО при присутствии параллельной последовательности тонов, особенно для тональных последовательностей с большими частотными разделениями.

3.3.2. Активность популяции нейронов слуховой коры в инструментальных задачах с разным значением звуков.

Для выявления закономерностей вовлечения нейронов первичной слуховой коры в инструментальное поведение была проведена серия экспериментов в лаборатории нейробиологии приматов в Лейбниц институте нейробиологии г. Магдебурга. Исследование было проведено совместно со Станиславой Князевой, аспиранткой данной лаборатории, на модели инструментального питьевого поведения обезьян. Были применены разные варианты поэтапного состава поведения, приводящего к получению порции воды или жидкой фруктовой смеси.

Показатели поведения инструментально обученных обезьян в различных экспериментальных условиях

Две инструментально обученные обезьяны могли переключаться между различными условиями во всех экспериментальных сеансах и правильно выполняли три задачи в большинстве проб. Далее будут подробно описаны их поведенческие характеристики для ~2400 проб, взятых из шести репрезентативных сессий (по три для каждой обезьяны).

В условиях ЗДВ (см. Методика, **рисунок 11**) обе обезьяны правильно действовали в ~92 % проб при предъявлении одного тона и в 93 % проб с предъявлением шума и тона. В этих пробах, медианные времена ответа были значительно более длинными в пробах с одним тоном по сравнению с пробами с шумом и тоном (829 против 627 мс, тест Вилкоксона, $p < 0.0001$). Самой распространенной ошибкой обезьян было пропустить прикосновение к рычагу после подачи тона. В ДЗДВ-задаче, обезьяны ответили правильно в 94 % из проб с одним тоном и в 95 % из проб с шумом и тоном после того как эти пробы были начаты обезьянами касанием рычага. Снова, медианные времена реакции были более длинными в пробах с одним тоном (823мс), чем пробы с шумом и тоном (636мс). В задаче ДЗВ две обезьяны правильно удерживали рычаг не менее 1,5 с в 99 % проб на один тон и не менее 3,3с в 97 % проб с предъявлением шума и тона. Мы отметили, что две обезьяны демонстрировали касание рычага с низкой вероятностью в 6-15% в период пауз в трех разных инструментальных задачах и в ЗВ-задаче. Обезьяны также иногда прикасались к

рычагу в блоке проб, в котором испытывались только три пассивных задачи со звуками и водой.

В шести экспериментальных сеансах мы подробно проанализировали поведение обезьяны Ва при лизании трубки поилки для блоков проб, в которых тестировались только три пассивных задачи. Оно было получено из видеозаписей путем количественной оценки движений в зоне рта. На **рисунке 49** показаны динамики поведения лизания для З-задачи, В-задачи, и ЗВ-задачи, отдельно для проб с одним тоном и проб с шумом и тоном. Они показали, что фоновая активность лизания в интервале времени 1000 мс до предъявления звука или подачи воды была самой низкой в З-задаче, выше в ЗВ-задаче и самой высокой в В-задаче. Кроме того, активность лизания варьировала в течение пробы. Вариации были лучше всего видны в пробах с шумом и тоном, в которых активность лизания медленно снижалась с момента вскоре после начала сигнала шума до момента подачи воды. Впоследствии активность лизания увеличивалась и достигала максимума приблизительно через 2 с после подачи воды, после чего она снова медленно уменьшалась, пока в конечном итоге не колебалась около фонового уровня в течение нескольких секунд.

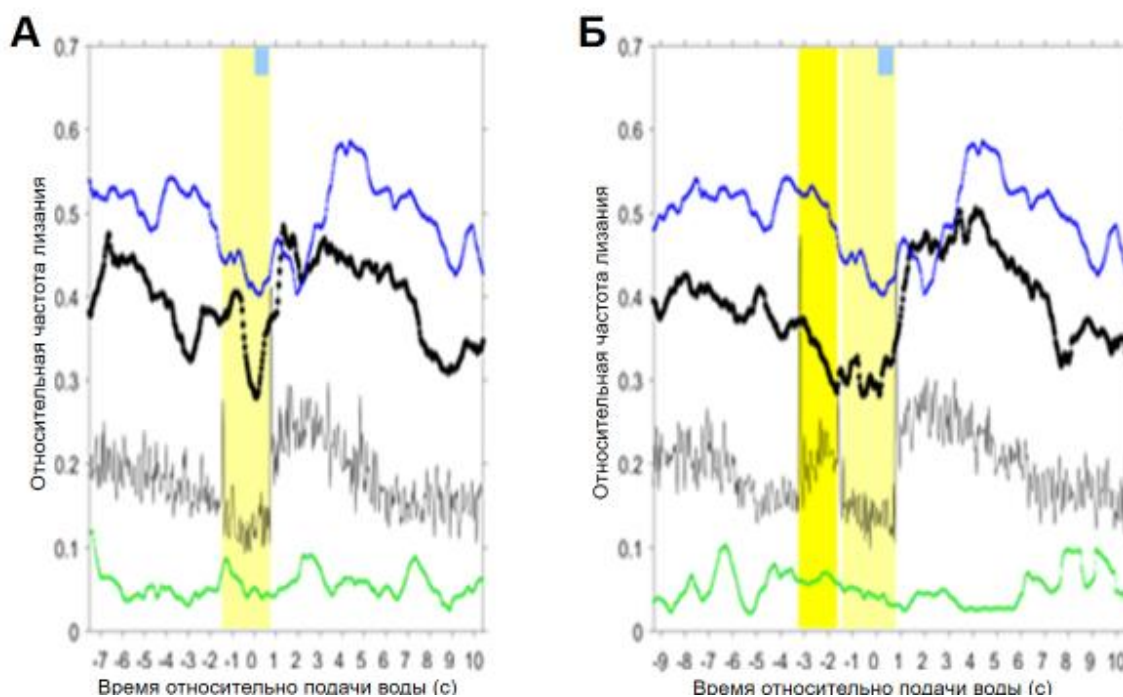


Рисунок 49. Лизание трубки одной инструментально обученной обезьяной в пассивных задачах. Зеленая кривая показывает З-задачу, синяя кривая показывает В-задачу, а черная кривая показывает ЗВ-задачу, для проб с одним тоном (левая часть А) и для проб с шумом и тоном (правая часть Б). Зашумленная черная кривая показывает частоту импульсации популяции клеток в ЗВ-задаче. Все данные были получены за шесть сессий.

Нейронная активность в трех пассивных задачах у инструментально обученных обезьян.

Эффекты сочетания звуков с подачей воды были изучены в 97 группах клеток, которые были зафиксированы в 25 сессиях (65 групп нейронов в 17 сессиях у обезьяны We и 32 группы клеток в 8 сессиях у обезьяны Ba). Результаты представлены как медиана частоты импульсации популяции клеток, которые были получены от всех групп нейронов после нормализации перистимульных гистограмм отдельных групп нейронов (**Рисунок 50**).

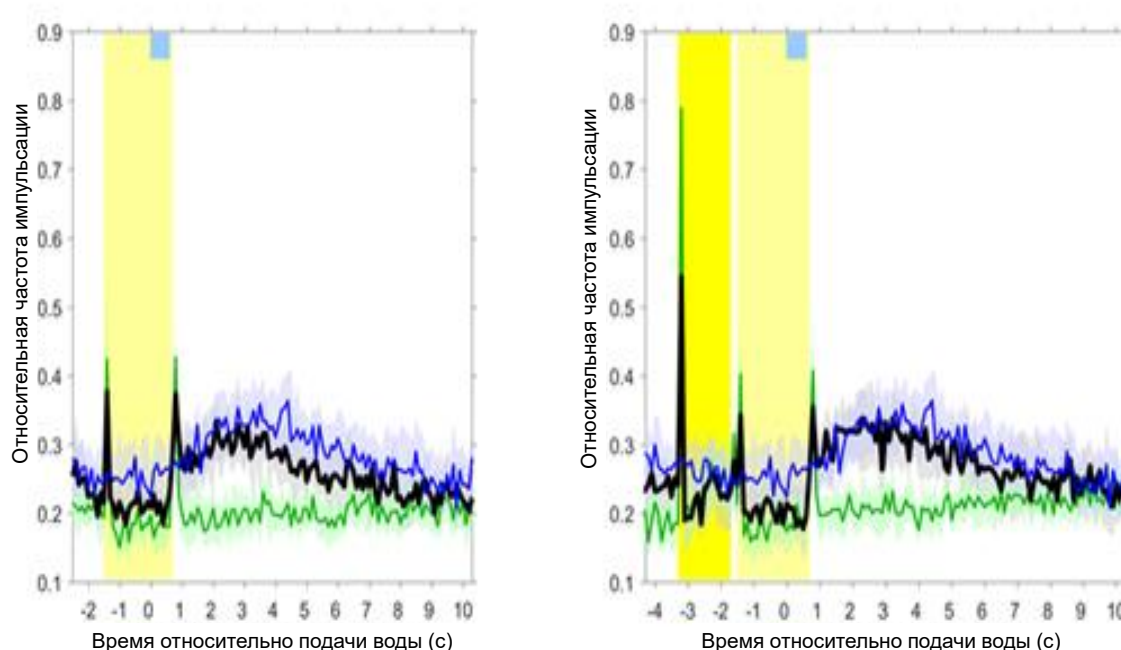


Рисунок 50. Частота импульсации популяции клеток у инструментально обученных обезьян в трех пассивных задачах. Усредненные данные по 97 группам нейронов. Желтым фоном отмечено время предъявления звуков (яркий фон соответствует шуму). Для каждой группы частота нормирована относительно максимального значения. Заштрихованные области отражают доверительный интервал медианы для каждой кривой. Обратите внимание, что, поскольку периоды пауз варьировали от 3,5 до 10,3 с, оценки частоты импульсации от 5 с после подачи воды и позже были основаны на меньшем количестве проб и могли также отражать физические ответы на звуки последующей пробы. Цвета и обозначения как на **рисунке 49**.

В 3-задаче частота импульсации популяции клеток была увеличена в нескольких временных окнах относительно частоты на фоновом интервале в 1000 мс непосредственно перед предъявлением звуков (зеленые кривые на **рисунке 50**). Большинство из них были

обнаружены в отдельных 100-мс каналах и соответствовали изменениям звуковой среды, т.е. наблюдались при включении и выключении тона и шума. Помимо этих фазических ответов, было небольшое увеличение частоты импульсации во время стационарной части шумового сигнала, т. е. от 200 до 1600 мс после начала шума. Мы также отметили, что величина фазического ответа на выключение тона была примерно такой же, как и ответ на начало тона. Контраст между ответом на начало и завершение тона, определяемый как разница между ответом на начало и ответом на завершение тона деленная на ответ на завершение тона, не отличается достоверно от 0 ($p > 0.23$), как в чисто тоновых пробах (4,7 %), так и в пробах с шумом и тоном (-0.5 %).

В W-задаче частота импульсации популяции клеток медленно изменялась во время пробы (синяя кривая на **рисунке 50**). Она начинала превышать фоновую частоту импульсации через приблизительно 1с после начала 600-мс периода подачи воды и затем продолжала увеличиваться в течение приблизительно 2 с. После достижения пика на уровне, который достигался на интервале от 2,5 до 3,5 с и был примерно на 25 % выше исходной частоты импульсации, популяционная активность уменьшалась в течение приблизительно 2 с до фонового уровня. Таким образом, связанная с подачей воды импульсация нейронов имела продолжительность около 4 с.

В ЗВ-задаче, в которой вода подавалась через 1500 мс после начала тона, динамика импульсации популяции клеток в пробе может считаться сочетанием фазических ответов на звуки и импульсации, связанной с подачей воды, которая наблюдалась в двух однокомпонентных задачах, которые, однако, различались в соответствующем и в других временных окнах (черные кривые на **рисунке 50**). Первым анализируемым временным окном был 1000-мс фоновый интервал до начала пробы, который был непосредственно перед началом звука в З- и в ЗВ-задаче и это был интервал от 2500 мс до 1500 мс перед подачей воды в пробах с одним тоном и интервал от 4300 до 3300 мс перед подачей воды в пробах с шумом и тоном. Фоновая частота в ЗВ-задаче находилась между фоновой частотой в двух однокомпонентных задачах, хотя значительный контраст в 21 % был обнаружен только между З-задачей и ЗВ-задачей (каждое $p = 0.002$).

В ЗВ-задаче фазические ответы на все перепады звука были меньше соответствующих фазических ответов в З-задаче, и эти уменьшения были статистически значимыми для всех ответов на начало тона (все $P < 0.002$), но не на завершение тона, контраст составлял от 11 до 25 %. Поскольку фоновая частота была увеличена относительно З-задачи, снижение фазических ответов было еще больше, когда их величины были отнесены к активности непосредственно перед предъявлением звуков (контрасты колебались

между 5,4 % и 41,2 %). Очевидно, что фазические ответы в ЗВ-задаче были также больше, чем фоновая активность в W-задаче, в которой не было предъявлено никаких звуков.

Хотя частоты во время стабильной фазы звуков в SW-задаче были в основном между значениями в двух однокомпонентных задачах и повторяли отношения во время фоновой части, они, как правило, были ближе к фоновой частоте в З-задаче, чем к таковой в В-задаче. Значительные контрасты в 12 % между ЗВ-задачей и В-задачей были обнаружены только во время предъявления тона во время проб с чистым тоном ($p < 0,0001$).

После подачи воды частота импульсации популяции нейронов в ЗВ-задаче изменялась сходным образом с таковой в В-задаче и, таким образом, отличалась от частоты импульсации в З-задаче. Во временном интервале от 2500 до 3500 мс после начала подачи воды частота импульсации в ЗВ-задаче была больше, чем в З-задаче, как в пробах с одним тоном, так и в пробах с шумом и тоном (каждый $p < 0,0001$; контрасты составляли 16 и 20 %).

Нейронная активность обученных инструментальному поведению обезьян в трех инструментальных задачах и ЗВ-задаче.

Эффекты включения двигательного поведения в разные моменты относительно подачи звука и воды были исследованы на 180 группах нейронов путем сравнения импульсации в ЗВ-задаче с ДЗВ и ЗДВ задачами и сравнения активности в двух трехкомпонентных задачах с ДЗДВ задачей. 108 групп были зарегистрированы в 21 сессии у обезьяны We и 72 группы в 17 сессиях у обезьяны Va. В половине из 38 сеансов (6 сеансов у обезьяны We и 13 сеансов у обезьяны Va) эти четыре задачи были протестированы до тестирования трех пассивных задач только со звуками и водой.

Популяционные частоты импульсации нейронов в четырех задачах значительно отличаются между различными задачами на многих временных интервалах начальной части пробы (**рисунки 51 и 52**). Эти различия были частично обусловлены использованием различных компонентов задачи или различными временными отношениями между компонентами задачи в различных условиях и лишь частично - специфическими сопряжениями компонентов задачи в различных задачах. Подробности будут указаны ниже, где мы сначала опишем эффекты проявления двигательного поведения до звуков, а затем опишем эффекты проявления двигательного поведения после звуков. Во время последующих частей проб, т. е. начиная с завершения тона и заканчивая 5 с после подачи воды, напротив, достоверных различий в импульсации нейронов не было. Таким образом, фазический ответ на завершение тона и импульсация нейронов, связанная с подачей воды, не менялись между четырьмя задачами.

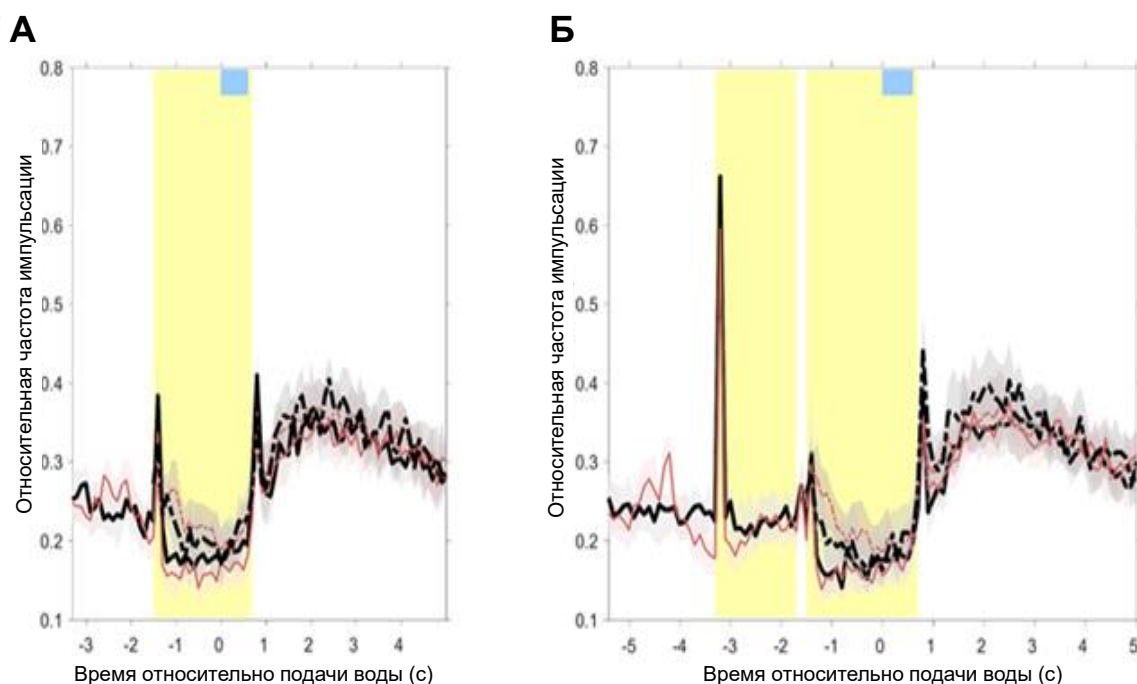


Рисунок 51. Показатели импульсации популяции клеток в трех инструментальных задачах и одной пассивной задаче у инструментально обученных обезьян. Данные от 180 групп нейронов. Черная сплошная кривая показывает ЗВ-задачу, черная пунктирная кривая показывает ЗДВ-задачу, Красная сплошная кривая показывает ДЗВ-задачу, Красная штриховая кривая показывает ДЗДВ-задачу, для проб с одним тоном (часть А) и для проб с шумом и тоном (часть Б). Другие обозначения соответствуют **рисунку 49**.

Сравнение ЗВ и ДЗВ задач.

По сравнению с ЗВ-задачей, популяционная частота импульсации клеток в ДЗВ-задаче отличалась на нескольких временных интервалах проб (**рисунок 52, А и Б**). Первый временной интервал соответствовал двигательному поведению манипулирования штангой, которое обезьяны проявляли только в задаче ДЗВ, и которое описывается здесь как активность, которая была связана исключительно с касанием и удержанием штанги в течение по крайней мере 2250 мс. При таком поведении частота импульсации нейронов увеличивалась на интервале от приблизительно 500 мс до касания стержня до приблизительно 200 мс после касания относительно частоты в ЗВ-задаче при значительном контрасте 13% ($p < 0.0001$). Этот период увеличения активности сменялся периодом, в течение которого частота была снижена с приблизительно 300 мс до не менее 1300 мс после касания рычага, с маленькой разницей между пробами с одним тоном и пробами с шумом и тоном (для всех $p < 0.007$, контраст 8 %), и, таким образом, с незначительной разницей между пробами, в которых первый звук начинался раньше или позже, в течение периода удержания

рычага. Второй временной интервал с достоверно различной активностью между ЗВ-и ДЗВ-задачами соответствовал началу первого звука в испытании. Здесь мы обнаружили, что фазический ответ на начало тона в чисто тоновых пробах, а также фазический ответ на начало шумового компонента в пробах с шумом и тоном были достоверно уменьшены в MSW-задаче ($p = 0.006$ и $p = 0.003$, соответственно, и контрасты ответов 7 и 10 %). Не было обнаружено существенных различий в фазических ответах на все другие звуковые переходные процессы в пробе (все $p > 0.121$), включая начало тона в пробах с шумом. Третий интервал времени достоверно отличающейся активности между этими задачами соответствует стабильной части первого звука в пробе, где в ДЗВ-задаче наблюдалась меньшая частота активности, чем в ЗВ задаче, как в пробах с одним тоном ($p < 0.0001$, контрастность 9 %), так и в пробах с шумом и тоном ($p = 0.009$, контраст 9 %). Эти различия частично отражали различия, которые были связаны с двигательным поведением, которое запускало подачу звуков в ДЗВ-задаче, и никаких различий не было во время стационарной части второго звука в пробах с шумом ($p = 0.188$).

Сравнение ЗДВ и ДЗДВ задач.

Эффекты включения двигательного поведения перед звуками, также определялись путем сравнения той же задачи ЗДВ с задачей ДЗДВ. Мы ограничили наш анализ временным интервалом в пробе, временем до выполнения обезьянами двигательного ответа на тон. Причина этого состояла в том, что двигательные ответы происходили в разное время после звуков и что обезьяны должны были делать разные движения в двух условиях: касание стержня в SMW-задаче и высвобождение стержня в ДЗДВ-задаче.

На **рисунке 52**, В и Г показано, что временные интервалы с разной частотой импульсации между ЗДВ-задачей и ДЗДВ-задачей лишь частично соответствовали временным интервалам различий активности, полученным при сравнении ЗВ-задачи с ДЗВ-задачей (части А и Б). Аналогичные изменения импульсации клеток наблюдались на временных интервалах, соответствующих касанию и удержанию стержня, а также в установившейся части шумового сигнала, хотя это было достоверно только для ситуации удержания стержня ($p < 0.0001$). Было также обнаружено сходство между двумя сравнениями в том, что, за исключением первого звукового переходного процесса, не было существенных различий в фазическом ответе на звуковые переходные процессы. Таким образом, не было сходства между результатами сравнения задач в отношении фазического ответа на первый звук, который достоверно не отличался как в чисто тоновых пробах, так и в пробах с шумом и тоном ($p > 0.238$ и $p > 0.668$, соответственно). Не было также сходства в течение 1000-мс интервала до начала двигательного поведения, где базовая импульсация была достоверно уменьшена на 9 % в ДЗДВ-задаче относительно ЗДВ-задачи ($p < 0.0001$).

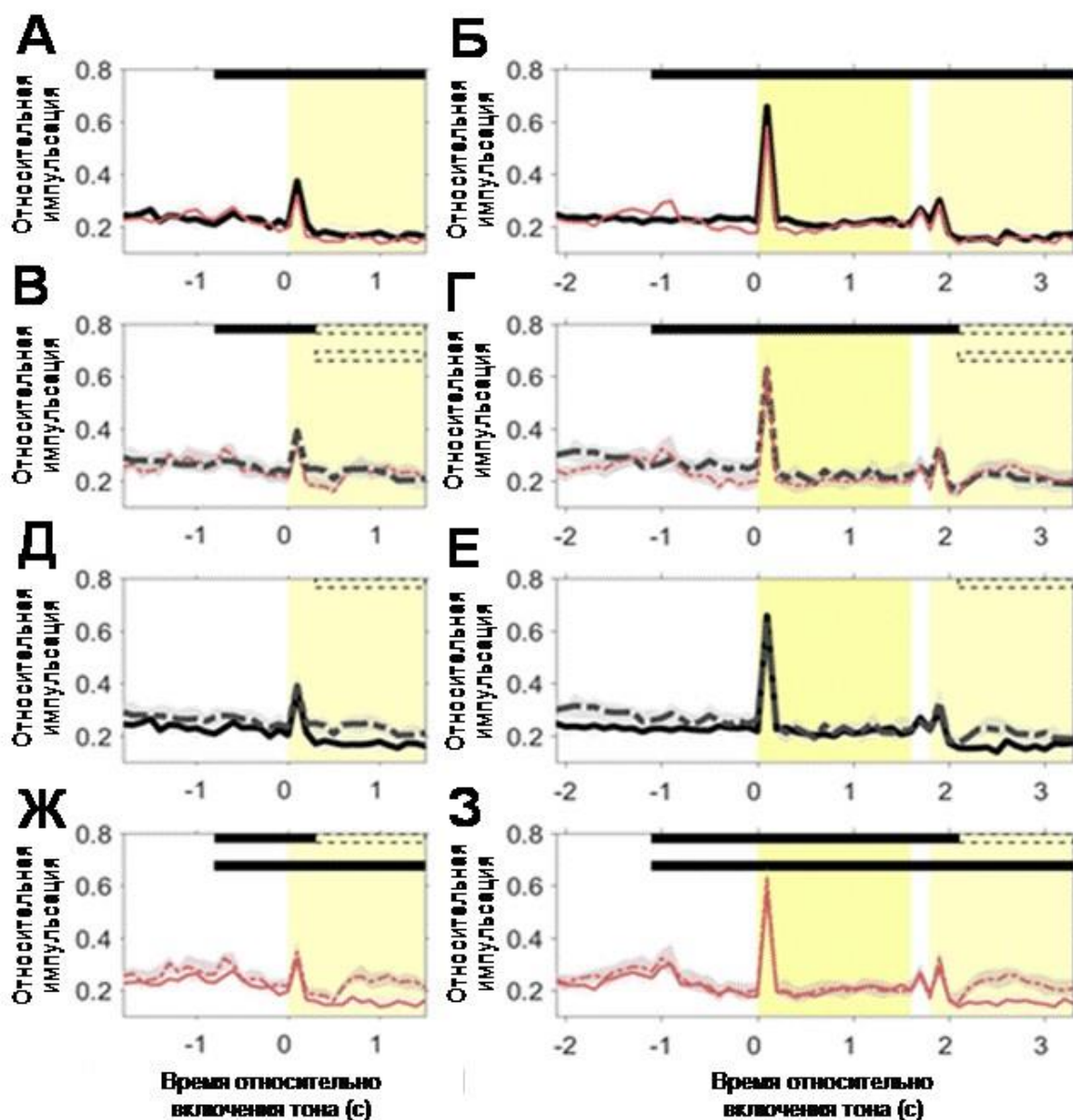


Рисунок 52. Усредненная нормированная частота импульсации популяции клеток в трех инструментальных задачах и одной пассивной задаче у инструментально обученных обезьян, центрированная относительно первого звука. В левом столбце приведены результаты для проб с одним тоном, в правом столбце показаны результаты по пробам с шумом и тоном. (А, Б) SW-задача против ДЗВ-задачи, (В, Г) ЗДВ задача против ДЗДВ-задачи, (Д, Е) ЗВ-задача по сравнению с ЗДВ-задачей, (Ж, З) ДЗВ-задача против ДЗДВ-задачи. Удержание рычага показано черными прямоугольниками и обезьяны могли отпускать рычаг во время пунктирных прямоугольников. Другие обозначения, как на рисунке 49.

Сравнение нейронной активности в ЗВ и ДЗВ задачах.

По сравнению с ЗВ-задачей, значения импульсации популяции нейронов в ЗДВ задаче были достоверно различны только во время фонового интервала до начала задачи ($p < 0,0001$; контраст 17 %, **рисунок 52**, Д и Е). Частота импульсации также имела тенденцию отличаться, начиная с нескольких сотен миллисекунд после начала тона, как в тональных, так и в шумовых пробах, включая связанную с движением активность, которая присутствовала только в SMW-задаче.

Сравнение активности в ДЗВ и ДЗДВ задачах.

Аналогичные эффекты необходимости двигательного поведения в ответ на звуки на нейронную активность были получены при сравнении ДЗВ-задачи с ДЗДВ-задачей (**рисунок 52**, Ж, З). Различная импульсация нейронов была обнаружена в течение фонового интервала ($p < 0,0001$) и времени, когда обезьяны отвечали на звуки в задаче ДЗДВ. Кроме того, были обнаружены различия активности в двигательном поведении, которое требовалось в начале пробы в обоих условиях задачи. В это время частота импульсации в ДЗДВ-задаче была выше, чем в ДЗВ-задаче, как от -500 мс до 200 мс после касания стержня ($p = 0.002$, контраст 10 %) так и от 300 до 1300 мс после касания рычага в пробах с одним тоном ($p = 0.001$, при контрасте 10%).

Связанная с двигательным поведением активность нейронов в разных задачах.

Для того, чтобы описать, как изменялась активность популяции нейронов в связи с касанием стержня, мы сравнили частоту импульсации 180 групп нейронов при выполнении этого компонента задачи в различных задачах. В ЗДВ-задаче, касание стержня требовалось в ответ на тон. В ДЗВ-задаче и ДЗДВ-задаче, касание стержня требовалось, чтобы инициировать пробу. (Обратите внимание, что вторым моторным компонентом ДЗДВ-задачи было отпускание стержня в ответ на тон). На **рисунке 53** показано, что импульсация популяции нейронов в этих трех задачах может отличаться до и после касания стержня. В интервале времени от 500 мс раньше и вплоть до момента касания стержня, частота импульсации клеток была самой низкой в ЗДВ-задаче, последовательно нарастая в ДЗВ-задаче и ДЗДВ-задаче, при достоверной разнице между ДЗДВ-задачей и всеми остальными задачами ($p < 0,0001$ и $p = 0.0032$, с контрастами 14 и 18 %), но не между ЗДВ и ДЗВ задачами ($p = 0.0208$). Частота импульсации нейронов в ЗДВ-задаче может быть даже завышена, потому что этот временной интервал может также включать нейронный ответ на тон. Также не было обнаружено достоверной разницы активности в интервале от 200 до 700 мс после касания стержня между задачами ДЗДВ и ЗДВ ($p > 0.0249$).

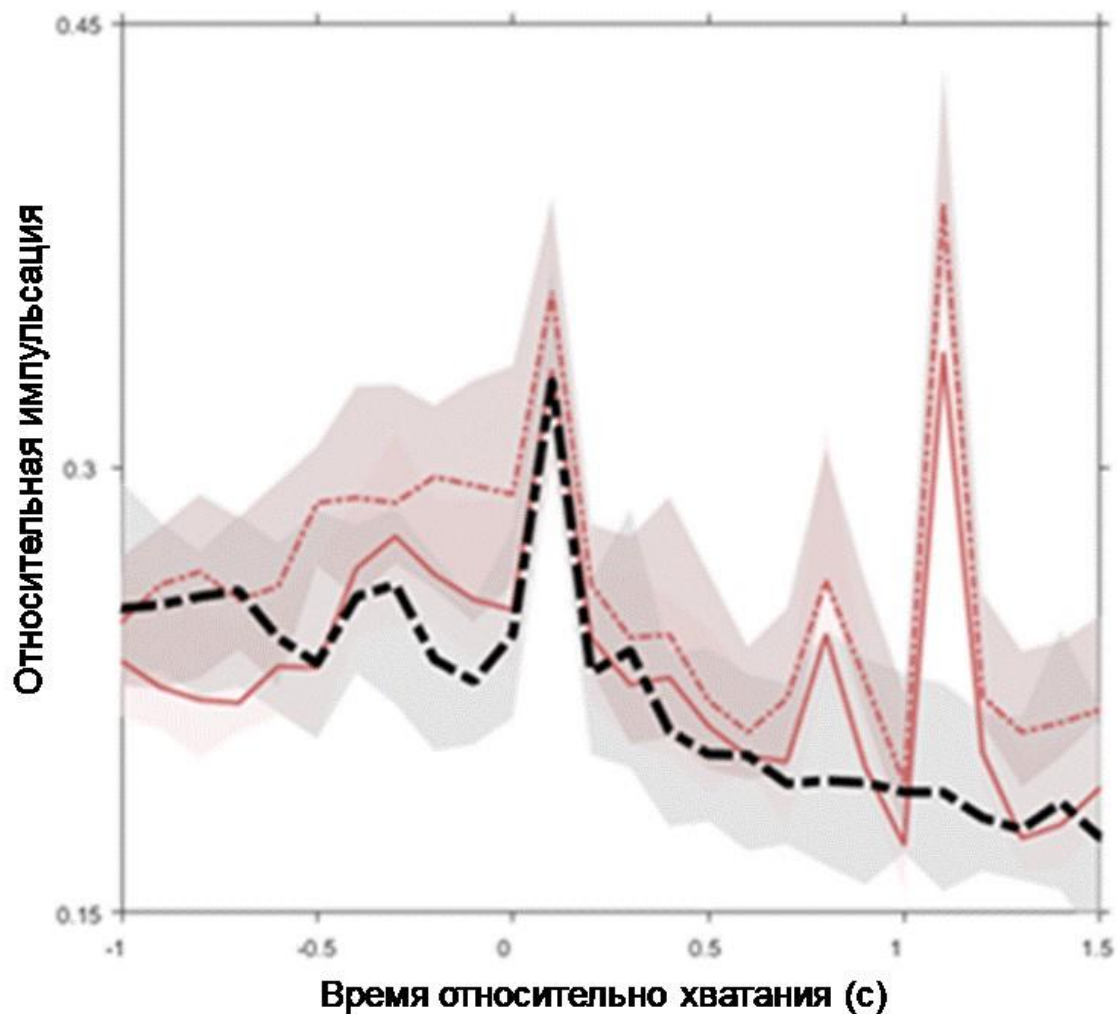


Рисунок 53. Импульсация популяции нейронов относительно момента хватания стержня в трех разных задачах. Обозначения как на **рисунке 49**.

Нейронная активность слабо обученных обезьян в пассивных задачах.

Подобно инструментально обученным обезьянам, мы обнаружили у слабо обученных обезьян, что сочетание звуков с водой приводило к изменению частоты импульсации на различных временных интервалах проб по сравнению с частотой активности, которую мы получили в двух однокомпонентных условиях (**рисунок 54**).

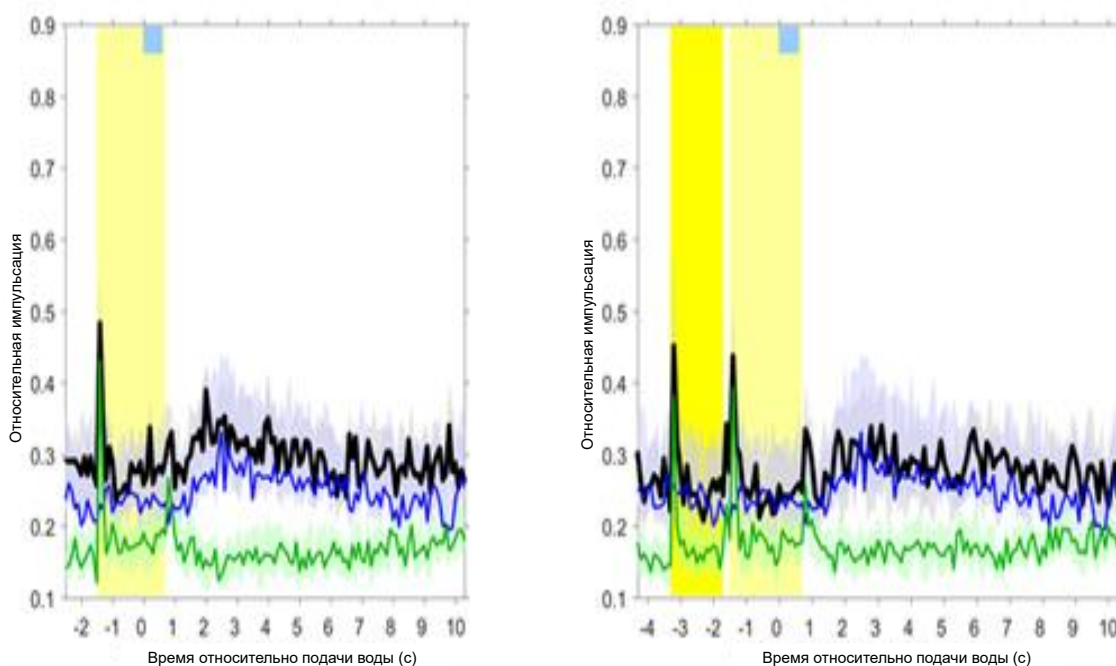


Рисунок 54. Частоты активности популяции клеток у слабо обученных обезьян в трех пассивных задачах. Обозначения как на **рисунке 49**. Данные по 75 нейронным группам.

Фазические ответы на большинство звуковых переходов различались в З-задаче по сравнению с ЗВ-задачей и фоновая частота активности в ЗВ-задаче отличалась от однокомпонентных задач, в то время как связанная с подачей и питьем воды импульсация была сходной в В-задаче и ЗВ-задаче. Различия между двумя группами обезьян также были замечены в З-задаче. У слабо обученных обезьян контраст между ответом на включение и завершение тона значительно отличался от 0 ($p < 0,0001$) как в чисто тоновых пробах (59,2%), так и в шумовых пробах (45,5 %). Более того, контраст между началом шумового сигнала и началом тона составил всего 1,5%, незначительно отличаясь от 0 ($p > 0,244$). Это не похоже на контраст ответов у инструментально обученных обезьян, который существенно отличался от 0 ($p < 0,0001$; 50,7 %).

В отличие от инструментально обученных обезьян, фоновый уровень импульсации популяции нейронов у слабо обученных обезьян имел тенденцию быть больше в ЗВ-задаче, чем в В-задаче, в то время как у инструментально обученных обезьян исходный уровень активности в ЗВ-задаче был больше, чем в З-задаче (58 % контрастность, $p < 0,0001$). Еще одно различие между двумя группами обезьян было обнаружено в фазических ответах на звуковые переходы, которые, как правило, были больше в ЗВ-задаче, чем в З-задаче, хотя контраст был статистически значимым только для слабой реакции на завершение шумового сигнала ($p < 0,0001$, контраст 36 %). Причиной противоположных результатов в этих двух группах была большая разница в фоновой частоте импульсации между задачами у слабо

обученных обезьян. Если учесть различия в фоновой частоте, и брать величины фазных ответы по отношению к частоте непосредственно перед предъявлением звуков, мы также обнаружили для слабо обученных обезьян, что относительные фазовые ответы в ЗВ-задаче были снижены по сравнению с аналогичными ответами в З-задаче (контрасты были 29.7 % для начала тона и 20,7 % для завершения тона в чисто тоновых пробах, в обоих случаях $p < 0,01$). Достоверные различия в частоте импульсации клеток между тремя задачами были также найдены в устойчивой части тона и шумового сигнала, частота импульсации была больше в ЗВ-задаче, чем в З-задаче и на 11 -13 % больше в ЗВ-задаче, чем в В-задаче, с контрастами в диапазоне между 43 и 49 % (все $p < 0,0001$).

3.3.3. Активность первичной слуховой коры при стимуляции структур среднего мозга.

Для исследования возможных физиологических механизмов показанной в предыдущем исследовании модуляции активности нейронов первичной слуховой коры в связи с этапами инструментальной задачи было проведена экспериментальная работа по стимуляции дофаминергических ядер среднего мозга и регистрации локальных вызванных потенциалов и нейронной импульсации в первичной слуховой коре обезьян. Это исследование было проведено в сотрудничестве с коллегами из отдела нейробиологии приматов Лейбниц института нейробиологии в г. Магдебург (Германия), которые проводили часть исследования с аппликацией антагониста дофаминовых рецепторов, получением данных с помощью метода магнитного резонанса. Регистрация активности нейронов была проведена мною совместно с Юдит Мюлеус. Для полного представления об этом масштабном исследовании ниже наряду с полученными мною также приведены результаты, полученные соавторами этой работы. В связи с растущими доказательствами того, что слуховая кора находится под контролем дофаминергических клеточных структур вентрального среднего мозга, мы изучили, как вентральная тегментальная область и черная субстанция влияют на активность нейронов в слуховой коре. Мы провели электростимуляцию в общей сложности 567 участков мозга внутри и вблизи двух дофаминергических вентральных структур среднего мозга и в то же время регистрировали локальные вызванные потенциалы и нейронные спайковые разряды в слуховой коре. В экспериментах, проведенных на трех бодрствующих макаках, мы обнаружили, что электрическая стимуляция дофаминергического вентрального среднего мозга приводит к кратковременной (35 мс) фазной активации во всех слоях первичной слуховой коры.

Вызванные потенциалы в коре головного мозга

Для каждой пары точек стимуляции/регистрации мы усреднили локальные вызванные потенциалы (лВП), которые регистрируются в сенсорной коре относительно начала электрического разряда (более 50 проб для каждого лВП). Поскольку стимуляция генерировала артефакт в записях лВП, который длился не более 20 мс, начальная часть электрически вызванного потенциала (ЭВП) не могла быть рассмотрена в этом исследовании и, следовательно, никогда не включалась ни в один из ЭВП, проанализированных в этой работе (например, рисунок 55А).

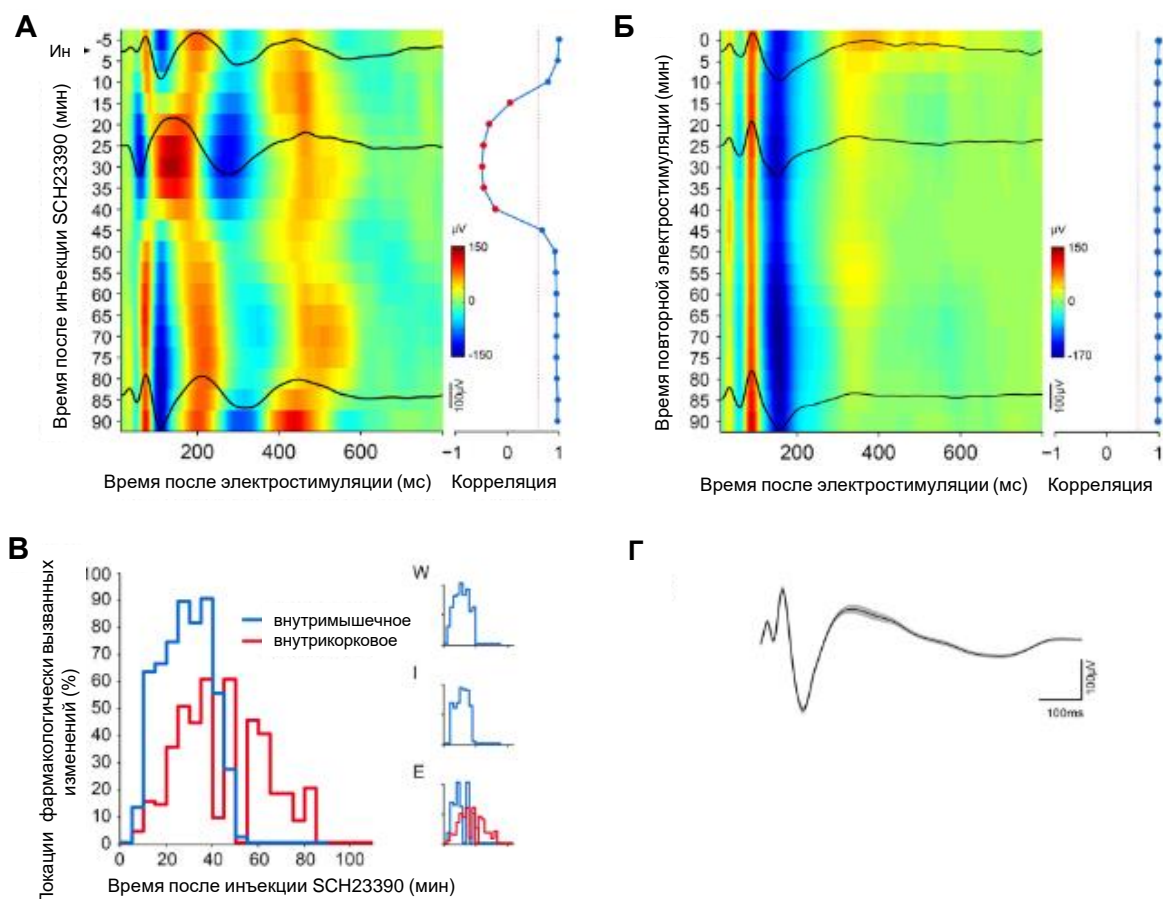


Рисунок 55. Электрическая стимуляция дофаминергического вентрального среднего мозга вызывает полифазный полевой потенциал в слуховой коре, которая находится под контролем дофаминовых D1- рецепторов. (А) Электрически вызванные потенциалы (ЭВП) модифицируются после внутримышечной инъекции антагониста D1-рецептора SCH23390. На тепловом графике строки показывают цветокодированные амплитуды сигнала ЭВП, которые многократно измерялись после инъекции (красный цвет указывает на положительные отклонения, синий - отрицательные отклонения). Отметим, что от 15 до 45 мин после инъекции ЭВП отличались от ЭВП до инъекции, тогда как, начиная с 50 мин после инъекции, ЭВП восстанавливался. Три черные линии показывают ЭВП 5, 25 и 85 мин после инъекции. Изменения ЭВП количественно определялись путем вычисления

корреляции Пирсона между ЭВП до инъекции и ЭВП в разное время после инъекции (правая часть А). Красная пунктирная линия обозначает коэффициент корреляции 0,6, который использовался для поиска временных точек, в которых ЭВП был изменен. (Б) Тепловой график ЭВП, которые неоднократно измерялись без какого-либо фармакологического вмешательства (контроль). Обратите внимание, что ЭВП хорошо воспроизводился на протяжении всего интервала наблюдения и что корреляции Пирсона всегда были выше 0,9. (В) Временной ход воздействия антагониста D1-рецептора SCH23390 на ЭВП в слуховой коре. График показывает, для различных моментов времени после инъекции, процент мест в дофаминергическом вентральном среднем мозге, откуда мог быть вызван ЭВП, который значительно модифицировался антагонистом. Синие и красные кривые указывают на внутримышечные и внутрикоровые инъекции, соответственно. Вставки показывают данные отдельных обезьян. (Г) Шаблон ЭВП, характерный для стимуляции дофаминергического вентрального среднего мозга. Он был получен путем усреднения всех ЭВП, которые были достоверно модифицированы антагонистом D1-рецептора SCH23390 (см. текст). Серое затенение показывает стандартную ошибку измерения. Обратите внимание, что начальные 20 мс после начала стимуляции опущены из-за артефакта стимула среднего мозга.

Для компенсации настроек по умолчанию различных систем фильтров, используемых у трех обезьян, все ЭВП были подвергнуты полосовой фильтрации с полосой пропускания между 1 и 45 Гц, используя фильтрацию вперед и назад акаузальным цифровым фильтром Баттерворта второго порядка. Для последующего анализа мы характеризовали каждый ЭВП двумя параметрами. (1) мы рассчитали усредненный квадрат площади значений потенциала во временном интервале 20-170 мс после начала стимуляции. Мы ограничили наш анализ этим интервалом, потому что он содержал наиболее заметные и воспроизводимые отклонения ЭВП. (2) мы определили сходство ЭВП с шаблоном ЭВП, который был характерен для ответа на стимуляцию дофаминергического вентрального среднего мозга. С этой целью мы рассчитали нормированную кросс-корреляционную функцию (скорректированную по значениям среднего) между ними и получили ее максимум (далее именуемый индексом подобия). Таким образом, индекс подобия был чувствителен к латенциям отклонений ЭВП, а не к амплитуде потенциала. В этом анализе использовался тот же интервал 20-170 мс после начала стимуляции. Шаблон ЭВП был рассчитан путем усреднения ЭВП, которые могут быть модифицированы антагонистом дофамина D1-рецептора SCH23390. Для большинства точек регистрации в слуховой коре мы рассчитали слуховой вызванный потенциал (СВП) путем усреднения в этом месте регистрации всех

локальных ВП относительно начала щелчков (более 50 проб для каждого слухового потенциала).

Анализ мультиклеточной активности и импульсации отдельных нейронов.

Для каждой мультиклеточной и одиночной записи в слуховой коре мы рассчитали постстимульную гистограмму (ПСГ) с шириной канала в 10 мс относительно начала электрической стимуляции (по 50 пробам). Поскольку электрическая стимуляция создавала артефакт, который длился до 20 мс (как и для лВП), этот период был исключен. Для улучшения сравнения единичных гистограмм, зарегистрированных в разных локусах, мы рассчитали частоту активности в течение 100 мс до начала стимуляции.

Чтобы определить нейроны, которые реагировали на глубокую стимуляцию мозга, мы сравнили частоту активности в 10-мс канале непосредственно перед стимуляцией с частотой в каждом из тридцати 10-мс каналов после стимула с помощью критерия Вилкоксона (двухстороннего). Активность клеток считали существенно измененным, если по крайней мере два из тридцати канала подряд отличались от канала непосредственно перед стимуляцией со значением $p < 0.0415$, что соответствует общему уровню значимости 0,05 ($0.0415 \times 0.0415 \times 29$). Было сочтено, что достоверное уменьшение отражает ингибирующие реакции, а достоверное увеличение - возбуждающие реакции. Для каждой ПСГ мы получили значение первого канала с достоверной разницей (латентность первого спайка), количество значимых каналов (продолжительность ответа) и частоту активности и латентность канала с наибольшей разницей. Чтобы оценить спектральную чувствительность мультиклеточной записи в конкретном локусе, мы проанализировали ее ответы на тоны, предъявленные на 40 различных частотах, и получили частоту максимального ответа и латентность первого спайка ответа, как было описано ранее (см. Brosch M. et al., 1999).

Фармакологические модификации мультиклеточной активности.

Чтобы выявить влияние введения антагониста D1-рецептора на активность пула нейронов в конкретной локации слуховой коры, мы сравнили ПСГ, которая была получена до инъекции препарата, с ответами, которые были получены в разное время после инъекции. Прежде чем определить влияние введения вещества на электрически вызванные мультиклеточные ответы, мы проверили каждую ПСГ на наличие или отсутствие таких ответов. Затем принималось, что антагонист влияет на активность пула нейронов, если спайковый ответ временно исчезал после инъекции препарата или если он временно возникал в ранее не реагировавшем на стимуляцию локусе. Для выявления влияния на спонтанную активность мы проанализировали, изменилась ли спонтанная активность после инъекции антагониста D1-рецептора с помощью рангового теста Вилкоксона (двухсторонний,

$p < .05$, с поправкой Бонферрони для множественных сравнений). Уровень спонтанной активности был получен из 100-мс периода до электростимуляции.

В общей сложности в 567 локусах в глубине мозга у трех обезьян (238, 157 и 172 в обезьянах, W, I, и E, соответственно) мы протестировали, как электрическая стимуляция влияет на нейронную активность в 2,607 точках регистрации (1,202, 491, и 914 в обезьянах W, I, и E, соответственно) в первичной слуховой коре, во вторичной соматосенсорной коре и в верхней полисенсорной височной коре. Данные были получены в 114 экспериментальных сессиях, в которых мы получали доступ к дофаминергическому вентральному среднему мозгу и окружающим его глубоким структурам мозга с помощью перемещение стимулирующих электродов по приблизительно дорсовентрально ориентированным трекам, по ходу которых мы регистрировали локальные ВП и нейронные ответы преимущественно из гранулярных слоев первичной слуховой коры.

Влияние дофаминергического вентрального среднего мозга на локальные вызванные потенциалы в сенсорной коре.

Верхняя черная линия на **рисунке 55, А** показывает, что кратковременная монополярная электрическая стимуляция дофаминергического вентрального среднего мозга вызывала полифазный потенциал в слуховой коре, который состоял из нескольких разделяемых положительных и отрицательных отклонений. В этом эксперименте размещение электродов основывалось на стереотаксических координатах, анатомических измерениях МРТ и физиологическом ориентире (т. е. красном ядре). Мы получили дополнительные доказательства того, что электрическая стимуляция возбуждала дофаминергический вентральный средний мозг (т. е. вентральную тегментальную область или черную субстанцию), обнаружив, что ЭВП может быть модифицирован антагонистом D1-рецептора SCH23390. Это показано на **рисунке 55, А**, который показывает цветокодированные ЭВП, которые повторно были измерены после инъекции антагониста. Мы отметили, что примерно через 15-40 мин после инъекции наблюдался ЭВП отличавшейся формы. На более поздних интервалах времени ЭВП были аналогичны тем, которые были получены до инъекции; таким образом, первоначальный ЭВП был восстановлен. Обратите внимание, что во все времена после инъекции можно было вызвать ЭВП определенной формы, что предполагает, что антагонист дофамина только модулировал нервную передачу от дофаминергического вентрального среднего мозга к слуховой коре, но не полностью блокировал ее.

Чтобы количественно оценить, как долго антагонист дофамина влиял на ЭВП, мы рассчитали коэффициенты корреляции (Пирсон) для оценки отношения между ЭВП, измеренным до инъекции, и ЭВП, измеренными после инъекции (**рисунок 55, А**, правая

панель). Этот анализ показал, что коэффициенты корреляции сохраняются на высоком уровне до 10 мин после инъекции, а затем заметно сокращаются и, через некоторое время даже достигают отрицательных значений; последнее свидетельствует о существенной антикорреляции и, таким образом, частично противоположных фазовых соотношениях между ЭВП, полученными до и после инъекции. После достижения максимальных отрицательных значений через 30 мин после инъекции, коэффициент корреляции увеличивался снова и после этого оставался на высоких уровнях, начиная с 45 минут после инъекции.

Для определения того, какие изменения коэффициентов корреляции указывали на статистически значимое влияние антагониста на ЭВП, мы оценивали дисперсию таких ЭВП при их многократном измерении без каких-либо фармакологических воздействий. Как показано для другой пары стимулирующих и регистрирующих электродов (**рисунок 55, Б**), мы обнаружили, что в этом состоянии ЭВП был высоко воспроизводимым в течение 90 мин. Это также было выявлено для других 18 локаций, которые, по нашим оценкам, были расположены в дофаминергическом вентральном среднем мозге и которые имели похожие ЭВП. Высокая стабильность ЭВП отражалась в целом в высоких коэффициентах корреляции, которые лишь изредка (<5% всех случаев) были ниже 0,6. Таким образом, мы рассматривали снижение коэффициентов корреляции ниже этого критического значения в качестве указания на статистически значимое изменение ЭВП. В примере, показанном на **рисунке 55, А**, мы поэтому заключили, что антагонист дофамина повлиял на ЭВП на интервале от 15 до 40 минут после инъекции.

Популяционный анализ электрически вызванных потенциалов слуховой коры

На 44 глубинных участках мозга (включая тот, что показан на **рисунке 55, А**), мы определили, был ли дофамин вовлечен в передачу нейронных сигналов в слуховую кору путем инъекции антагониста D1-рецептора SCH23390. Для 28 (63,6 %) из этих локаций мы обнаружили, что SCH23390 значительно модифицировал ЭВП, записанный в слуховой коре (т. е., по крайней мере, один из коэффициентов корреляции, вычисленных из сравнения прединъекционного ЭВП и постинъекционного ЭВП, был ниже критического значения 0,6), без большой разницы между инъекциями, сделанными внутримышечно (21/31) и в слуховую кору (7/13). Этот результат был получен на 135 из 212 локаций (63,7 %) в слуховой коре. Изменения произошли между 5 и 85 мин после инъекции и были наиболее распространены на интервале 25-40 мин после инъекции (**рисунок 55, В**). Примечательно, что изменения ЭВП наблюдались исключительно при расположении стимулируемых глубинных локаций мозга в дофаминергическом вентральном среднем мозге (28/41). Напротив, такие изменения не наблюдались для ЭВП, полученных с участков, находившихся более чем на 4 мм

дорсально от дофаминергического вентрального среднего мозга (0/3), которые также имели очень разные формы ЭВП (например, см. **рисунок 56, А**). Это говорит о том, что форма ЭВП, вызванная из дофаминергического вентрального среднего мозга, отличается от форм ЭВП, вызванных из мест за пределами этой глубокой структуры мозга. Поэтому это наблюдение было использовано в качестве дополнительного средства для определения того, находится ли глубокий участок мозга, который не был фармакологически протестирован, внутри или снаружи дофаминергического вентрального среднего мозга, а именно для электрической стимуляции этого участка и определения того, похож ли полученный ЭВП на ЭВП, специфичный для дофаминергического вентрального среднего мозга. Чтобы оценить это сходство, мы рассчитали нормализованную функцию кросс-корреляции между ЭВП и шаблоном ЭВП, который является специфичным для стимуляции дофаминергического вентрального среднего мозга. Шаблон ЭВП является средним из 28 ЭВП, которые были модифицированы антагонистом D1-рецепторов SCH23390, и состоит из нескольких положительных и отрицательных отклонений с амплитудами от -175 до 130 мкА в диапазоне времени около 400 мс (**рисунок 55, Г**). Поскольку его наиболее заметные и воспроизводимые отклонения находились во временном окне 20-170 мс после стимуляции, только это временное окно использовалось нами для расчета функции кросс-корреляции. Для дальнейших целей мы получили максимум от кросс-корреляционной функции считали, что все ЭВП соответствуют шаблону ЭВП, если этот индекс сходства превысил 0,8.

Наблюдаемые изменения ЭВП после инъекции SCH23390 совместимы с интерпретацией, что ЭВП является результатом суперпозиции постсинаптических потенциалов (Jervis B.W. et al., 1983), который модифицируется D1-рецепторами. Альтернативный взгляд на генерацию ЭВП заключается в том, что залп потенциалов действия, поступающий после электростимуляции, сбрасывает фазу спонтанных кортикальных колебаний так, что активность на определенных частотах становится фазово заблокированной (Sayers B.M. et al., 1974). Этот взгляд не совместим с эффектами SCH23390 на спонтанные колебания лВП. В частности, мы проверили, являются ли амплитуды лВП в диапазонах дельта /тета, альфа, бета и гамма частот (<6.7, 6.7–13.4, 20.1–26.9, 33.6–73.9 Hz) измененными после инъекции SCH23390. Спонтанные флуктуации лВП были получены из 152-мс периодов перед нанесением блоков импульсов электростимуляции. Несмотря на то, что при стимуляции отдельных глубоких участков мозга были обнаружены достоверные (тест Вилкоксона, двухсторонний, $p < 0.05$) изменения, частота этих изменений не превышала случайного уровня, наблюдавшегося в наших контрольных экспериментах.

Описание электрически вызванных потенциалов, полученных от дофаминергического вентрального среднего мозга и прилегающих локаций глубоких структур

На **рисунке 56, А** показаны примеры различных форм ЭВП, зарегистрированных в гранулярных слоях слуховой коры, которые были получены при стимуляции различных локаций в глубинных структурах мозга по пути перемещения стимулирующего электрода примерно по вентро-медиально ориентированному направлению в вентральной тегментальной области. В этом треке красное ядро предвывает ВТО (вентральную тегментальную область) и может быть однозначно идентифицировано, потому что электрическая стимуляция вызывала движения тела, характерные для этого ядра (Lovell J.M. et al., 2014). После прохождения красного ядра, не сумев вызвать стимуляцией таких движений тела, мы приходили к выводу, что электрод достиг вентральной тегментальной области. Мы выявили, что с каждой локацией в глубине мозга по всему треку может быть вызван ЭВП. Однако его форма и амплитуда значительно различались. Для настоящего исследования представляет интерес тот факт, что ЭВП, обнаруженные в диапазоне от 23,5 до 29,75 мм ниже кортикальной поверхности, были очень похожи друг на друга и имели одинаковые амплитуды. Этот диапазон соответствует расположению вентральной тегментальной области. То, что ЭВП в этом диапазоне были вызваны из вентральной тегментальной области, было дополнительно подтверждено тем, что все полученные ЭВП имели высокие индексы сходства (>0.8), т. е. они были очень похожи на шаблон ЭВП, который специфичен для дофаминергического вентрального среднего мозга (см. выше). Напротив, ЭВП, вызванные из-за пределов этого диапазона (например, при стимуляции красного ядра), имели небольшие индексы сходства (<0.5) и большие амплитуды. В 381 из 523 глубоких участков мозга (72,9 %), которые не были фармакологически протестированы, мы вызвали ЭВП в 1,748 из 2,395 (73,0 %) точек регистрации в слуховой коре со значимым индексом сходства ($>0,8$), т. е. ЭВП, которые можно было зарегистрировать в них, очень хорошо соответствовали ЭВП участков, где антагонист D₁-рецептора модифицировал ЭВП. Участки со значительным индексом сходства располагались преимущественно в пределах радиуса 9 мм с центром около 27 мм ниже поверхности коры больших полушарий. В этом диапазоне $>50\%$ ЭВП имели индекс подобия $>0,8$ (**рисунок 56, В**), а медианный индекс сходства составил $>0,8$ (**рисунок 56, Б**). Эти пространственные показатели хорошо соответствуют местоположению вентральной тегментальной области и черной субстанции на основе физиологических ориентиров и координат из опубликованных атласов мозга (Szabo J., Cowan W.M., 1984; Martin R.F., Bowden D.M., 1996). В диапазоне высоких индексов сходства амплитуды ЭВП были относительно постоянными (выраженными в виде медианных среднеквадратичных значений (МСЗ) во временном диапазоне 20-170 мс после начала стимуляции, **рисунок 56, Г**).

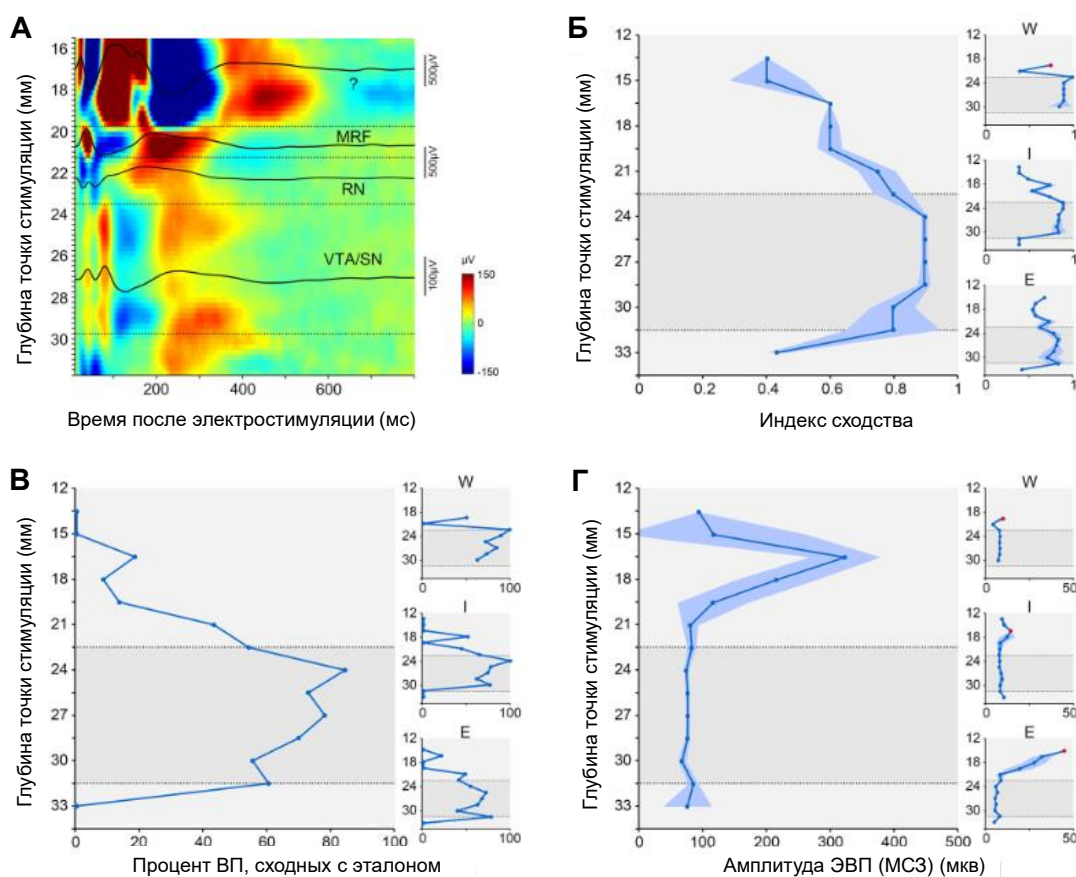


Рисунок 56. ЭВП, вызванные стимуляцией дофаминергического вентрального среднего мозга, отличаются от ЭВП, вызванных из других глубоких участков мозга. (А) - примеры ЭВП, которые были вызваны из разных глубоких локаций мозга, при перемещении стимулирующего электрод вдоль пути, который был ориентирован под углом 28° к горизонтальной плоскости. Глубина измерялась относительно поверхности коры. На тепловом графике каждая строка показывает цветовые амплитуды ЭВП, которые были вызваны из глубины, заданной на ординате. Амплитуды выше и ниже $150 \mu\text{V}$ были обрезаны. Четыре черные линии показывают ЭВП от выбранных локаций в глубине мозга, таких как дофаминергический вентральный средний мозг, т. е. вентральная область покрышки (ВТО) и черная субстанция (ЧС), красное ядро (КЯ), ретикулярная формация среднего мозга (РФСМ) и неопознанные участки, разделенные горизонтальными пунктирными линиями. Обратите внимание, что ЭВП, вызванные из дофаминергического вентрального среднего мозга (ВТО/ЧС), были очень похожи друг на друга, но сильно отличались от тех, которые были вызваны извне ВТО/ЧС. Для иллюстративных целей профили глубины двух последовательных треков электрода были объединены и сглажены с пространственной постоянной $400 \mu\text{m}$. След электрода соответствует следу, показанному на рисунке 12В. (Б-В) - изменение медианного индекса сходства ЭВП (Б) и процент ЭВП,

которые были похожи на шаблон ЭВП (В), с глубинами сайтов стимуляции для всех обезьян (основная панель) и для отдельных обезьян (вставки). Индекс подобия определяется как максимум функции кросс-корреляции между конкретным ЭВП и шаблоном ЭВП (см. **рисунок 55, Г**). ЭВП считался аналогичным шаблону ЭВП, если индекс подобия равен или больше 0.8. (Г) - изменение медианных амплитуд (среднеквадратичного значения) ЭВП в зависимости от глубины зоны стимуляции. Рассчитаны корни средних квадратичных значений в диапазоне времени 20-170 мс после начала стимуляции. Вставки показывают результаты по каждой из обезьян.

Во всех слоях слуховой коры регистрировались очень сходные потенциалы при стимуляции вентральной тегментальной области (см. иллюстрацию в Mylius J. et al., 2015). Также сходные потенциалы были зарегистрированы в соматосенсорной и верхней темпоральной полисенсорной корках.

Влияние дофаминергического вентрального среднего мозга на возбуждение нейронов слуховой коры

Электрическая стимуляция дофаминергического вентрального среднего мозга также может повлиять на возбуждение нейронов в слуховой коре. Это было обнаружено, когда мы проанализировали 235 точек в этой глубокой структуре мозга. Они были из 409 локаций, с которых можно было получить ЭВП, который был в значительной степени похож на шаблон ЭВП (индекс сходства $>0,8$; остальные 174 сайта были исключены по техническим причинам). Для каждой из этих 235 глубоких локаций мы проанализировали воздействие стимуляции на несколько участков слуховой коры (до семи). Количество кортикальных участков было переменным, потому что рассматривались только мультиклеточные записи, при которых нейроны отвечали на тоны или щелчки (755) и/или на электрическую стимуляцию (140, см. ниже), так что в наш анализ вошли в общей сложности 769 мультиклеточных записей в слуховой коре.

На **рисунке 57** показаны два примера точек в слуховой коре, где мультиклеточная активность увеличивалась (часть А) или уменьшалась (часть Б) на десятки миллисекунд вскоре после электрической стимуляции дофаминергического вентрального среднего мозга. Такие фазовые ответы наблюдались в 140 из 769 локаций в слуховой коре (18,2 %) и могли быть вызваны с 89 из 235 (38 %) точек стимуляции в дофаминергическом вентральном среднем мозге. В отличие от всех ЭВП, электрические мультиклеточные ответы были (за исключением 1) всегда монофазными. Около половины ответов ($n = 74$, 52,9 %) были возбуждательными. Остальные 66 ответов (47,1 %) были тормозными. Параметры всех мультиклеточных спайковых ответов на электростимуляцию показаны на части В и Г на **рисунке 57**, соответственно. Как правило, возбуждательные ответы возникали значительно

раньше, чем тормозные после стимуляции (тест Вилкоксона, двухсторонний, $p < 0.0034$). Медиана латентности первого спайка возбудительных реакций составила 35,0 мс (интерквартильный диапазон (ИД) = 4,3 мс), тормозных - 50,0 мс (ИД = 8,0 мс). Среднее время максимального возбуждения составило 75 мс (ИД = 7,6 мс), а максимального торможения - 130 мс (ИД = 14,9 мс). В это время возбудительные ответы были повышены до 160 % (ИД = 10 %) выше фоновой активности; тормозные ответы соответствовали снижению до 50 % (ИД = 3 %) от уровня фоновой частоты. Медианы длительности обоих типов ответов на электростимуляцию были равны (60,0 мс; ИД = 4,3 мс и ИД = 5,7 мс соответственно, тест Вилкоксона, $p > 0,05$).

Локации с ответами на электростимуляцию обладали свойствами ответа на акустическую стимуляцию, которые не отличались от тех участков коры, которые не отвечали на электрическую стимуляцию. В качестве показателей слухового ответа были взяты частота максимального ответа и его латенция.

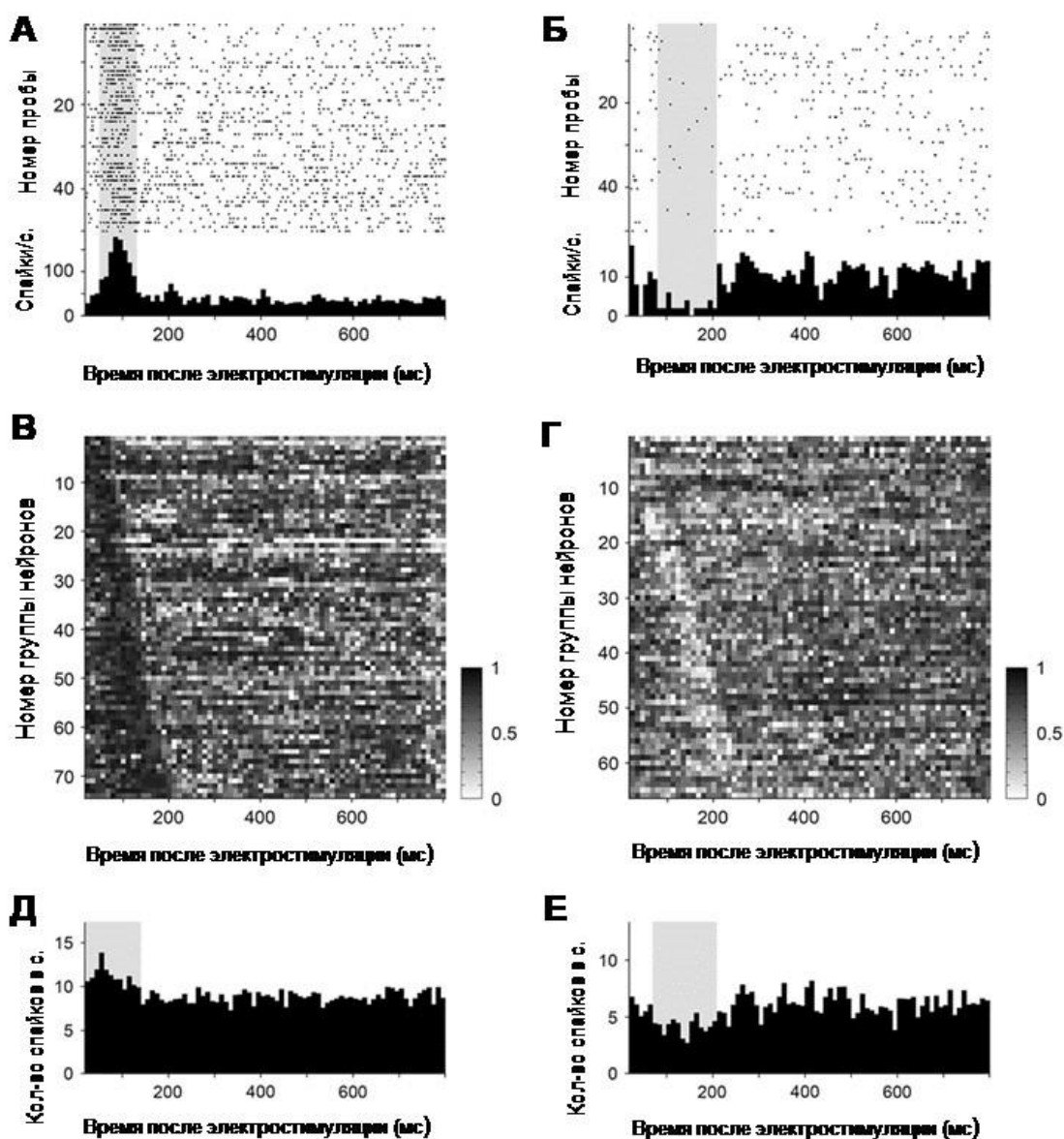


Рисунок 57. Одиночные и мультиклеточные ответы в слуховой коре, вызванные электрической стимуляцией дофаминергического вентрального среднего мозга. (А) Репрезентативная мультиклеточная запись с возбудительным ответом. На растровом изображении каждая точка в горизонтальной линии указывает на возникновение спайка относительно начала электрической стимуляции. Различные растровые линии относятся к 50 повторениям электрической стимуляции. Нижняя часть показывает среднюю частоту активности (ПСГ) относительно начала электрической стимуляции. Серая затененная область указывает на временной интервал, в течение которого частота импульсации достоверно отличалась от частоты в 10-мс канале непосредственно перед началом стимуляции (тест Вилкоксона, двусторонний). (Б) Репрезентативная мультиклеточная запись с тормозным ответом. (В) Черно-белый граф активности 74 мультиклеточных ансамблей с возбудительными ответами на электростимуляцию. Каждая строка показывает временную динамику относительной частоты активности отдельного мультиклеточного ансамбля, закодированную в оттенках серого. (Г) Черно-белый граф активности 66 мультиклеточных ансамблей с тормозными ответами на электростимуляцию. (Д–Е) - ПСГ популяции 42 одиночных нейронов с возбудительными ответами (Д) и 15 отдельных клеток с тормозными (Е) ответами.

Мы также получили доказательства того, что электрическая стимуляция дофаминергического вентрального среднего мозга вызывала возбудительные и тормозные ответы в активности отдельных нейронов слуховой коры. Это было обнаружено, когда мы проанализировали 57 единичных нейронов, которые были выделены со 140 локаций, где наблюдались электрически вызванные ответы в мультиклеточной активности. Анализ ПСГ, построенных от начала электрического стимула, выявил слабые электрически вызванные ответы в нескольких нейронах, ни один из которых не являлся статистически значимым. Тем не менее, для количественного описания электрически вызванных ответов в единичных нейронах мы создали две популяции ПСГ из импульсации 57 единичных нейронов. Первая популяция состояла из 42 единичных нейронов, которые были зарегистрированы с локаций, где был обнаружен возбудительный электрически вызванный мультиклеточный ответ (**рисунок 57, Д**). Тест Вилкоксона (двусторонний, $p < 0.05$) выявил возбудительный электрический ответ продолжительностью от 20 до 140 мс после начала стимула. Вторая популяция состояла из 15 единичных нейронов из локаций, в которых был обнаружен тормозный мультиклеточный ответ на электростимуляцию (**рисунок 57, Е**). Тест Вилкоксона показал тормозный электрически вызванный ответ, длящийся от 70 до 200 мс после начала стимула.

Электрически вызванный мультиклеточный ответ зависит от D1-антагониста SCH23390

Как и для ЭВП, мы обнаружили, что мультиклеточные ответы на электрическую стимуляцию дофаминергического вентрального среднего мозга находились под контролем D1-рецепторов. Блокирование их антагонистом SCH23390 может ослабить или усилить (рисунок 58) такие электрические ответы в слуховой коре. Эти эффекты наблюдались как при внутримышечном, так и при внутрикоровом введении.

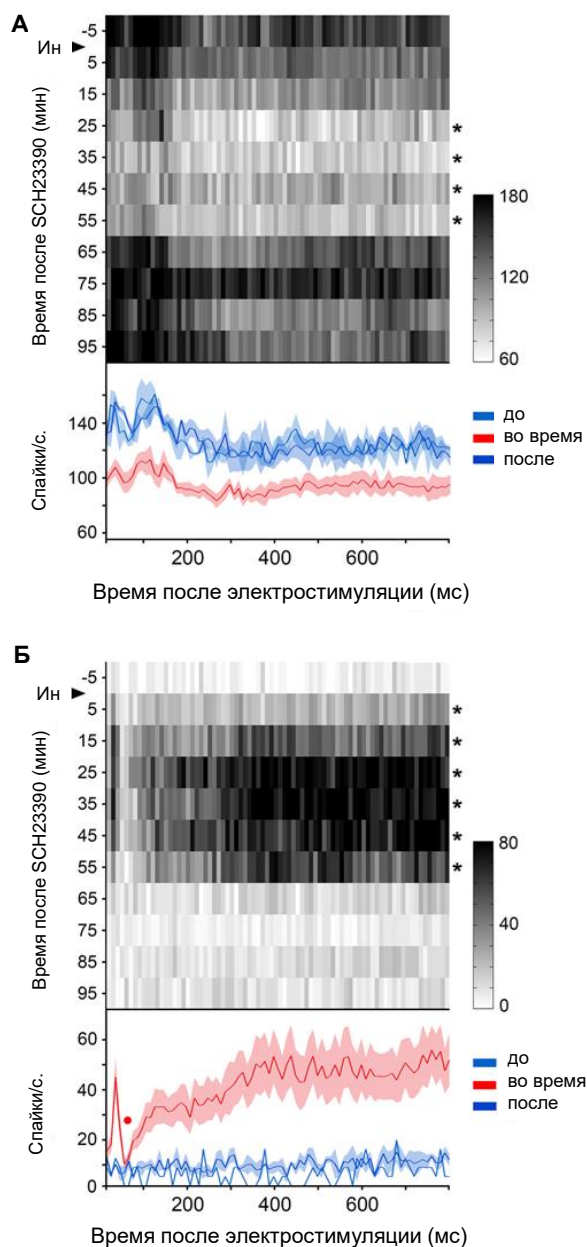


Рисунок 58. Временные изменения электрически вызванных мультиклеточных ответов в слуховой коре за счет блокирования дофаминовых D1-рецепторов.

(А) Временное подавление возбудительного электрически вызванного ответа. Каждая строка на верхней части показывает временной ход частоты импульсации в ответ на электрическую стимуляцию (по серой шкале) до и в несколько моментов времени после инъекции антагониста D1-рецептора SCH23390. Обратите внимание на общее снижение частоты импульсации и потерю возбудительного ответа на электростимуляцию с 25 до 55 мин после инъекции. Звезды указывают на достоверные изменения вызванной импульсации. Нижняя часть показывает среднюю частоту активности (ПСГ) этого мультиклеточного ансамбля относительно начала электростимуляции до инъекции (светло-синяя кривая), 25-55 мин после инъекции (красная кривая) и от 65 мин после инъекции (темно-синяя). (Б) Временное появление тормозной реакции на электростимуляцию приблизительно на 62 мс (красная точка). Отметим общее увеличение активности и появление тормозного электрически вызванного ответа от 5 до 55 мин после инъекции. Также обратите внимание, что начальный пик на приблизительно 37 мс, наложенный на тормозный ответ, не превышает базовый уровень импульсации и, следовательно, не считается возбудительным ответом в этой записи активности мультиклеточного ансамбля.

На **рисунке 58, А** показан участок с возбудительным ответом на электрическую стимуляцию дофаминергического вентрального среднего мозга (светло-голубая кривая). Этот ответ стал меньше или даже исчез вскоре после инъекции антагониста D1-рецептора (красная кривая). Эффект антагониста длился 30 мин, после чего возбудительный ответ восстановился (темно-синяя кривая). Отметим, что изменения электрически вызванного ответа сопровождались временным снижением спонтанной активности мультиклеточного ансамбля.

Рисунок 58, Б иллюстрирует пример, в котором антагонист D1-рецепторов имеет противоположное действие на передачу нервных импульсов от дофаминергического вентрального среднего мозга к слуховой коре. Нейроны в этой локации обычно не отвечали на электрическую стимуляцию (светло-голубая кривая). Однако в течение 5 мин после инъекции электростимуляция смогла вызвать тормозный ответ (согласно нашему критерию), и это можно было повторить в течение 50 мин (красная кривая), после чего тормозные ответы больше не могли быть вызваны (темно-синяя кривая). Заметим, что и в этом примере антагонист изменил спонтанную импульсацию мультиклеточного ансамбля, однако повысил ее. Предположительно только это увеличение спонтанной активности сделало возможным, что ингибирующее действие дофаминергического вентрального среднего мозга смогло повлиять на (сверхпороговую) импульсацию.

Два типа воздействия антагониста SCH23390 на электрически вызванные мультиклеточные ответы наблюдались в 39 локациях слуховой коры, включая два примера, показанных на **рисунке 58**, без явных различий между внутримышечной и внутрикоровой инъекциями. Это было обнаружено, когда мы проанализировали мультиклеточную активность в 184 локациях в основном в гранулярном слое слуховой коры, в то время как электрическая стимуляция проводилась в 47 точках в дофаминергическом вентральном среднем мозге. Двадцать точек слуховой коры, в которых при нормальных условиях электростимуляцией были вызваны ответы, потеряли свои ответы после инъекции антагониста. Это наблюдалось как для локаций с возбуждательными ответами (7), так и для участков с тормозными ответами (13). Антагонист не подействовал на шесть точек слуховой коры, в которых при нормальных условиях электростимуляцией вызывались ответы. На еще 19 локациях в слуховой коре, мы наблюдали, что электрически вызванные ответы могли быть временно вызваны после введения антагониста. Большинство из них были тормозными ответами (13), меньшая часть - возбуждательными (6). В 22 мультиклеточных ансамблях слуховой коры, на которых мы тестировали физиологический раствор вместо SCH23390, не наблюдалось такого появления ответов. Временной интервал, в течение которого антагонист D1-рецептора SCH23390 был эффективен, был аналогичен таковому для ЭВП, то есть находился в диапазоне 5-60 мин после инъекции препарата. Это согласуется с предыдущими наблюдениями в префронтальной коре приматов (Sawaguchi T., Goldman-Rakic P.S., 1994). На многих точках изменение электрически вызванного ответа сопровождалось изменением спонтанной импульсации, в основном ее увеличением. Эти изменения могут также происходить в локациях, которые не отвечают на электрическую стимуляцию в любом состоянии.

Мы также смогли продемонстрировать аналогичные активации нейронов во вторичной соматосенсорной коре и верхней височной полисенсорной коре. Электрически вызванные ответы в этих частях сенсорной коры были аналогичны тем, которые ранее были описаны для префронтальной коры. Более того, эти фазические ответы могут быть обратимо изменены антагонистом дофаминового D1-рецептора SCH23390 в течение нескольких десятков минут. Более подробно методика и результаты этого исследования изложены в нашей статье в журнале *Brain, Structure and Function* (Mylius J. et al., 2015).

В результате проведенного исследования мы предполагаем, что дофаминергический вентральный средний мозг оказывает коротколатентное, фазическое влияние на сенсорную кору с использованием быстродействующих недофаминергических медиаторов и что их эффекты модулируются дофамином в более длительном масштабе времени. Наши результаты показывают, что некоторая информация, переносимая нейронными разрядами в

дофаминергическом вентральном среднем мозге, такая как мотивационная ценность или мотивационная значимость, передается в слуховую кору и другие части сенсорной коры. Таким образом, мезокортикальный путь может способствовать репрезентации неслуховых событий в слуховой коре и ее ассоциативным функциям.

3.3.4. Обсуждение результатов экспериментов по регистрации активности первичной слуховой коры на обезьянах.

В проведенной нами серии экспериментов по регистрации нейронов слуховой коры в разных поведенческих задачах с предъявлением звуковой стимуляции было показано, что повышенная нейронная активность связана с определенными этапами этих задач. Так в инструментальных задачах с разным значением одинаковых звуковых стимулов было получено, что пики активности нейронов слуховой коры наблюдаются на фронтах звуковых стимулов, в первую очередь тех, которые означали переход к следующему этапу задачи. Также повышенная активность сопровождает получение питьевого подкрепления и движения по манипулированию рычагом (см. также Brosh M. et al., 2005, 2011). Стоит отметить, что для всех зарегистрированных нейронов мы определяли до поведенческой задачи слуховые рецептивные поля при предъявлении в случайном порядке 100 мс тональных посылок разной частоты (см. Методика). Среди зарегистрированных в слуховой коре макак нейронов большинство имело выраженные частотные зоны максимальных ответов на стимуляцию и эти ответы по времени соответствовали всему периоду предъявления тона. Также были зарегистрированы нейроны, у которых наблюдалась активация на фронты предъявляемых тонов вне зависимости от частоты тона. Нейронов этого типа было существенно меньше в зарегистрированной выборке, чем клеток, активировавшихся на протяжении всего времени тона и на определенный узкий диапазон частот. Такое распределение нейронных ответов на тональную звуковую стимуляцию характерно для этой зоны регистрации у макак (Barbour D.L., Wang X., 2003, Wang X. et al., 2005). В связи с этим можно утверждать, что пики популяционной активности, соответствовавшие включению и выключению звуков, наблюдались в активности нейронов, имевших отчетливые рецептивные поля с узким диапазоном частот максимального ответа на тоновую стимуляцию при случайном предъявлении тонов. Это также не могут быть пики активности на включение тонов не оптимальных частот (Barbour D.L., Wang X., 2003, Wang X. et al., 2005), так как в поведенческих задачах мы предъявляли макакам тоны тех частот, которые у этой группы нейронов до начала поведенческих задач вызывали максимальные частоты активности. Также стоит отметить, что в рамках инструментальной задачи при

предъявлении тона на основном его интервале активность группы нейронов была не повышена (как в упомянутых выше работах Ванга с соавторами) а снижена по сравнению с уровнем, предшествовавшим подаче тона. Уровни активации на фронтах подачи звуков различались при разном поведенческом значении этих звуков в разных задачах. С позиций концепции системоспецифичности нейрона (В.Б. Швырков, 1995) такие результаты могут свидетельствовать о специализации зарегистрированных нейронов слуховой коры относительно поведенческих взаимодействий со средой, имевших место в филогенезе или раннем онтогенезе животного. А изменения активности, связанные с разными этапами и составляющими инструментального поведения – вовлечением соответствующих элементов раннего индивидуального опыта в исполнение выученной макакой поведенческой задачи. И закономерности этого вовлечения демонстрируют те отношения, которые в процессе обучения сложились между специфическими для этих нейронов элементами опыта и системами реализации этапов экспериментальной задачи. Как видно из результатов наших экспериментов, вовлечение нейронов разных структур коры происходит в связи с этапами поведенческой задачи, однако, характер и специфичность этого вовлечения различаются для нейронов, специализированных относительно элементов раннего онтогенетического опыта (в первичных корковых зонах анализаторов) и нейронов, специализированных относительно отдельных актов поведенческой задачи, формируемых у взрослого животного (в ассоциативных зонах коры больших полушарий).

Отдельно хотелось бы отметить проявления субъективного содержания поведения в организации активности нейронов слуховой коры при разных фазных соотношениях двух стимульных потоков. Эти результаты показывают, на наш взгляд, что именно временная организация нейронной активности определяет, восприятие стимульных потоков, как одного или двух разных потоков. Также в качестве примера отражения субъективного содержания в нейронной активности при прослушивании набора звуковых стимулов и одновременно примера активности, сформированной при обучении макаки в экспериментальной ситуации, хотелось бы привести пример одного нейрона, зарегистрированного у обезьяны Ч. Это был старый самец, участвовавший до нашего эксперимента в большом количестве других, близких по тематике экспериментов с разным значением сходных тональных звуков. Среди зарегистрированных нейронов у этого животного был один совершенно нетипичный нейрон. При предъявлении в случайном порядке набора тестовых 100 мс тонов этот нейрон активировался на все тона и на протяжении всех 100 мс. Как было упомянуто выше для нейронов этой структуры характерно либо наличие частотно-селективного ответа длительностью все время предъявления тона, либо наличие спайков на включение и/или выключение тона любой частоты. А этот нейрон активировался на все время предъявления

любого тона и после увеличения времени предъявления тонов до 200 и 500 мс. Такой исключительный нейрон (у других животных таких нейронов зарегистрировано не было) на наш взгляд показывает, что в результате участия во множестве экспериментов данный макак сформировал категорию «экспериментальный звук», и нейрон активировался всегда, когда макак слышал звук такого типа. Этот случай свидетельствует о том, что и в первичных сенсорных областях коры можно сформировать нейроны, специализированные относительно индивидуально значимых понятий, но доля таких нейронов будет крайне мала. Меньше, чем в упомянутых выше работах (в части 4.2д) с регистрацией нейронов у человека или в лимбических структурах грызунов.

Отмеченная связь активности нейронов слуховой коры с отдельными параметрами и исполнением поведенческой задачи, а также с субъективным содержанием звукового восприятия на наш взгляд отражает включенность их активности в целостные функциональные системы поведенческого взаимодействия индивида со средой. В связи с этим можно предположить, что в популяционной активности нейронов слуховой коры в поведении можно будет выделить факторы субъективного взаимодействия со средой, такие как валентность конкретного поведенческого акта, его включенность в конкретную последовательность актов и др., аналогично продемонстрированным для популяции нейронов лимбических областей (McKenzie S. et al., 2014, 2016).

3.4. Результаты экспериментов по формированию долговременной потенциации синапсов субкуло-цингулярного тракта.

3.4.1. Возможность формирования истинно долговременной моносинаптической потенциации вызванных электростимуляцией ВП на синапсах субкуло-цингулярного тракта у взрослых крыс.

Следующая часть работы была посвящена выяснению возможных синаптических механизмов формирования нейронных специализаций относительно поведенческих актов. Для этого было проведено исследование возможности и закономерностей формирования долговременной потенциации глутаматовых синапсов на нейронах ретроспленальной коры крыс в условиях свободного поведения, в которых и происходит научение новому опыту поведения. В первой серии экспериментов, проведенной на 32 крысах при свободном поведении, были зарегистрированы вызванные потенциалы (ВП) в цингулярной коре на стимуляцию СЦТ до и после тетанического раздражения этого тракта. Форма ВП на тестовую стимуляцию представлена на **рисунке 59** и была аналогичной ранее

зарегистрированной в работах Т. Хедберга и П. Стэнтонна (1995) в экспериментах *in vivo* и *in vitro* в глубоких слоях цингулярной коры. В результате тетанизации ответ в виде крутизны переднего фронта ВП возрастал, что показано на том же рисунке.

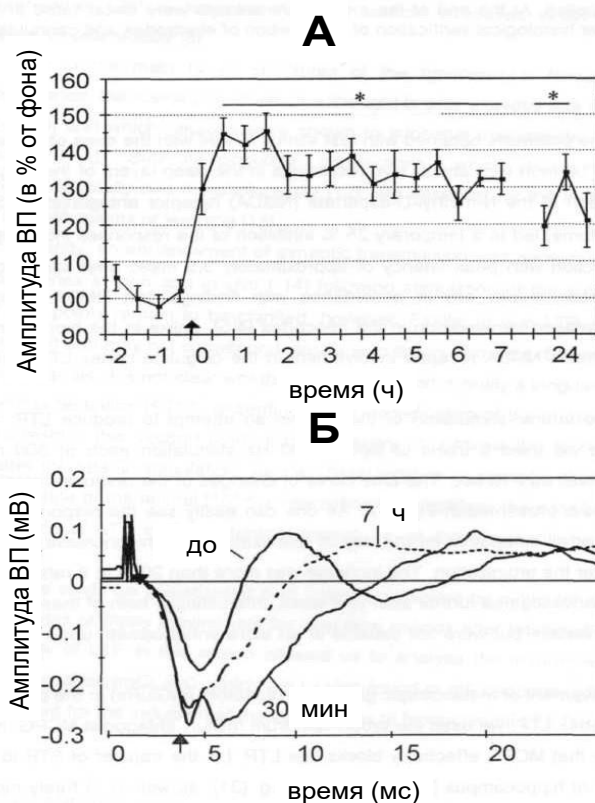


Рисунок 59. А. Динамика протекания долговременной потенциации после тетанического раздражения волокон субикуло-цингулярного тракта. Момент нанесения тетанического раздражения показан стрелкой. Все значения даны как среднее \pm стандартное отклонение. Различие между фоновыми и посттетаническими значениями проверялось по критерию Вилкоксона (* - $P < 0.01$). Период статистически достоверного превышения фоновых значений показан горизонтальной чертой над графиком. Б. Формы вызванных потенциалов на тестовую стимуляцию в разные моменты времени по отношению к моменту нанесения тетанического раздражения. Каждая кривая является усредненной по 9 кривым ответов в одном блоке тестовой стимуляции. Нулю соответствует момент начала электростимуляции. Амплитуда бралась как разница значений между двумя моментами обозначенными стрелками.

На этом рисунке представлены типичные формы ВП в ответ на тестовую стимуляцию субикуло-цингулярного тракта. Исходный ВП на тестовую стимуляцию характеризовался двухфазной формой с пиком первого негативного компонента в районе 5 мс и пиком позитивного отклонения в области 9-10 мс. После тетанического раздражения амплитуда

первого компонента возрастала и латентный период его пика сокращался. На рисунке видно, что после тетануса пик первого компонента приходится на 4 мс. Также видно, что негативный компонент становился шире и выход на пик позитивности сдвигался до 12-19 мс. Через 30 мин после тетануса, на пике кратковременной потенциации видно разделение негативного компонента на два, что проявляется в наличие двух пиков – на 4-й и 6-й мс. В то же время полное совпадение передних фронтов ВП через 30 мин и 7 часов показывает стабильность крутизны нарастания первичного компонента ВП после его роста в результате тетанической стимуляции. Динамика амплитуды пика первого негативного компонента ВП представлена на части А этого рисунка для группы из 12 животных. Видно, что повышенная амплитуда ВП регистрировалась в течение 7 часов первого дня после тетануса и через 24 часа после индукции потенциации. Более поздние компоненты были более вариабельными, их потенция наблюдалась только у части крыс и длилась также по-разному. Увеличение ответа превышало 20% у 9 крыс из 12. Двум из этих крыс через неделю после первой тетанической стимуляции было нанесено повторное тетаническое раздражение субикуло-цингулярного тракта. Несмотря на то, что эти крысы имели в фоне сохранившийся повышенным на 15-20% ответ на тестовую стимуляцию, повторная тетанизация привела к дополнительному долговременному повышению амплитуды ответа.

Как видно из рисунка, первый негативный компонент ВП содержит две составляющих, что проявляется в двойном пике через 30 мин после потенциации. Только первая составляющая является моносинаптической, т.к. следовала частоте стимуляции в 100 Гц, и отражает функционирование глутаматовых синапсов субикуло-цингулярного тракта. Поэтому более точно изменение синаптической передачи отражается не в амплитуде пика, а в крутизне нарастания переднего фронта ВП. Динамика крутизны нарастания ответов на тестовую стимуляцию представлена на следующем рисунке (рисунк 60).

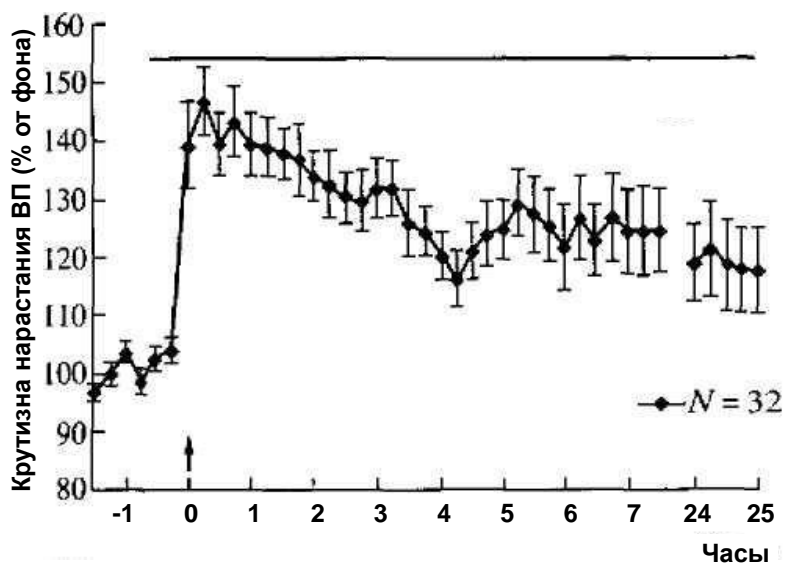


Рисунок 60. Долговременная потенциация ВП в цингулярной коре после тетанического раздражения субикуло-цингулярного тракта. По оси ординат - крутизна нарастания ВП в процентах к исходному уровню, по оси абсцисс - время, ч. Время, на котором ВП после тетанизации отличалось достоверно по t-критерию ($p < 0.05$) от исходного уровня, отмечено чертой. Момент нанесения тетанического раздражения отмечен стрелкой. Число крыс обозначено, как N .

У свободно подвижных крыс нами была обнаружена потенциация глутаматовых синапсов, которая длилась более 24 ч (**рисунок 60**), и поэтому может считаться истинной долговременной потенциацией, проходящей в своем развитии все известные на данный момент фазы (Reumann K.G., Staak S., 1994). Повышение крутизны нарастания ВП в пике достигало 40-50% и сохранялось на следующий день на уровне 20-30%. Стоит отметить наличие локального минимума около 4 часов после тетанизации. Этот момент по данным литературы соответствует смене 2-й и 3-й фаз долговременной потенциации, когда в этом процессе включается синтез белков (Reumann K.G., Staak S., 1994, Izquierdo I., 1993). На этом рисунке представлена динамика амплитуды первого компонента ВП, который имел латентный период около 3 мс и при тетанической стимуляции следовал частоте 100 Гц, что является признанным критерием моносинаптической данного ответа. Таким образом, зарегистрированная в наших экспериментах долговременная потенциация в цингулярной коре является моносинаптической.

3.4.2. Эффекты аппликации блокаторов разных типов глутаматовых рецепторов на вызываемые электростимуляцией ВП и протекание долговременной потенциации в цингулярной коре крыс.

У 29 других крыс были зарегистрированы эффекты внутрижелудочкового введения блокаторов разных рецепторов глутаматных синапсов. Инъекции блокаторов NMDA-рецепторов (AP-5) привели к достоверному (значение критерия; $p < 0.05$ по критерию Вилкоксона) снижению амплитуды ответов на тестовые стимулы (около 20%) через 15 - 30 мин после аппликации, в то время как инъекция блокатора AMPA-рецепторов (CNQX) практически не повлияла на такие ответы (**рисунок 61**).

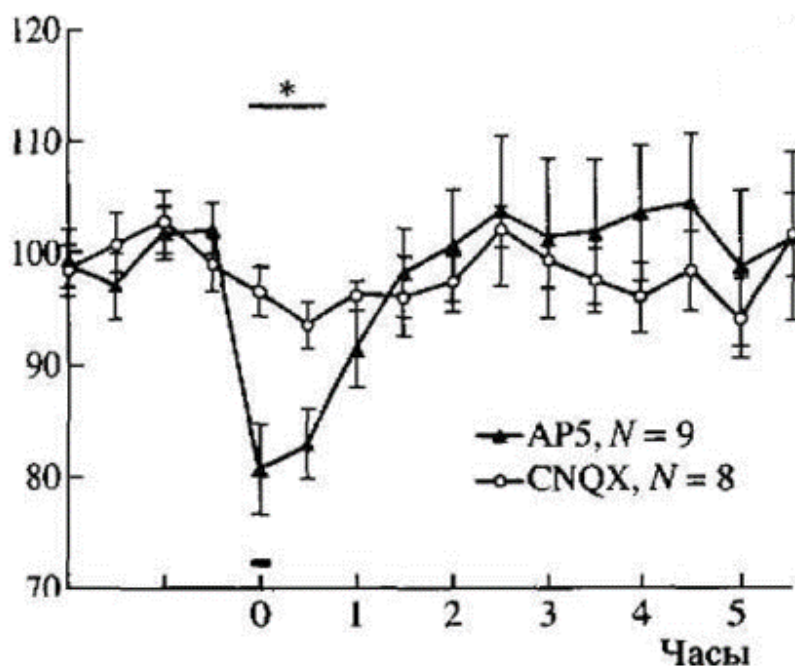


Рисунок 61. Влияние аппликации блокаторов глутаматовых рецепторов на ВП на тестовые раздражения. Интервал, на котором крутизна нарастания ВП после аппликации AP5 была достоверно меньше исходного уровня и ВП после аппликации CNQX, отмечен чертой и звездочкой (сравнение по критерию Вилкоксона при $p < 0.05$). Время аппликации блокаторов отмечено чертой над шкалой абсцисс. По оси ординат — крутизна нарастания ВП в процентах к исходному уровню, по оси абсцисс - время, ч. Число крыс обозначено, как N .

Эффект был одинаково выражен как для крутизны нарастания раннего компонента ВП с латентностью пика 3.5 мс, так и для амплитуды пика позднего компонента с латентностью пика 7 мс. Эти результаты соответствуют данным об участии NMDA-рецепторов в обеспечении синаптической передачи в неокортексе (Aroniadou V., Teyler T., 1991, Artola A., Singer W., 1990). Учитывая крайне незначительный вклад NMDA-рецепторов в обычную синаптическую передачу в гиппокампе (около 5% ВП), наши данные свидетельствуют о различии роли AMPA- и NMDA-рецепторов в функционировании глутаматовых синапсов в структурах новой коры по сравнению с гиппокампом. В связи с таким характером влияния на тестовые ответы, мы не предприняли тетанизации волокон СЦТ под действием блокатора AP-5 для исследования влияния блокады NMDA-рецепторов на индукцию долговременной потенциации. Впоследствии другие авторы несмотря на такое же изменение амплитуды ответа в результате аппликации AP-5 провели тетанизацию волокон субикуло-цингулярного тракта с параметрами близкими к использовавшимся нами (Hedberg T.G., Stanton P.K., 1996). Они зарегистрировали блокаду индукции долговременной потенциации на фоне действия блокатора NMDA-рецепторов.

Для проверки вовлечения метаботропных глутаматовых рецепторов (mGluRs) в процессы, обеспечивающие долговременную потенциацию в цингулярной коре, мы использовали антагонист метаботропных рецепторов широкого спектра MCPG. Ранее было показано, что этот блокатор успешно предотвращает разворачивание поздних фаз долговременной потенциации, т.е. переход от кратковременной потенциации к долговременной на срезах гиппокампа (Bashir Z.I. et al., 1993, Riedel G., Reymann K.G., 1996), а также на свободно подвижных животных (Riedel G., Reymann K.G., 1996, Riedel G. et al., 1995, Manahan-Vaughan D., Reymann K.G., 1997). Апликация блокатора метаботропных рецепторов MCPG не влияла на амплитуду ответов на тестовую стимуляцию, и у шести крыс на фоне действия этого блокатора (через 15 мин после апликации) была проведена тетанизация субикуло-цингулярного тракта с параметрами, приводившими к долговременной потенциации у контрольных животных. У пяти из шести крыс тетаническая стимуляция привела к долговременной потенциации ответов, которая продолжалась не менее 7 часов. Динамика амплитуды негативного компонента ВП в экспериментах с индукцией долговременной потенциации на фоне действия блокатора метаботропных глутаматовых рецепторов представлена на следующем **рисунке 62**.

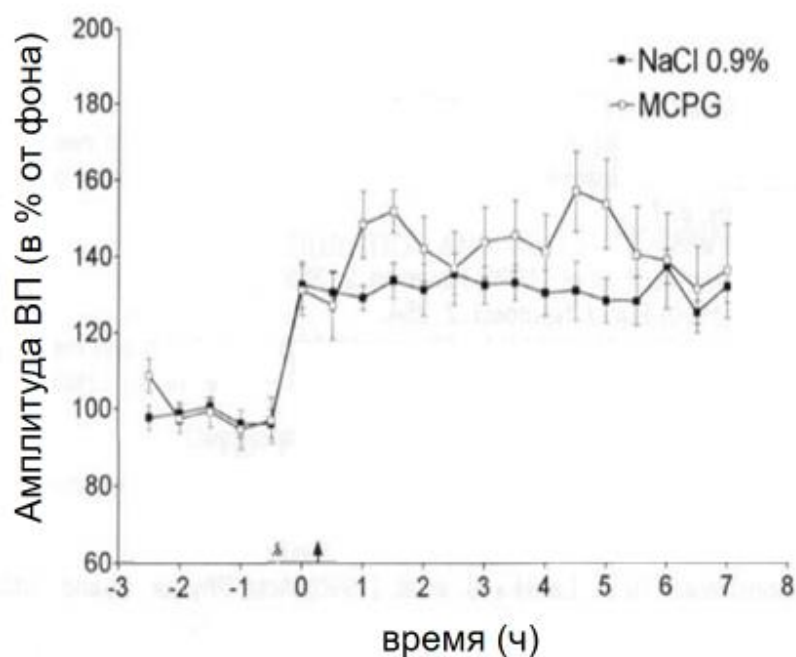


Рисунок 62. Действие (R,S)- α -метил-4-карбоксифенилглицина (MCPG) на протекание долговременной потенциации в цингулярной коре. Стрелками отмечены момент инъекции блокатора (серая стрелка) и начало тетанизации (черная).

Различия между контрольной группой (N=6) и группой крыс, тетанизовавшихся на фоне действия блокатора метаботропных рецепторов в большинстве точек после тетанизации недостоверны. В нескольких точках амплитуда ВП на фоне действия блокатора была даже достоверно выше значений контрольной группы. Отсутствие блокады поздних фаз долговременной потенциации вряд ли связано с тем, что блокатор MCPG не достиг клеток-мишеней, т.к. технически точно такая же аппликация блокатора NMDA-рецепторов на тех же животных вызывала очень выраженный эффект. Эти данные свидетельствуют о том, что блокада метаботропных рецепторов с помощью MCPG не предотвращает индукции долговременной потенциации и разворачивания всех ее фаз. Этого результат может означать, что в данных экспериментальных условиях метаботропные глутаматовые рецепторы классов 1 и 2 не требуются для долговременной потенциации в цингулярной коре крысы, в отличие от результатов, полученных на гиппокампе в поле CA1 и зубчатой фасции (Riedel G. et al., 1995, Manahan-Vaughan D., Reumann K.G., 1996) на свободно подвижных животных. В цингулярной коре для индукции долговременной потенциации видимо достаточно активации NMDA и/или потенциалзависимых кальциевых каналов. В то же время нельзя исключить, что метаботропные глутаматовые рецепторы могут быть важны для индукции долговременной потенциации при других параметрах тетанизации.

Обнаружение долговременной потенциации синапсов трактов, связывающих гиппокамп со структурами новой коры, представляется нам важным с точки зрения возможной роли изменения синаптической эффективности в формировании долговременной памяти. Показанная в этой работе потенция ВП в течение суток свидетельствует о включении механизмов белкового синтеза, которые могут приводить к длительным изменениям функционирования клетки. Кроме того, следует особо отметить, что продемонстрированная нами ДП была зарегистрирована у бодрствующих, свободно подвижных животных и без применения блокаторов тормозных цепей. Это представляется важным, так как именно в этих условиях и наблюдается обучение животного решению поведенческих задач. В связи с тем, что особая роль структур новой коры в хранении долговременной памяти широко признана (Squire L.R., 1987), демонстрация возможности формирования ДП в этих структурах может рассматриваться в качестве косвенного подтверждения участия процессов порогового изменения синаптической эффективности в формировании памяти.

В работе Т. Хедберга и П. Стэнтонна (Hedberg T.G., Stanton P.K., 1996) с применением блокаторов разных типов глутаматовых рецепторов были исследованы те же синапсы, что и в настоящей работе, однако в их опытах - на препаратах *in vitro*, что не позволяет исследовать поздние фазы ДП, запускающиеся через несколько часов после тетанического

раздражения. В отличие от данных (Riedel G. et al., 1995), продемонстрировавших необходимость активации метаботропных рецепторов для потенциации моносинаптического компонента ВП, в нашем исследовании применение блокатора этих рецепторов не повлияло на развитие ДП. Это различие может быть связано с различием примененных активных веществ. В настоящей работе применялся блокатор MCPG, в то время как у Т. Хэдберга и П. Стэнтона - менее специфичный DL-2-amino-3-phosphonopropionic acid (DL-AP3). Эффективность MCPG как специфического блокатора поздних стадий ДП была показана для нейронов гиппокампа (Manahan-Vaughan D., Reymann K.G., 1996). В то же время есть данные об особенностях эффектов MCPG на гиппокампальные синапсы (Selig D.K. et al., 1995), в том числе и о разном влиянии блокады этим веществом рецепторов на протекание потенциации после слабого и сильного тетанического раздражения гиппокампа (Wilsh V.W. et al., 1998). Такое различие эффектов может быть связано с разной ролью в поддержании ДП разных подтипов метаботропных рецепторов, которые по-разному блокируются указанными блокаторами, а также условиями тетанизации.

Внутрижелудочковое введение блокаторов AMPA-рецепторов в нашей работе не приводило к заметному изменению ответов на тестовые стимулы. Такой неожиданный результат может быть связан как с плохой диффузией вещества к исследовавшимся синапсам, так и с низкой концентрацией AMPA-рецепторов в синапсах СЦТ. Повышать концентрацию мы не стали из-за опасения очень тяжелых последствий для исследовавшихся животных, так как даже в нашем случае стартовая концентрация вещества во внутрицеребральной жидкости сильно превосходила достаточную для блокады глутаматовых синапсов гиппокампа *in vitro*. Особо стоит отметить обнаруженное в нашей работе сильное влияние блокады NMDA-рецепторов на ВП на тестовые стимулы, превзошедшее эффект аппликации блокатора AMPA-рецепторов, которые, как известно, обеспечивают на клетках гиппокампа до 95% амплитуды ВП на тестовую стимуляцию (Izquierdo I., 1993). Т. Хэдберг и П. Стэнтон, проводя тетанизацию на фоне аппликации AP5, показали блокаду индукции ДП на срезах мозга. В приведенных ими иллюстрациях также можно заметить некоторое снижение ответа на тестовую стимуляцию после аппликации этого блокатора до нанесения тетанического раздражения. На наш взгляд, факт повышенной чувствительности синапсов нейронов цингулярной коры к блокаде NMDA-рецепторов может быть связан с их особой ролью в формировании долговременной памяти. В литературе описаны так называемые молчащие синапсы, характеризующиеся наличием только потенциалзависимых NMDA-рецепторов и отсутствием AMPA-рецепторов (Petralia R.S. et al., 1999). Как отмечается авторами, таких синапсов много на ранних стадиях онтогенеза, по мере развития в этих синапсах происходит встраивание AMPA-рецепторов. По данным других авторов (Isaak J.T. et al., 1997), процессы, сходные с долговременной потенциацией,

играют решающую роль в переходе молчащих синапсов в функционирующие в раннем постнатальном онтогенезе крыс. Можно предположить, что на функциональном уровне этому соответствует процесс специализации нейронов соответствующих структур, имеющий место как при формировании поведения на протяжении раннего развития, так и у взрослых индивидов при обучении.

3.4.3. Вызванная спайковая активность цингулярных нейронов при электростимуляции субикуло-цингулярного тракта.

Эксперименты с регистрацией нейронной активности в цингулярной коре при раздражении СЦТ были проведены на 18 крысах. Морфологический контроль показал, что стимулирующие электроды локализовались в области субикулюма, а регистрирующие - в цингулярной коре. У четырех крыс в процессе операции ответы нейронов на стимуляцию СЦТ вводились в компьютер. Под наркозом при нахождении стимулирующего электрода в области субикулюма в ответ на тестовую стимуляцию 100-200 мкА были зарегистрированы вызванные спайковые ответы клеток с латентными периодами около 3 и около 10 мс (**рисунок 63**).

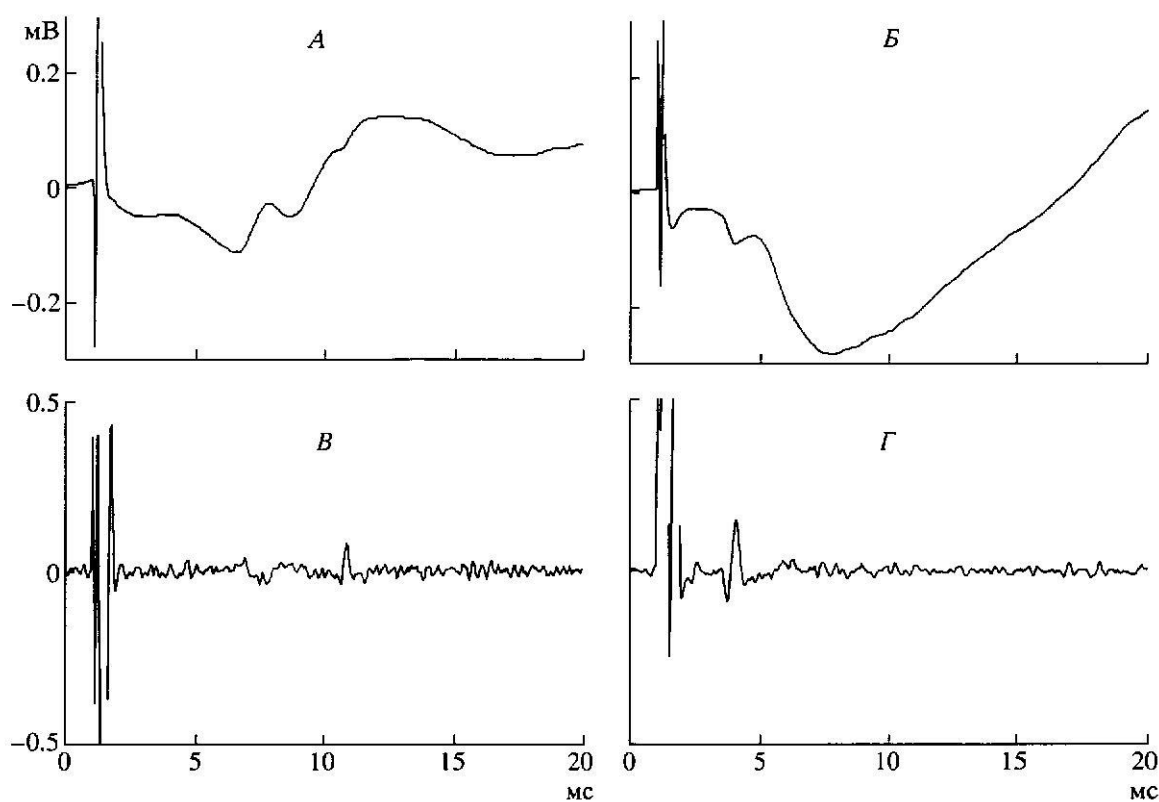


Рисунок 63. Ответы в цингулярной коре на электростимуляцию субикуло-цингулярного тракта под нембуталовым наркозом. *A, B* - ВП и нейронограмма на стимуляцию СЦТ током 400 мкА у крысы № 29, *В, Г*- у крысы № 37. Момент

электростимуляции соответствует значению 1 мс на оси абсцисс. Каждая из представленных кривых получена путем усреднения ответов на девять последовательных стимуляций.

Такие ответы после достижения определенной интенсивности стимуляции (как правило, 150-200 мкА) могли наблюдаться со 100%-ной вероятностью, и на **рисунке 63** представлены ответы, усредненные по девяти реализациям. Кроме того, что спайки появлялись с высокой вероятностью, они также характеризовались постоянством латентного периода, что и позволило суммировать одиночные реализации. При повышении амплитуды стимуляции выше пороговой коротколатентные ответы сохранялись при всех использовавшихся интенсивностях электрического раздражения (до 600 мкА), в то же время длиннолатентные ответы в ряде случаев пропадали, что, на наш взгляд, связано с активацией при электростимуляции тормозных цепей.

У тех же и остальных 14 крыс после восстановительного периода были зарегистрированы мультиклеточные ответы на стимуляцию СЦТ при свободном поведении. Была зарегистрирована активность 45 ансамблей нейронов. Средняя частота импульсации ансамбля оказалась 21.6 спайка в 1 с. С учетом того, что в ансамбле удавалось выделить от 6 до 8 нейронов, средняя частота разрядов зарегистрированных клеток цингулярной коры оказалась около 3 спайков в 1 с. Стимуляция СЦТ вызывала у разных крыс либо усиление, либо торможение спайковой активности, либо достоверные изменения в импульсации отсутствовали. Коротколатентные (по времени соответствующие потенцировавшемуся моносинаптическому компоненту ВП) вызванные спайки были зарегистрированы только у двух крыс в шести точках регистрации. На **рисунке 64, А** приведены перистимульная гистограмма мульти-клеточных ответов у крысы № 36 при стимуляции СЦТ парами биполярных импульсов тока интенсивностью 400 мкА.

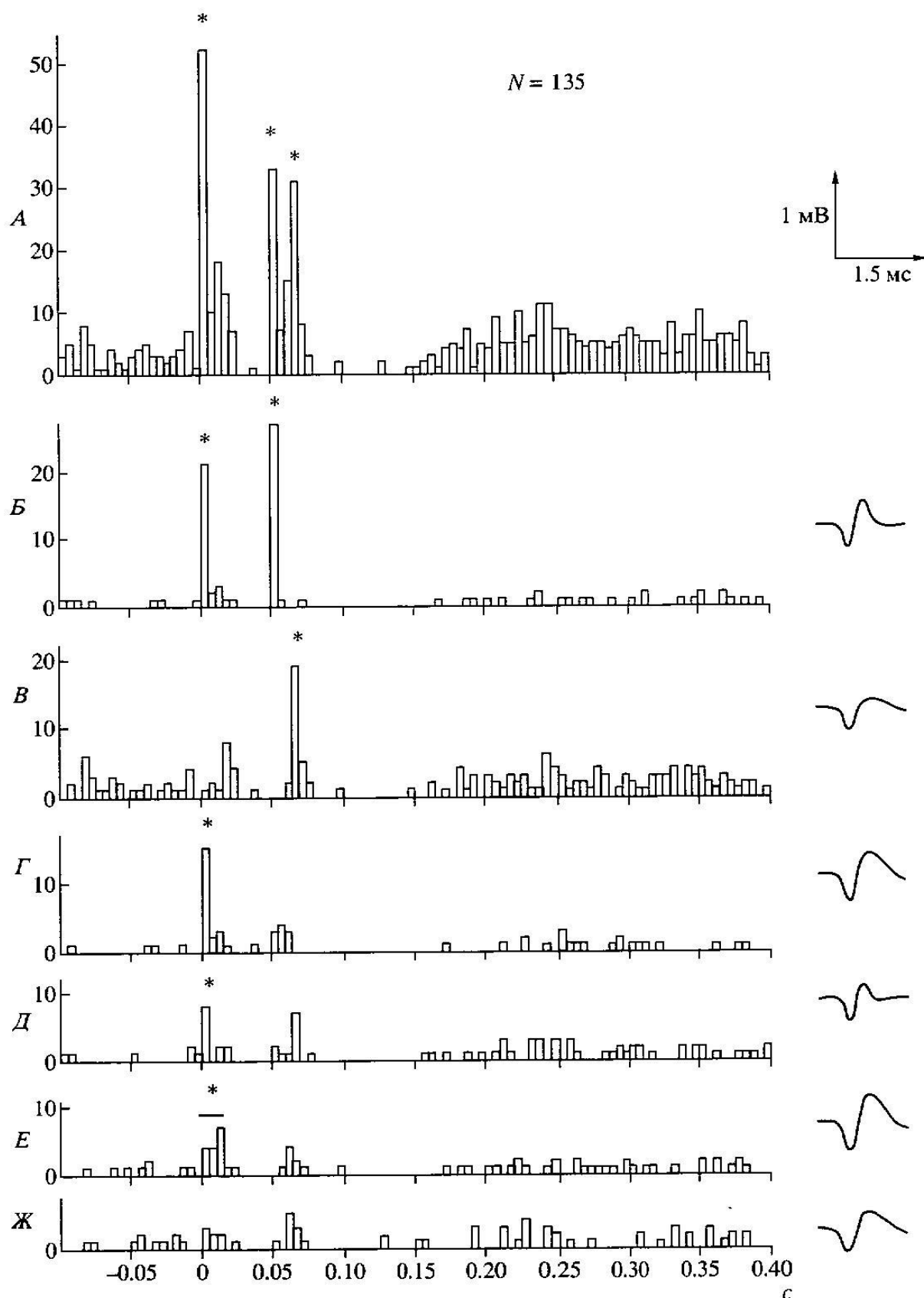


Рисунок 64. Перистимульные гистограммы активности отдельных нейронов при парной стимуляции субикуло-цингулярного тракта. А - гистограмма импульсной активности ансамбля нейронов цингулярной коры крысы № 36 при стимуляции СЦТ током

400 мкА. *Б-Ж* — гистограммы импульсной активности отдельных нейронов, выделенных из этого ансамбля. Справа от гистограмм даны усредненные формы спайка соответствующего нейрона. По оси ординат - число спайков за время регистрации, по оси абсцисс - время, с. Калибровка формы спайков дана справа от гистограммы активности ансамбля. Моментам электростимуляции соответствуют значения 0 и 0.05 с на оси абсцисс. Каналы гистограммы, достоверно отличающиеся от фона, помечены звездочками (критерий χ^2 , $p < 0,05$). Число предъявленных пар стимулов обозначено как *N*.

Оба стимула в паре вызывали спайки с латентностью около 3 мс, попавшие в первый канал гистограммы, что позволяет рассматривать их как моносинаптически вызванные спайки (см. выше). Однако вероятность появления спайка была менее 50% суммарно для спайков всех клеток, одновременно регистрируемых электродом (с помощью программы "Spike-2" было выделено из этого импульсного потока 6 разных нейронов). Все одиночные нейроны, входившие в регистрируемый электродом ансамбль, активировались в ответ на стимуляцию, однако коротколатентные спайки (активность в первом канале гистограммы после первого стимула была достоверно выше фоновой - критерий χ^2 , $p < 0.05$) были зарегистрированы у 3 клеток, пик активности остальных клеток наблюдался позже (в области третьего канала - 10-15 мс). При этом вероятность спайкового ответа конкретной клетки на достаточно сильную (400 мкА) стимуляцию варьировала от 3 до 27%. Результаты определения зависимости спайкового ответа у этой крысы от тока стимуляции представлены на **рисунке 65**, А-Г.

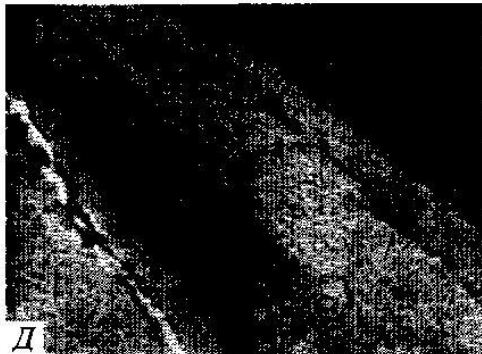
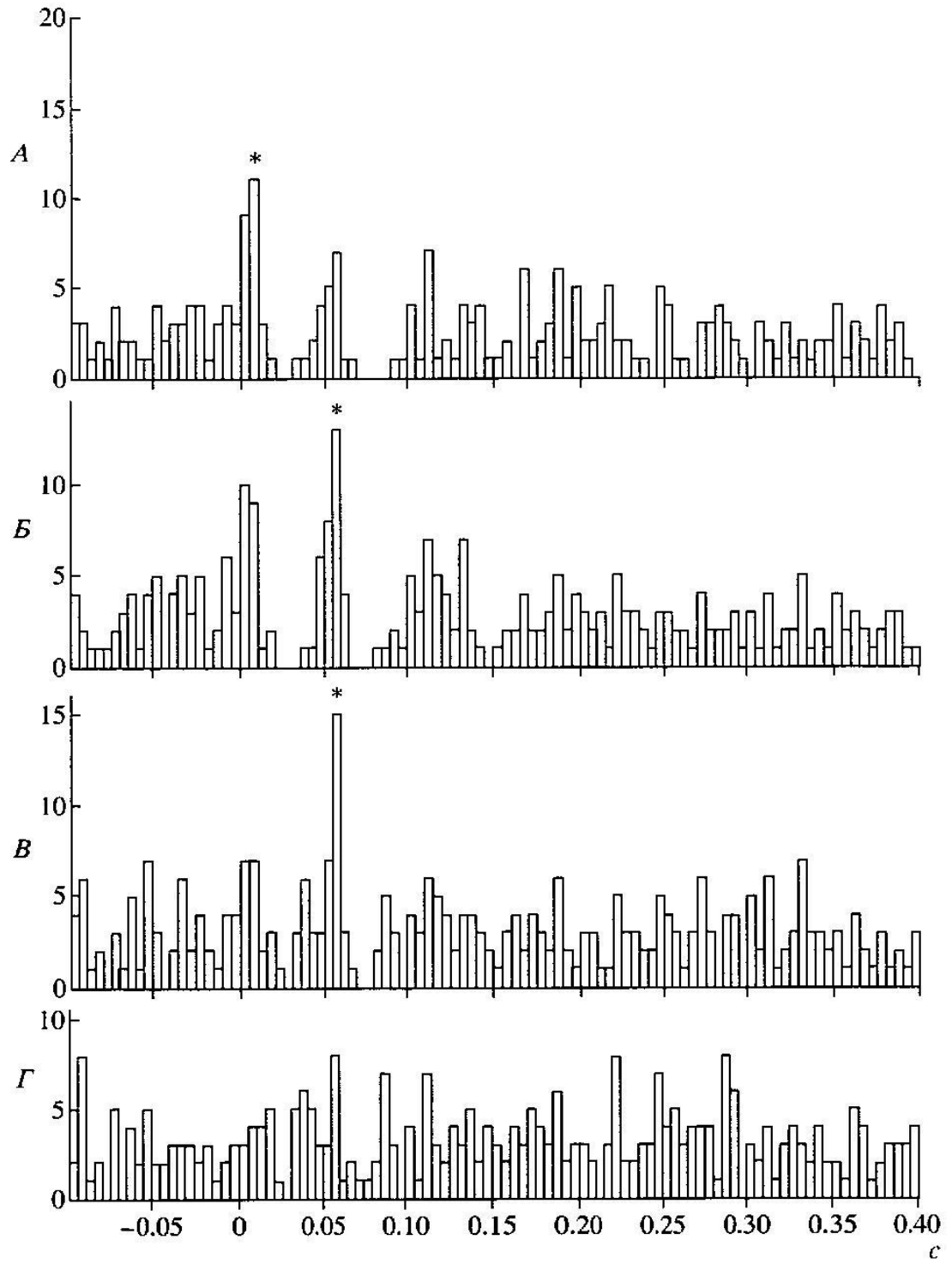


Рисунок 65. Зависимость вызванной спайковой активности ансамбля нейронов цингулярной коры крысы № 36 от силы электростимуляции СЦТ. *А* - гистограмма активности при силе тока 100-200 мкА. *Б* - гистограмма активности при силе тока 200-300 мкА. *В* - гистограмма активности при силе тока 300-400 мкА. *Г* - гистограмма активности при силе тока 400-600 мкА. По оси ординат - число спайков, по оси абсцисс — время, с. Моментам стимуляции соответствуют значения 0 и 0.05 на оси абсцисс; звездочкой помечены каналы с активностью, достоверно превосходящей активность перед стимуляцией (критерий X^2 , $P < 0.05$). *Д-Е* - микрофотографии срезов мозга крысы № 36 в области расположения кончика стимулирующего электрода (*Д*) и регистрирующего микроэлектрода (*Е*). Расположению кончиков электродов соответствует нижний край темного пятна соответственно в субикулюме и глубоких слоях цингулярной коры. Реальные следы электродов на фотографиях дополнительно контрастированы.

Из рисунка видно, что с повышением тока стимуляции вероятность появления спайка после стимула повышается. Однако это повышение не носит монотонного характера, а скорее характеризуется наличием некоторого порога, после которого появляется выраженный спайковый ответ. Кроме того, наблюдается изменение соотношения амплитуды ответа на первый стимул и амплитуды ответа на второй в паре. Так, при низких интенсивностях стимуляции ответ на первый стимул достоверно выше ответа на второй, а при высоких интенсивностях это соотношение меняется на обратное. На этом же рисунке (*Д-Е*) приведены микрофотографии окрашенных срезов мозга крысы № 36, на которых видна локализация кончиков электродов.

У четырех других крыс в семи точках регистрации были зафиксированы длиннолатентные (в интервале от 7 до 50 мс) вызванные активационные ответы. При стимуляции токами разной интенсивности максимум спайкового ответа у разных животных наблюдался при средних интенсивностях стимуляции (от 150 до 300 мкА). Дальнейшее увеличение тока стимуляции приводило к подавлению спайкового ответа. Пример длиннолатентной активации нейронного ансамбля приведен на **рисунок 66А**.

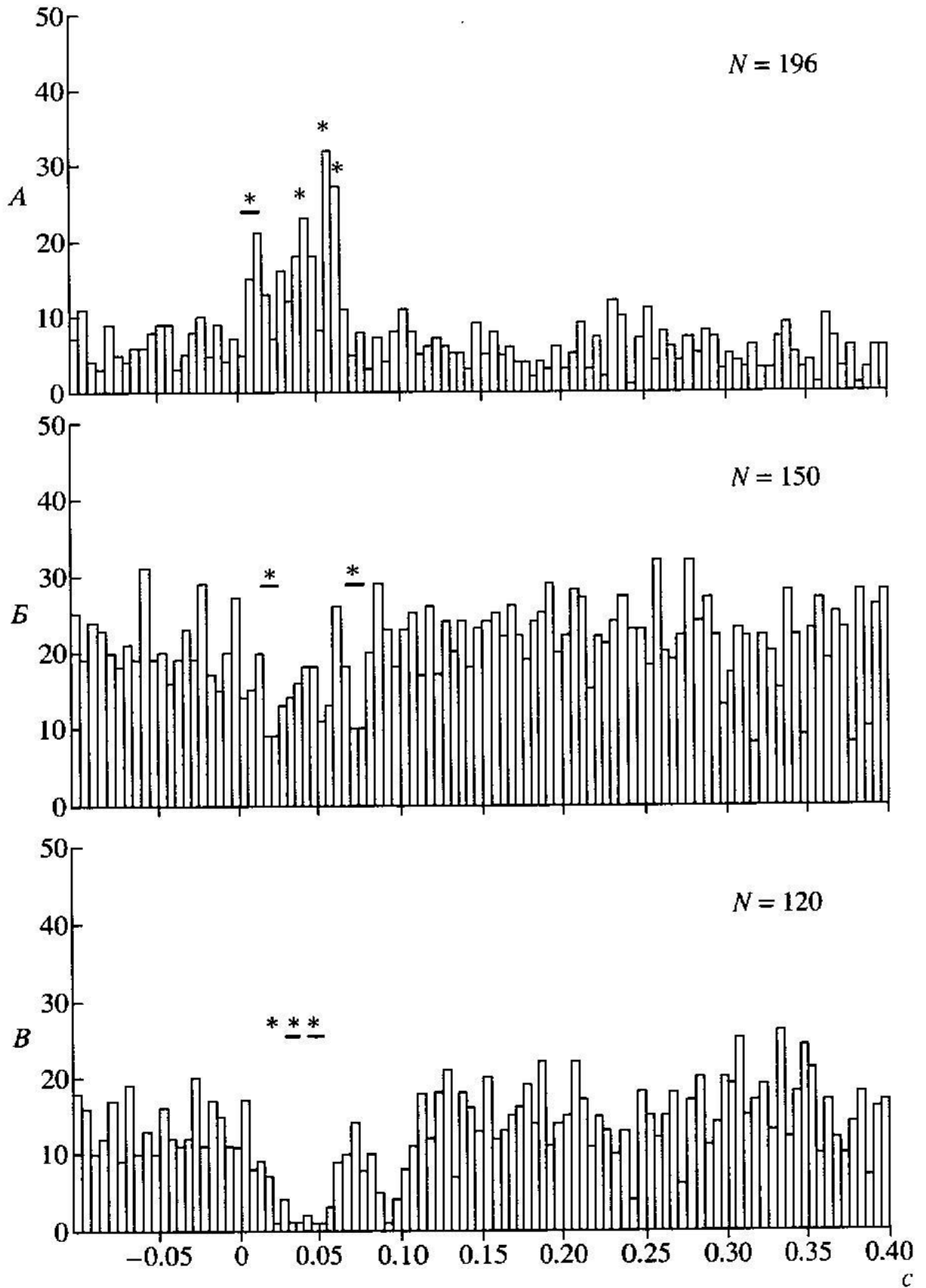


Рисунок 66. Поздние спайковые ответы на электростимуляцию СЦТ в цингулярной коре крыс. *A* - гистограмма активности ансамбля у крысы №55. *Б-Б* - тормозные паузы в гистограммах импульсации ансамблей у крыс № 37 и 40. По оси ординат - число спайков, по

оси абсцисс - время, с. Чертами и звездочками отмечены интервалы, на которых активность достоверно отличалась от фоновой по критерию χ^2 , $p < 0.05$. Число предъявленных пар стимулов обозначено как N .

Также у четырех крыс были выявлены тормозные ответы на стимуляцию СЦТ в восьми точках регистрации. На **рисунок 66**, Б-В приведены примеры отчетливого тормозного длиннолатентного изменения импульсации после стимуляции СЦТ.

Полученные в настоящей работе результаты являются существенным шагом на пути к прямому сопоставлению протекания процессов специализации нейронов в обучении с изменением эффективности синапсов у тех же клеток при индукции ДП. Они показали, что в структуре, нейроны которой специализируются при инструментальном обучении относительно формируемых поведенческих актов (Александров Ю.И. и др., 1997, Горкин А.Г., 1987), можно стабильно получать при свободном поведении долговременную потенциацию при электрической стимуляции выходной структуры гиппокампальной формации. Это предполагает возможность участия одних и тех же синаптических механизмов как в процессах модификации гиппокампальных клеток, связываемых в литературе с формированием среднесрочной памяти, так и в перестройках корковых нейронов, которые соотносятся с образованием "истинно долговременной памяти" (Squire L.R., 1987).

С методической точки зрения представляется также очень важным, что возбудительные спайковые ответы при стимуляции субикуло-цингулярного тракта имеют низкую вероятность, так как это практически исключает наложение спайков соседних нейронов, регистрируемых одним хроническим микроэлектродом, что позволяет идентифицировать все спайки в ответ на стимуляцию с использованием стандартных методов выделения спайков конкретного нейрона по форме и амплитуде, например с помощью программы "Spike-2".

Попытка прямого сопоставления спайковых ответов нейронов гиппокампа с формированием в том же отделе гиппокампа ДП показала, что многие нейроны не только не повышали импульсацию на тестовое раздражение после тетанизации, но и снижали ее на фоне отчетливой ДП по обычным электрофизиологическим показателям (Uzwiak A., Black I., 1999). Разнообразие спайковых ответов ансамблей нейронов цингулярной коры на стимуляцию СЦТ, обнаруженное в наших исследованиях, может быть связано с особенностями морфологии этого тракта и расположением синапсов на нейронах (Vogt B., 1985). Для этого тракта характерна топографическая проекция, при которой определенный локус субикулюма проецируется на конкретный локус цингулярной коры. В сочетании с развитым в корковых структурах латеральным торможением это может объяснить большое число тормозных ответов, зарегистрированных нами, а также то, что

коротколатентные возбудительные ответы были зарегистрированы только у двух крыс. С учетом того, что синапсы этого тракта расположены на апикальных дендритах пирамид цингулярной коры и оказывают, по выражению Т. Хэдберга и П. Стэнтон (Hedberg T.G., Stanton P.K., 1995), лишь "модулирующее влияние" на их активность (в отличие, например, от "ведущего влияния" транскаллозальных связей), вероятность точного попадания в проекцию стимулируемой группы волокон очень невысока, что и объясняет такое малое число животных, у которых мы смогли зарегистрировать коротколатентные ответы. В этом смысле очень полезно использовать регистрацию ответов на компьютере в процессе операции по взаимному выставлению микроэлектродов, к которой мы, к сожалению, прибегли только в опытах на последних крысах.

Резюмируя рассмотрение данных, отметим основное: а) нами зарегистрированы коротколатентные ответы нейронов цингулярной коры на стимуляцию СЦТ у свободноподвижных животных; б) эти ответы наблюдались у большинства одиночных клеток, выделенных из соответствующего ансамбля. Полученные данные показывают принципиальную методическую возможность сопоставления на одних и тех же нейронах у свободноподвижных крыс участия этих клеток в обучении тому или иному адаптивному поведению и динамики их вызванной спайковой активности при формировании долговременной потенциации. Одновременно наши данные демонстрируют и трудности, с которыми сопряжены такие эксперименты.

3.4.4. Обсуждение результатов экспериментов по электростимуляции субикуло-цингулярного тракта.

Проведенные нами эксперименты показывают, что вызванная тетаническим раздражением волокон субикуло-цингулярного тракта долговременная потенциация может быть зарегистрирована у взрослых свободно подвижных животных без дополнительных усилий по подавлению локальных тормозных процессов (блокада рецепторов ГАМК). Эта потенциация продолжается достаточно долго, чтобы соответствовать критериям истинно долговременной потенциации и быть потенциальным клеточным механизмом для фиксации долговременной памяти в цингулярной коре (Alexandrov Yu.I. et al., 1990, Gorkin A.G., Shevchenko D.G., 1991, Gabriel M. et al., 1987).

Свойство продемонстрированной потенциации индуцироваться при тетанизации животных в условиях свободного поведения без дополнительных фармакологических воздействий отличает ее от условий потенциации в большинстве корковых областей, которые дифференцируются на ранних стадиях онтогенеза, например сенсорных или

моторных областей. Также в отличие от этих областей, в которых нейроны имеют преимущественно AMPA-рецепторы в возбуждательных глутаматовых синапсах, в цингулярной коре в глутаматовых синапсах присутствуют преимущественно NMDA-рецепторы, что видно по влиянию на амплитуды тестовых ответов аппликации блокаторов этих типов рецепторов. Такая особенность цингулярной коры объединяет ее с префронтальной корой и на наш взгляд связана с тем, что нейроны этих областей специализируются относительно поведенческих актов, формируемых у взрослых индивидов. В связи с этим в многочисленных исследованиях была показана связь активности нейронов этих областей с этапами поведенческих задач в экспериментальных ситуациях. В наших исследованиях количества нейронов, специализированных относительно актов экспериментально сформированного циклического пищедобывательного поведения (ЦИПП), в разных областях коры кроликов (Шевченко Д.Г. и др., 1986) было показано, что в цингулярной коре доля таких нейронов существенно больше, чем в других исследованных областях.

Если принять, что превалирование NMDA-рецепторов в глутаматовых синапсах характеризует недифференцированные нейроны, которые в нашей терминологии являются неспециализированными нейронами «запаса» (Швырков В.Б., 1995), то в цингулярной коре кролика в наших экспериментах большинство нейронов было такими клетками. Это хорошо согласуется с полученными нами данными, что появление специализированных нейронов после обучения ЦИПП сопровождается увеличением числа активных нейронов в данной области коры после формирования этого поведения (Shvyrkov V.B., 1987, Горкин А.Г., 1988). Специализация нейрона относительно формируемого поведения оказывается аналогичной дифференциации нейронов других областей коры в раннем онтогенезе. В связи с этим можно ожидать, что специализация нейрона приводит к изменению доли разных рецепторов в глутаматовых синапсах нейронов цингулярной коры. В таком случае, клеточным механизмом перестройки нейрона при его специализации является не изменение синаптической эффективности, возможность которого демонстрируется индукцией ДП, а изменение морфологии клетки с заменой рецепторов в синапсах и вероятно перестройка ее активного генома. В пользу такого представления также свидетельствует повышенная активация ранних генов при обучении ЦИПП в ретроспленальной коре по сравнению с моторной (Сварник О.Е. и др., 2001, Svarnik O.E., et al., 2005).

Но если изменение эффективности синаптической передачи не является механизмом формирования специализации, почему данная область имеет данную особенность у взрослого животного? На наш взгляд, это связано с тем, что при приобретении новых поведенческих актов происходит их «вписывание» в целостную структуру индивидуального

опыта, которое и может обеспечиваться механизмами изменения синаптической эффективности. И это «вписывание» включает процессы «аккомодационной реконсолидации» (Александров Ю.И., 2005), которые согласуют новую функциональную систему с прежде имевшимися в опыте индивида. Также изменение синаптической эффективности могут быть механизмами рассогласования и изменений межсистемных отношений при многократном повторении поведенческих актов (Александров Ю.И., 2005).

Таким образом, области коры, в которых в обучении происходит массовое формирование поведенческих специализаций нейронов, обладают свойством формирования долговременной потенциации глутаматовых синапсов без применения дополнительных фармакологических воздействий.

3.5. Результаты исследования динамики вызванных электростимуляцией ответов в разных отделах гиппокампа во время и после общей сублетальной ишемии мозга.

Для решения задачи выяснения, какие изменения синаптической пластичности нейронов сопровождают массовую гибель нейронов при ишемической патологии, нами была проведена серия экспериментов на крысах с регистрацией электрически вызванной активности нейронов гиппокампальной формации до и после сублетального ишемического воздействия. Эта работа была проведена в отделе нейрофизиологии института нейробиологии г. Магдебурга в сотрудничестве с Петрой Хайнрих-Ноак. Была выбрана такая ишемическая модель, которая вызывала частичную гибель клеток в разных отделах гиппокампа.

3.5.1. Динамика клеточной гибели в поле СА1 гиппокампа после сублетальной общей ишемии мозга.

У крыс с электродами, расположенными в зубчатой фасции и латеральном перфорантном пути, прекращение кровоснабжения мозга в результате пережима обеих каротидных артерий длительностью 12 минут, сочетанное с гипобарическими условиями ведет к достоверному снижению плотности пирамидных клеток в поле СА1 гиппокампа крыс. Плотность живых клеток определяли путем визуального анализа окрашенных толуидином синим и фуксиновой кислотой 20 мкм срезов гиппокампа экспериментальных крыс. Она дана в числе живых клеток на 500 мкм протяженности поля СА1 (приведена в виде: среднее значение \pm стандартная ошибка измерения): контроль: 116.8 ± 12.25 ; ишемия: 35.3 ± 5.9 ($p < 0.001$, по U-критерию Манна-Уитни). Эти данные приведены на **рисунке 67, А**.

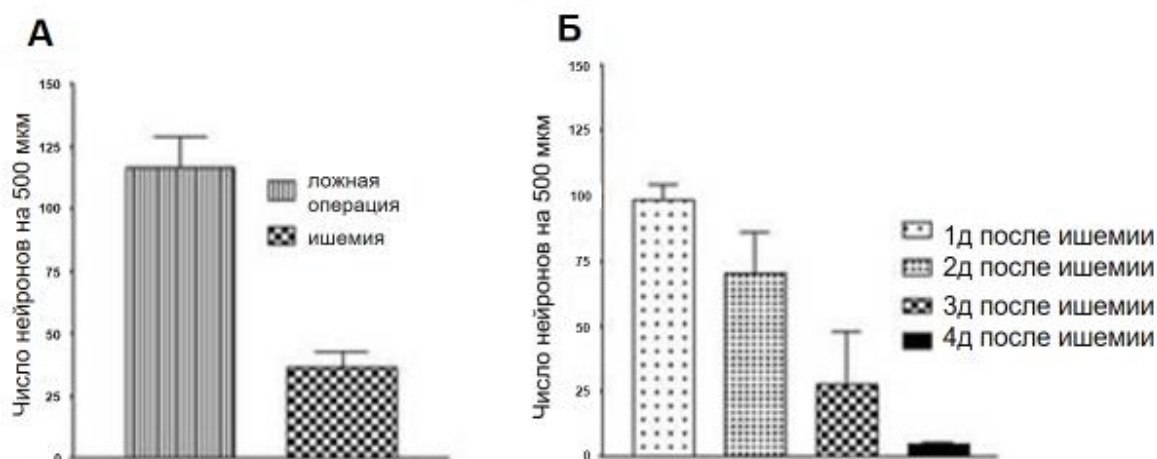


Рисунок 67. Динамика клеточной гибели после сублетальной общей ишемии мозга крыс. А – количество живых клеток в поле СА1 гиппокампа у контрольных животных (левый столбик) и через 7 дней после ишемии (правый столбик), Б – развитие клеточной гибели в первые дни после ишемии – число живых клеток у крыс, забитых через 1, 2, 3 и 5 дней после ишемии. Значения даны как среднее и стандартная ошибка измерения.

На срезах мозга контрольных животных не наблюдалось признаков нейродегенеративных изменений в поле СА1. Также не было обнаружено признаков клеточной гибели в гранулярном слое зубчатой фасции как у контрольных, так и у перенесших ишемию мозга животных.

У животных с регистрирующими электродами, вживленными в поле СА1, и стимулирующими в зоне коллатералей Шаффера в поле СА3, картина клеточной гибели на 7-й день после 12-минутного перекрытия артерий была более разнообразной. Животные, у которых мы регистрировали динамику изменения ответов поля СА1 на электростимуляцию, по результатам последующего подсчета нейронов, выживших к 7-му дню после операции в гиппокампе на стороне, где располагались электроды, разбились на 3 группы. В первую вошли животные контрольной группы. На срезах мозга этих крыс с помощью окраски толуидином синим и фуксиновой кислотой не удавалось выявить деградирующие или мертвые клетки, для которых характерно изменение формы или темная окраска. Плотность пирамид в поле СА1 для этой группы составляла 100.3 ± 17.1 ; $n=6$. Вторую группу составили животные, у которых выявлялась очевидная клеточная гибель в поле СА1, но в то же время оставалось довольно много живых клеток. У животных этой группы на срезах поля СА1

участки с почти полной клеточной гибелью чередовались с участками слабо измененного слоя пирамид. Мы ее назвали группой с частичной клеточной гибелью. Средняя плотность выживших клеток в этой группе составляла 82.4 ± 24.7 нейрона на 500 мкм протяженности поля CA1; $n = 11$. В третью группу были включены животные с локализованной в поле CA1 практически полной клеточной гибелью – средняя плотность составила 7.2 ± 7.1 ; $n = 7$. У некоторых животных наблюдались локальные поражения гиппокампа, но общее число выживших клеток было на уровне контрольных. Такие животные, равно как и животные с необычно высокой плотностью клеток гиппокампа были исключены из анализа динамики электрофизиологических показателей.

В дополнительной серии экспериментов на 24 животных без операции по вживлению электродов в полном соответствии с данными литературы (напр. Kirino T., Sano K., 1984) нами была обнаружена отставленная клеточная гибель, измерявшаяся числом живых клеток на 500 мкм протяженности поля CA1 (**рисунок 67, Б**). У этих животных длительность перекрытия каротидных артерий в гипобарических условиях составляла 10 мин. В первый день после сублетальной общей ишемии мозга клеточная гибель по гистологическим критериям практически не наблюдалась (плотность живых нейронов на 500 мкм – 98.3 ± 5.9 $n=4$, клетки окрашивались в голубой цвет). На второй день клеточная гибель уже отчетливо выявлялась по гистологическим критериям, но живых клеток было еще довольно много (69.9 ± 16.1 , $n=5$), в то время как на 3-й день после ишемии число живых клеток было достоверно снижено (24.8 ± 23.2 , $n=5$, **рисунок 67, Б**, $p < 0.01$, по критерию ANOVA). Также на 3-й день наблюдались очевидные изменения в клеточной морфологии (необычные формы клеток, окрашивание в темно-синий или красный цвет). На 5-й день после ишемического воздействия в основной части поля CA1 клеточные элементы практически полностью отсутствовали (5.0 ± 0.3 , $n=4$).

Можно отметить, что у животных без электродов и у группы с электродами в зубчатой фасции выраженность клеточной гибели в поле CA1 выше, а разброс значений ниже по сравнению с группой крыс с электродами, вживленными в поле CA1, т.е. ту зону, где наблюдалась клеточная гибель. Кроме того, у крыс без электродов при 10 минутах длительности ишемии выраженность клеточной гибели была не меньше, чем у экспериментальных крыс с временем ишемии в 12 минут. Это может отражать некий протективный эффект от вживления электродов и возможно электростимуляции поля CA1, наблюдающийся через неделю от момента вживления. Одним из механизмов этого явления может служить запуск репаративных процессов, связанный с локальным воспалением от разрушения ткани в месте имплантации электродов.

3.5.2. Зависимость выраженности клеточной гибели от реального времени прекращения кровоснабжения мозга.

У 44 крыс мы регистрировали ЭЭГ гиппокампа предварительно вживленными электродами во время проведения операции по сублетальной общей ишемии мозга. Регистрацию начинали незадолго до прекращения кровоснабжения мозга и прекращали с отключением животного от системы искусственного дыхания, когда полностью восстанавливалось нормальное дыхание и кровяное давление. У всех этих животных по состоянию на 7-й день после этой операции было подсчитано количество выживших пирамидных нейронов поля СА1. Длительность существенного снижения амплитуды низкочастотных компонентов ЭЭГ (т.н. уплощение ЭЭГ, определявшееся как не менее чем трехкратное снижение расстояния между позитивными и негативными пиками по сравнению с фоновым размахом) сильно варьировала между отдельными животными. Реальное время уплощения ЭЭГ составляло от 0 до 37.3 мин (среднее значение – 13.87 ± 11.9 мин.). Распределение соотношений времени уплощения ЭЭГ при операции и выраженности последовавшей затем клеточной гибели представлены на **рисунке 68, Б**.

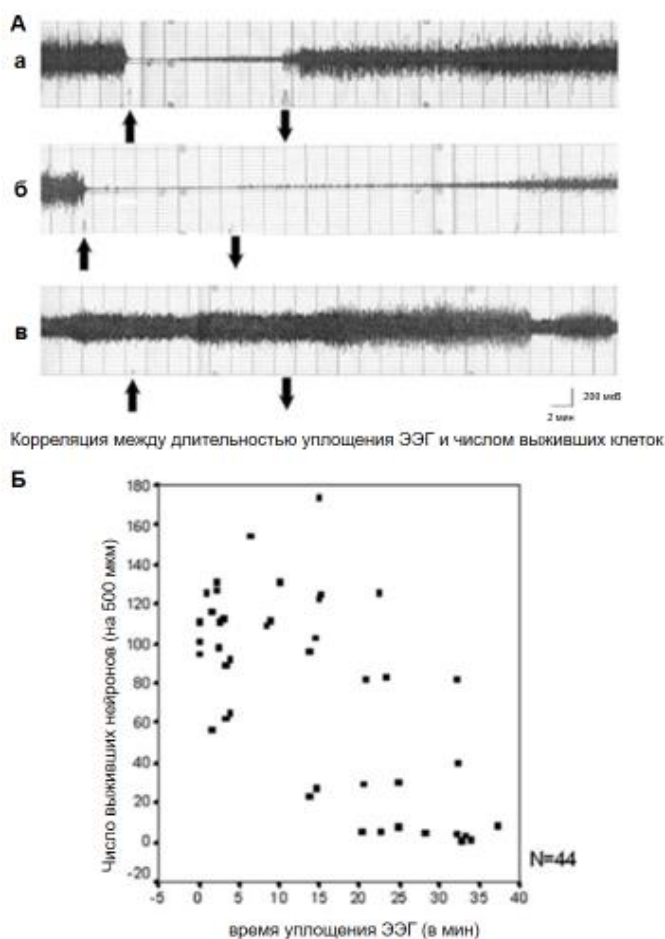


Рисунок 68. На части А представлены оригинальные записи ЭЭГ у животных с временем уплощения ЭЭГ равным времени перекрытия артерий (а), существенно большим (б) и случай совсем без уплощения ЭЭГ (в). Стрелка вверх означает момент пережима артерий, а стрелка вниз – момент снятия зажимов. Б – диаграмма распределения соотношения времени уплощения ЭЭГ во время ишемической операции и числа выживших нейронов через 7 дней после операции.

У 23 животных время уплощения ЭЭГ существенно превышало время перекрытия артерий (12 мин.), хотя по окраске артерий после снятия зажимов мы видели, что кровоснабжение было восстановлено. У оставшихся 21 крысы время уплощения ЭЭГ было короче 12 минут. У шести крыс время уплощения ЭЭГ превышало 30 мин. На **рисунке 68, А** приведены примеры оригинальных записей ЭЭГ во время проведения операции. В верхней части рисунка (а) приведен случай, когда время уплощения ЭЭГ соответствовало времени перекрытия артерий. В средней части (б) приведен пример существенно более длительного времени уплощения ЭЭГ по сравнению с временем прекращения кровоснабжения. А на нижней части (в) приведен пример, когда уплощения ЭЭГ не наблюдалось вовсе. В последнем случае, видимо, и не прекращалось частичное кровоснабжение мозга. Одной из причин этого могла быть недостаточно удачная установка зажима на артерию, а второй – недостаточная эффективность гипобарических условий для прекращения кровоснабжения через задние вертебральные артерии. Большой разброс количества живых клеток у контрольных животных может быть связан и с индивидуальными особенностями и с несколько разным расположением обработанных срезов в гиппокампе. У нескольких животных мы продолжили регистрацию ЭЭГ после прекращения искусственного дыхания и, соответственно, галотанового наркоза. Никаких заметных изменений амплитуды ЭЭГ в связи с прекращением наркоза мы не наблюдали.

Мы вычислили коэффициент корреляции Спирмена для сравниваемых времени уплощения ЭЭГ и наблюдавшихся у этих животных значений числа выживших нейронов. Для правой половины мозга, где были расположены регистрирующие ЭЭГ гиппокампа электроды, он оказался равен -0.61, что означает высоко достоверную корреляцию ($p < 0.001$). Корреляция между временем уплощения ЭЭГ в правом гиппокампе и клеточной гибелью в левом оказалась также достоверной, хотя и ниже (-0.56). Более низкая корреляция числа выживших клеток и времени уплощения ЭЭГ в левом гиппокампе может быть связана с определенной независимостью эффективности пережатия левой и правой артерий при установке зажимов. Хотя у большинства крыс выраженность клеточной гибели в обоих гиппокампах была сходной, наблюдались случаи, когда в одном гиппокампе клеточная

гибель была практически полной, а во втором – лишь частичной. Также были животные, у которых в одном гиппокампе клеточная гибель не выявлялась, а во втором была очевидная частичная гибель пирамид. При этом преимущественная локализация поражения с какой-либо одной стороны не выявлялась.

Таким образом, можно заключить, что время уплощения ЭЭГ гиппокампа во время оперативного прекращения общего кровоснабжения мозга высоко отрицательно коррелирует с числом нейронов, остающихся живыми на 7-й день после ишемии. Из приведенных на **рисунке 68** данных также видно, что зависимость числа выживших нейронов от времени уплощения ЭЭГ носит ярко выраженный пороговый характер – выраженная гибель клеток (50 и менее выживших нейронов на 500 мкм протяженности гиппокампа) наступает после 13 минут уплощения ЭЭГ. Кроме того выявляются случаи (9 животных), когда очень длительное уплощение ЭЭГ не приводило к выраженной клеточной гибели.

Уплощение ЭЭГ (изоэлектрическая ЭЭГ) является одним из применяемых параметров для фиксации наступления ишемических условий (Stevens M.K. et al., 1986; Fortuna S. et al., 1997) в экспериментальных моделях в силу его простоты и удобства. В нашей работе была выявлена значимая корреляция между длительностью уплощения ЭЭГ гиппокампа и выявляемой впоследствии гистологически клеточной гибелью в поле СА1 (**рисунок 68, Б**). Однако, что интересно, выраженная клеточная гибель наступала лишь у тех животных, которые имели значительно более длительное уплощение ЭЭГ, чем время перекрытия каротидных артерий, и соответственно прекращение кровоснабжения мозга. Таким образом, уплощение ЭЭГ на время прекращения кровоснабжения мозга не предвещает выраженную клеточную гибель, что соответствует данным исследований нейропротекции (Braida D. et al., 2000). Однако, отсутствие уплощения ЭЭГ при перекрытии артерий показывает, что скорее всего не удалось создать ишемические условия, и предвещает полное отсутствие гибели клеток. Поэтому представляется полезным использовать параметр уплощения гиппокампальной ЭЭГ в экспериментах по ишемии в качестве критерия отбраковки животных с неудачной попыткой создать ишемические условия. Одновременно наши эксперименты показали, что если уплощение ЭЭГ превышало 12 минут, то у большинства животных наблюдалась ярко выраженная нейронная гибель в поле СА1. Однако было по крайней мере 4 случая, когда уплощение ЭЭГ наблюдалось более 20 минут, но все равно большинство клеток поля СА1 на 10-й день после ишемии оставались вполне нормальными (см. **рисунок 68, Б**). Из этого можно сделать вывод, что у всех животных без уплощения ЭЭГ гиппокампа гибель нейронов после ишемии отсутствует, но при наличии длительного уплощения ЭЭГ клеточная гибель возникает лишь в части случаев.

Этот результат вместе с данными литературы соответствует представлению о том, что изоэлектрическая ЭЭГ при ишемии является побочным продуктом ишемической патофизиологии, но не выступает в качестве непосредственной причины гибели нейронов. Более того, приводимые ниже аргументы и данные других авторов позволяют выдвинуть гипотезу, что уплощенная ЭЭГ может даже способствовать выживанию клеток и в ряде случаев являться составляющей успешной нейронной защиты от клеточной гибели: Восстановление ЭЭГ предполагает восстановление нейронной активности, которая в свою очередь требует активизации клеточного метаболизма (Aiello G., Bach-y-Rita P., 2000) клеток, которые еще не оправились от поражения. Таким образом, слишком раннее восстановление активности пораженных клеток может иметь для них губительные последствия. Более того данные Раффин с соавторами (Raffin C.N. et al., 1991) показывают, что подавление ЭЭГ высвобождает кислород, а Фрюнд с соавторами (Freund T.F. et al., 1989) показали резкое снижение концентрации кислорода при восстановлении нейронной активности. Это позволяет предположить, что для выживания нейронов может быть полезно прекращение спайковой активности на длительное время. В силу того, что такая гипотеза предполагает, что сильнее пораженные нейроны должны для выживания замолкнуть на более долгое время, длительность уплощения ЭЭГ, будучи в принципе протективного, оказывается корреляционно связанной с выраженностью клеточной гибели, как показано в нашем исследовании. Однако, если бы прекращение импульсации пораженных клеток было бы главным условием их выживания, мы бы получили на графике распределения клеточной гибели от времени уплощения ЭЭГ повышение числа выживших клеток при максимальных длительностях уплощения ЭЭГ. Этого не наблюдается, что заставляет рассматривать протективный эффект замолкания нейронов лишь как один, причем не самый главный фактор из комплекса причин, определяющих нейронную гибель в результате ишемии.

3.5.3. Динамика вызванных ответов на электростимуляцию в поле CA1 гиппокампа после ишемии мозга.

В поле CA1 мы получили зависимости вызванных ответов от силы тока стимуляции коллатералей Шаффера в поле CA3 до, на 2-й и на 7-й дни после проведения операции по ишемии мозга или ее имитации у 24 крыс. Типичные формы ответов в поле CA1 на тестовую электростимуляцию крыс, перенесших 12-минутную общую ишемию мозга представлены на **рисунок 69, А и Б.**

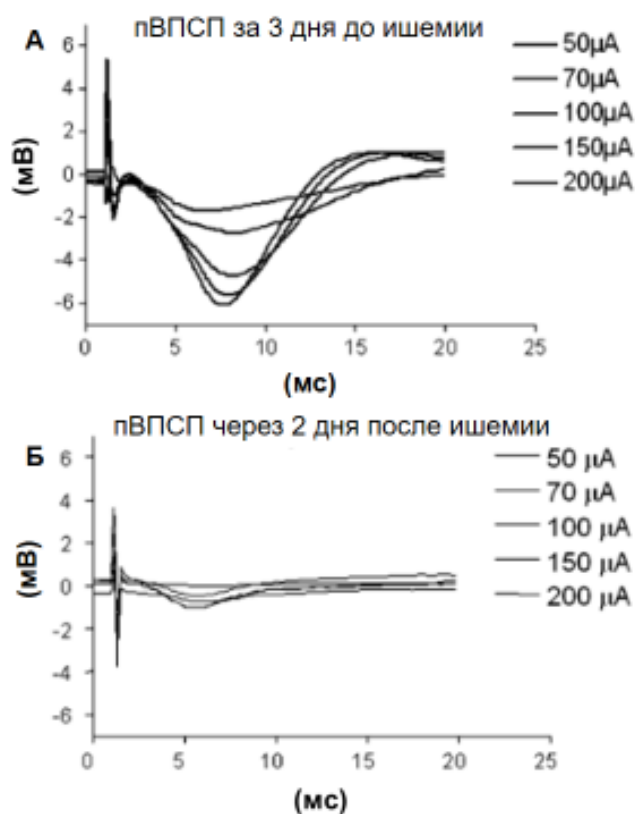


Рисунок 69. Типичный пример форм ВП на электростимуляцию, зарегистрированных у одного из животных. На части А даны кривые ответов на разные токи стимуляции до ишемического воздействия, а на части Б – такие же кривые через 2 дня после глобальной ишемии мозга. У этого животного впоследствии гистологически была выявлена практически полная клеточная гибель в поле СА1.

Видно выраженное снижение амплитуд ВП после ишемического воздействия по сравнению с ВП до ишемии. В соответствии с подсчитанной клеточной гибелью все крысы были разделены на 3 группы (см. выше). Усредненные зависимости крутизны нарастания переднего фронта ВП от силы тока стимуляции в разные дни до и после общей ишемии мозга для группы крыс без признаков клеточной гибели в поле СА1 правого гиппокампа представлены на **рисунке 70, А**. Такие же зависимости для группы животных с частичной клеточной гибелью представлены на части Б этого рисунка, а данные по группе животных с «полной» клеточной гибелью в поле СА1 представлены на части В.

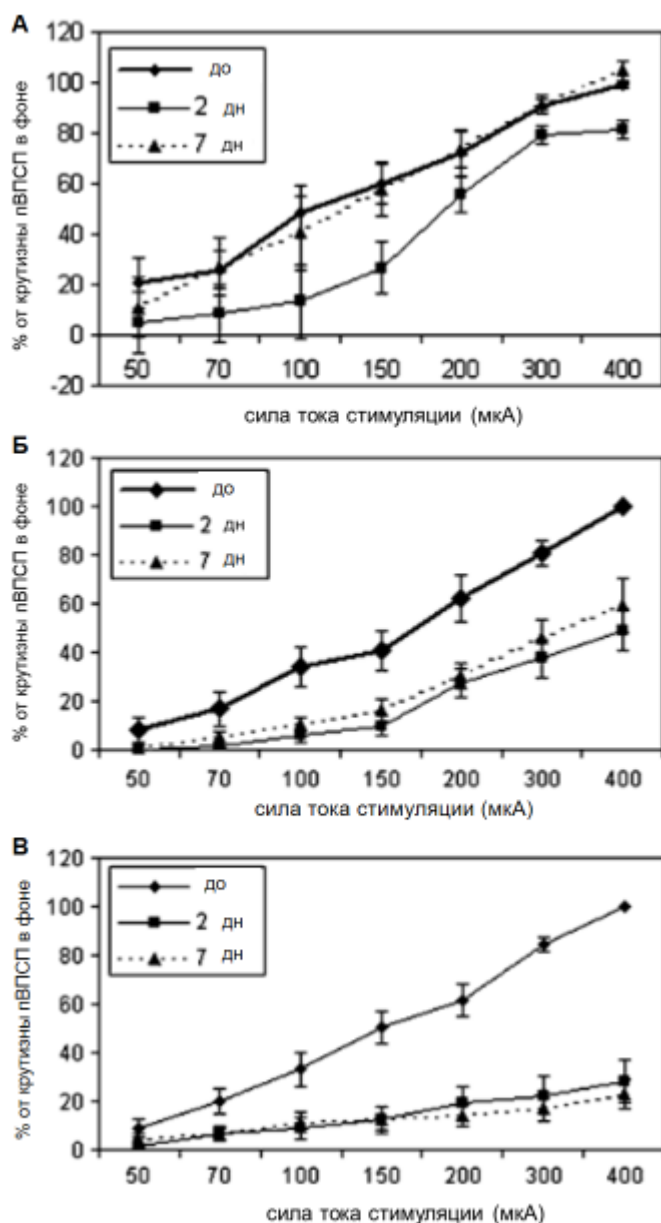


Рисунок 70. Зависимости крутизны ВП от тока стимуляции в разных группах животных до и после ишемического воздействия даны в виде процентов от крутизны ВП при токе стимуляции в 400 мкА до ишемической операции. А – контрольная группа, перенесшая имитацию ишемической операции. Б – группа с частичной клеточной гибелью на 7-й день после ишемии. В – группа с практически полной клеточной гибелью после ишемии. Каждое значение кривых дано как среднее и стандартное отклонение.

Если проанализировать динамику изменения зависимости значений ВП от силы тока в разные дни после ишемии в выделенных нами группах, то в группе животных без выраженной клеточной гибели (в основном это были животные контрольной группы) выявляется достоверное снижение вызванных электростимуляцией ответов на 2-й день

после ишемии или имитации ишемической операции (**рисунок 70, А**) и полное восстановление ответов к 7-му. Так ответы на токи стимуляции в 150, 300 и 400 мкА на второй день после ишемии были достоверно меньше ответов при соответствующих токах стимуляции на 7-й день по U-критерию Манна-Уитни, $p < 0.05$.

В отличие от этой группы в двух оставшихся, где наблюдалась выраженная клеточная гибель, параметры ответов на электростимуляцию не изменились на 7-й день по сравнению со 2-м днем после ишемического воздействия. В то же время если у группы с частичной клеточной гибелью наметилась тенденция к восстановлению ответов на 7-й день в сравнении со 2-м, то в группе с «полной» нейронной гибелью на 7-й день была тенденция к еще более сильному подавлению ответов.

Была обнаружена достоверная корреляция между изменением на 2-й день после ишемии вызванных потенциалов в ответ на электростимуляцию высокой интенсивности (более 200 мкА) и вариантом финальной клеточной гибели в поле СА1 (полная, частичная или отсутствующая), которые были определены после забоя животных путем подсчета числа выживших нейронов и выявления на окрашенных срезах мозга измененных клеток и клеточных остатков ($p < 0.005$, значения коэффициента корреляции Спирмена в пределах 0.572-0.883). В то же время на второй день после ишемии сами значения крутизны нарастания ВП не показали значимой корреляции с количеством выживших нейронов. На 7-й день после ишемии корреляция изменения ВП при высоких интенсивностях стимуляции по сравнению с доишемическим уровнем и вариантом финальной клеточной гибели была еще больше и начиналась с тока стимуляции в 150 мкА ($p < 0.001$; значения коэффициента корреляции Спирмена в пределах 0.628-0.830). Также была выявлена корреляция крутизны нарастания ВП на 7-й день после ишемии при высоких интенсивностях стимуляции (200, 300 и 400 мкА) и числа выживших после ишемии нейронов ($p < 0.01$; значения коэффициента корреляции Спирмена в пределах 0.524-0.559).

Сравнение зависимостей величины ответа от тока стимуляции между выделенными нами группами животных показало, что до ишемического воздействия они не различались, а на 2-й и 7-й дни после ишемии различия были очень существенны (например, зависимости на 2-й день после ишемии представлены на **рисунке 71**).

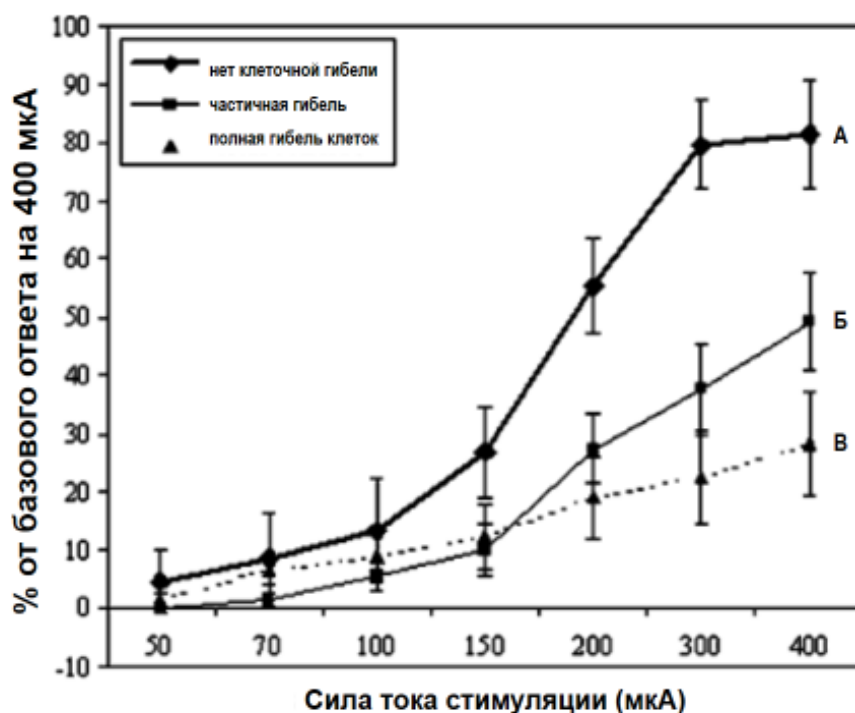


Рисунок 71. Сравнение зависимостей ВП от силы тока стимуляции в трех группах с разной выраженностью клеточной гибели на второй день после ишемии. На графике представлены три усредненных кривых зависимости ВП от тока стимуляции для группы без клеточной гибели в поле СА1 (А), с частичной нейронной гибелью (Б) и практически «полной» гибелью (В). Для каждого тока стимуляции даны среднее и стандартное отклонение.

При высоких интенсивностях стимуляции (выше 150 мкА) вызванные электростимуляцией ответы были максимальными в группе без выраженной клеточной гибели (разница достоверна по U-критерию Манна-Уитни, $p < 0.05$). Для самой высокой интенсивности стимуляции также достоверно различие ответов между группами с частичной и полной клеточной гибелью в поле СА1 (по U-критерию Манна-Уитни, $p < 0.05$). На 7-й день после ишемического воздействия эти различия были еще более выражены. ВП в группе без выраженной клеточной гибели вернулись к дооперационному уровню, в то время как в двух других группах (с частичной и полной клеточной гибелью) значительных изменений по сравнению со вторым днем после ишемии не произошло. Статистически достоверное отличие значений в этих группах от контроля наблюдалось, начиная с интенсивности стимуляции в 200 мкА (по U-критерию Манна-Уитни, $p < 0.05$) и было несколько выше на 7-й день после ишемии.

В отличие от ЭЭГ вызванные потенциалы в ответ на электростимуляцию проводящих путей в поле СА1 после ишемии *in vivo* не были интенсивно исследованы до настоящего

времени. Мы обнаружили уже на второй день после ишемии драматическое снижение синаптической проводимости, выразившееся в резком достоверном снижении ВП на тестовую электростимуляцию, у группы животных, у которых впоследствии была выявлена практически полная клеточная гибель в поле СА1 гиппокампа (**рисунок 71, В**). Этот эффект разительно отличается от результатов, получаемых другими методами детекции нейропатологии, такими например, как гистологические исследования (окраса по Нисслю). В данном исследовании мы также изучали гистологические показатели сохранности нейронов на ранних сроках после ишемического воздействия. В полном соответствии с данными литературы (Kirino T., 1982, Petito C.K. et al., 1987) мы обнаружили, что большинство нейронов поля СА1 на данный момент (2-й день после ишемии) сохраняются интактными по морфологическим критериям. Именно у этой группы животных впоследствии была зарегистрирована практически полная гибель клеток, что и является проявлением известного феномена отставленной клеточной гибели в результате общей ишемии мозга. Мы, однако, не знаем, какие не детектируемые гистологически изменения могли произойти на субклеточном уровне к этому постишемическому моменту. Можно предположить, что такие субклеточные изменения ответственны за раннее подавление электрофизиологических синаптических ответов. Это предположение подтверждается данными Пеи с соавторами (Pei L. et al., 2001), которые обнаружили специфические перестройки плотности постсинаптической мембраны через 24 часа после временной общей ишемии мозга и данными, демонстрирующими селективное поражение дендритов в поле СА1 (Hori N., Carpenter D.O., 1994). Обнаруженное нами после ишемии быстрое и драматическое подавление функционирования синаптической передачи в поле СА1 отличается от электрофизиологических нарушений в остающейся морфологически интактной зубчатой фации (Henrich-Noack P. et al., 2005). Хотя импульсация нейронов в ответ на электростимуляцию, выражающаяся в амплитуде вызванного популяционного спайка, быстро и резко снижается в зубчатой фации после ишемии, там не наблюдается достоверных изменений в синаптической передаче, что выражается в сохранности параметров доишемических ВП после ишемии. Выраженное снижение ВП в поле СА1 может быть поэтому более тесно связано с разрушением клеток в отличие от просто нарушений их функционирования при выживании.

Стоит отметить, что у животных с частичной гибелью нейронов в поле СА1 к 10-му дню после ишемии, на протяжении постишемических дней мы регистрировали также частичное снижение функционирования синаптической передачи по параметру крутизны нарастания ВП (**рисунок 71, Б**). Эта корреляция может означать, что погибающие нейроны быстро теряют синаптические функции, а вот те, которые выживут, сохраняют их

практически неизменными. Об этом свидетельствует практически полностью сформированное ко второму дню после ишемии различие в уровнях ВП на тестовую стимуляцию между группами животных с полной и частичной будущей клеточной гибелью. Поэтому ранние записи постишемических ВП могут использоваться в качестве предиктора будущей клеточной гибели, которая получает свое полное выражения лишь после 5-го дня после ишемического воздействия. В литературе есть косвенные данные о нарушении электрофизиологического функционирования поля СА1 после временной общей ишемии мозга (Suyama K., 1992, Buzsaki G. et al., 1989). Однако, в этих экспериментах поле СА1 стимулировалось опосредованно электродами, помещенными в перфорантный путь. В силу того, что вызванная электростимуляцией спайковая активность гранулярных нейронов зубчатой фасции, как было нами показано (см. ниже), резко снижается после ишемии, трудно сделать однозначные выводы о причине снижения ответов в поле СА1, так как вызванная стимуляцией активация промежуточных нейронов поля СА3 и соответственно коллатералей Шаффера также снижается. Хотя наши данные свидетельствуют о сохранении синаптических функций выживающих в поле СА1 нейронов, не исключено, что другие их функции все же нарушены. В качестве примера можно привести пластические возможности выживших в поле СА1 нейронов, например, способность к индукции долговременной потенциации, которые по данным других авторов (Gillardon F. et al., 1999, Kiprianova I. et al., 1999) существенно снижены.

В группе животных без признаков клеточной гибели в гиппокампе на 10-й день после ишемии (контрольная группа) мы также обнаружили нарушения синаптического функционирования в поле СА1 (**рисунок 71, А**). Однако, связанное с ним снижение крутизны нарастания ВП было не большим и временным. Через 7 дней после ишемической операции ВП на тестовую электростимуляцию в этой группе вернулись к доишемическому уровню.

Из вышеизложенного можно заключить, что уплощение ЭЭГ гиппокампа только на период прекращения кровоснабжения мозга (12 минут) не предсказывает, какая клеточная гибель произойдет в мозге в результате ишемии. В то же время, уплощение ЭЭГ на более короткие временные интервалы, служит четким признаком того, что выраженной клеточной гибели не будет. Однако, мы обнаружили достоверную отрицательную корреляцию между временем уплощения ЭЭГ и количеством выживших на 10-й день после ишемии нейронов в поле СА1. Снижение синаптической функции, выявляемое по параметру крутизны нарастания ВП в поле СА1, на второй день после ишемии значимо коррелировало с выраженностью будущей клеточной гибели в этой зоне гиппокампа. Это значит, что

нарушение синаптической проводимости полностью развивается до появления гистологически детектируемых признаков клеточной гибели.

3.5.4. Динамика вызванных ответов на электростимуляцию в зубчатой фасции гиппокампа после сублетальной общей ишемии мозга.

После ишемического воздействия в зубчатой фасции было зарегистрировано быстрое и заметное снижение вызванных электростимуляцией латерального перфорантного пути ответов в виде популяционного спайка (рисунок 72).

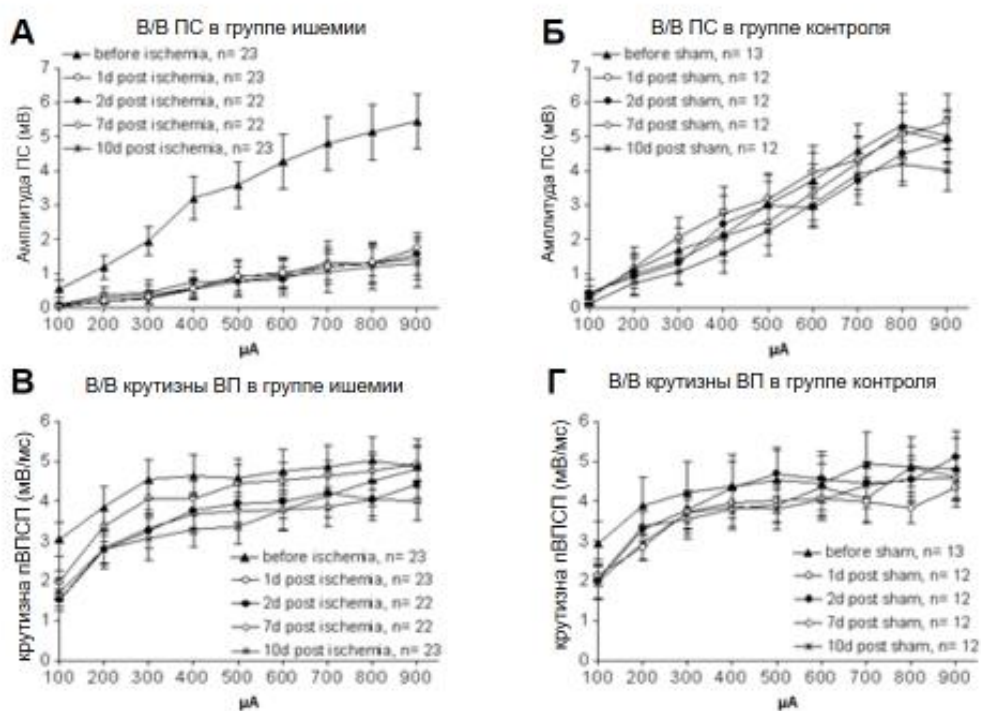


Рисунок 72. Динамика зависимостей амплитуды ответа клеток зубчатой фасции от силы тока стимуляции (В/В) в ишемической и контрольной группах в разные дни до и после ишемии или ее имитации. А – зависимости амплитуды поспайка от тока стимуляции в ишемической группе; Б – то же в контрольной группе; В – зависимости крутизны нарастания ВП от тока стимуляции в ишемической группе; Г – то же в контрольной группе. На графиках представлены усредненные абсолютные значения со стандартной ошибкой.

Уже на первый день после 12 минутного прекращения кровоснабжения головного мозга амплитуды вызываемых электростимуляцией популяционных спайков были достоверно ниже дооперационного уровня. В целом значения амплитуд поспайка при снятии зависимости ответа от силы тока стимуляции до ишемического воздействия

достоверно отличались от всех значений в дни после ишемии для соответствующих значений силы тока стимуляции ($p < 0.001$; ANOVA для связанных выборок). Средняя амплитуда популяционного спайка при максимальной силе тока стимуляции (900 мкА) составила 32% от средней амплитуды поспайка при данной силе тока стимуляции до ишемического воздействия. Мы не обнаружили восстановления амплитуды поспайкового ответа вплоть до последнего дня регистрации (10 день).

У контрольных животных, перенесших имитацию операции по глобальной общей ишемии мозга, были лишь минимальные и недостоверные изменения зависимостей амплитуды вызванных популяционных спайков от силы стимуляции на протяжении 11 дней эксперимента (**рисунок 72, Б**). После имитации операции по созданию ишемии мозга у контрольных животных во все последующие дни амплитуда вызванных поспайковых ответов была выше для соответствующих токов стимуляции, чем у перенесших ишемию животных (различия при токах стимуляции выше 300 мкА достоверны по U-критерию Манна-Уитни).

В отличие от выраженных изменений способности гранулярных клеток генерировать спайковые разряды в ответ на электростимуляцию после ишемии мы не обнаружили значимого снижения крутизны нарастания ВП в зубчатой фасции (**рисунок 72, Б**) при стимуляции перфорантного пути. Параметры ВП в зависимостях ответа от силы тока стимуляции были сходными в группе животных перенесших ишемию и в группе контрольных крыс во все дни и для всех токов стимуляции (**Рисунок 72, В+Г**). Также в отличие от ответов в виде популяционных спайков при высоких значениях силы тока стимуляции не было различий между ответами в разные дни после ишемического воздействия (1-й, 2-й, 7-й и 10-й дни после ишемии; по критерию ANOVA для связанных выборок, при сопряжении с тестом множественного сравнения по Тьюки). И в группе контрольных и в группе перенесших ишемию животных мы зарегистрировали достоверное снижение ответов после операции по ишемическому воздействию или ее имитации при низких значениях тока стимуляции (100 мкА) по сравнению с дооперационным уровнем. Такое снижение, на наш взгляд, является эффектом непосредственно операции.

Сопоставление динамики амплитуды вызванных популяционных спайков с динамикой крутизны нарастания ВП при изменении тока стимуляции в разные дни после ишемии позволило выявить тенденцию к изменению этого соотношения. На **рисунке 73** представлены усредненные соотношения амплитуды популяционных спайков в милливольтгах и крутизны нарастания ВП в милливольтгах в миллисекунду в виде кривых зависимости от силы тока стимуляции.

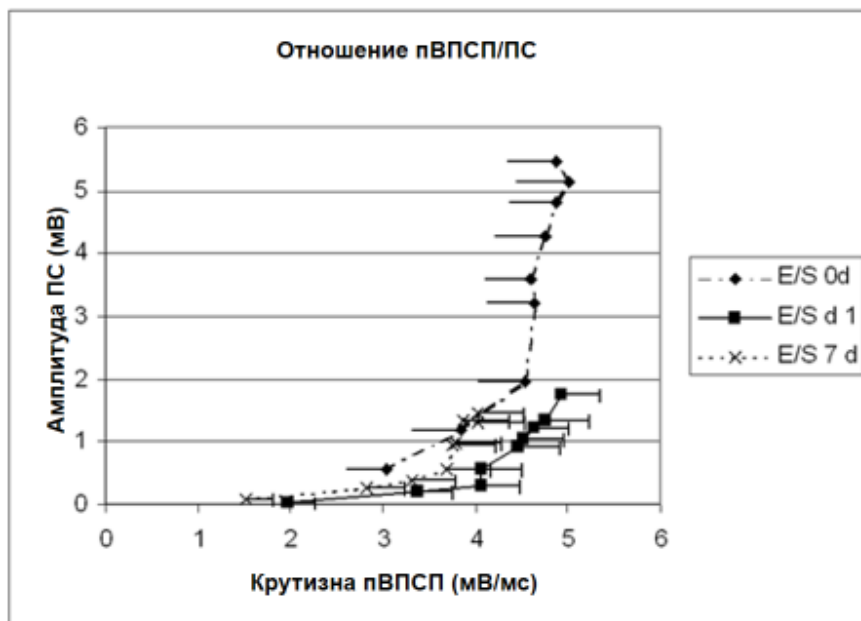


Рисунок 73. Соотношение абсолютных значений амплитуды популяционного спайка (ПС) и крутизны нарастания ВП при разных токах стимуляции в разные дни до и после ишемической операции. На графике представлены кривые этого соотношения при разных токах стимуляции в виде среднего значения соотношения при конкретном токе стимуляции и стандартной ошибки. Токи стимуляции соответствуют токам на предыдущем рисунке. Более высоким значениям ответов соответствуют большие токи стимуляции.

Видно, что кроме существенного снижения значений популяционного спайка на 2-й день после ишемии наблюдается сдвиг кривой вправо. На 7-й день после ишемии кривая практически возвращается к траектории, зарегистрированной до ишемического воздействия.

3.5.5. Результаты тетанической стимуляции входных путей поля CA1 и зубчатой фасции в дни, последующие за сублетальной общей ишемией мозга.

В экспериментах по стимуляции перфорантного пути и регистрации ответов в гранулярном слое зубчатой фасции мы применили высокочастотную тетаническую стимуляцию, которая эффективно запускала развитие долговременной потенции. Эта потенция наблюдалась в течение 8 часов регистрации ответов на тестовую электростимуляцию в день нанесения тетанического раздражения, что соответствует критерию истинно долговременной потенции с прохождением всех ее основных фаз (Riedel G. et al., 1995). Измерения через 24 часа после тетанизации у тех же животных показали, что в большинстве случаев индуцированная потенция сходила на нет. Наш

выбор именно таких параметров тетанизации и такого протекания потенциации был вызван двумя причинами:

1. Мы наносили тетаническое раздражение за один день до операции по общей ишемии мозга для получения базы для сравнения протекания долговременной потенциации до и после ишемического воздействия. Однако, поскольку мы собирались индуцировать долговременную потенцию несколько раз у одного и того же животного, нам требовался протокол тетанизации, который бы вызывал умеренную долговременную потенцию, длящуюся около 1 дня.

2. Мы стремились избежать ситуации, когда ишемическому воздействию подвергаются клетки, находящиеся в потенцированном состоянии, потому что неизвестно взаимодействие потенциации и дегенеративных процессов, связанных с ишемией мозга.

Несмотря на то, что фоновые значения популяционных спайков в ответ на электростимуляцию на 10-й день после ишемии были значительно снижены, нам удалось инициировать долговременную потенцию в зубчатой фасции. Вызванное тетаническим раздражением увеличение амплитуды популяционного спайка в ответ на тестовую стимуляцию имело динамику во времени сходную с динамикой потенциации, зарегистрированной у крыс в доишемическом состоянии (т.е. потенции длилась несколько часов и сходила на нет на следующий день). Однако, абсолютные значения потенцированных популяционных спайков были существенно ниже, чем до операции по прекращению кровоснабжения мозга и чем вызванные популяционные спайки у контрольных животных, перенесших лишь имитацию ишемической операции (среднее значение поспайковых ответов в фоне составляло 20.5% от дооперационного уровня, а среднее максимальное значение потенцированных популяционных спайков – 38% от уровня до ишемии). С другой стороны, относительный прирост амплитуды популяционных спайков после потенциации был значительно более выражен у перенесших ишемию животных (до ишемии максимальный популяционный спайк на тестовую стимуляцию в результате потенциации вырос в среднем на 230%, а после – на 428%). Эта разница была бы еще более убедительной, если принять во внимание животных, которые не показали обычной клеточной гибели в поле CA1 после 12-минутной ишемии, и исключить их из анализа. Критерий для исключения: плотность нейронов составляла не менее 65% по сравнению с контрольной группой, что приблизительно вдвое выше среднего значения у перенесших ишемию животных. Таких животных оказалось 4. У них среднее значение плотности пирамид в поле CA1 после ишемии было $83,3 \pm 2.1$ на 500 мкм протяженности гиппокампа. В оставшейся группе животных со «стандартной клеточной гибелью в поле CA1» (средняя плотность нейронов на 500 мкм протяженности гиппокампа – 17.3 ± 1.3) мы

обнаружили потенциацию популяционных спайков (**рисунок 74**) более чем на 2000% по сравнению с фоновым уровнем (средний уровень вызванных тестовым раздражением популяционных спайков по 6 животным до тетанизации составлял 0.048 мВ, а после тетанизации – 1.13 мВ).

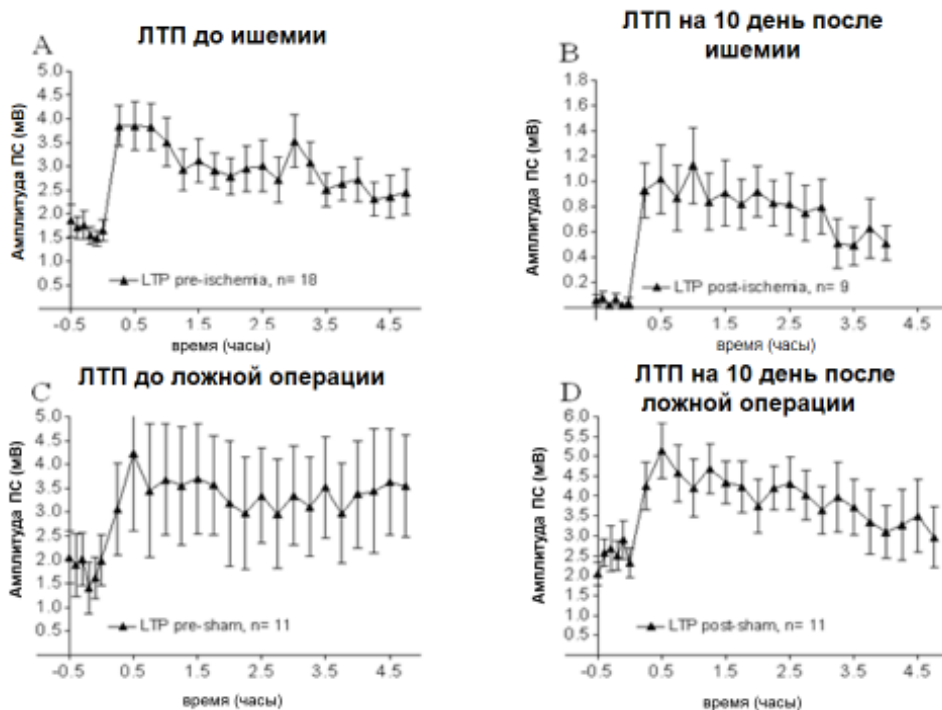


Рисунок 74. Кривые динамики абсолютных значений вызванных тестовой стимуляцией популяционных спайков гранулярных клеток зубчатой формации после тетанической стимуляции в группах контрольных и перенесших ишемию животных за 1 день до операции и на 10-й день после операции. Ишемическая группа: А – динамика популяционного спайка за 1 день до ишемической операции. Б – то же, но на 10-й день после ишемии. Контрольная группа: В – динамика популяционного спайка за 1 день до имитации ишемической операции. Г – то же на 10-й день после имитации ишемической операции. Нулевому значению времени соответствует момент нанесения тетанического раздражения. Все значения даны как среднее \pm стандартная ошибка измерения.

Такие сверхвысокие цифры относительного увеличения популяционного спайка на 10-й день после ишемии связаны в основном с крайне низкими значениями популяционного спайка в фоне у этих животных (**рисунок 74, А+Б**). Что интересно, в этой группе было несколько животных, у которых до тетанизации не удавалось вызвать популяционный спайк даже на очень высокие токи стимуляции (вплоть до 900 мкА), а после тетанизации на тестовую стимуляцию регистрировался нормальный по форме популяционный спайк,

правда, невысокой амплитуды (**рисунок 75**), примерно в два раза меньшей, чем популяционный спайк на такую же силу тока стимуляции до ишемической операции.

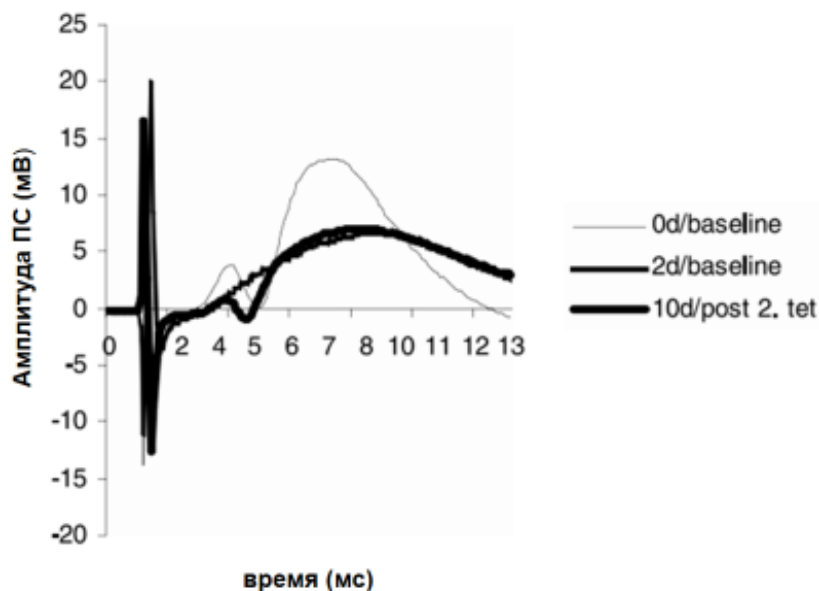


Рисунок 75. Типичные формы вызванных тестовой стимуляцией ответов в разные дни у животных, не демонстрировавших популяционный спайк при определении зависимости ответа от силы тока стимуляции, но ставших генерировать поспайк после тетанической стимуляции. Для дня до операции и 2-го постоперационного дня даны формы ответа на тестовую стимуляцию перед нанесением тетанического раздражения. Форма на 10-й день представляет собой ответ на тестовую стимуляцию через час после нанесения тетанического раздражения. Момент подачи биполярного стимула соответствует 1-й миллисекунде оси абсцисс и виден в виде артефакта от стимуляции. Популяционному спайку соответствует негативное отклонение с пиком в области 4,5-5,5 мс.

Как видно из рисунка, латентный период появившегося после тетанизации популяционного спайка был меньше латентного периода поспайка до операции на такую же силу тока стимуляции, что соответствует типичному изменению латентного периода ответа после тетанизации. У восьми животных, перенесших ишемию, измерения ответов на тестовую стимуляцию были произведены через 24 часа после тетанизации. На этот момент у всех этих животных потенция сошла на нет и ответы не отличались от зарегистрированных до потенциации.

Контрольные животные, перенесшие имитацию ишемической операции, не продемонстрировали существенных различий в уровне потенциации популяционных

спайков до и после операции. До ишемии в результате тетанической стимуляции уровень поспайкового ответа на тестовую стимуляцию возрос в среднем на 231%, а через 10 дней после имитации ишемической операции – на 206% по сравнению с предшествовавшим тетанизации уровнем ответов (**рисунок 75, В+Г**).

Для проверки возможности запуска функционального восстановления гранулярных клеток за счет тетанической стимуляции в более ранний постишемический период мы провели эксперименты с тетанической стимуляцией четырех крыс через 2 дня после ишемического воздействия. На этот момент амплитуда вызываемых тестовой стимуляцией популяционных спайков была существенно снижена по сравнению с дооперационным уровнем. Применение высокочастотного тетанического раздражения в этот момент в отличие от 10-го дня после ишемии не привело к индукции долговременной потенциации. У контрольной группы из 3 животных, как и ожидалось, на 2-й день после имитации операции тетаническая стимуляция вызвала индукцию долговременной потенциации с параметрами, достоверно не отличающимися от дооперационной потенциации. Тетанизация на второй день после ишемии никак не повлияла на дальнейшее функциональное угнетение активности гранулярных клеток в последующие дни. Это хорошо видно на динамике зависимости амплитуды вызванных поспайков от силы тока стимуляции у этой группы животных в последующие за тетанизацией дни (**рисунок 76, А, Б**).

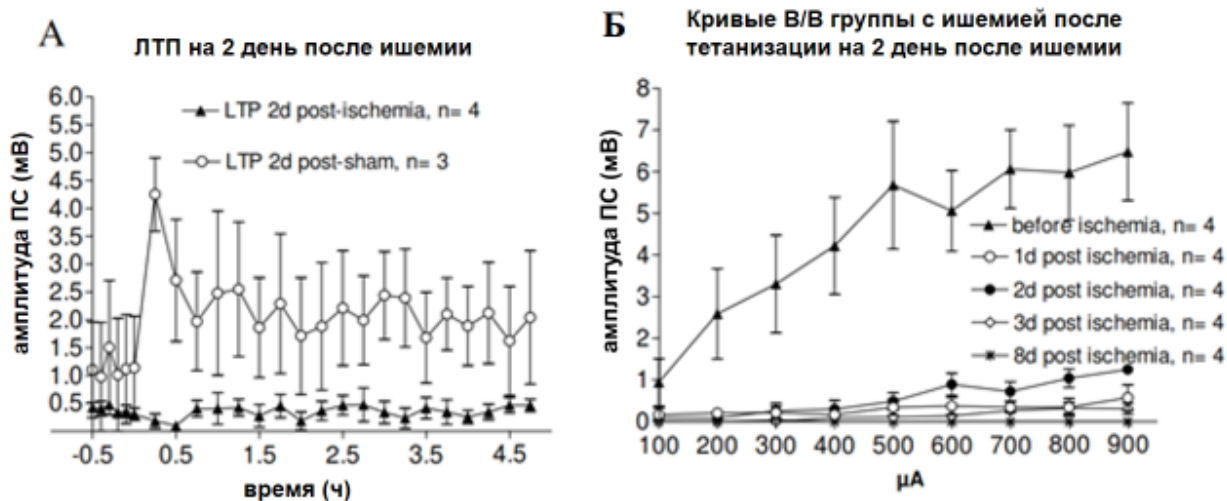


Рисунок 76. Эффект тетанизации на 2-й день после ишемии. А – кривые амплитуды поспайка в экспериментах с тетаническим раздражением на второй день после ишемической операции или ее имитации. Нулю соответствует момент нанесения тетанического раздражения. Б – зависимости амплитуды ответа от силы тока стимуляции в

группе перенесших ишемию крыс, которые получили тетаническую стимуляцию на 2-й день после ишемии, до и в течение 8 дней после ишемии. Значения даны как среднее \pm стандартная ошибка измерения.

Из представленного рисунка видно, что амплитуды вызванных поспайков на 2-й день после ишемии не увеличиваются после нанесения тетанической стимуляции в отличие от крыс, перенесших лишь имитацию ишемической операции. Из части Б видно, что у этой группы крыс с течением времени после ишемии ответы в виде популяционных спайков практически исчезли во всем интервале применявшихся токов стимуляции.

3.5.6. Обсуждение результатов экспериментов по сублетальной ишемии мозга крыс и изменений пластичности нейронов гиппокампа.

В описанных выше сериях экспериментов мы исследовали закономерности вызванной ишемией мозга клеточной гибели и изменения пластических свойств нейронов структур, в которых наблюдается клеточная гибель, а также связанных с ними структур, где такой гибели не наблюдалось. В результате глобальной сублетальной ишемии мозга выраженная клеточная гибель наблюдается в ряде мозговых структур, к которым относятся разные отделы гиппокампа и некоторые области новой коры, одной из которых является цингулярная кора. Массовая гибель нейронов цингулярной коры в результате ишемического воздействия происходит путем апоптоза (Yue H. et al., 1997). В наших экспериментах данные были получены на областях гиппокампа в силу наличия большого количества данных литературы для сравнения и отработанных, хорошо воспроизводимых методик индукции ДП в исследуемой области. Кроме того на этой модели было проведено много исследований, изучавших биохимические механизмы данного явления. В силу сходства последствий ишемического воздействия на эти области гиппокампа и цингулярную кору можно предположить сходные процессы, запускаемые ишемическим воздействием.

Полученные нами результаты демонстрируют запускаемую сублетальной ишемией программируемую отставленную на несколько суток гибель клеток по механизмам апоптоза. Эта гибель происходит при умеренном поражении очень неравномерно, рядом с зоной полностью развившейся клеточной гибели могут оставаться участки мало затронутые этим процессом. По нашим данным при таком частичном поражении оставшиеся функциональными нейроны сохраняют свои пластические свойства. Это проявляется в промежуточных значениях возбудимости нейронов по показателю крутизны нарастания ВП в группе с частичной клеточной гибелью по сравнению с группами контрольных животных и

крыс с практически полной клеточной гибелью в поле CA1. В то же время у перенесших ишемию животных существенно снижены пластические свойства (Gillardon F. et al., 1999, Kirgjanova I. et al., 1999). Такие результаты можно трактовать как сохранение свойств отдельных выживших нейронов, но потерю системных свойств их взаимодействия. Вызванная ишемическим воздействием гибель нейронов вызывает нарушения структуры связей между разными отделами гиппокампальной формации. На примере сохранившимися интактными, но потерявшими часть проекционных связей нейронов зубчатой фации видно, что нарушения в связях между отделами гиппокампа ведут к серьезному изменению пластических свойств выживших нейронов. Их способность к потенциации популяционного ответа на электростимуляцию существенно возрастает.

С точки зрения участия таких процессов в процессах нейронной специализации и фиксации в популяционной активности нейронов структуры индивидуального опыта полученные результаты могут свидетельствовать в пользу представления об участии процессов синаптической пластичности в формировании структуры мозга, которая создает первичный репертуар нейронов (Edelman G.M., 1987). На основе такого репертуара, в рамках которого метаболические потребности нейронов согласованы для их совместного длительного существования, в процессе обучения формируются специализации нейронов относительно компонентов приобретаемого в обучении поведенческого опыта (вторичный репертуар по Эделману). В пользу такого представления также свидетельствует показанная для нейронов завершивших дифференциацию в онтогенезе областей коры невозможность вызвать ДП без предварительной блокады ГАМК-эргических нейронов. То есть у сформированной структуры прошедшей дифференциацию корковой области пластические свойства нейронов оказываются подавленными на примере глутамат-эргических связей как на уровне рецепторов (превалирование непластичных AMPA рецепторов), так и на уровне структуры коры за счет системы тормозных связей. Как известно при формировании корковых областей в раннем онтогенезе наблюдается массовая клеточная гибель, а сохранившиеся нейроны имеют свойства дифференцированных (в нашей терминологии специализированных). Судьба конкретного нейрона в рамках процесса дифференциации может быть представлена как выбор между измениться и специализироваться или погибнуть, причем предполагается, что оба исхода могут быть рассмотрены как обеспечение новой формы согласования клеток (Александров Ю.И., 2004, 2005). В некотором смысле патологический процесс при ишемическом поражении можно представить, как эволюцию в «обратном» по отношению к раннему онтогенезу направлении. То есть специализированные нейроны в результате поражения и потери ряда клеточных связей, возможно, переходят к этапу первичного репертуара клеток с возможностью последующей новой специализации. В

таком случае патологический процесс может нарушать принцип постоянной «навечной» специализации нейрона в результате научения.

Отдельно можно рассмотреть возможное участие процессов нейрогенеза в качестве возможного механизма восстановления мозга после ишемического поражения. Специально в наших работах этот вопрос не исследовался, но мы изучили состояние поля CA1 у некоторых крыс через месяц после сублетальной ишемии. В полностью пораженных зонах этой области гиппокампа были обнаружены единичные нейроны, которые своим расположением никак не напоминали исходную структуру поля CA1. И уж тем более при таком незначительном восстановлении не может идти речь о восстановлении функции пораженной области гиппокампа.

Таким образом, полученные нами в серии экспериментов с сублетальной ишемией мозга крыс результаты позволяют сделать вывод о том, что нарушение структуры мозга при патологии запускает повышение пластичности оставшихся интактными нейронов структур, связанных с пораженной областью. И соответственно эти нейроны вступают на определенный этап системогенеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в наших исследованиях результаты вместе с данными литературы позволяют предположить следующую схему фиксации опыта инструментального взаимодействия взрослого индивида с окружающей средой на субстрате головного мозга:

На системном уровне, включающем все тело и предполагающем описание в терминах функциональных систем поведенческих актов разного фило- и онтогенетического возраста (Швырков В.Б, 1995).

В ситуации наличия выраженной потребности (например, в пище) и невозможности ее удовлетворения за счет реализации прежде результативных поведенческих актов возникает рассогласование (Александров Ю.И., 2005, 2012). Это рассогласование приводит к общей активации мозга в областях коры, которые имеют резерв недифференцированных нейронов. За счет такой активации преодолеваются некоторые запреты на комбинации ранее сформированных элементов индивидуального опыта и происходит порождение пробных поведенческих актов. В первую очередь формируются пробы, близкие по системному составу к прежде эффективным в данной среде актам. При отсутствии достижения требуемых результатов происходит расширение комбинирования элементов прошлого опыта в порождении новых проб. В случае достижения желаемого приспособительного результата происходят попытки повтора приведшей к успеху комбинации. В первую очередь для этого

индивид выделяет объект среды, взаимодействие с которым привело к получению результата. На этом этапе результат достигается не во всех пробах, может быть повторение неудачных комбинаций. После нескольких раз достижения успеха происходит скачкообразное повышение доли успешных проб, которая далеко не достигает 100%. На этом этапе можно говорить о формировании интеграции телесных, включая нервные, элементов для новой функциональной системы поведенческого акта. Однако, в случае прекращения повтора успешных актов из-за изменений в среде или потери мотивации после длительного перерыва данная система может быть утеряна и соответствующую ей интеграцию телесных элементов надо будет создавать заново в виде проб комбинаций элементов прошлого опыта. Если обучение прерывается или прекращается на данном этапе или раньше, то нового элемента опыта в индивидуальной памяти не образуется, т.е. не происходит научение новому поведенческому акту.

После неоднократного повторения успешной реализации такой системы она фиксируется на субстрате головного мозга в виде модели, что приводит к практически 100% повторению успешного взаимодействия со средой при наличии достаточного уровня мотивации. После формирования такой модели даже через длительный перерыв при попадании в эту или сходную среду и при наличии достаточного уровня мотивации этот элемент опыта будет воспроизведен с высокой вероятностью (существенно выше, чем просто повтор при случайном переборе). На этом этапе можно утверждать, что индивид научился достигать требуемого результата в соответствующей среде доступным в ней способом. Появившаяся в процессе научения новая функциональная система поведенческого акта становится постоянным элементом опыта и встраивается в существующую целостную структуру индивидуального опыта за счет установления определенных отношений с прежде существовавшими в нем элементами. Эти отношения и приводят к реализации данной системы при попадании индивида в эту среду при наличии соответствующей потребности. После фиксации системы в качестве постоянного элемента опыта повторение успешных (и неуспешных) реализаций данной системы поведенческого акта меняет отношения между этой системой и другими системами опыта при сохранении данной системы в индивидуальном опыте на протяжении всей жизни индивида, по крайней мере, при отсутствии драматических патологических изменений в структуре головного мозга.

На **уровне спайковой активности** отдельного коркового **нейрона**. В процессы фиксации в активности головного мозга приобретаемого в обучении нового поведения в той или иной мере включается множество нейронов разной морфологической принадлежности. К моменту начала научения в коре головного мозга существует большая группа нейронов, специализированных относительно ранее сформированных поведенческих актов, а также

большая группа нейронов «резерва», метаболизм которых согласован с окружающими клетками (после формирования структуры мозга в раннем онтогенезе) и который можно классифицировать, как нейроны первичного репертуара по Эделману (Edelman G.M., 1987). В рамках системно-эволюционного подхода такие нейроны носят название «преспециализированных» (Александров Ю.И., 2005, 2011). Особый интерес имеет рассмотреть предполагаемую модель формирования нейронной специализации относительно приобретаемого акта и реорганизации связей этого нейрона с другими клетками, специализированными относительно других поведенческих актов.

На начальном этапе при наличии рассогласования между условиями среды и прежним опытом достижения требуемого результата происходит вовлечение множества корковых нейронов в поисковое поведение. При этом повышают свою активность как клетки, специализированные относительно бывших ранее результативных актов, так и неспециализированные нейроны «резерва». Можно предположить, что это происходит как за счет повышения уровня активности активирующих систем мозга, так и за счет подавления локальных тормозных процессов. Эта повышенная активность приводит к генерации новых комбинаций компонентов прошлого опыта и соответственно пробных актов взаимодействия с разнообразными объектами среды. При отсутствии достижения требуемого результата процесс генерации новых проб продолжается при сохранении повышенного уровня спайковой активности нейронов. В какой-то момент в последовательности таких проб случайно достигается требуемый результат. Достижение результата приводит к попыткам повторить оказавшееся результативным взаимодействие. Можно предположить, что на уровне целого нейрона действует правило, аналогичное принципу Хебба для синапса. То есть, если нейрон активировался при достижении результата, он будет сохранять повышенную активность. Можно предположить, что это обеспечивается процессами синаптической пластичности. Для специализированного нейрона относительно элемента прошлого опыта это будет соответствовать повышенной актуализации или реализации соответствующей функциональной системы. А для неспециализированного – вовлечение во вновь формируемую интеграцию новой системы поведенческого акта. В последовательном ряду повторений успешных реализаций нового поведенческого акта специфические активации нейронов компонентов прошлого опыта, вошедшего в успешную комбинацию будет повторно воспроизводиться, а активность неспециализированных нейронов, вошедших в новую интеграцию, будет возрастать и у них на некотором этапе сформируется специфическая активация. Если рассматривать эти процессы на уровне конкретного нейрона, проходящего процесс специализации, то на этапе рассогласования при поисковом поведении он активируется при разнообразных состояниях мозга и, соответственно, состояниях

связанных с ним синаптическими связями нейронов. По мере повторения успешных реализаций такой нейрон начинает дифференцировать состояния мозга через состояния связанных с ним нейронов на две группы – все состояния сопровождающие разнообразные поведенческие акты за исключением специфического (в том числе и поисковые пробы) и состояния при реализации успешного специфического поведенческого акта. В результате завершения процесса специализации связи этого нейрона с другими клетками модифицируются в соответствии с этой дифференциацией и сильно снижают свою пластичность. Это, видимо, происходит за счет перестройки структуры нейрона, появления новых синапсов, замены части рецепторов в задействованных синапсах и, возможно, за счет удаления части незадействованных синапсов. Таким образом, формируется структура дифференцированной нервной клетки. Уже прошедшая дифференциацию клетка будет вовлекаться в новые ситуации обучения только при реализациях в рамках поискового поведения того поведенческого акта, относительно которого нейрон специализирован. При реализации других актов ее активность будет существенно снижена. Предлагаемая картина перестроек нейронной активности, на мой взгляд, не противоречит относительно недавно полученным данным о динамике мембранного потенциала при внутриклеточной регистрации пирамидных клеток поля CA1 гиппокампа при обследовании новой среды (Epszhtein J. et al., 2011). Надо только учитывать, что специфичность в виде «плейс полей» нейронов «места» гиппокампа не совсем соответствует нашему критерию поведенческой специализации. Кроме того, судя по тому, что активация в зоне «плейс поля» проявляется при первом же попадании животного в это место она скорее может быть сопоставлена не с новыми поведенческими актами, а с реализацией каких-то «прасистем» индивидуального опыта. Также специфичность нейрона «места» отличается от специализации относительно сформированного обучением поведенческого акта тем, что один нейрон может иметь разные «плейс поля» в разных, пространственно не связанных средах. При этом данные по гиппокампулярным нейронам хорошо показывают вовлечение процессов типа изменения синаптической эффективности, равно как и существенно различие участия в пробных соотношениях со средой еще не сформировавших специализацию нейронов и уже специализированных. Авторы это не обсуждают, но высока вероятность того, что молчащие в их экспериментах нейроны являются уже специализированными относительно определенных мест в другой среде. И в таком случае они в отличие от резерва неспециализированных не вовлекаются в пробные взаимодействия с новой средой. Для более точного сопоставления с этими данными хорошо было бы знать об активности анализируемых нейронов до помещения в новую среду, однако, в силу временной ограниченности такой сложной регистрации пока такого рода данные получить невозможно.

Также можно предположить, что устраняются синапсы, которые не были активны во время протекания процесса специализации, а те синапсы, которые были активны, но не во время реализации специфического акта, в этом процессе модифицировались для фиксации отношений систем специфического акта и других систем, представленных нейронами, проецирующимися на данную клетку. Последняя модификация возможно ограничивается пластическими перестройками без замены рецепторного аппарата синапса.

ВЫВОДЫ:

1. Поведенческая специализация нейрона является стабильной, содержательной характеристикой связи его спайковой активности с поведением и поэтому можно объединять в одну группу для анализа данные по активности разных специализированных нейронов, зарегистрированных в одном и том же поведении в разные моменты времени и у разных индивидов.

2. Отношения элементов индивидуального опыта фиксируются в «неспецифической» активности специализированных нейронов в виде определенного закономерного паттерна этой активности в других поведенческих актах.

3. В сессии формирования нового поведенческого акта специфические активации ряда специализирующихся относительно этого акта нейронов наблюдаются с первых реализаций данного акта, как правило, со второй реализации. В аналогичном поведении на первой стороне экспериментальной клетки такие нейроны демонстрировали мало структурированную активность.

4. Нейроны одной специализации могут иметь разный паттерн активности в отличных от специфического поведенческих актах, что позволяет говорить о различных проекциях структуры индивидуального опыта на эти нейроны. У клеток с невысоким соотношением частот специфической активации к активности в остальном поведении активации в специфическом акте возникают с первых его реализаций.

5. В качестве предшественников специализирующихся в научении нейронов выступают нейроны, активные в предшествующем пищедобывательном поведении, и у этих нейронов активации соответствующие специфическим появляются с первых реализаций приобретаемых актов. Однако, «молчание» нейроны также могут становиться специализированными, но не с первых реализаций формируемых поведенческих актов.

6. Паттерн активности специализированных нейронов вне времени реализации специфического для них акта связан с такими факторами, как сходство движений и целей осуществляемого акта со специфическим, а также логической структурой поведенческой

задачи и историей формирования поведения, в частности – последовательностью этапов научения отдельным частям задачи.

7. Связь активности нейронов слуховой коры с отдельными параметрами и исполнением поведенческой задачи, а также с субъективным содержанием звукового восприятия отражает включенность их активности в целостные функциональные системы поведенческого взаимодействия индивида со средой.

8. Области коры, в которых в обучении происходит массовое формирование поведенческих специализаций нейронов, обладают свойством формирования долговременной потенциации глутаматовых синапсов без применения дополнительных фармакологических воздействий.

9. Нарушение структуры мозга и гибель нейронов в результате ишемического поражения запускает повышение пластичности оставшихся интактными нейронов, связанных с пораженной областью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Аверкин А.Н., Гаазе-Рапопорт М.Г., Поспелов Д.А. Толковый словарь по искусственному интеллекту. М.: Радио и связь. - 1992. – 256 с.
2. Алейников Ю.П., Алейникова Т.В., Зыонг Минь Нян. О механизме оценки направления и скорости движения объекта нейронами крыши среднего мозга лягушки. - Физиологический журнал СССР. – 1976. - Т. 62, вып.6. - С. 853-857.
3. Александров И.О. Формирование структуры индивидуального знания. – М.: Изд-во «Институт психологии РАН». - 2006. 560 с.
4. Александров И.О., Максимова Н.Е., Горкин А.Г. Компоненты структуры знания: их взаимодействия и суборганизация // Одиннадцатая национальная конференция по искусственному интеллекту с международным участием КИИ-2008: Труды конференции. - 2008. - Т. 1. - М.: ЛЕНАНД. - С. 344–352.
5. Александров И.О., Александров Ю.И. Сравнительный анализ влияния закрывания глаз на активность нейронов зрительной и моторной областей коры в поведении. // В сб.: Мозг и психическая деятельность. Советско-финский симпозиум. Отв. Ред. Швырков В.Б., Бодунов М.В., Ярвилехто Т., Самс, М. Изд-во Наука, М., -1984, - С. 164-175.
6. Александров Ю.И. Психофизиологическое значение активности центральных и периферических нейронов в поведении. М.: Наука. - 1989. - 208 с.

7. Александров Ю.И. Предисловие // В.Б.Швырков “Введение в объективную психологию. Нейрональные основы психики”. М.: Институт психологии РАН, ред. Ю.И. Александров, - 1995. - С. 7-12
8. Александров Ю.И. Введение в системную психофизиологию // Психология XXI века. М., Пер Се, - 2003, - С. 39-85
9. Александров Ю.И. Дифференциация и развитие // В сборнике: Теория развития. Дифференционно-интеграционная парадигма. Доклады участников Круглого стола. Сер. "Разумное поведение и язык. Language and Reasoning" составитель: Н.И. Чуприкова. 2009. С. 17-28.
10. Александров Ю.И. Системогенез и смерть нейронов. // Нейрохимия. – 2004. - Т. 21, № 1. - С. 5-14.
11. Александров Ю.И. Научение и память: традиционный и системный подходы. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 2005. - Т. 55. Вып. 62. – С. 842-860.
12. Александров Ю.И. Закономерности актуализации индивидуального опыта и реорганизации его системной структуры: комплексное исследование. // Труды ИСА РАН. - 2011. - Т. 61. № 3. - С. 4-29.
13. Александров Ю.И. Психофизиологические закономерности научения и методы обучения. // Психологический журнал. - 2012. – Т.33, №6 – С. 5-19.
14. Александров Ю.И., Александров И.О. Активность нейронов зрительной и моторной областей коры мозга при осуществлении поведенческого акта с открытыми и закрытыми глазами. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1981. - Т. 31, № 6. - С. 1179-1189.
15. Александров Ю.И., Горкин А.Г., Созинов А.А., Сварник О.Е., Кузина Е.А., Гаврилов В.В. Нейронное обеспечение научения и памяти. // Когнитивные исследования: сборник научных трудов. Вып. 6. / Под ред. Б.М. Величковского, В.В. Рубцова, Д.В. Ушакова – М.: Издательство ГБОУ ВПО МГППУ. - 2014. - С. 130-169.
16. Александров Ю.И., Греченко Т.Н., Гаврилов В.В., Горкин А.Г., Шевченко Д.Г., Гринченко Ю.В., Александров И.О., Максимова Н.Е., Безденежных Б.Н., Бодунов М.В. Закономерности формирования и реализации индивидуального опыта // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 1997. - Т. 47, № 2. - С. 243–260.
17. Александров Ю.И., Гринченко Ю.В. Изменение рецептивных полей центральных нейронов в поведении: иерархический анализ. // В кн.: Нейроны в поведении: системные аспекты. М., Наука. – 1986. - С. 107-118.

18. Александров Ю.И., Швырков В.Б., Гринченко Ю.В., Остренд К., Ярвилехто Т. Системная детерминация активности волокон оптического тракта в поведении с открытыми и закрытыми глазами. // Психологический журнал. – 1986. - Т.7, № 2. - С. 113-121.
19. Андрианов В.В. Фадеев Ю.А. Импульсная активность нейронов зрительной коры головного мозга на последовательных этапах инструментального поведения // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 1976. - Т.26, №5. - С. 916-924.
20. Анохин К.В. Молекулярные сценарии консолидации долговременной памяти // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П.Павлова. - 1997. - Т. 47. № 2. - С. 262-286.
21. Анохин П.К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса. - М., Медицина. - 1968. - 544 с.
22. Анохин П.К. Очерки по физиологии функциональных систем. - М. Медицина. - 1975. – 448 с.
23. Анохин П.К. Избранные труды. Философские аспекты теории функциональной системы. - М., Наука. – 1978. - 399 с.
24. Аракелов Г.Г., Соколов Е.Н. Нейрональные механизмы центральных двигательных программ. // В кн.: Нейроны в поведении: системные аспекты. М., Наука. – 1986. - С. 81-90.
25. Бабминдра В.П., Брагина Т.А. Структурные основы межнейронной интеграции. - Л., Наука. – 1982. -164 с.
26. Балабан П.М., Максимова О.А. Исследование нейронных механизмов взаимоотношений функциональных систем респираторного и оборонительного поведения виноградной улитки // В кн: Нейроны в поведении: системные аспекты, М., Наука. – 1986. - С. 160-169.
27. Батуев А.С. Нейрональные механизмы целенаправленного поведения у обезьян. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1986. - Т. 36, № 2. - С. 218-225.
28. Батуев А.С., Орлов А.А., Пирогов А.А., Шефер В.И. Реакции нейронов моторной и лобной областей коры мозга обезьян при выполнении целенаправленного движения // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 1981. - Т. 31. № 1. - С. 40-49.
29. Безденежных Б.Н. Организация функциональных синаптических полей и метаболизма корковых нейронов, вовлеченных в сложное поведение: микроионофоретический анализ // В: Нейроны в поведении: Системные аспекты. М. Наука. - 1986. - С. 229-241.
30. Безденежных Б.Н. Динамика взаимодействия функциональных систем в структуре деятельности. М., Изд-во «Институт психологии РАН». – 2004. – 271 с.
31. Безденежных Б.Н., Пашина А.Х. Структура ЭЭГ-активности при печатании

предложения на пишущей машинке // ЭЭГ и нейрональная активность в психофизиологических исследованиях. М. Наука. - 1987. - С. 85.

32. Беленков Н.Ю. Принцип целостности в деятельности мозга. - М., Медицина. – 1980. - 311 с.

33. Беритов И.С. Об основных формах нервной и психонервной деятельности. - Изд. АН СССР, М. – Л. – 1947. -114 с.

34. Бобровников Л.В. Вероятностно-статистические критерии оценки поведенческой специализации нервных клеток // Психологический журнал. - 1989. - Т. 10. № 2. - С. 90-98.

35. Василевский Н.Н. Нейрональные механизмы коры больших полушарий. - Л., Медицина. – 1968. - 256 с.

36. Василевский Н.Н. Нейронные механизмы обучения. // В кн.: Проблемы кибернетики: нейрофизиологические аспекты. - 1978. – Ростов. - С. 29-40.

37. Владимирова И.А., Косарева В.З., Сторожук В.М. Попытка оценки числа активных нейронов в первичной сомато-сенсорной коре кошки. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1963. - Т. 18, № 2. - С. 310-323.

38. Воронин Л.Г., Никольская К.А., Картаев С.Д. Процесс переработки информации при обучении в зависимости от уровня мотивации // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 1983. - Т. 33. № 2. - С. 221.

39. Гасанов У.Г. Системная деятельность корковых нейронов при обучении. - М., Наука. - 1981, - 237 с.

40. Голубева Е.Л. Формирование функциональной системы рождения плода и ее нейрофизиологический механизм. // В кн.: Системогенез. Медицина. – 1980. - С. 172-228.

41. Горкин А.Г. Автореферат канд. дисс., 1988.

42. Горкин А.Г., Шевченко Д.Г. Отражение структуры памяти в активности системоспецифичных нейронов // Психологический журнал. - 1991. - Т. 12. № 2. - С. 60-69.

43. Горкин А.Г., Шевченко Д.Г. Отражение истории обучения в активности нейронов лимбической коры кроликов // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 1993. - Т. 43. № 1. - С. 172-175.

44. Горкин А.Г., Шевченко Д.Г. Различия в активности нейронов лимбической коры кроликов при разных стратегиях обучения // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 1995. - Т. 45. № 1. - С.90–100.

45. Греченко Т.Н. Нейрофизиологические механизмы памяти. - М., Наука. – 1979. - 165 с.

46. Дрыгин Ю.М. Нейронная активность головки хвостатого ядра при формировании положительных и тормозных двигательных пищевых условных рефлексов у кошек. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1977. - Т. 27, № 4. - С. 761-769.
47. Заркешев Э.Г., Силаков В.Л., Хананашвили М.М. Значение полимодальных синаптических влияний для формирования временной связи в микросистемах нейронов ассоциативной коры. // Нейрофизиология. – 1975. - Т. 7, № 2. - С. 141-148.
48. Карлсон С., Незлина Н. Длительные эффекты ранней зрительной депривации на функцию задней париетальной коры обезьяны. // В кн: ЭЭГ и нейрональная активность в психофизиологических исследованиях. М., Наука. – 1987. - С.81-86.
49. Карпов А.П., Горкин А.Г. Детерминация активности нейронов обонятельной луковицы. // В кн.: Нейроны в поведении: системные аспекты, М., Наука. – 1986. - С. 208-218.
50. Конорки Ю. Интегративная деятельность мозга. - М.: Мир. - 1970. - 412 с.
51. Корочкин Л.И. Взаимодействие генов в развитии. - М., Наука. – 1977. - 322 с.
52. Корочкин Л.И., Михайлов А.Т. Введение в нейрогенетику. М. Наука. - 2000. – 274 с.
53. Копытова Ф.В., Медникова Ю.С., Попова Э.Н. Возрастная структурно-функциональная характеристика нейронов гиппокампа кроликов при формировании временных связей. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 2003. – Т.53, №5. - 604–612.
54. Котляр Б.И. Пластичность нервных клеток. - М., Изд. Моск. Гос. Универ. – 1977. - 149 с.
55. Котляр Б.И. Пластичность нервной системы. - М., Изд. Моск. Гос. Универ. – 1986. - 240 с.
56. Котляр Б.И., Овчаренко Ю.С. Ассоциативные свойства микропопуляций нейронов сенсомоторной коры. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1980. - Т.30, № 1. - С. 169-176.
57. Котляр Б.И, Тимофеева Н.О. Электроэнцефалографические корреляты условного пищевого поведения в структурах лимбической системы. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1970. - Т. 20, № 1. - С. 42- 49.
58. Котляр Б.И, Тимофеева Н.О. Условный рефлекс и тоническая активность нейронов мозга // В: Нейроны в поведении: системные аспекты. М. Наука. - 1986. - С. 73-81.
59. Коуэн У. Развитие мозга. // В кн: Мозг. М., Мир. – 1982. - С. 113-140.
60. Крушинский Л.В. Биологические основы рассудочной деятельности. - М., Изд. Моск. Гос. Универ. – 1977. - 237 с.

61. Крушинский Л.В. Некоторые актуальные вопросы биологии развития поведения. // В кн.: Проблемы экспериментальной биологии, М., Наука. – 1977. - С. 311-330.
62. Кузина Е.А. Особенности паттернов специализации задней цингулярной коры на трех последовательных стадиях консолидации инструментального пищедобывательного поведения. // В сб: Эволюционная и сравнительная психология в России: традиции и перспективы. М., Изд-во «Институт психологии РАН». – 2013. - С. 113-121.
63. Кузина Е.А., Александров Ю.И. Выделение устойчивых и вариативных характеристик активности нейронов ретроспленальной коры крыс на разных этапах консолидации навыка // Сборник материалов Международной научной конференции памяти Е.Н. Соколова и Ч.А. Измайлова «Человек-нейрон-модель» 19-20 августа 2016 г. - С. 126-132.
64. Кузина Е.А., Александров Ю.И. Особенности нейронного обеспечения инструментального поведения, сформированного одно- и многоэтапными способами // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 2019. - Т. 69. № 5. - С. 601-617.
65. Кузина Е.А., Горкин А.Г., Александров Ю.И. Активность нейронов ретроспленальной коры крыс на ранних и поздних этапах консолидации памяти. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 2015. – Т. 65, №2. – С. 248–253.
66. Кэндел Э. Клеточные основы поведения. - М., Мир. – 1980. - 597с.
67. Латанов А.В. Высшая нервная деятельность: классика современной нейробиологии // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 2018. – Т. 68, №4. – С. 397–403.
68. Ливанов М.Н. Нейрокинетика. // В кн: Проблемы современной нейрофизиологии. - М. - Л., Наука. – 1965. - С. 37-53.
69. Ломов Б.Ф. Методологические и теоретические проблемы психологии. – М., Наука. – 1984. - 455 с.
70. Лосева Е.В. Влияние выработки оборонительного условного рефлекса на структуру и численность синапсов в гиппокампе крыс. // Известия АН СССР сер.биология. – 1982. - № 5. - С. 789-795.
71. Лукашев А.О. О связи клеточных импульсных процессов ненаркотизированного мозга человека с системными реакциями поведенческого уровня. // В кн.: Нейроны в поведении: системные аспекты. М., Наука. – 1986. - С. 91-98.
72. Лурия А.Р. Высшие корковые функции человека. - Изд. Моск. Гос. Универ. – 1962. - 429 с.
73. Максимова Н.Е. Системное значение медленных потенциалов мозга человека. - Автореф. канд. дисс., М., 1987.

74. Мелехова М.А., Шульгина Г.И. Исследование спонтанной импульсной активности нейронов коры большого мозга кролика. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1966. - Т. 16, № 2. - С. 328-335.

75. Овчаренко Ю.С., Котляр Б.И. Пластические перестройки активности корковых нейронов при сочетании сигнального стимула с микроионофорезом или электрокожным раздражением. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1978. - Т. 28. - С.743-752.

76. Осипов Г.С. Приобретение знаний интеллектуальными системами. М.: Наука, 1997. – 109 с.

77. Павлов И.П. Двадцатилетний опыт объективного изучения высшей нервной деятельности (поведения) животных. М. – 1951. - 505 с.

78. Пашина А.Х. Нейрофизиологическое изучение организации двигательной активности в пищедобывательном поведении. Автореф. канд. дисс., М. – 1979. - 21 с.

79. Поляков Г.И. Структурная организация коры большого мозга человека по данным ее развития в онтогенезе. // В кн.: Цитоархитектоника коры большого мозга человека. М., Медгиз. – 1949. - С. 33-91.

80. Рабинович М.Я. Замыкательная функция мозга. - М., Медицина. - 1975. - 248 с.

81. Раева С.Н. Некоторые новые данные микроэлектродного изучения механизмов модуляции краткосрочной вербальной памяти человека. // Доклады АН СССР. – 1978. - Т. 243, № 1. - С. 258-260.

82. Раева С.Н., Вайнберг Н.А., Тихонов Ю.Н., Лукашев А.О. Анализ данных микроэлектродного изучения импульсной активности некоторых ядер таламуса. // Физиология человека. – 1982. - Т. 8, № 5. - С.734-745.

83. Раевский В.В. Реорганизация функциональных систем в онтогенезе // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2002. Т. 38. № 5. С. 502-506.

84. Раевский В.В., Александров Л.И., Воробьева А.Д., Корнеева Е.В., Кудряшов И.Е., Кудряшова И.В., Пигарева М.Л., Ситникова Е.Ю., Сташкевич И.С. Сенсорная информация - важный фактор онтогенеза. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 1997. Т. 47. № 2. С. 299-307.

85. Раппопорт С.Ш., Вебер Н.В., Силькис Н.Г. Длительные изменения возбудимости нейронов пирамидного тракта у кошек. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1984. - Т. 34, № 3. - С.572-574.

86. Сафразьян Ю.Р., Михайлова Н.П., Горкин А.Г., Александров Ю.И. Динамика мозговой активности при адаптации к невозможности внешней реализации элемента индивидуального опыта // Российский психологический журнал. – 2019. - Т. 16, №2/1. - С.

60-75. doi:10.21702/rpj.2019.2.1.5

87. Сварник О.Е., Анохин К.В., Александров Ю.И. Распределение поведенчески специализированных нейронов и экспрессия транскрипционного фактора c-Fos в коре головного мозга крыс при научении. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 2001. - Т.51, № 6. - С. 758–761.

88. Сварник О.Е., Анохин К.В. и Александров Ю.И. Опыт первого, «вибриссного», навыка влияет на индукцию экспрессии c-fos в нейронах бочонкового поля соматосенсорной коры крыс при обучении второму, «невибриссному», навыку. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 2014. – Т.64, №1. – С. 77-83.

89. Созинов А.А., Гринченко Ю.В., Казымаев С.А., Александров Ю.И. Показатели стабильности и динамики мозгового обеспечения нового поведения // В сб.: Нелинейная динамика в когнитивных исследованиях. Труды 1V Всероссийской конференции, Нижний Новгород ИПФ РАН. – 2015. - С. 220-222.

90. Соколов Е.Н. Перспективы развития психофизиологии. // Психологический журнал. – 1982. - Т. 3, № 4. - С. 84-94.

91. Соколов Е.Н. Теоретическая психофизиология. - М., Изд. Моск. Гос. Универ. – 1986. -107 с.

92. Соколов Е.Н. Нейрофизиологические механизмы сознания // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1990. - Т. 40, №6. - С. 1049-1052.

93. Соколов Е.Н. Перцептивный, мнемический и семантический уровни субъективного отображения // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1993. - Т. 43, №2. - С. 228-231.

94. Судаков К.В. Системогенез поведенческого акта // В кн.: Механизмы деятельности мозга. М. Госнаучтехиздат. - 1979. - С. 88.

95. Судаков К.В. Рефлекс и функциональная система. // НовГУ им. Ярослава Мудрого. – Новгород. - 1997. - 399 с.

96. Ганджи Дж., Эвартс Э. В. Установочная активность нейронов двигательной коры, связанная с направлением намеренного движения. // В кн.: Функциональное значение электрических процессов головного мозга. М., Наука. – 1977. - С. 218-225.

97. Фанарджан В.В., Манвелян Й.А. Особенности представления кожной чувствительности в красном ядре кошки. // Физиологический журнал СССР. – 1976. - Т.62, № 4. - С. 499-509.

98. Хайнд Р. Поведение животных. - М., Мир, 1975, - 855 с.

99. Хаютин С.Н., Дмитриева Л. П. Сенсорные факторы организаций поведения птиц в онтогенезе. // В кн.: Сенсорные системы. Сенсорное взаимодействие. Протезирование. Л., Наука. – 1983. - С. 69-83.
100. Хаютин С.Н., Дмитриева Л.П. Развитие слуховой чувствительности и организация акустически направляемого поведения незрелорождающихся птиц. // В кн.: Роль сенсорного притока в созревании функций мозга. М., Наука. – 1987. - С. 188-193.
101. Хофман И. Активная память. М., Прогресс, 1986. – 308 с.
102. Цитоловский Л.Е. Нетоксичный способ блокирования обучения нейрона путем вмешательства в механизм памяти. // В кн.: Нейроны в поведении: системные аспекты. М., Наука. - 1986. - С. 278-286.
103. Чистова Ю.Р., Ивлиева Н.П., Горкин А. Г. (2018). Изменения поведенческих показателей в ситуации невозможности внешней реализации элемента индивидуального опыта. // В: Е. В. Лосева, А. В. Крючкова, Н. А. Логинова (ред.), Нейронаука для медицины и психологии: XIV Международный междисциплинарный конгресс. Судак, Крым, Россия; 30 мая – 10 июня 2018 г.: Труды Конгресса. М.: МАКС Пресс. - 2018. - С. 518–519
104. Швырков В.Б. Нейрональные механизмы обучения как формирование функциональной системы поведенческого акта // В кн.: Механизмы системной деятельности мозга. Горький. - 1978. - С. 147.
105. Швырков В.Б. Системные механизмы «целевой» детерминации поведения. // Психологический журнал. – 1980. - Т.1, № 2. - С. 133-137.
106. Швырков В.Б. О единстве физиологического и психического в поведении // Психологический журнал. – 1981. - Т. 2, № 2. - С. 19-32.
107. Швырков В.Б. Цель как системообразующий фактор в поведении и обучении. // В кн.: Нейрофизиологические механизмы поведения. — М., Наука. – 1982. - с. 164-185.
108. Швырков В.Б. На пути к психофизиологической теории поведения. // Психологический журнал. – 1982. - Т. 3, № 2. - с. 70-88.
109. Швырков В.Б. Психофизиологическое изучение структуры субъективного отражения. // Психологический журнал. – 1985. - Т. 6, № 3. - С. 22-37.
110. Швырков В.Б. Изучение активности нейронов как метод психофизиологического исследования поведения // Нейроны в поведении: системные аспекты. М., Наука. - 1986. - С. 6-25.
111. Швырков В.Б. Что такое нейрональная активность и ЭЭГ с позиций системно-эволюционного подхода, // В кн.: ЭЭГ и нейрональная активность в психофизиологических исследованиях, М., Наука. – 1987. - С.5-24.

112. Швырков В.Б. Системно-эволюционный подход к изучению мозга, психики и сознания // Психологический журнал. - 1988. - Т. 9. № 4. – С. 132-147.
113. Швырков В.Б. Введение в объективную психологию. Нейрональные основы психики. М., Институт психологии РАН, 1995. – 162 с.
114. Швыркова Н.А. Активность нейронов зрительной области коры при изменении пространственной организации среды. // В кн.: Мозг и психическая деятельность М., Наука. – 1986. - С. 175-184.
115. Швыркова Н.А. Активность нейронов коры и гиппокампа в обучении. // В кн.: Нейроны в поведении: системные аспекты. М., Наука. – 1986. - С. 253-269.
116. Шевелев И.А. Пластичность специализированных детекторных свойств нейронов зрительной коры. // В кн.: Сенсорные системы, Л, Наука. – 1977. - С. 20-36.
117. Шевелев И.А., Вердеревская Н.Н., Марченко В. Г. Полная перестройка детекторных свойств нейронов зрительной коры кошки в зависимости от условий адаптации. // Доклады АН СССР. - Т. 217, № 2. - 1974, С. 493-496.
118. Шевко Г.Н., Бакланова Н.Ф. Динамика импульсной активности нейронов ассоциативной коры бодрствующей кошки при выработке и упрочении оборонительного условного рефлекса. // Нейрофизиология. - 1978. - Т.10, № 6. - С. 563-572.
119. Шевченко Д.Г. О поведенческой специализации нейронов коры и гипоталамуса у кроликов // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 1987. - Т. 37, № 5. - С. 914-921.
120. Шевченко Д.Г., Александров Ю.И., Гаврилов В.В., Горкин А.Г., Гринченко Ю.В. Сопоставление активности нейронов различных областей коры в поведении // Нейроны в поведении: системные аспекты / Под ред. В.Б.Швыркова. М.: Наука. - 1986. - С. 25–35.
121. Шерстнев В.В., Грудень М.А., Александров Ю.И., Сторожева З.И., Голубева О.Н., Прошин А.Т. Различные популяции нейронов релевантных структур мозга крыс избирательно вовлекаются в обеспечение процессов долговременной пространственной памяти // Нейрохимия. – 2013. - Т. 30, № 4. – С. 314 – 320
122. Шерстнев В.В., Юрасов В.В., Сторожева З.И., Грудень М.А., Прошин А.Т. Нейрогенез и апоптоз в зрелом мозге при формировании и упрочении долговременной памяти // Нейрохимия. 2010. Т. 27. № 2. С. 130-137.
123. Шулейкина К.В. Врожденное и приобретенное в поведении развивающегося организма. // В кн.: Соотношение биологического и социального в человеке, М., Наука. – 1975. - С. 335-347.
124. Шулейкина К.В. Консолидация функций в онтогенезе и проблема командных нейронов. // В кн.: Системогенез. М., Медицина. – 1980. - С. 123-139.

125. Шулейкина К.В., Хаютин С.Н. Развитие теории сестемогенеза на современном этапе // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 1989. - Т. 39, №1. - С. 3-19.
126. Шумская И. А., Корочкин Л.И. Исследование интенсивности синтеза РНК гиппокампа крыс во время обучения. // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 1975. - Т. 25, № 4. - С. 778-783.
127. Эвартс Э. В. Взаимосвязь между активностью моторной коры, плавным движением и фиксацией позы. // В кн.: Механизмы формирования и торможения условных рефлексов, М. Наука. - 1973. - С. 141-162.
128. Abrams J.M., White K., Fessler L.I., Steller H. Programmed cell death during *Drosophila* embryogenesis. // *Development*. - 1993. - V. 117. - P. 29-43.
129. Aiello G., Bach-y-Rita P. The cost of an action potential. // *J. Neurosci Methods*. - 2000. - 103. - P. 145-149.
130. Ainge J.A., Tamosiunaite M., Wörgötter F., Dudchenko P.A. Hippocampal place cells encode intended destination, and not a discriminative stimulus, in a conditional T-maze task. // *Hippocampus*. - 2012. - V. 22, N3. - P. 534-43. doi: 10.1002/hipo.20919. Epub 2011 Mar 1.
131. Alexandrov I.O., Maksimova N.E. Cognition, subjective experience and slow brain potentials: a preliminary report // In: *Psychophysiology of cognitive processes* / Ed. V.B.Shvyrkov. Moscow. - 1988. - P.32-41.
132. Alexandrov Yu.I. The subject of behavior and dynamics of its states. // *Russian Psychological Journal*. - 2018. - V. 15 N 2/1. - P.131-150. doi: 10.21702/rpj.2018.2.1.8
133. Alexandrov Yu.I., Alexandrov I.O. Specificity of visual and motor cortex neurons activity in behavior // *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. - 1982. - V.42, N. 6. - P. 457-468.
134. Alexandrov Yu.I., Grechenko T.N., Gavrilov V.V., Gorkin A.G., Shevchenko D.G., Grinchenko Yu.V., Alexandrov I.O., Maksimova N.E., Bezdenezhnykh B.N., Bodunov M.V. Formation and realization of individual experience in humans and animals: a psychophysiological approach. // In: R.Miller, A.M.Ivanitsky & P.M.Balaban (eds) *Conceptual advances in brain research. Vol.2. Complex brain functions. Conceptual advances in Russian neuroscience*. Harwood Academic Publishers. - 2000. - P. 181-200,
135. Alexandrov Yu. I., Grinchenko Yu. V., Jarvilehto T. Change in the pattern of behavioral specialization of neurons in the motor cortex of the rabbit following lesion of the visual cortex. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1990; 139: 371-385.
136. Alexandrov Yu.I., Grinchenko Yu.V., Laukka S., Jarvilehto T., Maz V.N. Acute effects of alcohol on unit activity in the motor cortex of freely moving rabbits: comparison with the limbic cortex // *Acta physiol. Scand*. - 1991. - V.142. N3. - P. 429-435

137. Alexandrov Yu.I., Grinchenko Yu.V., Laukka S., Jarvilehto T., Maz V.N., Korpusova A.V. Effect of ethanol on hippocampal neurons depends on their behavioral specialization // *Acta physiol. Scand.* – 1993. - V.149. - P. 105-115
138. Alexandrov Yu.I., Grinchenko Yu.V., Laukka S., Järvillehto T., Maz V.N., Svetlaev I.A. Acute effect of ethanol on the pattern of behavioral specialization of neurons in the limbic cortex of the freely moving rabbit. // *Acta Physiol. Scandinavica.* - 1990. – V.140. – P. 257–268.
139. Alexandrov Yu.I., Grinchenko Y.V., Shevchenko D.G., Averkin R.G., Matz V.N., Laukka S., Korpusova A.V. A subset of cingulate cortical neurons is specifically activated during alcohol-acquisition behavior // *Acta Physiologica Scandinavica.* - 2001. - V. 171, № 1. - P. 87-97.
140. Alexandrov Y.I., Klucharev V., Sams M. Effect of emotional context in auditory-cortex processing // *International Journal of Psychophysiology.* 2007. V. 65. № 3. P. 261-271.
141. Alexandrov Yu.I., Sozinov A.A., Svarnik O.E., Gorkin A.G., Kuzina E.A., Gavrilov V.V. Neuronal bases of systemic organization of behavior. // *Advances in Neurobiology.* - 2018. - V. 21. - P. 1-33.
142. Amunts K., Morosan P., Hilbig H., Zilles K. Auditory system: cyto-, myelo-, and receptor architecture of the auditory cortex. // In: Mai J.K., Paxinos G. (eds) *The human nervous system*, 3rd edn. Elsevier Academic Press, San Diego. - 2012. – P. 1257–1287.
143. Aou S. Нейронная активность префронтальной коры обезьян в процессе мотивационного поведения и влияние фармакологических веществ. // *Фукуока игаку дзасси. Fukuoka acta med.* – 1982. - v. 73, N 6. - P. 308-327 японск., резюме англ.
144. Aou S., Oomura Y., Nishino H., Lenard L., Mina-Mi T., Misaki H., Inokuchi A. Role of regulatory substances on the monkey lateral hypothalamic neuron activity during feeding behavior. // *Neurosci. Lett.* -1983. - Suppl, 13. - S 19.
145. Aou S., Oomura Y., Lenard L., Nishino H., Ynokuda A., Minami T., Misaki H. Behavioral significance of monkey hypothalamic glucose-sensitive neurons. // *Brain Res.* - 1984. - V. 302. - P. 69-74.
146. Araki T., Kato H., Kogure K. Selective neuronal vulnerability following transient cerebral ischaemia in the gerbil: distribution and time course. // *Acta Neurol. Scand.* – 1989. - V. 80. - P. 548-553.
147. Aroniadou V.A., Teyler T.J. The role of NMDA receptors in long-term potentiation (LTP) and depression (LTD) in rat visual cortex. // *Brain Res.* – 1991. - Oct 18; - V.562, N1. – P.:136-43. doi: 10.1016/0006-8993(91)91197-9.
148. Artola A., Singer W. Long-term potentiation and NMDA receptors in rat visual cortex // *Nature.* - 1987. - V. 330. - P. 649-652.

149. Artola A., Singer W. The Involvement of N-Methyl-D-Aspartate Receptors in Induction and Maintenance of Long-Term Potentiation in Rat Visual Cortex. // *Eur. J. Neurosci.* – 1990. – V.2. – P. 254 -269. doi: 10.1111/j.1460-9568.1990.tb00417.x.
150. Bakin J.S., South D.A., Weinberger N.M. Induction of receptive field plasticity in the auditory cortex of the guinea pig during instrumental avoidance conditioning. // *Behav. Neurosci.* – 1996. – V. 110. – P. 905-913.
151. Bao S., Chan V.T., Merzenich M.M. Cortical remodeling induced by activity of ventral tegmental dopamine neurons. // *Nature.* – 2001. - V. 412. - P. 79-83.
152. Bao S., Chan V.T., Merzenich M.M. Suppression of cortical representation through backward conditioning. // *PNAS.* – 2003. - V. 100. - P. 1405-1408.
153. Bao S., Chang J.D., Gobeske K.T., Merzenich M.M. Progressive degradation and subsequent refinement of acoustic representations in the adult auditory cortex. // *J. of Neurosci.* – 2003. – V. 23, N34. - P. 10765-10775.
154. Barbour D. L. and Wang X. Auditory Cortical Responses Elicited in Awake Primates by Random Spectrum Stimuli. // *The Journal of Neuroscience*, August 6. – 2003. – V.23, N18. – P. 7194 –7206.
155. Barnes T.D., Kubota Y., Hu D., Jin D.Z., Graybiel A.M. Activity of striatal neurons reflects dynamic encoding and recoding of procedural memories. // *Nature Letters.* – 2005. - V. 437. - P. 1158-1161.
156. Barnes C.A., McNaughton B.L., Mizumori S.J.Y., Leonard B.W., Lin L. Comparison of spatial and temporal characteristics of neuronal activity in sequential stages of hippocampal processing. // In: *Progress in brain research.* V. 83, J. Storm-Mathisen, J. Zimmer and O.P. Ottersen (Eds.). Elsevier Science Publishers B.V. – 1990. - P. 287-300.
157. Barnes C.A., Suster M.S., Chen J., McNaughton B.L. Multistability of cognitive maps in the hippocampus of old rats. // *Nature.* - 1997. – V. 388, N6639. – P. 272–275.
158. Bashir Z.I., Bortolotto Z.A., Davies C.H., Berretta N., Irving A.J., Seal A.J., Henley J.M., Jane D.E., Watkins J.C., Collingridge G.L. Induction of LTP in the hippocampus needs synaptic activation of glutamate metabotropic receptors. // *Nature.* - 1993 May 27. – V. 363, N6427: - P. 347-50. doi: 10.1038/363347a0
159. Bateson P.G. Genes, evolution and learning. // In: *The biology of learning*, Eds Marler P., Terrace H.S. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokio/ - 1984. - P. 75-88.
160. Battaglia F.P., Sutherland G.R., Cowen S.L., McNaughton B.L., Harris K.D. Firing rate modulation: a simple statistical view of memory trace reactivation. // *Neural Networks.* – 2005. - V. 18. - P. 1280-1291.

161. Bliss T.V., Collingridge G.L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. // *Nature*. - 1993. Jan 7. – V. 361, N6407. – P. 31-9. doi:10.1038/361031a0.
162. Bondar I.V., Leopold D.A., Richmond B.J., Victor J.D., Logothetis N.K. Long-term stability of visual pattern selective responses of monkey temporal lobe neurons. // *PlosOne*. December 2009. - V.4, N12. - E8222. P. 1-10.
163. Bostock E., Muller E.U., Kubie J. Experience-dependent modifications of hippocampal place cell firing // *Hippocampus*. - 1991. - V. 1. - P. 193-205.
164. Braida D., Pozzi M., Sala M. CP 55,940 protects against ischemia-induced electroencephalographic flattening and hyperlocomotion in Mongolian gerbils. // *Neurosci. Lett.* – 2000. – V. 296. - P. 69-72.
165. Bramham C.R., Srebro B. Synaptic plasticity in the hippocampus is modulated by behavioral state. // *Brain Res.* - 1989 Jul 24. – V. 493, N1. – P. 74-86. doi: 10.1016/0006-8993(89)91001-9.
166. Brecht M., Fee M.S., Garaschuk O., Helmchen F., Margrie T.W., Svoboda K., Osten P. Novel approaches to monitor and manipulate single neurons in vivo. // *J Neurosci.* - 2004 Oct 20. – V. 24, N42. – P. 9223-7.
167. Britten, K.H., Shadlen, M.N., Newsome, W.T., Movshon, J.A. The analysis of visual motion: a comparison of neuronal and psychophysical performance. // *J. Neurosci.* – 1992. V. 12. – P. 4745-4765.
168. Brosch M., Schulz A., Scheich H. Processing of sound sequences in macaque auditory cortex: response enhancement. // *J Neurophysiol.* – 1999. – V. 82, N3. – P. 1542–1559
169. Brosch M., Scheich H. Tone-sequence analysis in the auditory cortex of awake macaque monkeys. // *Exp Brain Res.* – 2008. – V. 184, N3. –P.349–361
170. Brosch, M., Selezneva, E., Bucks, C., Scheich, H. Macaque monkeys discriminate pitch relationships. // *Cognition.* - 2004. – V.91. – P. 259-272.
171. Brosch M., Selezneva E., Scheich H. Nonauditory Events of a Behavioral Procedure Activate Auditory Cortex of Highly Trained Monkeys. // *The Journal of Neuroscience*, July 20. - 2005. – V. 25, N29. – P. 6797– 6806.
172. Brosch M., Selezneva E., and Scheich H. Representation of reward feedback in primate auditory cortex. // *Frontiers in Systems Neuroscience.* - 2011. - V. 5 Art. 5. – P. 1-12. doi: 10.3389/fnsys.2011.00005.
173. Buhry L., Azizi A.H., Cheng S. Reactivation, replay and preplay: how it might all fit together. // *Neural Plasticity.* – 2011. - Article ID 203462, 11 pages, doi:10.1155/2011/203462
174. Buser P. Higher functions of the nervous system. // *Ann. Rev. Physiol.* – 1976. - V.38 Palo Alto, Calif. - P. 217-245.

175. Burgard E.C., Hablitz J.J. Developmental changes in NMDA and non-NMDA receptor-mediated synaptic potentials in rat neocortex. // *Journal of Neurophysiology*. – 1993. - V. 69, N 1. - P. 230-240.
176. Burke S.N., Maurer A.P., Nematollahi S., Uprety A., Wallace J.L., Barnes C.A. Advanced age dissociates dual functions of the perirhinal cortex. // *J. Neurosci.* - 2014. – V.34, N2. – P. 467–480.
177. Buzsàki G., Freund T.F., Bayardo F., Somogyi P. Ischemiainduced changes in the electrical activity of the hippocampus. // *Exp Brain Res.* - 1989. – V. 78. – P. 268–278.
178. Caetano M.S., Horst N.K., Harenberg L., Liu B., Arnsten A.F.T., Laubach M. Lost in transition: aging-related changes in executive control by the medial prefrontal cortex. // *J. Neurosci.* - 2012. – V.32, N11. – P. 3765– 3777
179. Canedo A. Pericruciate cortex unit activity during intentional movement. Effect of subcortical electrical stimulation. // *Brain Res.* - 1982. - V. 247, N 2. - P. 269-276.
180. Carlson S., Hyvarinen L. Visual rehabilitation alter long lasting blindness. // *Acta ophthalmol (Copenh)*. – 1983. - N 61. - P. 701-713.
181. Casey K., Keene J. Unit analysis of the effects of motivating stimuli in the awake animal: pain and self-stimulation // In: *Brain unit activity during behavior*. Springfield. – 1973. - p. 115-128.
182. Changeux J., Courrege P., Danchin A. A theory of epigenesis of neuronal networks by selective stabilization of synapses. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1973. - V.70, N 10. - P. 2974-2978.
183. Changeux J., Heildman T., Platte P. Learning by selection. // In: *The biology of learnig*. Eds. Marler P., Terrace H.S., Springer-Verlag Berlin Heideberg New York Tokio. - 1984. - P. 115-134.
184. Chen L.L., Lin L-H., Green E.J., Barnes C.A., McNaughton B.L. Head-direction cells in the rat posterior cortex. // *Exp. Brain Res.* – 1994. - V. 101. - P. 8-23.
185. Cho J., Sharp P.E. Head direction, place, and movement correlates for cells in the rat retrjsplenic cortex. // *Behavioral Neuroscience.* – 2001. - V. 115, N. 1. - P. 3-25.
186. Cobie B., Porter R. «Premotor» area of the monkeys cerebral cortex: activity of neurons during performance of a visuomotor task. // *Proc. Austral. Physiol. and Pfarmacol. Soc.* – 1982. - V. 13, N 2. - p. 91-101.
187. Cotman C.W. Synaptic growth as a plasticity mechanism in tne brain. // In: *Neuronal mechanisms of goal-directed behavior and learning*. Acad. Press, 1980, P. 145-152.

188. Creutzfeldt O.D., Kuhnt V., Benevento L. An intracellular analysis of visual cortical neurons activity to moving stimuli: responses in a cooperative neuronal network. // *Exp. Brain Res.* – 1974. - V. 21, N 3. - P. 251-274.
189. Creutzfeldt O.D., Ojemann G., Lettich E. Single unit activity in the human temporal lobe during listening and speaking. // *Neurosci Lett. Supplement 22(1985) Abstracts of the 9th European Neuroscience Congress Oxford U.K. Sept. 8-12.* – 1985. – P. 83.
190. Cupello A., Hyden H. Studies on RNA metabolism in the nerve cells of hippocampus during training in rats. // *Exp. Brain Res.* – 1978. - V. 3, N 1. - P. 143-152.
191. Czajkovsky R., Jayaprakash B., Witgen B., Rogerson T., Gusman-Karlsson M.C., Barth A.L., Trachtenberg J.T., Silva A.J. Encoding and storage of spatial information in the retrosplenial cortex. // *PNAS.* – 2014. - V. 111, N. 23. - P. 8661-8666.
192. Delgado J.M. Sequential behavior induced repeatedly by stimulation of the red nucleus in free monkeys. // *Science.* - 1965. – V. 148, N3675, P.1361–1363
193. Dirnagl U., Thoren P., Villringer A., Sixt G., Them A., Einhüpl K.K. Global forebrain ischaemia in the rat: controlled reduction of cerebral blood flow by hypobaric hypotension and two-vessel occlusion. // *Neurol Res.* - 1993. – V.15, - P.128–130.
194. Di Pellegrino G., Fadiga L., Fogassi L., Gallese V., Riolatti G. Understanding motor events: a neurophysiological study. // *Experimental Brain Research.* – 1992. - V. 91. - P. 176-180.
195. Doty R.W. Are there neurons specialised for memory? // В кн.: Механизмы деятельности головного мозга, Тбилиси, Мецниереба. – 1975. - С. 51-63, англ. - P.51-63.
196. Dragoi G., Tonegawa S. Preplay of future place cell sequences by hippocampal cellular assemblies. // *Nature.* – 2011. - V. 469. - P. 397-401.
197. Dragoi G., Tonegawa S. Distinct preplay of multiple novel spatial experiences in the rat. // *PNAS.* – 2013. - V. 110, N. 22. - P. 9100-9105.
198. Dudai Y. Consolidation: Fragility on the road to the engram. // *Neuron.* – 1996. - V. 17. - P. 367-370.
199. Dudchenko P.A., Goodridge J.P., Taube J.S. The effects of disorientation on visual landmark control of head direction cell orientation. // *Exp Brain Res.* - 1997 Jun. – V. 115, N2. – P. 375-80. doi: 10.1007/pl00005707.
200. Dum R.P., Strick P.L. The origin of corticospinal projections from the premotor areas in the frontal lobe. // *J. Neurosci.* – 1991. - V. 11. - P. 667-689.
201. Dum R.P., Strick P.L. Cingulate motor areas. // In: *Neurobiology of cingulated cortex and limbic thalamus: a comprehensive handbook.* Eds. Vogt B.A. and Gabriel M. - 1993, Birkhauser, Boston. - P. 415-441.

202. Dunn A. Neurochemistry of learning and memory: an evaluation of recent data. // *Ann Rev. in Psychol.* – 1980. - N 31. - P. 340-390.
203. Dykes R.W., Lamour Y. An electrophysiological study of single somatosensory neurons in rat granular cortex serving the limbs: a laminar analysis. // *J Neurophysiol.* - 1988 Aug. – V. 60, N2. – P.703-24.
204. Eccles J.C. An instruction - selection theory of learning in the cerebellar cortex. // *Brain Res.* – 1977. - V. 127, N 2. - P. 327-352.
205. Edelman G.M. *Neural Darwinism: The theory of neuronal group selection.* New York: Basic Books. 1987. - 371 pp.
206. Eichenbaum H. Time cells in the hippocampus: a new dimension for mapping memories. // *Nature Reviews Neuroscience/* Published online 1 October 2014; doi:10.1038/nrn3827, P.1-22
207. Eichenbaum H. The role of the hippocampus in navigation is memory. // *J Neurophysiol.* - 2017 Apr 1. – V. 117, N4. – P. 1785-1796. doi: 10.1152/jn.00005.2017. Epub 2017 Feb 1.
208. Eichenbaum H., Dudchenko P., Wood E., Shapiro M., Tanila H. The hippocampus, memory, and place cells: is it spatial memory or a memory space? // *Neuron.* - 1999 Jun. – V. 23, N2. – P. 209-26. doi: 10.1016/s0896-6273(00)80773-4.
209. Etienne A.S., Jeffery K.J. Path integration in mammals // *Hippocampus.* – 2004. - V. 14. - P. 180-192.
210. Epsztein J., Brecht M., Lee A. Intracellular determinants of hippocampal CA1 place and silent cell activity in a novel environment. // *Neuron.* - 2011 April 14. – V. 70, N1. - P. 109-120.
211. Evarts E.V. Contrasts between activity of precentral and postcentral neurons of cerebral cortex during movement in the monkey // *Brain Res.* - 1972. - V. 40, N.1. - P. 25-31.
212. Evarts E.V. Motor cortex reflex associated with learned movements. // *Science.* – 1973. – V. 179, N 4072. - P. 501-503.
213. Fabre M., Rolls E., Ashton J., Williams G. Activity of neurons in the ventral tegmental region of the behaving monkey. // *Behav. Brain Res.* – 1983. - V. 9. - P. 213-235.
214. Feldman D.E., Brecht M. Map plasticity in somatosensory cortex. // *Science.* - 2005 Nov 4. – V. 310, N5749. – P. 810-815. Review.
215. Ferchmin P.A., Eterovic V. A. Four Hours of enriched experience are sufficient to increase cortical weight of rats. // *Society for Neuroscience.* - Abstracts 6. – 1980. - P. 857.
216. Fets E., Baker M. Operantly conditioned patterns of precentral unit activity and correlated responses in adjacent cells and contralateral muscles. // *J. Neuroph.* – 1973. - V. 36, N 2.

- P. 179- 204.

217. Finch D.M. Hippocampal, Subicular, and Entorhinal Afferents and Synaptic Integration in Rodent Cingulate Cortex // In: *Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus: A Comprehensive Handbook*, eds. Vogt B.A., Gabriel M., Springer Science+Business Media, LLC. – 1993. - P. 224-248, doi:10.1007/978-1-4899-6704-6

218. Finch D.M., Derian E.L., Babb T.L. Afferent fibers to rat cingulate cortex. // *Exp Neurol.* - 1984 Mar. – V. 83, N3, P. 468-85. doi: 10.1016/0014-4886(84)90116-x.

219. Fishman M., Michael C. Integration of auditory information in the cat's visual cortex. // *Vision Res.* – 1973. - V. 13. - P. 1415-1419.

220. Fortuna S., Pestalozza S., Lorenzini P., Bisso G.M., Morelli L., Michalek H. Transient global brain hypoxia-ischemia in adult rats: neuronal damage, glial proliferation and alterations in inositol phospholipid hydrolysis. // *Neurochem Int.* – 1997. – V. 31. - P. 563-569.

221. Foster J., Bauer R., Jervey J. Cellular discharge in the dorsolateral prefrontal cortex of the monkey in cognitive tasks. // *Exp. Neurol.* – 1982. - V. 7, N 3. - P. 679-694.

222. Foster D., Wilson M.A. Reverse replay of behavioral sequences in hippocampal place cells during the awake state // *Nature.* - 2006. - V. 440. - P. 680-683.

223. Fox K. The critical period for long-term potentiation in primary sensory cortex. // *Neuron.* – 1995, Sep. – V.15, N3. – P. 485-8. doi: 10.1016/0896-6273(95)90136-1.

224. Freund T.F., Buzsaki G., Prohaska O.J., Leon A., Somogyi P. Simultaneous recording of local electrical activity, partial oxygen tension and temperature in the rat hippocampus with a chamber-type microelectrode. Effects of anesthesia, ischemia and epilepsy. // *Neuroscience* – 1989. – V. 28. - P. 539-549.

225. Gabriel M. Discriminative Avoidance Learning: A Model System // In: *Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus: A Comprehensive Handbook*, eds. Vogt B.A., Gabriel M., Springer Science+Business Media, LLC. – 1993. - P. 478-526, doi:10.1007/978-1-4899-6704-6

226. Gabriel M., Sparenborg S.P. and Stolar N. Hippocampal Control of Cingulate Cortical and Anterior Thalamic Information Processing During Learning in Rabbits. // *Exp. Brain Res.* - 1987. –V.67. – P. 131-52. doi: 10.1007/BF00269462.

227. Gallese V., Fadiga L., Fogassi L., Rizzolatti G. Action recognition in premotor cortex. // *Brain.* – 1996. - V. 119. - P. 593-609.

228. Gantchev G. Neuronal activity in the sensorymotor cortex of monkey related to the preparation for performing movement. // *Activ. nerv. Super.* - 1978. - V. 20, N 3. - P. 195-202.

229. Gangloff H., Monnier M., Rabbit brain research atlas for stereotaxic brain research on the conscious rabbit. // In: *Rabbit Brain Research*, Vol. I, Elsevier, Amsterdam. - 1961. - P. 76-98

230. Gavrilov V.V., Grinchenko Yu.V., Alexandrov Yu.I. Behaviorally specialized limbic cortex neurons in rats and rabbits: comparative study. // *International Journal of Psychophysiology*. - 1998. – V.30. – P.130.
231. Gelbard-Sagiv H., Mukamel R., Harel M., Malach R., Fried I., Internally Generated Reactivation of Single Neurons in Human Hippocampus During Free Recall. // *Science* 03 Oct. – 2008. - Vol. 322. - Issue 5898. - P. 96-101 DOI: 10.1126/science.1164685
232. Gibson A.R., Houk J.C., Kohlerman N.J. Magnocellular red nucleus activity during different types of limb movement in the macaque monkey. // *J Physiol*. - 1985. – V. 358. – P.527–549
233. Gilbert R., Thach V. Purkinje cell activity during motor learning. // *Brain Res.* – 1977. - V.128, N 2. - P. 309-328.
234. Gillardon F., Kiprianova I., Sandkuhler J., Hossmann K-A., Spranger M. Inhibition of caspases prevents cell death of hippocampal CA1 neurons, but not impairment of hippocampal long-term potentiation following global ischemia. // *Neuroscience*. – 1999. – V. 93. - P. 1219-1222.
235. Gilman S. Mechanisms of cerebellar influence on motor control. // *26th Int. Congr. Physiol Sci.* - V. 10 New Delhi. – 1974. - P. 144-145.
236. Gorkin A.G., Shevchenko D.G. Distinctions in the neuronal activity of the rat limbic cortex under different training strategies. // *Neurosci. Behav. Physiol.* - 1991. – V. 21, N3. – P. 222-229.
237. Grace A.A. Regulation of spontaneous activity and oscillatory spike firing in rat midbrain dopamine neurons recorded in vitro. // *Synapse*. - 1991. – V.7, N3. – P.221–234
238. Gray C.M., Maldonado P.E., Wilson M., McNaughton B. Tetrodes markedly improve the reliability and yield of multiple singleunit isolation from multiunit recordings in cat striate cortex. // *J. Neurosci. Methods*. - 1995. – V. 63, N1–2. – P. 43–54.
239. Green D.M., Swets J.A. *Signal Detection Theory and Psychophysics*. Wiley, New York. 1966. – 455 p.
240. Greenberg P.A., Wilson F.A.W. Functional Stability of Dorsolateral Prefrontal Neurons. // *J Neurophysiol.* – 2004. - V. 92. - P. 1042–1055.
241. Griffin A.L., Eichenbaum H., Hasselmo M.E. Spatial representations of hippocampal CA1 neurons are modulated by behavioral context in a hippocampus-dependent memory task. // *Journal of Neuroscience*. - 2007 Feb 28. – V. 27, N9. – P. 2416-23. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4083-06.2007.
242. Grobstein P., Show K., Fox P. Development of receptive fields in rabbit visual cortex: changes time course due to delayed eye-opening. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1975. - V. 72, N 4. - P. 1543-1545.

243. Grobstein P., Show K., Spear P., Mathers L. Development of rabbit visual cortex: late appearance of a class of receptive fields. // *Science*. – 1973. - V. 180. - P. 1185-1187.
244. Groves P., Thompson R. Habituation: a dual-process theory. // *Psychol. Review*. – 1970. - V. 77, N 5. - P. 419-450.
245. Guyenet P.G., Aghajanian G.K. Antidromic identification of dopaminergic and other output neurons of the rat substantia nigra. // *Brain Res*. - 1978. – V. 150, N1. – P. 69–84
246. Guzowski J.F., Miyashita T., Chawla M.K., Sanderson J., Maes L.I., Houston F.P., Lipa P., McNaughton B.L., Worley P.F., Barnes C.A. Recent behavioral history modifies coupling between cell activity and Arc gene transcription in hippocampal CA1 neurons. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. - 2006 Jan 24. – V. 103, N4. – P.1077-82.
247. Halgren E., Babb T., Crandall P. Activity of human hippocampal formation and amigdala neurons during memory testing. // *Electroenceph. and Clinic. Neurophysiol.* – 1978. - V. 45, N 45. – P. 585-601.
248. Hampson R.E., Simeral J.D., Deadwyler S.A. Distribution of spatial and nonspatial information in dorsal hippocampus. // *Nature*. - 1999, 9 December. - V. 402. - P. 610-614.
249. Handel S. *Perceptual Coherence: Hearing and Seeing*. Oxford Univ Press. - 2006. – 492 p.
250. Harris K.D., Henze D.A., Csicsvari J., Hirase H., Buzsaki G. Accuracy of tetrode spike separation as determined by simultaneous intracellular and extracellular measurements. // *J. Neurophysiol.* - 2000. – V.84. – P. 401–414.
251. Harvey R., Poster R., Rawson J. The natural discharges of purkinje cells in paravermal regions of lobules V and VI of the monkey`s cerebellum. // *J. Physiol. (Gr. Brit.)*. – 1977. - V. 271, N 2. - P. 515-536.
252. Hayman R.N.A., Chakraborty S., Andersen M.I., Jeffery K.J. Context-specific acquisition of local discrimination by hippocampal place cells. // *European Journal of Neuroscience*. – 2003. - V. 18. - P. 2825-2834.
253. Hebb D.O. *The organization of behavior*. - New York, John Wiley and Son. – 1949. - 547 pp.
254. Hedberg T.G., Stanton P.K. Long-term potentiation and depression of synaptic transmission in rat posterior cingulate cortex // *Brain Res*. - 1995. - V. 670. - P. 181-196.
255. Hedberg T.G., Stanton P.K. Long-term plasticity in cingulate cortex requires both NMDA and metabotropic glutamate receptor activation // *Europ. J. Pharmacol.* - 1996. - V. 310. - P. 19-27.

256. Heit G., Smith M.E., Halgren E. Neural encoding of individual words and faces by the human hippocampus and amygdala. // *Nature*. - 1988 Jun 23. – V. 333, N6175. – P.773-5. doi: 10.1038/333773a0.
257. Held R., Hein A. Movement-produced stimulation in the development of visually guided behavior. // *J Comp.Physiol Psychol*. – 1963. - V. 56, N 6. – P. 872-876.
258. Henrich-Noack P., Gorkin A.G., Krautwald K., Pforte C., Schroder U.H., Reymann K.G. Tetanus-induced re-activation of evoked spiking in the post-ischemic dentate gyrus. // *Neuroscience*. – 2005. – V. 133. - P. 571-581.
259. Henze D.A., Borhegyi Z., Csicsvari J., Mamiya A., Harris K.D., Buzsáki G. Intracellular features predicted by extracellular recordings in the hippocampus in vivo. // *J Neurophysiol*. - 2000 Jul. – V.84, N1. – P.390-400.
260. Hoffmann D., Luschei E. Responses of monkey precentral cortical cells during a controlled jaw bite task. // *J. Neurophysiol*. – 1980. - V, 44, N 2. - P. 333-348.
261. Hoffman K.L., McNaughton B.L. Coordinated reactivation of distributed memory traces in primate neocortex. // *Science*. – 2002. - V. 297. - P. 2070-2073.
262. Hori N., Carpenter D.O. Functional and morphological changes induced by transient in vivo ischemia. // *Exp Neurol*. – 1994. – V. 129. - P. 279-289.
263. Horne M., Porter R. The discharges during movement of cells in the ventrolateral thalamus of conscious monkey. // *Physiol. (Gr. Brit.)*. – 1980. - V. 304. - P. 349-372.
264. Houk J.C., Gibson A.R., Harvey C.F., Kennedy P.R., van Kan P.L. Activity of primate magnocellular red nucleus related to hand and finger movements. // *Behav Brain Res*. - 1988. – V.28, N1–2. – P.201–206
265. Hubel D., Wiesel H. Receptive fields of single neurons in the cat's striate cortex. // *J. Physiol*. – 1959. - V.143, N 4. – P. 579-596.
266. Hubel D., Wiesel H. Receptive fields, binocular interactions and functional architecture in the cat's visual cortex. // *J. Physiol*. – 1962. - v. 160, N 1. – P. 106-118.
267. Huijbers W., Vannini P., Sperling R. A., Pennartz C.M., Cabeza R., Daselaar S.M. Explaining the encoding/retrieval flip: Memory-related deactivations and activations in the posteromedial cortex. // *Neuropsychologia*. - 2012. – V. 50, N14. – P. 3764–3774.
268. Hussar C., Pasternak T. Trial-to-trial variability of the prefrontal neurons reveals the nature of their engagement in a motion discrimination task. // *PNAS*, December 14. – 2010. - V. 107, N 50. - P. 21842-21847.
269. Hyvarinen J. Cellular mechanisms in the parietal cortex in alert monkey. // In: *Sens. Funct. Skin. Primates Spec. Ref. Man Proc. Int. Symp. Stockholm, 1976, Oxford e.a.* – 1976. - P. 241-259.

270. Huxter J., Burgess N., O'Keefe J. Independent rate and temporal coding in hippocampal pyramidal cells // *Nature*. – 2003. - V. 425. - P. 828-832.
271. Innocenti G., Flore L. Risposte intra- and extracellularly a stimoli in movimento nei neuroni dell'area corticale 17. // *Att. Accad. naz. Lincei. Rend. Cl. Sci. fic. mat. e natur.* – 1974. - V. 56, N 6. - P. 1004-1011.
272. Insel T.R., Miller L.P., Gelhard R.E. The ontogeny of excitatory amino acid receptors in rat forebrain. I. N-methyl-D-aspartate and quisqualate receptors. // *Neuroscience*. – 1990. - V. 35. - P. 31-43.
273. Irvine D.R. Acoustic input to neurons in feline red nucleus. // *Brain Res.* - 1980. – V.200, N1. – P. 169–173
274. Isaak J.T.R., Oliet S.H.R., Hjelmstad G.O., Nicoll R.A., Malenka R.C. Expression mechanisms of long-term potentiation in the hippocampus. // *J. Physiology (Paris)*. – 1996. - V. 90. - P. 299-303.
275. Isaak J.T., Crair M.C., Nicoll R.A., Malenka R.C. Silent synapses during development of thalamocortical inputs // *Neuron*. - 1997. - V. 18. - P. 269
276. Ito Snin-Ichi. Prefrontal unit activity of macaque monkeys during auditory and visual reaction time tasks. // *Brain Res.* – 1982. - V. 247, N 1. - P. 39-47.
277. Iwamura Y., Tanaka M. Functional organization of receptive fields in the cat somatosensory cortex. I: Integration within the coronal region. // *Brain Res.* - 1978 Jul 28. – V. 151, N1. – P. 49-60. doi: 10.1016/0006-8993(78)90949-6.
278. Izquierdo I. Role of NMDA receptors in memory. // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 1991. - V. 12. - P. 128-129. Doi: 10.1016/0165-6147(91)90527-y
279. Izquierdo I. Long-term potentiation and mechanisms of memory. // *Drug. Dev. Res.* - 1993. – V. 30. – P. 1-17.
280. Izquierdo I., Cammarota M., Medina J.H., Bevilacqua L.R.M. Pharmacological findings on the biochemical bases of memory process: a general view. // *Neural Plasticity*. – 2004. - V. 11, N 3-4. - P. 159-189.
281. Izquierdo I., Medina J.H., Bianchin M., Wals R., Zanatta M.S., Da Silva R.C., ... Paczko N. Memory processing by the limbic system: role of specific neurotransmitter systems. // *Behavioral Brain Research*. – 1993. - V. 58, N 1-2. - P. 91-98. Doi: 10.1016/0166-4238(93)90093-6
282. Jay T., Burette F., Laroche S. NMDA receptor-dependent long-term potentiation in the hippocampal afferent fibre system to the frontal cortex in the rat // *Europ. J. Neurosci.* - 1995. - V. 7. - P. 247-250.
283. Jeffery K.J., Anderson M.I. Dissociation of the geometric and contextual influences on place cells. // *Hippocampus*. – 2003. - V. 13. – P. 868-872.

284. Jeffery K.J., Donnett J.G., Burgess N., O'Keefe J.M. Directional control of hippocampal place fields // *Exp. Brain Res.* – 1997. – V. 117. - P. 131-142.
285. Jenkins H.M. The study of animal learning in the tradition of Pavlov and Thorndike // *The biology of learning.* / Eds. P. Marler and H.S. Terrace. – 1984 – P. 89-114.
286. Jervis B.W., Nichols M.J., Johnson T.E., Allen E., Hudson N.R. A fundamental investigation of the composition of auditory evoked potentials. // *IEEE Trans Biomed Eng.* – 1983. – V. 30, N1, - P. 43–50
287. Ji D., Wilson M.A. Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep // *Nature Neuroscience.* – 2007. - V. 10, N. 1. - P. 100-107.
288. Johnston T.P. Contrasting approaches to a theory of learning. // *Behav. and Brain Sci.* - 1981. - V. 4, N 1. - P. 125-173.
289. Jung M.W. and McNaughton B.L. Spatial selectivity of unit activity in the hippocampal granular layer. // *Hippocampus.* – 1993. - V. 3, N 2. - P. 165-182.
290. Kandel E.R. Small systems of neurons, // *Scientific American* – 1979. - V. 241, N 3. - P. 66-76.
291. Kandel E.R., Castellucci V. F. Cellular approaches to short and long—term memory and to nonassociative and associative learning. // *Psychiatry and Biol. Hum. Brain: Symp. Dedicated Seymour S. Kety., New York e.a.* – 1981. - P. 103-138.
292. Kelly J., Van Essen D. Cell structure and function in the visual cortex of the cat. // *J. Physiol. (Gr. Brit.).* – 1974. - V. 238, N 3. - P. 232-234.
293. Keene J.J., Casey K.L. Rewarding and aversive brain stimulation opposite effects on medial thalamic units. // *Physiol Behav.* - 1973 Feb. – V. 10, N2. – P. 283-7. doi: 10.1016/0031-9384(73)90311-9.
294. Kendrick K.M., Baldwin B.A. Cells in temporal cortex of conscious sheep can respond preferentially to the sight of faces. // *Science.* – 1987. - V. 236. - P. 448-450.
295. Kendrick K.M., Baldwin B.A. Visual responses of sheep temporal cortex cells to moving and stationary human images. // *Neuroscience Letters.* – 1989. - V. 100. - P. 193-197.
296. Kennedy P.R., Gibson A.R., Houk J.C. Functional and anatomic differentiation between parvocellular and magnocellular regions of red nucleus in the monkey. // *Brain Res.* - 1986. – V.364, N1. - P.124–136
297. Kentros G.C., Agnihotri N.T., Streater S., Hawkins R.D., Kandel E.R. Increased attention to spatial context increases both place field stability and spatial memory.// *Neuron.* – 2004. – V. 42. - P. 283-295.
298. Kilgard M.P., Merzenich M.M. Cortical map reorganization enabled by nucleus basalis activity. // *Science.* – 1998. - V. 279. - P. 1714-1718.

299. Kiprianova I., Sandkuchler J., Schwab S., Hoyer S., Spranger M. (1999) Brain-derived neurotrophic factor improves long-term potentiation and cognitive functions after transient forebrain ischemia in the rat. // *Exp Neurol.* – V. 159. - P. 511-519.
300. Kirino T. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. // *Brain Res.* – 1982. – V. 239. - P. 57-69.
301. Kirino T., Sano K. Fine structural nature of delayed neuronal death following ischemia in the gerbil hippocampus. // *Acta Neuropathol. (Berl)* – 1984. – V. 62. - P. 209-218
302. Knierim J.J., Kudrimoti H.S., McNaughton B.L. Interactions between idiothetic cues and external landmarks in the control of place cells and head direction cells. // *J Neurophysiol.* - 1998 Jul. – V. 80, N1. – P. 425-46.
303. Knight R., Hayman R. Allocentric directional processing in the rodent and human retrosplenial cortex. // *Frontiers in Human Neuroscience.* – 2014. - V. 8. - Article 135. Doi: 10.3389/fnhum.2014.00135
304. Kobayashi T., Nishijo H., Furuda M., Bures J., Ono T. Task-dependent representations in Rat hippocampal place neurons. // *J. Neurophysiol.* – 1997. - V. 78. - P. 597-613.
305. Kobayashi T., Tran A.H., Nishijo H., Ono T., Matsumoto G., Contribution of hippocampal place cell activity to learning and formation of goal-directed navigation in rats. // *Neuroscience.* – 2003. - V.117. – P. 1025–1035
306. Kojima S., Goldman-Rakic P.S. Delay-related activity of prefrontal units in rhesus monkeys performing delayed response. // *Brain Res.* – 1982. - V. 248, N 1. - P. 43-49.
307. Kopytova F.V., Krivitskaia G.N., Mednikova Iu.S. The morphofunctional characteristics of the neurons in the sensorimotor cortex of old rabbits during the trace assimilation of rhythm. // *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat.* - 1992. – V. 42, N4. – P. 710–719.
308. Kornblith C., Olds J. Unit activity in brain stem reticular formation of the rat during learning. // *J. Neurophysiol.* – 1973. - V. 36, N 3. - P. 489-501.
309. Kraskov A., Quiroga R.Q., Reddy L., Fried I., Koch C. Local field potentials and spikes in the human medial temporal lobe are selective to image category. // *Journal of cognitive neuroscience.* – 2007. - V.19, N.3. - P. 479-492
310. Kraus M., Schicknick H., Wetzell W., Ohl F., Staak S., Tishmeyer W. Memory consolidation for the discrimination of frequency-modulated tones in Mongolian gerbils is sensitive to protein-synthesis inhibitors applied to the auditory cortex // *Learning and Memory.* – 2002. - V. 9. - P. 293-303.
311. Kupferman I., Weiss K. The command neuron concept. // *Behav. and Brain Sci.* – 1978. - V. 1, N 1. - P. 3-39.

312. Kurtz P., Palfai T. Mechanisms in retrograde amnesia: a case for biogenic amines. // *Biobehav. Revs.* – 1977. - V. 1, N 1. - P. 25-33.
313. Kwan H., Mac Cay W., Murphy J., Wong Y. Distribution of responses to visual cues for movement in precentral cortex of awake primates. // *Neurosci. Lett.* – 1981. - V. 24, N 2. - P. 123-128.
314. Lamour Y., Dutar P., Jobert A., Dykes R.W. An iontophoretic study of single somatosensory neurons in rat granular cortex serving the limbs: a laminar analysis of glutamate and acetylcholine effects on receptive-field properties. // *J Neurophysiol.* - 1988 Aug. – V. 6, N2. – P. 725-50.
315. Lansink C.S., Goltstein P.M., Lankeima J.V., McNaughton B.L., Pennarts C.M.A. Hippocampus leads ventral striatum in replay of place-reward information. // *PLoS Biology.* – 2009. - V. 7. - Issue 8, e1000173, www.plosbiology.org
316. Laroche S., Jay T.M., Thierry A.M. Long-term potentiation in the prefrontal cortex following stimulation of the hippocampal CA1/subicular region // *Neurosci. Lett.* - 1990. - V. 114. - P.184-190.
317. Larsen K.D., Yumiya H. The red nucleus of the monkey. Topographic localization of somatosensory input and motor output. // *Exp Brain Res.* - 1980. – V. 40, N4. – P. 393–404
318. Leinonen L., Hyvarinen J., Nyman G., Linnankoski I.I. Functional properties of neurons in lateral part of associative area 7 in awake monkeys. // *Exp. Brain. Res.* – 1979. - V. 34, N 2. - P. 290-320.
319. Leinonen L., Nyman G. II Functional properties of neurons in anterolateral part of area 7 associative face area of awake monkeys. // *Exp. Brain Res.* – 1979. - V. 34, N 2. – P. 321-333.
320. Lemon R. Functional properties of monkey motor cortex neurones receiving afferent input from the hand and fingers. // *J. Physiol.* – 1981. - V. 311, N5. - P. 497-519.
321. Lemon R. Methods for neuronal recording in conscious animals. // *IBRO Handbook series. Methods in the neuroscience.* - 1984. – 162 p.
322. Lemon R., Porter R. Are there restricted input-output columns in monkey motor cortex? // *J. Physiol. (Gr. Brit.).* – 1976. - V. 258, N 2. - P. 109-110.
323. Lemon R., Porter R. Afferent input to movement-related precentral neurones in conscious monkeys. // *Proc. Roy. Soc. London,* - 1976. - B194. - P. 313-339.
324. Lever C., Wills T., Cacucci F., Burgess N., O’Keefe J. Long-term plasticity in hippocampal place cell representation of environmental geometry. // *Nature.* – 2002. - V. 416. - P. 90-94.

325. Liauw J., Wang G-D., Zhuo M. NMDA receptors contribute to synaptic transmission in anterior cingulate cortex of adult mice. // *Acta Physiologica Cinica*. – 2003. - V. 55, N 4. - P. 373-380.
326. Lin L., Chen G., Kuang H., Wang D., Tsien J.Z. Neural encoding of the concept of nest in the mouse brain. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2007. - Apr 3. – V. 104, N14. – P. 6066-71. doi: 10.1073/pnas.0701106104.
327. Logothetis N.K., Pauls J., Augath M., Trinath T., Oeltermann A. Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. // *Nature*. – 2001. - 412 pp.
328. Lovell J.M., Mylius J., Scheich H., Brosch M. Hearing in action; auditory properties of neurones in the red nucleus of alert primates. // *Front Neurosci*. - 2014. – V. 8. – P. 105
329. Louie K., Wilson M.A. Temporally structured replay of awake hippocampal ensemble activity during rapid eye movement sleep. // *Neuron*. – 2001. - V. 29, N 1. - P. 145-156.
330. Luber J., Schostal C., Peracnio A. Non-visual functions of visual cortex in the cat. // *Physiol. and Behav*. - 1967. - V. 2, N 2. - P. 179-184.
331. Luce R.D. Response times: Their role in inferring elementary mental organization. New York, Oxford: Oxford Univ. Press, Clarendon Press. - 1986. – 580 p.
332. Luppino G., Matelli M., Camarda R.M., Gallese V., Rizzolatti G. Multiple representations of body movements in mesial area 6 and the adjacent cingulate cortex: an intracortical microstimulation study in the macaque monkey. // *J Comp Neurol*. - 1991 Sep 22. – V. 311, N4. – P. 463-82. doi: 10.1002/cne.903110403.
333. Lynch J.C., Mountcastle V.B., Talbot W.H., Yin T.C. Parietal lobe mechanisms for directed visual attention. // *J. Neurophysiol*. – 1977. - V. 40, N 2. - P. 362-389.
334. MacLean P.D. Perspectives on cingulated cortex in the limbic system. // In: *Neurobiology of cingulated cortex and limbic thalamus: a comprehensive handbook*. Eds. Vogt B.A. and Gabriel M. Birkhauser, Boston. – 1993. - P. 1- 15.
335. MacLean P.D., Newman J.D. Role of midline frontolimbic cortex in production of the isolation call of squirrel monkeys. // *Brain. Res*. – 1988. - V. 45. - P. 111-123.
336. Manahan-Vaughan D., Reymann K.G. Metabotropic glutamate receptor subtype agonists facilitate long-term potentiation within a distinct time window in the dentate gyrus in vivo. // *J. Neurosci*. - 1996. – V. 74. – P. 723-31. doi: 10.1016/0306-4522(96)00162-5.
337. Manahan-Vaughan D., Reymann K.G. Group I metabotropic glutamate receptor contribute to slow-onset potentiation in the rat CA1 region in vivo. // *Neuropharmacology*. – 1997. – V. 36. - P. 1533-1538, doi: 10.1016/s0028-3908(97)00156-1.
338. Mandl G. The influence of visual pattern combinations responses of movement sensitive cells in the cat's superior colliculus. // *Brain Res*. – 1974. - V. 75, N 2. - P. 215-240.

339. Mao D., Neumann A.R., Sun J., Bonin V., Mohajerani M.H., McNaughton B.L. Hippocampus-dependent emergence of spatial sequence coding in retrosplenial cortex. // PNAS. – 2018. - V. 115, N 31. - P. 8015-8018.
340. Markus E., Qin Y., Leonard B., Skaggs W., McNaughton B., Barnes C. Interactions between location and task affect the spatial and directional firing of hippocampal neurons. // Journal of Neuroscience. – 1995. - V. 15. - P. 7079-7094.
341. Markowitch H., Pritzel M. Learning and the prefrontal cortex of the cat: anatomico-behavioral interrelations. // Physiol Psychol. – 1976. - V. 4, N 3. - P. 247-261.
342. Marler P., Terrace H. Introduction to the biology of learning. // In: The biology of learning, Eds. Marler P., Terrace H.S., Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokio. - 1984. - P. 1-14.
343. Martin L.J., Blackstone C.D., Huganir R.L., Price D.L. Cellular localization of a metabotropic glutamate receptor in rat brain. // Neuron. - 1992 Aug. – V. 9, N2. – P. 259-70. doi: 10.1016/0896-6273(92)90165-a.
344. Martin R.F., Bowden D.M. A stereotaxic template atlas of the macaque brain for digital imaging and quantitative neuroanatomy. // Neuroimage. – 1996. – V. 4, N2. – P. 119–150
345. Massion J., Albe-Fessard D. Duality of afferent sensory tracts controlling the activity of the red nucleus. // Electroencephalogr Clin Neurophysiol. - 1963. – V. 15. – P. 435–454
346. Mathers L., Show K., Spear P., Grobstein P. Ontogenesis of receptive fields in the rabbit striate cortex. // Exp. Brain Res. – 1974. - V. 19, N 1. - P. 20-35.
347. McMahon D.B.T., Bondar I.V., Afuwape O.A.T, Ide D.C., Leopold D.A. One month in the life of a neuron: longitudinal single-unit electrophysiology in the monkey visual system // J. Neurophysiol. - 2014. - V. 112. № 7. - P. 1748-1762.
348. McKenzie S., Frank A.J., Kinsky N.R., Porter B., Riviere R.D., Eichenbaum H. Hippocampal representation of related and opposing memories develop within distinct, hierarchically organized neural schemas. // Neuron. – 2014. - V. 83. - P. 202-215.
349. McKenzie S., Keene C., Favorik A., Blandon J., Place R., Komorovsky R., Eichenbaum H. Representation of memories in the cortical-hippocampal system: results from the application of population similarity analyses. // Neurobiology of Learning and Memory. – 2016. - DOI:10.1016/j.nlm.2015.12.008 Corpus ID: 3925325
350. McNaughton B. Cognitive cartography // Nature. – 1996. - V. 381. - P. 268-269.
351. McNaughton B.L., Barnes C.A., Gerrard J.L., Gothard K., Jung M.W., Knierim J.J., Kudrimoti H., Qin Y., Scaggs W.E., Suster M., Weaver K.L. Deciphering the hippocampal polyglot: the hippocampus as a path integration system // The Journal of Experimental Biology. – 1996. - V. 199. - P. 173-185.

352. Mehmet H., Yue X., Squier M.V., Lorek A., Cady E., Penrice J., Sarraf C., Wylezinska M., Kirkbride V., Cooper C., Brown G.C., Wyatt J.S., Reynolds E.O.R., Edwards A.D. Increased apoptosis in the cingulate sulcus of newborn piglets following transient hypoxia-ischaemia is related to the degree of high energy phosphate depletion during the insult. // *Neuroscience Letters*. – 1994. - V. 181. - P. 121-125.
353. Micheyl, C., Carlyon, R.P., Gutschalk, A., Melcher, J.R., Oxenham, A.J., Rauschecker, J.P., Tian, B., Courtenay Wilson, E.,. The role of auditory cortex in the formation of auditory streams. // *Hear. Res.* – 2007. – V. 229. – P. 116-131.
354. Miller A.M.P., Vedder L.C., Law L.M., Smith D.M. Cues, context, and long-term memory: the role of the retrosplenial cortex in spatial navigation. // *Frontiers in Human Neuroscience*. – 2014. - V. 8. - Article 586, doi: 10.3389/fnhum.2014.00586
355. Mizumori S .J., Lavoie A. M., Kalyani A. Redistribution of spatial representation in the hippocampus of aged rats performing a spatial memory task // *Behav Neurosci.* - 1996 Oct. – V. 110, N5. – P. 1006-16. doi: 10.1037//0735-7044.110.5.1006.
354. Mora F, Rolls E., Burton M. Modulation during learning of the responses of neurons in the lateral hypothalamus to the sight of food. // *Exp. Neurol.* – 1976. - V. 53, N 5. - P.508-519.
355. Movson J. Hypercomplexities in the visual cortex. // *Nature*. – 1978. - V. 72, N 5651. - P. 305-306.
356. Mountcastle V. Some neuronal mechanisms for directed attention. // In: *Cerebral correlates of conscious experience*, Amsterdam, N-Y, Oxford. – 1978. - P.37-54.
357. Mountcastle V., Lynch J., Georgopoulos A., Sakata M., Acuna C. Posterior parietal association cortex of the monkey: command functions of operations within extrapersonal space. // *J. Neurophysiol.* - 1975. - V. 38, N 4. - P. 871-908.
358. Mountcastle V. The evolution of ideas concerning the function of the neocortex. // *Cerebral Cortex*. – 1995. - V. 5, N 4. - P. 289-295, doi: 10.1093/cercor/5.4.289
359. Mulder A.B., Arts M.P., Lopes da Silva F.N. Long-term potentiation simultaneously elicited in: hippocampus, nucleus accumbens and prefrontal cortex // *Neurosci. Res. Commun.* – 1993. - V. 13. - Suppl. 1. - P. S11.
360. Muller R.U., Kubie J.L. The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. // *J. Neurosci.* – 1987. - V. 7. - P. 1951-1968.
361. Muller R.U., Kubie J.L., Ranck J.B. Spatial firing patterns of hippocampal complex-spike cells in a fixed environment. // *J. Neurosci.* – 1987. - V. 7. - P. 1935-1950.
362. Murphy J., Kwam H., Mac Kay W., Wong Y. Precentral unit activity correlated with angular components of a compound arm movement. // *Brain Res.* – 1982. - V. 246, N 1. - P.141-145.

363. Mylius J., Huang Y., Brosch M., Happel M.F.K., Gorkin A.G., Scheich H. Fast transmission from the dopaminergic ventral midbrain to the sensory cortex of awake primates. // *Brain Structure and Function*. - 2015. - V. 220. - № 6. - P. 3273-3294.
364. Neafsey E.J., Terreberry R.R., Hurley K.M., Ruit K.G., Fryszak R.J. Anterior Cingulate Cortex in Rodents: Connections, Visceral Control Functions, and Implications for Emotion. // In: *Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus: A Comprehensive Handbook*, eds. Vogt B.A., Gabriel M., Springer Science+Business Media, LLC. – 1993. - P. 206-223, doi:10.1007/978-1-4899-6704-6
365. Newman J., Lindsley D. Single unit analysis of auditory processing in squirrel monkey frontal cortex. // *Exp Brain Res*. – 1976. - V.25, N 2. – P. 169-181.
366. Niki H., Watanabe M. Cingulate unit activity and delayed response. // *Brain Res*. – 1976. - V.150, N 2. - P. 381-386.
367. Niki H., Watanabe M. Prefrontal and cingulated unit activity during timing behavior in the monkey. // *Brain Res*. – 1979. - V. 171. - P. 213-224.
368. Nishino H., Ono T., Fukuda M., Sasaki K., Muramoto K. Single unit activity in monkey caudate nucleus during operant bar pressing feeding behavior. // *Neurosci. Lett*. – 1981. - V.21. N1. - P. 105-109.
369. Ogren S., Fuxe K. Round table - Brain monoamines and behavior. The role of brain noradrenaline and the pituitary-adrenal axis in learning. // *Brain Res*. – 1977. - V. 127, N 2. – P. 372--373.
370. Ogren S., Ross S. Effects of reduced cerebral serotonin on learning. // *Brain Res*. – 1977. - V. 127, N 2. - P. 379-381.
371. Ohl F.W., Scheich H., Freeman W.J. Change in pattern of ongoing cortical activity with auditory category learning. // *Nature*. - 2001 Aug 1. – V. 412, N6848. – P. 733-6.
372. O'Keefe J. Place units in the hippocampus of the freely moving rat. // *Exp. Neurol*. – 1976. - V. 51, N 1. - P. 78-109.
373. O'Keefe J. A review of hippocampal place cells // *Progr. Neurobiol*. - 1979. - V. 13. - P. 419-439.
374. O'Keefe J. Do hippocampal pyramidal cells signal non-spatial as well as spatial information? // *Hippocampus*. – 1999. – V. 9, N4. – P. 352-64. doi: 10.1002/(SICI)1098-1063(1999)9:4<352::AID-HIPO3>3.0.CO;2-1.
375. O'Keefe J., Burgess N. Geometric determinants of the place fields of hippocampal neurons // *Nature*. – 1996. - V. 381. - P. 425-428.
376. O'Keefe J., Conway D. Hippocampal place units in the freely moving rats: why they fire, where they fire. // *Exp. Brain Res*. – 1978. - V.31, N 4. - P. 573-590.

377. O'Keefe J., Dostrovsky Y. Hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. // *Brain Res.* - 1971. - V.34, N 2. - P. 171-175.
378. O'Keefe J., Reece M. Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. // *Hippocampus.* - 1993. - V. 3. - P. 317-330.
379. O'Keefe J., Speakman A. The role of the hippocampal place cells in spatial memory. // *Neurosci Lett.* - 1985. - Supple N 21/ - P. 655.
380. Olds J. The behavior of hippocampal neurons during conditioning experiments. // In: *The neural control of behavior.* Eds Walleb R. E. et al, N-Y, Acad. Press. - 1970. - P. 257-274.
381. Olds J., Disterhoft J.K., Segal M., Kornblith C.L. Learning centers of rat brain mapped by measuring latencies of conditioned unit responses. // *J. Neurophysiol.* - 1972. - V. 35, N 2. - P. 202-211.
382. Olds J., Hirano T. Conditioned responses of hippocampal and other neurons. // *EEG & Clin. Neurophysiol.* - 1969. - V. 26, N 2. - P. 159-173
383. Olds J., Mink W., Best P. Single unit patterns during anticipatory behavior. // *EEG & Clin Neurophys.* - 1969. - V. 26, N 2. - P. 144-158.
384. Ono T., Nishino H., Sasaki K., Fukuda M., Muramoto K. Monkey lateral hypothalamic neuron response to sight of food and during bar press and ingestion. // *Neurosci Lett.* - 1981. - V. 21, N 1. - P. 99-104.
385. Ono T., Nishino H., Sasaki K. Fukuda., Muramoto K.I. Long-term behavior hypothalamic single unit analysis and feeding behavior in freely moving rats // *Neurosci. Lett.* - 1981. - V. 26. № 1. - P. 79-83.
386. Ono T., Nishino H., Sasaki K., Fukuda M. Unit activity in monkey dorsolateral prefrontal cortex in motivated bar press feeding behavior. // In: *Roc. of Inter. Union of Physiol. Sci.* - V.15, 29 congress. - 1983. - Sydney, Australia. - 1983. - P. 241.
387. Oomura Y. Neuronal mechanisms for feeding. // In: *Proc. Int. Union Physiol. Sci., 27th Int. Congr., Paris.* - 1977. - V. 12, Paris. - 1977. - P. 444.
388. Oomura Y., Shimisu N., Kita H., Inshizuka S., Aou S., Yoshimatsu H., Yamabe K. Monkey orbitofrontal cortex activity in high fixed ratio (FR) schedules for food intake. // *Nihon saigyaku dzussi, J Physiol., Soc. Jap.* - 1980. - V. 42, N 8-9. - P. 267-278.
389. Oppenheim R.W. Cell death during development of the nervous system. // *Annu Rev Neurosci.* - 1991. - V. 14. - P. 453-501.
390. Otero C.B., Canedo L.A. Red nucleus unitary activity during ballistic movements. Effect of cerebellar nuclei stimulation. // *Brain Res.* - 1982 - V. 248, N 2. - P. 387-391.

391. Otto T., Eichenbaum H., Wiener S.I., Wible C.G. Learning-related patterns of CA1 spike trains parallel stimulation parameters optimal for inducing hippocampal long-term potentiation. // *Hippocampus*. - 1991 Apr. – V. 1, N2. – P. 181-92. doi: 10.1002/hipo.450010206.
392. Pavlides C., Winson J. Influences of hippocampal cell firing in the awake state on the activity of these cells during subsequent sleep episodes. // *J. of Neurosci.* – 1989. - V. 9. - P. 2907-2918.
393. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Academic Press, Orlando, Florida. - 1986. – 256 p.
394. Pei L., Teves R.L., Wallace M.C., Gurd J.W. Transient cerebral ischemia increase tyrosine phosphorylation of the synaptic RAS-GTPase activating protein SynGAP. // *J Cereb Blood Flow Metab.* – 2001. – V. 21. - P. 955-963.
395. Pennarts C.M.A., Lee E., Verheul J., Lipa P., Barnes C.A., McNaughton B.L. The ventral striatum in off-line processing: ensemble reactivation during sleep and modulation by hippocampal ripples. // *The Journal of Neuroscience*. – 2004. - V. 24, N29. - P. 6446-6456.
396. Perrett D., Puerto A., Rolls E., Poper-Hall A., Thorpe S. Area 7 neurones do not respond only to desired objectas. // *J. Physiol. (Gr. Brit.)*. – 1978. - V. 284, N1. - P. 82-93.
397. Perret D.I., Mistlin A.J., Chitty A.J. Visual neurons responsive to faces. // *Trends Neurosci.* – 1987. - V. 10. - P. 358-364.
398. Perret D.I., Rolls E.T., Caan W. Visual neurones responsive to faces in the monkey temporal cortex. // *Exp. Brain Res.* – 1982. - V. 47. - P. 329-342.
399. Petito C.K., Feldmann E., Pulsinelli W.A., Plum F. Delayed hippocampal damage in humans following cardiorespiratory arrest. // *Neurology* – 1987. – V. 37. - P. 1281-1286.
400. Petralia R.S., Esteban J.A., Wang Y.X., Partridge J.G., Zhao H.M., Wenthold R.J., Malinov R.. Selective acquisition of AMPA receptors over postnatal development suggests a molecular basis for silent synapses // *Nat. Neurosci.* - 1999. - V. 2. - P. 31-36
401. Phillips M., Olds J. Unit activity: motivation-dependent responses from midbrain neurones. // *Science*. – 1969. - V. 165, N 3899. - P. 1269-1271.
402. Popper M.I., Eccles J.C. *The self and its brain*. Berlin. Springer. - 1977. - 588p.
403. Porrino L.J. Cortical mechanisms of reinforcement. // In: *Neurobiology of cingulated cortex and limbic thalamus: a comprehensive handbook*. eds. Vogt B.A. and Gabriel M., Birkhauser, Boston. – 1993. - P. 445-460.
404. Procyk E., Joseph J-P. Characterization of serial order encoding in the monkey anterior cingulate sulcus. // *European Journal of Neuroscience*. - 2001 Sep. - V. 14, N. 6. - P. 1041-1046.
405. Procyk E., Tanaka Y.L., Joseph J.P. Anterior cingulate activity during routine and non-routine sequential behaviors in macaques. // *Nat. Neurosci.* – 2000. - V. 3, N 5. - P. 502-508.

406. Quirk G.J., Muller R.U., Kubie J.L., Ranck J.B.Jr. The positional firing properties of medial entorhinal neurons: description and comparison with hippocampal place cells. // *The J. of Neurosci.* - May 1992. - V. 12, N5. - P. 1945-1963.
407. Quiroga R.Q., Kreiman G., Koch C., Fried I. Sparse but not 'grandmother-cell' coding in the medial temporal lobe. // *Trends Cogn Sci.* - 2008 Mar. - V. 12, N3. - P. 87-91
408. Quiroga R.Q., Mukamel R., Isham E.A., Malach R., Fried I. Human single-neuron responses at the threshold of conscious recognition. // *PNAS.* - March 4. - 2008. - V. 105, N. 9. - P. 3599-3604.
409. Quiroga R.Q., Reddy L., Koch C., Fried I. Decoding visual inputs from multiple neurons in the human temporal lobe. // *J. Neurophysiol.* - 2007. - V. 98. - P. 1997-2007, doi:10.1152/jn.00125.2007
410. Quiroga R.Q., Reddy L., Kreiman G., Koch C., Fried I. Invariant visual representation by single neurons in the human brain. // *Nature.* - 2005 Jun 23. - V. 435, N7045. - P. 1102-7
411. Raffin C.N., Harrison M., Sick T.J., Rosenthal M. EEG suppression and anoxic depolarization: influence on cerebral oxygenation during ischemia. // *J Cereb Blood Flow Metab.* - 1991. - V. 11. - P. 407-415.
412. Rahne T., Deike S., Selezneva E., Brosch M., König R., Scheich H., Böckmann M., Brechmann A. A multilevel approach towards neuronal mechanisms of streaming. // *Brain Res.* - 2008. - V. 1220. - P. 118-131.
413. Ralf M.C., Barres B.A., Burne J.F., Coles H.S., Ishizaki Y., Jacobson M.D. Programmed cell death and the control of cell survival: lessons from the nervous system. // *Science.* - 1993. - V. 262. - P. 695-700.
414. Ranck J.B. Studies on single neurons in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats. Part 1. Behavioral correlates and firing repertoires. // *Exp. Neurol.* - 1973. - V. 41, N 2. - P. 461-532.
415. Ranck J.B. Behavioral correlates and firing repertoires of neurons in the dorsal hippocampal formation and septum of unrestrained rats // In: *The Hippocampus*. Eds. Robert L. Isaacson, Karl H. Pribram - 1975. - N.Y. - V. 2. - P. 207-244.
416. Rasmusson D.D., Webster H.H., Dykes R.W. Neuronal response properties within subregions of raccoon somatosensory cortex 1 week after digit amputation. // *Somatosens Mot Res.* - 1992. - V. 9, N4. - P. 279-89.
417. Redish A. D., Battaglia F.P., Chawla M.K., Ekstrom A.D., Gerrard J.L., Lipa P., Rosenzweig E.S., Worley P.F., Guzowski J.F., McNaughton B.L., Barnes C.A. Independence of firing correlates of anatomically proximate hippocampal pyramidal cells. // *J Neurosci.* - 2001 Mar 1. - V. 21, N5. - RC134.

418. Rey H.G., Selway R.J., Ison M.J., Richardson M.P., Pedreira C., Valentin A., Alarcon G. and Quiroga R.Q. Single-cell recordings in the human medial temporal lobe. // *Journal of Anatomy*. – 2014. - doi: 10.1111/joa.12228
419. Reymann K.G., Staak S. // In: Protein kinase C in the CNS focus on neuronal plasticity. P.L. Canonico, U. Scapagnini, F. Pamparana and A. Routtenberg (eds.). Masson Press, Milano Italy. - 1994. - P. 7.
420. Riedel G., Casabona G., Reymann K.G. Inhibition of long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats by the metabotropic glutamate receptor antagonist MCPG. // *J Neurosci*. - 1995 Jan. – V. 15, N1 Pt 1. – P. 87-98. doi: 10.1523/JNEUROSCI.15-01-00087.1995.
421. Riedel G., Reymann K.G. Metabotropic glutamate receptors in hippocampal long-term potentiation and learning and memory. // *Acta Physiol. Scand*. 1996. May; 157(1): 1-19. doi: 10.1046/j.1365-201X.1996.484231000.x.
422. Rizzolatti G., Craighero L. The mirror-neuron system. // *Annu. Rev. Neurosci.* – 2004. - V. 27. - P. 169-192.
423. Robinson D., Baizer J., Dow B. Behavioral enhancement of visual responses of prestriate neurons of the rhesus monkey. // *Invest. Ophthalmol. and Visual Sci.* – 1980. - V. 19, N 9. - P. 1120-1123.
424. Rolls E., Burton M., Mora F. Hypothalamic neuronal responses associated with the sight of food. // *Brain Res.* – 1976. - V.111, N 1. - P. 53-66.
425. Rolls E., Poper-Hall A., Sanghera M. Activity of neurons in the substantia innominata and lateral hypothalamus during the initiation of feeding in the monkey. // *J. Physiol.* – 1977. - V. 172, N 1. – P. 24-32.
426. Rolls E., Roper-Hall A., Sanghera M. The latency of activation of neurons in the lateral hypothalamus and substantia innominata during feeding in the monkey. // *Brain Res.* – 1979. - V. 64, N1. - P. 121-135.
427. Rolls E., Caan A., Perrett D., Ryan S., Thorpe S., Wilson F. Neural processing related to sensory inputs, intermediate learning processes and the initiations of motor responses. // *Brain and Behav. Proc. 28th Int. Congr. Physiol. Sci. Budapest, 13-19 July.* – 1980. - Budapest Oxford. – 1981. - P. 233-237.
428. Romano C., Sesma M.A., McDonald C.T., O'Malley K., Van den Pol A.N., Olney J.W. Distribution of metabotropic glutamate receptor mGluR5 immunoreactivity in rat brain. // *J Comp Neurol*. - 1995 May 8. – V. 355, N3. – P. 455-69. doi: 10.1002/cne.903550310.
429. Rosenkilde C., Bauer R., Fuster J. Single cell activity in ventral prefrontal cortex of behaving monkeys. // *Brain Res.* – 1981. - V. 209, N 2. - P. 375-394.

430. Rosenzweig M. Evidence for anatomical and chemical changes in the brain during primary learning. // In: *The biology of learning*, Acad Press, New York-London. – 1970. - P. 69-85.
431. Rosenzweig M. Neuronal plasticity related to cognition. // In: *Psychophysiological approaches to human information processing*. North-Holland. – 1985. - P. 31-45.
432. Sala-Llonch R., Bartres-Faz D., Junque C. Reorganization of brain networks in aging: a review of functional connectivity studies. // *Front. Psychol.* - 2015. - V. 6. – P. 663. Doi 10.3389/fpsyg.2015.00663
433. Samson R.D., Venkatesh A., Patel D.H., Lipa P., Barnes C.A. Enhanced performance of aged rats in contingency degradation and instrumental extinction tasks. // *Behav. Neurosci.* - 2014. – V. 128, N2. – P. 122–133.
434. Sargolini F., Fyhn M., Hafting T., McNaughton B.L., Witter M.P., May-Britt Moser M-B., Edvard I. Moser E.I. Conjunctive Representation of Position, Direction, and Velocity in Entorhinal Cortex. // *Science.* - 05 May 2006. - Vol. 312. - Issue 5774. - pp. 758-762 DOI: 10.1126/science.1125572
435. Sawaguchi T., Goldman-Rakic P.S. D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. // *Science.* - 1991. – V. 251, N4996. – P. 947–950
436. Sawaguchi T., Goldman-Rakic P.S. The role of D1-dopamine receptor in working memory: local injections of dopamine antagonists into the prefrontal cortex of rhesus monkeys performing an oculomotor delayed-response task. // *J Neurophysiol.* – 1994. – V. 71. – P. 515–528
437. Sayers B.M., Beagley H.A., Henshall W.R. The mechanism of auditory evoked EEG responses. // *Nature.* – 1974. – V. 247, N5441. – P. 481–483
438. Schall J.D., Stuphorn V., Brown J.W. Monitoring and control of action by the frontal lobes. // *Neuron.* - 2002 Oct 10. – V. 36, N2. – P. 309-22. doi: 10.1016/s0896-6273(02)00964-9.
439. Schmitzer-Torbert N., Jackson J., Henze D., Harris K., Redish A.D. Quantitative measures of cluster quality for use in extracellular recordings. // *Neurosci.* – 2005. - V. 131. - P. 1-11.
440. Schoenbaum G., Setlow B., Saddoris M.P., Gallagher M. Encoding changes in orbitofrontal cortex in reversal-impaired aged rats. // *J. Neurophysiol.* - 2006. – V. 95, N3. – P. 1509–1517.
441. Schultz W., Aebischer P., Ruffieux A. the encoding of motor acts by the substantia nigra. // *Exp. Brain Res.* – 1983 - Suppl. 7. - P. 171-180.
442. Segal M. Flow of conditioned responses in ambic telencephalic system of the rat. // *J. Neurophysiol.* – 1973. - V. 36, N 6. - P. 840-851.
443. Segal M., Olds J. Behavior of units in hippocampal circuit of the rat during learning. // *J. Neurophysiol.* – 1972. - V. 35, N 5. - P. 680-695.

444. Selezneva E., Gorkin A., Mylius J., Noesselt T., Scheich H., Brosch M. Reaction times reflect subjective auditory perception of tone sequences in macaque monkeys. // *Hearing Research*. – 2012. - V. 294, N 1-2. - P. 133-142.
445. Selig D.K., Lee H.K., Bear M.F., Malenka R.C. Reexamination of the effects of MCPG on hippocampal LTP, LTD and depotentiation // *J. Neurophysiol.* – 1995. - V. 74. - P. 1075-1082.
446. Sem-Jacobsen C.W. Electrical stimulation and self-stimulation in man with chronic implanted electrodes. Interpretation and pitfalls of results. // In: *Brain-stimulation reward*, eds. Wauquier A., Rolls E.T., Amsterdam: North-Holland/Elsevier. – 1976. - P. 5505-5520.
447. Shaw G., Harth E., Scheibel A. Cooperativity in brain function assemblies of approximately 30 neurons. // *Exp. Neurol.* – 1982. - V. 77, N 2. - P. 324-358.
448. Sherstnev V.V., Gruden M.A., Alexandrov Yu.I., Storozheva Z.I., Golubeva O.N., and Proshin A.T. Different Populations of Neurons in Relevant Brain Structures Are Selectively Engaged in the Functioning of Long-Term Spatial Memory // *Neurochemical Journal*. – 2013. - V. 7, N4. - P. 278–283
449. Shevchenko D.G., Gavrilov V.V., Gorkin A.G. Behavioral specialization peculiarity of limbic cortex neurons in rabbit // *Proc. Int. Union Physiol. Sci.* - 1989. - V. 17. - P. 214.
450. Shi S.H., Hayashi Y., Petralia R.S., Zaman S.H., Wenthold R.J., Svoboda K., Malinow R. Rapid spine delivery and redistribution of AMPA receptors after synaptic NMDA receptor activation // *Science*. – 1999. - V. 284. - P. 1811-1816.
451. Shima K., Aya K., Mushiake H., Inase M., Aizawa H., Tanji J. Two movement-related foci in the primate cingulate cortex observed in signal-triggered and self-paced forelimb movements. // *J. Neurophysiol.* – 1991. - V. 65. - P. 188-202.
452. Shvyrkov V. Toward a psychophysiological theory of behavior. // In: *Psychophysiological Appr. to Hum. Inf. Processing*, Elsevier Science publishers B.V., North-Holland. – 1985. - P. 47-71.
453. Shvyrkov V. System-selection theory of learning. // In: *Human memory and cognitive capabilities. Mechanisms and Performance*. Eds. Klix F., Hagendorf. Elsevier Science publishers (North Holland). – 1986. - P. 599-611.
454. Shvyrkov V.B. Neurophysiological study of animals subjective experience // *Machinery of the mind*. Ed. R. John. Boston-Basel-Berlin: Birkhauser. - 1990. - P. 337–352.
455. Siegel J. Behavioral relations of medullary reticular formation cells. // *Exp. Neurol.* – 1979. - V. 65, N 3. - P. 691- 698.
456. Singer W. Requirements for experience dependent changes in the circuitry of cat visual cortex. // *Arch. Ital. Biol.* – 1978. - V. 116, N 3-4. - P. 393-401.

457. Singer W. Learning to see: mechanisms in experience-dependent development. // In: *The biology of learning*. Eds. Marler P., Terrace H.S., Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokio. - 1984. - P. 461-477.
458. Skaggs W.E., McNaughton B.L. Replay of neuronal firing sequences in rat hippocampus during sleep following spatial experience. // *Science*. – 1996. – V. 271. – P. 1870–1873.
459. Skaggs W.E., McNaughton B.L., Wilson M.A., Barnes C.A. Theta phase precession in hippocampal neuronal populations and the compression of temporal sequences. // *Hippocampus*. - 1996. – V. 6. – P. 149– 172.
460. Skaggs W.E., McNaughton B.L., Permenter M., Archibeque M., Vogt J., Amaral D.G., Barnes C.A. EEG sharp waves and sparse ensemble unit activity in the macaque hippocampus. // *J Neurophysiol*. - 2007 Aug. – V. 98, N2. – P. 898-910.
461. Smith D.M., Barredo J., Mizumori S.J.Y., Complimentary roles of the hippocampus and retrosplenial cortex in behavioral context discrimination. // *Hippocampus*. - 2012. – V. 22, N5. – P. 1121-1133.
462. Sokolov E.N. Brain functions: neuronal mechanisms of learning and memory. // In: *Annu. Rev. Psychol.* - Palo Alto Calif. – 1977. - V. 28. - P. 85-112.
463. Sorkin L., Morrow T., Casey K. Spinal cord unit activity: behaviorally related excitability changes in the awake cat. // *Pain*. – 1981. - V. 10, Supple N1. - P. 128-140.
464. Sparks D. Functional properties of neurons in the monkey superior colliculus: Coupling of neuronal activity and saccade onset. // *Brain Res.* – 1978. - V. 156, N1. - P. 1-16.
465. Spinsky D.N. OCCAM: A computer model for a content addressable memory in the central nervous system. // In: *Biology of memory*. Eds. Pribram K.H., Broadbent D.E. New York-London, Acad Press. - 1970. - P. 293-306.
466. Spinsky D.N. Neural correlates of visual experience in single units of cats visual and somatosensory cortex. // In: *Frontiers in Visual Science*. Eds Cool S., Smith E.L., Springer-Verlag, New York Heidelberg Berlin. – 1978. - P. 674-688.
467. Spinsky D., Hirsch H. Visual experience as a determinant of the response characteristics of cortical receptive fields in the cats. // *Exp. Brain Res.* – 1972. - V. 15, N 3. - P. 289-304.
468. Spinsky D., Starr A., Barrett T. Auditory specificity in unit recordings from cat's visual cortex. // *Exp. Neurol.* – 1968. - V. 22, N1. - P. 75-84.
469. Squire L.R., Cohen N.J., Zola-Morgan J.A. Preserved memory in retrograde amnesia: sparing of a recently acquired skill. // *Neuropsychologia*. – 1984. – V. 22, N2. – P. 145-52. doi: 10.1016/0028-3932(84)90057-5.

470. Squire L.R. *Memory and Brain*. NY: Oxford Univ. Press. - 1987. – 336 p.
471. Stein B., Magalhaes-Castro B., Kruger L. Relationship between visual and tactile representations in cat superior colliculus. // *J Neurophysiol.* – 1976. - V. 39, N 2. - P. 401-419.
472. Stevens M.K., Yaksh T.L., Hansen R.B. II, Anderson R.E. () Effect of pre-ischemia cyclooxygenase inhibition by zomepirac sodium on reflow, cerebral autoregulation and EEG recovery in the cat after global ischemia. // *J. Cereb Blood Flow Metab.* – 1986. – V. 6. - P. 691-702.
473. Svarnik O.E., Alexandrov Y.I., Gavrilov V.V., Grinchenko Y.V., Anokhin K.V. Fos expression and task-related neuronal activity in rat cerebral cortex after instrumental learning. // *Neuroscience.* – 2005. – V. 136, N1. – P. 33-42. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.07.038. Epub 2005 Sep 21.
474. Svarnik O. E., Anokhin K. V., Aleksandrov Y. I. Experience of a First, “Whisker-Dependent,” Skill Affects the Induction of c-Fos Expression in Somatosensory Cortex Barrel Field Neurons in Rats on Training to a Second Skill // *Neuroscience and Behavioral Physiology.* – 2015. – V. 45. – №. 6. – P. 724-727
475. Suyama K. Changes of neuronal transmission in the hippocampus after transient ischemia in spontaneously hypertensive rats and the protective effects of MK801. // *Stroke.* - 1992. – V. 23. – P. 260–266.
476. Szabo J., Cowan W.M. A stereotaxic atlas of the brain of the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). // *J Comp Neurol.* - 1984. – V. 222, N2. – P. 265–300
477. Tabuchi E., Furusawa A.A., Hori E., Umeno K., Ono T., Nishijo H. Neural correlates to action and rewards in the rat posterior cingulate cortex. // *Neuroreport.* - 2005. – V.16, N9. – P. 949–953.
478. Tanila H. Hippocampal place cells can develop distinct representations of two visually identical environments. // *Hippocampus.* – 1999. – V. 9, N3. – P. 235-46. doi: 10.1002/(SICI)1098-1063(1999)9:3<235::AID-HIPO4>3.0.CO; 2-3.
479. Terrace H.S. Animal learning, ethology and biological constraints. // In: *The biology of learning*. Eds. Marler P., Terrace H.S., Springer-Verlag Berlin Heideberg New York Tokio. - 1984. - P. 15-45.
480. Teyler T., Shaw C., Thompson R. Unit response to moving visual stimuli in the motor cortex of the cat. // *Science.* – 1972. - V. 176, N 4036. - P. 811-813.
481. Teyler T.J., Perkins A.T. 4th, Harris K.M. The development of long-term potentiation in hippocampus and neocortex. // *Neuropsychologia.* – 1989. – V. 27, N1. – P. 31-9. doi: 10.1016/0028-3932(89)90088-2.

482. Thompson R.F., Berger T. Physiological and anatomical mechanisms: neural basis of learning. // In: The biology of learning. Eds Marler P., Terrace H.S., Springer-Verlag, Berlin Heideberg NewYork Tokio. – 1984. - P. 479-508.
483. Thompson L.T., Best P.J. Long-term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats. // Brain Res. - 1990. - V. 509. - P. 299–308.
484. Thompson R.F. The search for the engram. // American Psychologist. – 1976. - V. 31, N 3. - P. 209-227.
485. Thorpe S., Rolls E., Maddison S. The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. // Exp. Brain Res. – 1963. - V. 49, N 1. - P. 93-115.
486. Tieman S. Effects of monocular deprivation on geniculocortical synapses in the cat. // J Comp Neurol. – 1984. - V. 222, N 2. - P. 166-176.
487. Toyama K. Neuronal connections and receptive field properties of cats visual area. // Nihon sairigaku dzussi, J Physiol. So. Jap. – 1975. - V. 37, N 11. - P. 368-369.
488. Ungar G. Molecular approaches to neural coding. // In: Phys. Principles Neur. and Organismic Behav. Pro. Conf. Coral Gables Univ. Miami, 1970, London e.a. – 1973. – P. 169-175.
489. Uzwiak A., Black I. Evidence for plasticity at the single neuron level in freely behaving rats // Abstr. Soc. Neurosci., 29/th Annual Meeting. Miami Beach, Fla. - 1999. - V. 25. - P. 462.
490. Van Essen D., Kelly J. Structural and functional proper ties of single cells in area 17 in the cat. // Acta physiol. scand. – 1973. - V.89, Supple 1, N 396. - P. 48-57.
491. Van Noorden, L.P.A.S., Temporal coherence in the perception of tone sequences. Ph.D. thesis, Eindhoven University of Technology. - 1975
492. Vertes R. Brain stem gigantocellular neurons: patterns of activity during behavior and sleep in the freely moving rat. // J. Neurophysiol. – 1979. - V. 42, N 1, Part 1. - P. 214-228.
493. Vogt B.A. Cingulate cortex // Cerebral cortex. V. 4, Eds. Peters A., Jons E.C. N.Y.: Plenum Press. – 1985. - P. 89-101.
494. Vogt B.A. Structural organization of cingulate cortex: areas, neurons, and somatodendritic transmitter receptors. // In: Neurobiology of cingulated cortex and limbic thalamus: a comprehensive handbook. eds. Vogt B.A. and Gabriel M., Birkhauser, Boston. – 1993. - P. 19-70.
495. Vogt B.A., Gabriel M., Vogt L.J., Poremba A., Jensen E.L., Kubota Y., Kang E. Muscarinic receptor binding increases in anterior thalamus and cingulate cortex during discriminative avoidance learning. // J Neurosci. - 1991 Jun. – V. 11, N6. – P. 1508-14. doi: 10.1523/JNEUROSCI.11-06-01508.1991.
496. Vogt B.A., Sikes R.W., Swadlow H.A., Weyand T.G. Rabbit cingulate cortex: cytoarchitecture, physiological border with visual cortex, and afferent cortical connections of visual,

motor, postsubicular, and intracingulate origin. // *J Comp Neurol.* - 1986 Jun 1. – V. 248, N1. – P. 74-94. doi: 10.1002/cne.902480106.

497. Voronin L. A study of cellular mechanism of conditioning. // *Activ. nerv. super.* – 1977. - V. 19, N 1. - P. 62-64.

498. Vroomen, J., Keetels, M., Perception of intersensory synchrony: a tutorial review. // *Atten. Percept. Psychophys.* - 2010. – V. 72. – P. 871-884.

499. Wang X., Lu T., Snider R. K., Liang L. Sustained firing in auditory cortex evoked by preferred stimuli. // *Nature.* - 19 May 2005. - V. 435. – P. 341-346.

500. Warren RA, Dykes RW. Population analysis of single neurons in cat somatosensory cortex. // *Somatosens Mot Res.* – 1992. – V. 9, N4. – P. 297-312.

501. Weible A.P., Rowland D.C., Pang R., Kentros C. Neural correlates of novel object and novel location recognition behavior in the mouse anterior cingulate cortex. // *J. Neurophysiol.* - 2009. – V. 102, N4. – P. 2055-68.

502. Wenzel J., Kammerer E., Joschko R., Joschko M., Kaufmann W., Kirsche W., Matthies H. Der einfluss eines lernexperimentes auf die synapsenzahl im hippocampus der ratte. // *Zeitschrift fur mikroskopisch-anatomische forschung.* – 1977. - V. 91, N1. - P. 57-73 (in German).

503. Wenzel J., Kammerer E., Frotscher M., Joschko R., Joschko M., Kaufmann W. Electronen-mikroskopische und morphmetrische untersuchungen an synapsen des hippocampus nach lernexperimenten bei der ratte. // *Zeitschrift fur mikroskopisch-anatomische forschung.* – 1977. - V. 91, N1. - P. 74-93 (in German).

504. Weible A.P., Rowland D.C., Pang R., Kentros C. Neural correlates of novel object and novel location recognition behavior in the mouse anterior cingulate cortex. // *J. Neurophysiol.* - 2009. – V. 102, N4. – P. 2055–68.

505. Wilsch V.W., Behnisch T., Jager T., Reymann, K.G., Balschun, D. When are class 1 metabotropic glutamate receptors necessary for long- term potentiation? // *J. Neurosci.* - 1998. - V. 18. - P. 6071-6080.

506. Wilson I.A., Ikonen S., Gureviciene I., McMahan R.W., Gallagher M., Eichenbaum H., Tanila H. Cognitive aging and the hippocampus: how old rats represent new environments. // *J. Neurosci.* - 2004. – V. 24, N15. – P. 3870–3878.

507. Wilson M.A., McNaughton B.L. Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. // *Science.* – 1993. - V. 261. - P. 1055-1058.

508. Wilson M.A., McNaughton B.L. Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. // *Science.* - 1994 Jul 29. – V. 265, N5172. – P. 676-679.

509. Wise S.P., Herkenham M. Opiate receptor distribution in the cerebral cortex of the rhesus monkey. // *Science.* – 1982. - V.218. - P. 387-389.

510. Viswanathan A., Freeman R.D. Neurometabolic coupling in cerebral cortex reflects synaptic more than spiking activity. // *Nature Neurosci.* – 2007. - V. 10, N. 10. - P.1308-1312.
511. Wallace P. Neurochemistry: unravelling the mechanism of memory. // *Science.* – 1975. - V. 190, N 4219. - P. 1076-1078.
512. Warren R.A., Dykes R.W. Population analysis of single neurons in cat somatosensory cortex. // *Somatosens Mot Res.* – 1992. – V. 9, N4. – P. 297-312.
513. Wong Y., Kwan H., Mac Cay W., Murpy J. Participation of precentral neurons in somatically and visually triggered movements in awake primates. // *Brain Res.* – 1982. - V. 247, N1. - P. 49-56.
514. Wong Y., Kwan H., Murpy J. Activity of precentral neurons during torquetriggered hand movements in awake primates. // *Can. J Physiol. And Pharmacol.* - 1979. - V. 57, N2. - P. 174-184.
515. Wong Y., Kwan H., Murpy J. Temporal characteristics of torquetriggered neuronal responses in primate precentral cortex. // *Can. J Physiol. and Pharmacol.* – 1980. - V.58, N 7. – P. 778-786.
516. Wood E.R., Dudchenko P.A., Eichenbaum H. The global record of memory in hippocampal neuronal activity. // *Nature.* - 1999, 18 February. – V. 397. - P. 613-616
517. Wood E.R., Dudchenko P.A., Eichenbaum H. Hippocampal neurons encode information about different types of memory episodes occurring in the same location. // *Neuron.* – 2000. - V. 27. - P. 623-633.
518. Yuan, J., Yankner, B. A. Apoptosis in the nervous system. // *Nature.* – 2000. – V. 407, N6805. – V. 802–809. doi:10.1038/35037739
519. Yue X., Mehmet H., Penrice J., Cooper C., Cady E., Wyatt J.S., Reynolds E.O.R., Edwards A.D., Squier M.V. Apoptosis and necrosis in the newborn piglet brain following transient cerebral hypoxia-ischaemia. // *Neuropathology and Applied Neurobiology.* – 1997. - V. 23. - P. 16-25.
520. Zanatta M.S., Schaeffer P.K., Schmits J.H., Medina J., Quevedo J.A., Quillfeldt J.A., Izquierdo I. Sequential involvement of NMDA-receptor dependent processes in hippocampus, amygdala, entorinal cortex and parietal cortex in memory processing. // *Behavioral Pharmacology.* – 1996. - V. 7. - P. 341-345
521. Zilles K., Palomero-Gallagher N., Grefkes C., Scheperjans F., Boy C., Amunts K., Schleicher A. Architectonics of the human cerebral cortex and transmitter receptor fingerprints: reconciling functional neuroanatomy and neurochemistry. // *Eur Neuropsychopharmacol.* - 2002. – V. 12, N6. – P. 587–599

522. Zinyuk L., Kubik S., Kaminsky Yu., Fenton A.A., Bures J. Understanding hippocampal activity by using purposeful behavior: place navigation induces place cell discharge in both task-relevant and task-irrelevant spatial reference frames. // PNAS. – 2000. - V. 97, N 7. - P. 3771-3776.