

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
РАБОТЫ

УДК 612.821.6+591.51+577.25

**ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ
ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ И АМИГДАЛЫ В УГАШЕНИИ ВЗДРАГИВАНИЯ
ПРИ ДЕЙСТВИИ УСЛОВНОГО СТИМУЛА, АССОЦИИРОВАННОГО
С ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ ПОДКРЕПЛЕНИЕМ**

© 2010 г. А. Т. Прошин^{1,*}, З. И. Сторожева¹, Ю. И. Александров², В. В. Шерстнев¹

¹ Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт
нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва

² Институт психологии РАН, Москва

С целью выявления нейрохимических механизмов, обеспечивающих действие условного стимула, ассоциированного с положительным подкреплением на амплитуду акустической стартл-реакции (АСР), исследовали влияние блокатора D2-рецепторов дофамина — сульпирида, введенного в медиальную префронтальную кору или базолатеральную амигдалу крыс во время повторной процедуры угашения вздрагивания. Показано, что изменение амплитуды АСР после увеличения освещенности при введении контрольной группе животных физиологического раствора как в префронтальную кору, так и в амигдалу зависит от предварительной процедуры выработки навыка на условный световой сигнал и имеет определенную динамику. Обнаружено, что блокада D2-рецепторов дофамина в медиальной префронтальной коре вызывает увеличение амплитуды АСР при предъявлении звукового сигнала сразу после изменения освещенности, нарушая процесс привыкания у животных, которые предварительно подвергались ассоциативному обучению. Введение сульпирида в базолатеральную амигдалу при увеличении освещенности не оказывало действия на динамику амплитуды АСР независимо от предварительной выработки положительной условной связи на свет. Экспериментальные данные свидетельствуют, что D2-рецепторы дофамина медиальной префронтальной коры, но не базолатеральной амигдалы вовлечены в процесс воспроизведения ранее сформированного на положительное подкрепление навыка в условиях текущего оборонительного поведения.

Ключевые слова: D2-рецептор дофамина, медиальная префронтальная кора, базолатеральная амигдала, обучение, акустическая стартл-реакция.

ВВЕДЕНИЕ

Исследование процессов воспроизведения следа памяти несомненно имеет теоретическую и практическую значимость. Одним из актуальных аспектов этой проблемы является изучение механизмов взаимодействия эмоциональных состояний различного знака на этапе воспроизведения.

В литературе имеются сведения о специфичности нейрофизиологических и нейрохимических механизмов участия медиальной префронтальной коры и амигдалы в воспроизведении различных видов оборонительного поведения [13, 15]. Показано также, что взаимодействие между указанными отделами мозга имеет принципиальное значение для угашения условного страха, опосредуя влияние стрессорных воздействий на этот процесс [4]. Однако нейрофизиологические и нейрохимические механизмы участия данных отделов мозга в воспроизведении положительных эмоциональных ассоциаций

на фоне доминирования оборонительной мотивации исследованы не были.

Одной из моделей, применяемых для исследований поведения, характеризующегося эмоциями разного знака, является модификация амплитуды реакции вздрагивания или стартл-реакции обстановочными стимулами. Эксперименты, проведенные на разных объектах, продемонстрировали различия в амплитуде и динамике угашения стартл-ответа при актуализации эмоциональных переживаний (положительных или отрицательных) с помощью фотографий или картинок у приматов и человека [7, 12]. При проведении исследований на лабораторных животных используются условные стимулы, на которые предварительно вырабатывалось поведение приближения или избегания [2, 10].

В настоящий момент имеется большое количество экспериментальных работ, посвященных исследованию нейрохимических механизмов модификации стартл-рефлекса (СР) в условиях действия стимулов, ассоциированных с отрицательным подкреплением [6].

* Адресат для корреспонденции: 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8; тел.: (495) 601-21-30; e-mail: proshin_at@mail.ru

В частности, показано, что префронтальная кора и амигдала принимают участие в процессе модификации СР, взаимодействуя с прилежащим ядром, гиппокампом и другими структурами [5]. При этом ведущая роль отводится дофаминергической системе мозга, которая имеет проекции в указанных структурах, из области вентральной покрышки [1]. Было обнаружено участие дофаминергической системы прилежащего ядра в модификации реакции вздрагивания сигналом, ассоциированным с пищевым подкреплением [11]. Показано также, что в реализации некоторых видов поведения приближения принимают участие D2-рецепторы дофамина [17, 19]. Однако участие и роль дофаминергических механизмов медиальной префронтальной коры и базолатеральной амигдалы в модификации оборонительного СР стимулом, вызывающим поведение приближения, до настоящего времени не изучены.

В связи с изложенным задачей данного исследования явилось выявление участия D2-рецепторов дофамина медиальной префронтальной коры и базолатеральной амигдалы в реализации акустической стартл-реакции при действии условного стимула, ассоциированного с положительным подкреплением.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были проведены на крысах-самцах линии Вистар ($n = 94$) весом 250–300 г с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Директиве Европейского сообщества (86/609/ЕС). Всех животных, находящихся в глубоком сне, после анестезии нембуталовым наркозом закрепляли в стереотаксисе, где через просверленные в черепе отверстия билатерально вводили изготовленный из нержавеющей стали направляющий полый зонд с ограничителем по высоте в базолатеральную амигдалу (AP + 3.8; L ± 0.8; H – 4.2), или в медиальную префронтальную кору (AP – 3.2; L ± 4.8; H – 8.7). Зонд фиксировался к черепу при помощи зубного цемента, после чего животное возвращалось в домашнюю клетку, и в течение последующих 12 ч находилось в условиях свободного доступа к пище и питью.

Следующие 48 ч животные подвергались пищевой депривации. По истечении данного срока крыс распределяли по четыре особи в экспериментальных клетках в специально оборудованном помещении и в течение 30 мин адаптировали к экспериментальной обстановке при освещенности 15 лк. Затем изменяли интенсивность света до 130 лк и на 10 мин обеспечивали свободный доступ к поилкам с водой, после чего одновременно со снижением интенсивности света до 15 лк поилки убирали на 10 мин. Процедуру сочетания света с питьем повторяли 6 раз. Через 24 ч проводили повторную процедуру обусловливания в аналогичном режиме. После двух дней обучения животные 48 ч содержались в усло-

виях свободного доступа к пище и воде. Далее крыс помещали в установку для регистрации вздрагивания на акустический стимул и после 5 мин адаптации к камере (140 × 100 × 160 мм), расположенной на платформе со встроенным тензодатчиком [16], предъявляли 20 звуковых стимулов интенсивностью в 110 дБ с интервалом 20 с при освещенности 15 лк. Звук предъявляли на фоне широкополосного шума в 72 дБ, а длительность стимула составляла 500 мс. Подача звука осуществлялась усилителем мощности 100У-101 (Россия) через динамики 1ГД-400Р (Россия).

Через 24 ч во время повторной процедуры угашения вздрагивания после 10-го звукового сигнала освещенность изменяли до 130 лк и одновременно в префронтальную кору или амигдалу мозга крысы билатерально вводили блокатор D2-рецепторов дофамина – сульпирид ((S)-(-)-sulpiride фирмы “Sigma-Aldrich”) или NaCl (0.9%) (Россия). Сульпирид в дозе 3 мкг объемом 1 мкл и физиологический раствор в том же объеме вводили в течение 15 с после включения света через помещенные в направляющие канюли стальные иглы, соединенные через свивель с насосом (TSE System Type 540101) посредством тьюбинга. Блокатор в использованной нами дозе оказывал эффект на поведение при введении в прилежащее ядро [11]. Для приготовления сульпирида в растворе использовали NaCl (0.9%) с добавлением одной капли ледяной уксусной кислоты. Раствор доводили до pH, равной 7.4, используя NaOH.

Показатели амплитуды вздрагивания фиксировали при помощи самописца Н338-4П (Россия) в течение 100 мс после предъявления звука. Их оценку проводили по максимальному отклонению в положительную или отрицательную зону от нулевой линии пера самописца при давлении животного на платформу. Одна условная единица (1 мм) соответствовала 15 г давления на тензодатчик.

Полученные экспериментальные данные анализировали с помощью пакета статистических программ “STATISTICA 5.0”. Поскольку значения исследуемых показателей отличались от нормального распределения, то использовали непараметрический критерий (*T*-критерий Вилкоксона). Проверялись статистические гипотезы о выраженности сдвигов в том или ином направлении по абсолютной величине показателей амплитуды СР. У всех исследуемых групп сравнивали последнюю амплитуду СР до увеличения освещенности (стимул № 10) с первой (стимул № 11) и с последней (стимул № 20) амплитудой реакции после увеличения освещенности во время сеанса тестирования. Различия считались достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании эффектов физиологического раствора, вводимого в медиальную префронталь-

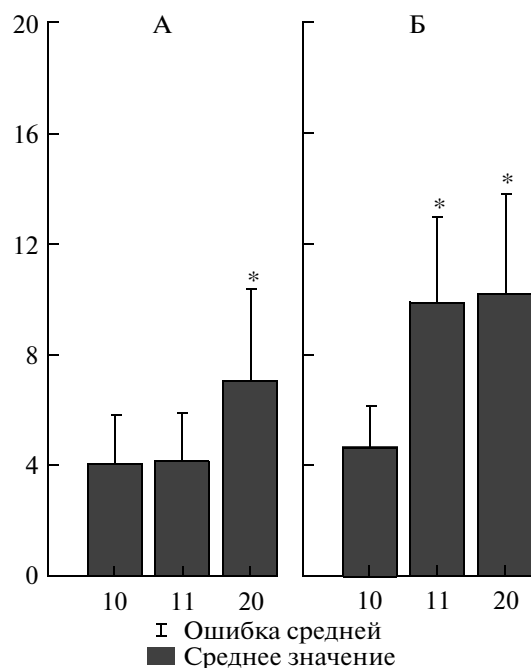


Рис. 1. Изменение амплитуды вздрагивания после предъявления светового сигнала, ассоциированного с положительным подкреплением, во время действия последовательных звуковых стимулов на фоне введенных в префронтальную кору сульфурита и натрия хлорида. Ось абсцисс – номер звукового стимула; ось ординат – амплитуда вздрагивания (усл. ед.); А – группа животных, с введением натрия хлорида ($n = 11$); Б – группа животных, с введением сульфурита ($n = 13$); * – значимые различия относительно 10-го стимула (T -критерий Вилкоксона).

ную кору (МПК), наблюдалось отсутствие увеличения АСР на предъявление светового стимула, ассоциированного с положительным подкреплением (с 4.00 ± 1.87 до 4.18 ± 1.73 ; $p = .58$) (рис. 1А), тогда как в контрольной группе с отсутствием условной связи со светом амплитуда АСР значительно увеличивалась (с 6.41 ± 1.99 до 12.41 ± 3.11 ; $p = .003$) (рис. 2А). В конце сеанса угашения амплитуда АСР достоверно увеличивалась с 4.00 ± 1.87 до 7.09 ± 3.43 ; $p = .02$ (рис. 1А) в контрольной группе с выработанной условной связью (УС) и не отличалась от амплитуды АСР до изменения освещенности в отсутствие выработки условной связи (ОУС) с 5.41 ± 1.99 до 9.08 ± 2.9 ; $p = .13$ (рис. 2А). Аналогичная динамика амплитуды АСР наблюдалась в контрольных группах при введении физиологического раствора в базолатеральную амигдалу: непосредственно после экспозиции света амплитуда не увеличивалась в группе с УС – 5.45 ± 1.36 до 9.81 ± 3.66 ; $p = .28$ (рис. 3А) и возрастала в группе с ОУС – 4.36 ± 1.56 до 10.81 ± 3.21 ; $p = .007$ (рис. 4А). Вместе с тем в конце сеанса угашения в контрольной группе с УС наблюдалось увеличение амплитуды СР (с 5.45 ± 1.36 до 11.45 ± 3.29 ; $p = .004$) (рис. 3А), а в группе с ОУС амплитуда СР не отличалась от показателей до предъ-

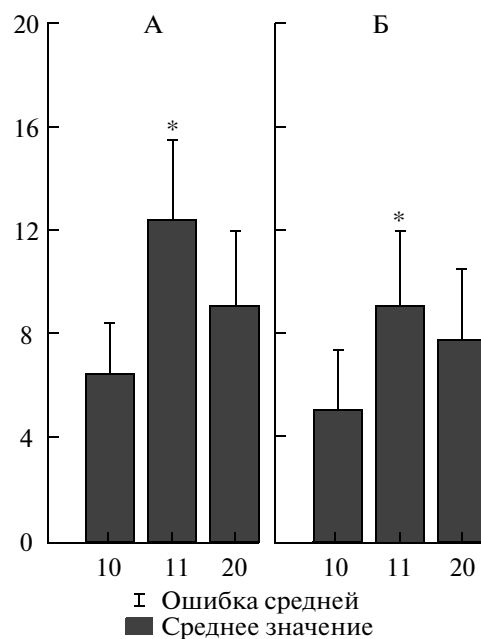


Рис. 2. Изменение амплитуды вздрагивания после предъявления светового сигнала, не ассоциированного с положительным подкреплением, во время действия последовательных звуковых стимулов на фоне введенных в префронтальную кору сульфурита и натрия хлорида. Ось абсцисс – номер звукового стимула; ось ординат – амплитуда вздрагивания (усл. ед.); А – группа животных, с введением натрия хлорида ($n = 12$); Б – группа животных, с введением сульфурита ($n = 12$); * – значимые различия относительно 10-го стимула (T -критерий Вилкоксона).

ъявления условного сигнала (4.36 ± 1.56 и 6.36 ± 2.32 ; $p = .18$) (рис. 4А).

Введение блокатора D2-рецепторов дофамина в МПК приводило к возрастанию амплитуды реакции вздрагивания (РВ) на первый звуковой стимул после увеличения освещенности в группе с УС – 4.61 ± 1.59 и 10.0 ± 3.07 ; $p = .005$ (рис. 1Б). У животных этой экспериментальной группы амплитуда оставалась высокой и в конце сеанса угашения СР (с 4.61 ± 1.59 и 10.3 ± 3.57 ; $p = .017$) (рис. 1Б). Амплитуда РВ также достоверно возрастала в группе с ОУС в начале предъявления условного стимула (с 5.00 ± 2.4 до 9.08 ± 2.94 ; $p = .004$) (рис. 2Б) и не отличалась от начальной амплитуды СР (с 5.00 ± 2.4 до 7.7 ± 2.82 ; $p = .26$) (рис. 2Б) в конце сеанса угашения.

После введения блокатора D2-рецепторов дофамина в базолатеральную амигдалу (ЛА) не было обнаружено различий в динамике изменений амплитуды реакции вздрагивания не зависимо от того, выработался ли навык на условный стимул или нет (рис. 3Б и 4Б).

Таким образом блокатор D2-рецепторов дофамина – сульфурит оказывал различный эффект на динамику амплитуды АСР при введении в медиаль-

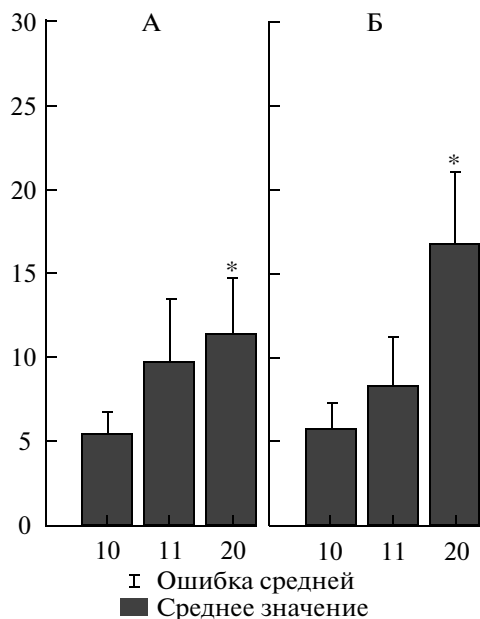


Рис. 3. Изменение амплитуды вздрагивания после предъявления светового сигнала, ассоциированного с положительным подкреплением, во время действия последовательных звуковых стимулов на фоне введенных в амигдалу сульфидида и хлорида натрия. Ось абсцисс – номер звукового стимула; ось ординат – амплитуда вздрагивания (усл. ед.); А – группа животных, с введением натрия хлорида ($n = 11$); Б – группа животных, с введением сульфидида ($n = 12$); * – значимые различия относительно 10-го стимула (T -критерий Вилкоксона).

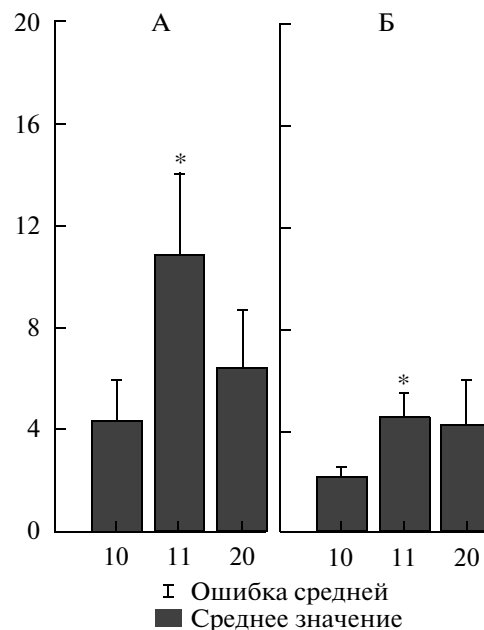


Рис. 4. Изменение амплитуды вздрагивания после предъявления светового сигнала, не ассоциированного с положительным подкреплением, во время действия последовательных звуковых стимулов на фоне введенных в амигдалу сульфидида и натрия хлорида. Ось абсцисс – номер звукового стимула; ось ординат – амплитуда вздрагивания (усл. ед.); А – группа животных, с введением натрия хлорида ($n = 12$); Б – группа животных, с введением сульфидида ($n = 11$); * – значимые различия относительно 10-го стимула (T -критерий Вилкоксона).

ную префронтальную кору и в базолатеральную амигдалу во время действия стимула ассоциированного с положительным подкреплением.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализируя полученные данные, следует отметить, что динамика изменений амплитуды СР в контрольных группах животных, независимо от выработки условной связи на световой сигнал, соответствовала показателям амплитуды вздрагивания, обнаруженным нами ранее в поведенческих экспериментах без использования биологически активных веществ. Мы наблюдали выраженный двухкомпонентный эффект света, на который предварительно вырабатывался поведенческий навык потребления воды. Он проявлялся как отсутствие увеличения амплитуды АСР непосредственно после начала его предъявления во время продолжающейся звуковой стимуляции и в увеличении амплитуды АСР к концу сеанса тестирования. Такой эффект отсутствовал, когда свет не выступал в качестве условного сигнала [2].

При сравнении действия сульфидида и физиологического раствора, введенных в МПК и ЛА, обнаружено, что введение блокатора D2-рецепторов в

МПК приводит к увеличению амплитуды вздрагивания в ответ на условный стимул (свет) в группе животных, у которых предварительно вырабатывали навык. Вероятно, такой ответ связан с нарушением извлечения необходимой информации из долговременной памяти. В этой ситуации свет теряет значение условного сигнала и начинает действовать как аверсивный, усиливая отрицательный эффект звукового стимула.

Вместе с тем результаты настоящего исследования свидетельствуют, что блокада D2-рецепторов дофамина в ЛА не оказывает влияния ни на модификацию оборонительного поведения стимулом, ассоциированным с положительным подкреплением, ни на последующее рассогласование, которое выражается в возрастании амплитуды вздрагивания к концу сеанса. Возможно, что исследованные нами рецепторы дофамина в ЛА вовлекаются в обеспечение поведенческого акта, основанного на ассоциативном обучении, лишь на стадии его формирования, но не при актуализации навыка во время предъявления звуковых стимулов [3].

Таким образом, подавление оборонительной реакции вздрагивания стимулом, ассоциированным с положительным подкреплением, на стадии воспроизведения зависит от активности дофаминергиче-

ской системы медиальной префронтальной коры, но не базолатеральной амигдалы.

Согласно данным литературы, противоположная картина наблюдается при потенциации стартл-реакции стимулом, ассоциированным с электрошоком. Показано, что формирование и воспроизведение условного страха в этой модели нарушается при введении в амигдалу антагониста D2-рецепторов [9], но остается сохранным после разрушения префронтальной коры [18]. Результаты молекулярно-генетических исследований указывают, что обнаруженная специфичность может быть обусловлена избирательным вовлечением различных нейромедиаторных систем в исследуемые формы памяти. Так обнаружено, что нарушение потенциации стартл-реакции стимулом, ассоциированным с электрошоком, наблюдается при мутации гена серотонинового транспортера и связано с изменением активности амигдалы. В то же время с полиморфизмом катехоламин-О-метилтрансферазы — фермента, обеспечивающего метаболизм дофамина в префронтальной коре, связаны нарушения процессов угашения условного страха [14]. Эти результаты позволяют предположить, что специфичное участие дофаминергической системы префронтальной коры и амигдалы в воспроизведении положительных и отрицательных эмоциональных состояний связано не только с особенностями обмена дофамина, но реализуется также на уровне активации дофаминовых рецепторов.

Данные полученные в выполненной нами работе дополняют и уточняют указанное предположение, свидетельствуя, что D2-рецепторы дофамина, локализуемые в медиальной префронтальной коре, но не в базолатеральной амигдале, вовлечены в процессы воспроизведения сформированного ранее на положительное подкрепление навыка в условиях континуума оборонительного поведения.

ВЫВОДЫ

1. Блокада D2-рецепторов дофамина в медиальной префронтальной коре приводит к увеличению амплитуды АСР непосредственно после предъявления светового сигнала, на который ранее вырабатывалась условная связь.

2. Блокада D2-рецепторов дофамина в базолатеральной амигдале не оказывает влияния на изменение динамики угашения АСР на фоне действия светового сигнала и не зависит от предварительной выработки на данный стимул условного питьевого поведения.

3. Полученные данные свидетельствуют о том, что D2-рецепторы дофамина медиальной префронтальной коры, но не базолатеральной амигдалы вовлечены в процесс модификации АСР световым

стимулом, на который предварительно вырабатывали поведенческий навык потребления воды.

Работа поддержана Советом по грантам Президента Российской Федерации ведущим научным школам Российской Федерации (№ НШ-602.2008.6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Николс Д.Г., Мартин А.Р., Валлас Б.Д., Фукс П.А. // От нейрона к мозгу. М.: Едиториал УРСС, 2003. С. 306–307.
2. Прошин А.Т., Сторожева З.И., Шерстнев В.В., Александров Ю.И. // Психол. журн. 2009. Т. 30. № 4. С. 56–64.
3. Симонов П.В. // Журн. Высш. Нерв. Деят-сти. 1997. Т. 47. № 2. С. 320–328.
4. Akirav I., Maroun M. // Neural. Plast. 2007. V. 2007. ID 30873 P. 1–11.
5. Davis M. // Neural Mechanisms of the Startle Behavior / Ed. Eaton R.C. Plenum Press, 1984. P. 287–361.
6. Davis M. // Perception, Memory and Emotion: Frontiers in Neuroscience / Eds Ono T., MsNaughton B.L., Molotchnikoff S., et al. Elsevier. Ltd: Oxford, 1996. P. 525–548.
7. Davis M., Antoniadis E.A., Amaral D.G., Winslow J.T. // Rev. Neurosci. 2008. V. 19. № 2–3. P. 171–85.
8. Dichter G.S., Tomarken A.J., Baucom B.R. // Int. J. Psychophysiol. 2002 V. 43. № 2. P. 191–6.
9. Greba Q., Giffkins A., Kokkinidis L. // Brain Res. 2001. V. 899. № 1–2. P. 218–26.
10. Koch M. // Prog. Neurobiol. 1999. V. 59. № 2. P. 107–28.
11. Koch M., Schmid A., Schnitzler H.U. // Psychopharmacology (Berl). 2000. V. 152. № 1. P. 67–73.
12. Lang P.J., Bradley M.M., Cuthbert B.N. // Psychol. Rev. 1990. V. 97. № 3. P. 377–395.
13. Liang K.C., Hu S.J., Chang S.C. // Chin. J. Physiol. 1996. V. 39. № 3. P. 155–66.
14. Lonsdorf T.B., Weike A.I., Nikamo P., Schalling M., Hamm A.O., Ohman A. // Psychol. Sci. 2009. V. 20. № 2. P. 198–206.
15. Maratos E.J., Dolan R.J., Morris J.S., Henson R.N.A., Rugg M.D. // Neuropsychologia. 2001. V. 39. № 9. P. 910–920.
16. Pletnikov M.V., Storozheva Z.I., Sherstnev V.V. // Pharmacol. Biochem. Behav. 1996. V. 54. № 1. P. 93–98.
17. Rezayof A., Zarrindast M.R., Sahraei H., Haeri-Rohani A.H. // Pharmacol. Biochem. Behav. 2002. V. 74. № 1. P. 187–197.
18. Rosen J.B., Hitchcock J.M., Miserendino M.J., Falls W.A., Campeau S., Davis M. // J. Neurosci. 1992. V. 12. № 12. P. 4624–4633.
19. Tupala E., Hall H., Mantere T., Räsänen P., Särkioja T., Tiisonen J. // Neuroimage. 2003. V. 19. № 1. P. 145–155.

Поступила в редакцию
07.09.2009 г.