

УДК 612.821.83-089.843-092.9

*Т.М. Воробьёва, О.Г. Берченко*

*ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины», г. Харьков*

## **ЗНАЧЕНИЕ ОРИЕНТИРОВОЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РЕАКЦИИ В ВОССТАНОВЛЕНИИ КОГНИТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ В УСЛОВИЯХ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА**

На модели эмоционального стресса у крыс исследованы нарушения когнитивных процессов при выполнении условно-рефлекторной реакции избегания. Показано значение ориентировочно-исследовательской реакции в восстановлении когнитивных нарушений общей и эмоциональной активности под влиянием аллотрансплантации комплекса эмбриональных тканей передних отделов неокортекса и *locus coeruleus*.

**Ключевые слова:** когнитивные нарушения, ориентировочно-исследовательские реакции, стресс, нейротрансплантация.

Наши предыдущие исследования, проведенные на собаках, крысах и приматах [1–5], показали, что эмоциональные стрессы, возникающие вследствие зоосоциальных конфликтов и стохастического воздействия экзогенных факторов, приводят к поломке важного звена в формировании целенаправленного поведения – когнитивных процессов. Следует подчеркнуть значение в механизмах этих нарушений неугасимой ориентировочно-исследовательской реакции, которая в норме является проявлением особой потребности и не уступает по своей силе фундаментальным биологическим потребностям (питьевой, пищевой, защитной, продления рода). Её приспособительная функция состоит в том, что она обеспечивает запись и оптимальный уровень анализа информации, чтобы осуществить мгновенную фиксацию следа. Отсюда, ускоренная выработка защитного условного рефлекса не всегда биологически целесообразна, потому что она нарушает программу ранее выработанного условно-рефлекторного стереотипа положительных и отрицательных условных рефлексов с последующей их полной поломкой. Нами изучены эффекты возможного

восстановления когнитивных функций под влиянием трансплантации эмбриональных нервных тканей. Важное преимущество трансплантации эмбриональных тканей мозга над другими биотехнологиями нейротрансплантаций состоит в том, что тканевые нейротрансплантаты, наряду с продукцией нейромедиаторов, содержат нейротрофические факторы дифференцировки нервных клеток, роста аксонов и дендритов, что значительно облегчает репаративный нейрогенез [6, 7].

Целью данного исследования явилось изучение влияния внутримозговой трансплантации комплекса эмбриональных тканей мозга передних отделов неокортекса и *locus coeruleus* на динамику восстановления когнитивных функций у крыс при эмоциональном стрессе.

**Материал и методы.** Исследования выполнены в хроническом эксперименте с использованием 24 нелинейных белых крыс-самцов половозрелого возраста массой от 250 до 280 г. Когнитивные процессы у животных исследовали с использованием условно-рефлекторной реакции избегания, которую вырабатывали в течение 21–23 опытных дней [3, 4].

© Т.М. Воробьёва, О.Г. Берченко, 2013

Одним из критериев формирования условно-рефлекторной деятельности являлись межсигнальные реакции: они возникали в конце паузы между действием условного сигнала. В этот период крысы проявляли беспокойство и резко перебежали в другую камеру, иногда отмечалось несколько сигнальных реакций в один межсигнальный период. Эти реакции, видимо, были связаны с механизмом отсчёта времени. Реакции проб наблюдались после реализации условного рефлекса: животные осторожно лапками прикасались к полу покинутой камеры (где только что получили удар током) либо на звук метронома подбежали к окну и не решались перейти в безопасный отсек, поднимали лапки, проявляли нерешительность в выполнении движения.

При анализе условных рефлексов учитывались латентные периоды и процентное содержание условных рефлексов от количества сочетаний предъявляемых условных и безусловных раздражителей, экстрасигнальные реакции, реакции проб, реакции безусловно-рефлекторного избегания, ориентировочно-исследовательские реакции, груминг, вегетативные компоненты (частота сердечных сокращений и дыхания). Степень выраженности ориентировочно-исследовательской активности оценивали по 3-балльной шкале: умеренная – 1 балл, повышенная – 2 балла, неугасимая – 3 балла.

В процессе выработки условных рефлексов выделяли ряд последовательных стадий: I – стадия организации первого условного рефлекса, II – стадия неустойчивого формирования условных рефлексов, III – стадия стабильных условно-рефлекторных ответов.

Экспериментальный невроз вызывали путём создания конфликтной ситуации в группе крыс при хроническом изолированном непрерывном воздействии звука силой 49 дБ и частотой 8 кГц, предъявляемого в течение 20 мин на протяжении 6 опытных дней. Затем вводили дополнительный раздражитель – электрокожное болевое воздействие при напряжении электрического тока от 18 до 20 В. Сочетанное воздействие звука и электрического тока на группу животных применяли также в вероятностном режиме от 20 до 25 мин на протяжении 14 опытных дней.

Аллотрансплантацию комплекса эмбриональных тканей (лобно-височных отделов коры и голубоватого пятна) 17–18-дневной гестации производили в передние отделы неокортекса [8]. Операцию нейротрансплантации осуществляли под кетаминным наркозом. Стереотаксические координаты локализации трансплантата рассчитывали по картам Е. Фифковой и Д. Маршалла [9].

Результаты исследований статистически обрабатывали с использованием непараметрических критериев Вилкоксона и Манна–Уитни.

**Результаты и их обсуждение.** Исследование условно-рефлекторной реакции избегания у животных 1-й группы (контроль) показало быстрое формирование первых условно-рефлекторных ответов (I стадия). В среднем по группе возникновение первого условно-рефлекторного ответа отмечалось при  $27,7 \pm 6,9$  сочетаниях условного сигнала с безусловным подкреплением (раздражение конечностей электротоком). На начальных этапах выработки условно-рефлекторной реакции активного избегания отмечались выраженные ориентировочно-исследовательские реакции, сопровождавшиеся такими вегетативными проявлениями, как сердцебиение, пароксизмальное дыхание, двигательное беспокойство, вокализация. По мере обучения степень проявления ориентировочно-исследовательской и отрицательно-эмоциональных реакций снижалась у 40 % крыс, отмечались реакции проб. Латентный период первого условно-рефлекторного ответа составлял  $(11,4 \pm 3,1)$  с.

На II стадии (нестабильных условных рефлексов), когда условно-рефлекторная реакция на раздражитель сформировалась, но её проявления имели вероятностный характер, крысы были относительно спокойными, ориентировочно исследовательская реакция носила фазовый характер. Количество сочетаний условного сигнала и безусловного подкрепления в условиях формирования II стадии составляло  $61,1 \pm 1,4$ ; содержание условных рефлексов от количества сочетаний условного и безусловного раздражителей на стадии нестабильных условных рефлексов – 47,2 %. Латентные периоды возникновения условно-рефлекторных реакций были нестабильными и составляли от 5 до 13 с.

На III стадии (стабильных условных рефлексов) число условных рефлексов активного избегания болевого подкрепления увеличивалось до 83,2 %. Латентные периоды условных рефлексов на этой стадии составляли  $(6,4 \pm 0,6)$  с. Ориентировочно-исследовательская активность, двигательные акты были направлены на успешное выполнение условно-рефлекторной реакции избегания. В межсигнальных паузах реакций проб не наблюдалось, число экстрасигнальных реакций отмечалось изредка.

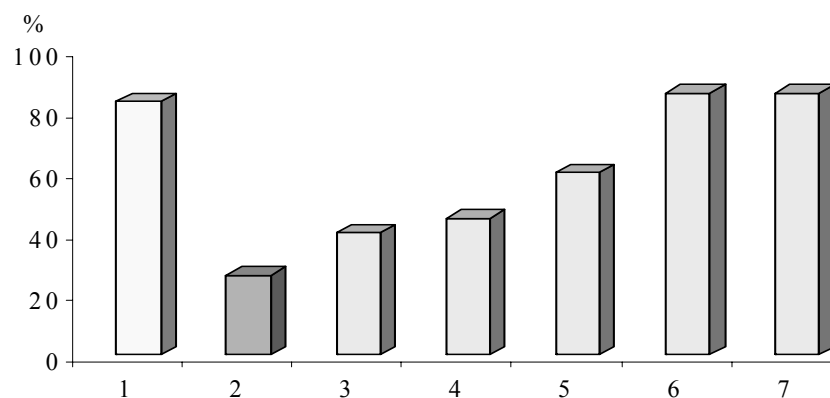
Как показал ряд исследований, воздействие звука и электрокожного болевого раздражения приводило к двигательному беспокойству с вертикальными стойками и неугасимой ориентировочно-исследовательской реакцией, вокализацией и тахикардией. Однако нарушение условных рефлексов выявлялось только у 21 % животных, поэтому для усиления зооконфликтной ситуации был введён стохастический дополнительный раздражитель – электрокожное болевое воздействие.

Через 14 дней сочетанного комплексного действия раздражителей на экстрарецепторы крыс и зоосоциальных конфликтных взаимодействий отмечалось развитие неугасимой ориентировочно-исследовательской реакции, которая не являлась целесообразной, а усиливала механизмы нарушений когнитивных функций. У 70 % крыс было выявлено нарушение в условно-рефлекторной деятельности, что проявлялось резким угнетением условно-рефлекторных реакций активного

избегания. Количество условных рефлексов активного избегания составляло 26,1 %, что ниже значений, полученных у интактных крыс на II и III стадиях формирования условно-рефлекторных ответов.

Исследование поведения крыс с экспериментальным неврозом и внутримозговой трансплантацией комплекса эмбриональных тканей неокортекса и голубоватого пятна позволило в течение 19 дней наблюдений выявить положительную динамику восстановления ориентировочно-исследовательской деятельности как универсального механизма адаптации, условно-рефлекторной деятельности, эмоциональных и вегетативных реакций (рисунок).

Исследование условно-рефлекторной активности животных через 7 дней после нейротрансплантации выявило возрастание до 40 % числа условно-рефлекторных ответов в сравнении с показателями, зарегистрированными после хронического стресса. Латентные периоды условных рефлексов были достоверно выше в сравнении с показателями контроля и стресса. У большинства крыс отмечалась нерешительность в выполнении условно-рефлекторного акта. В ответ на звук метронома животные подходили к окну и замирали, но были и частичные переходы в другой безопасный отсек (только передними лапками). Повидимому, в стадии афферентного синтеза функциональной системы поведенческого акта мнестические следы, извлечённые из «кладовых» прошлого опыта и его результата, были ослаблены и недостаточны для прогноза



Влияние нейротрансплантации на динамику восстановления условных рефлексов у крыс с экспериментальным неврозом:

1 – фон; 2 – экспериментальный невроз;

3, 4, 5, 6, 7 – соответственно 7-й, 10-й, 11-й, 16-й и 19-й дни после нейротрансплантации

модели будущего результата (акцептора результата действия), они не являлись стимулом для эфферентных путей, и поэтому реализации условного рефлекса не происходило.

Спустя 10 дней после нейротрансплантации наблюдалось изменение отдельных компонентов условно-рефлекторной деятельности. Это проявлялось в усилении выраженности ориентировочно-исследовательских реакций в ответ на действие, снижении латентных периодов условных реакций, значения которых достигали уровня фона. В то же время количество условно-рефлекторных ответов практически не отличалось от такого на 7-й день после нейротрансплантации и составляло 45 % (рисунок). Важно отметить, что на 11-й день после трансплантации только у отдельных животных наблюдалось полное восстановление программы выполнения условно-рефлекторного поведения, сопровождаемого только на начальном этапе ориентировочно-исследовательской реакцией, хотя крысы при этом были напряжены и насторожены. Однако в целом по группе количество условных сигналов отражало состояние готовности к выполнению условных рефлексов. В этот период количество рефлекторных ответов увеличивалось (рисунок).

На 16-й день после нейротрансплантации у всех крыс происходило восстановление программы условных рефлексов, их количество составляло 86 %. Ориентировочно-исследовательские, двигательные, эмоциональные, вегетативные компоненты обеспечения условно-рефлекторной деятельности были направлены на реализацию условных рефлексов. Очевидно, направленное вмешательство в активность норадренергических и холинергических систем мозга посредством нейротрансплантации эмбриональных тканей, синтезирующих нейромедиаторы, облегчает процессы восстановления памяти у крыс с экспериментальным неврозом. Рассматривая реализацию условных рефлексов у этих животных с позиций функциональной системы П. К. Анохина [10], можно предположить, что мгновенное извлечение накопленного опыта и включение энграмм памяти в акцептор результата действия

аналитико-синтетического механизма оценки модели будущего результата и наличной информации, поступающей по обратной связи в акцептор результата действия, обусловлено восстановлением нейротрансплантацией нейротрансмиттерных механизмов памяти. Об этом свидетельствуют и результаты исследований, в которых показано восстановление числа условных рефлексов до уровня фона, т. е. до формирования у крыс эмоционального стресса.

Таким образом, внутримозговая аллотрансплантация комплекса эмбриональных тканей передних отделов неокортекса и голубоватого пятна крысам с эмоциональным стрессом восстанавливает когнитивные функции, исследуемые на модели условно-рефлекторной реакции избегания, эмоциональные реакции и общую физиологическую активность. Положительные эффекты, отмечающиеся в первые (с 7-го по 10-й) дни после нейротрансплантации, по-видимому, обусловлены неспецифическим влиянием нейротрансплантатов, содержащих широкий спектр нейротрофических и ростовых факторов [11–13]. Специфическое влияние нейротрансплантации на когнитивные функции проявляется спустя 16 дней после имплантации, когда вследствие дифференцировки и пролиферации клеток и тканей трансплантата и установления синаптических контактов трансплантат выступает как источник синтеза специфических нейротрансмиттеров.

### Выводы

1. На модели эмоционального стресса у крыс, который сопровождался неугасимой ориентировочно-исследовательской реакцией, показаны грубые нарушения аналитико-синтетических функций мозга и когнитивных процессов эмоциональной активности.

2. Аллотрансплантация комплекса эмбриональных тканей передних отделов неокортекса и *locus coeruleus* крысам с эмоциональным стрессом восстанавливает нарушенные когнитивные процессы и уровень ориентировочно-исследовательской реакции, по-видимому, вследствие влияний специфической нейротрансплантации и нейротрофического фактора и его микроокружения.

**Список литературы**

1. Воробйова Т. М. Вплив мікродоз різних фармакологічних препаратів на умовно-рефлекторну діяльність собак / Т. М. Воробйова // Фізіол. журн. УРСР. – 1961. – Т. 7, № 1. – С. 7–11.
2. Ведяев Ф. П. Модели и механизмы эмоциональных стрессов / Ф. П. Ведяев, Т. М. Воробьева. – К.:Здоров'я, 1983. – 163 с.
3. Воробьева Т. М. Влияние внутримозговой имплантации эмбрионального locus coeruleus на условно-рефлекторную реакцию избегания у крыс с экспериментальной атрофией лобно-височной коры головного мозга / Т. М. Воробьева, Д. А. Бевзюк, О. Г. Берченко // Нейрофизиология. – 2000. – Т. 32, № 1. – С. 36–41.
4. Гончарова А. В. Влияние дистантной имплантации эмбриональной ткани гиппокампа на механизм памяти у крыс с повреждением гиппокампа / А. В. Гончарова, О. Г. Берченко // Биол. вестник. – 1999. – Т. 3, № 1–2. – С. 41–45.
5. Воробьева Т. М. Значение биоадаптивного управления в механизмах восстановления когнитивных функций при алкоголизации / Т. М. Воробьева, О. Г. Берченко // Наркология. – 2010. – № 4. – С. 34–41.
6. Григорян А. С. Клеточная терапия при травме головного мозга / А. С. Григорян, П. В. Кругляков // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2009. – Т. 4, № 1. – С. 35–42.
7. Активация экспрессии мозгового нейротрофического фактора в зоне имплантации аллогенных и ксеногенных стволовых (прогениторных) клеток нервной ткани у крыс с ишемическим инсультом / В. П. Чехонин, С. В. Лебедев, А. И. Волков [и др.] // Журнал клеточных технологий в биологии и медицине. – 2010. – № 4. – С. 195–198.
8. Воробьева Т. М. Техника трансплантации специфической эмбриональной ткани и ее эффективность / Т. М. Воробьева, О. Г. Берченко, В. В. Гейко // Укр. вісник психоневрології. – Харків, 1995. – Т. 3, Вип. 2 (6). – С. 241–242.
9. Буреш Я. Электрофизиологические методы исследования / Я. Буреш, М. Петрань, И. Захар. – М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1962. – 466 с.
10. Анохин П. К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса / П. К. Анохин, 1968. – 547 с.
11. Neuroprotective and behavioral efficacy of nerve growth factor-transfected hippocampal progenitor cell transplants after experimental traumatic brain injury / M. F. Philips, G. Mattiasson, T. Wieloch [et al.] // J. Neurosurg. – 2001. – Vol. 94. – P. 765–774.
12. Amelioration of ischemia induced neuronal death in the rat striatum by NGF-secreting neural stem cells / G. Andberg, Z. Kokaia, A. Bjurklund [et al.] // Eur. J. Neuroscience. – 1998. – № 10. – P. 2026–2036.
13. McDermott K. L. Delayed administration of basic fibroblast growth (BFGF) attenuates cognitive dysfunction following parasagittal fluid percussion brain injury in the rat / K. L. McDermott, R. Raghupathi, S. Fernandez // J. Neurotrauma. – 1997. – Vol. 14. – P. 191–200.

**Т. М. Воробйова, О. Г. Берченко**

**ЗНАЧЕННЯ ОРІЄНТОВНО-ДОСЛІДНИЦЬКОЇ РЕАКЦІЇ У ВІДНОВЛЕННІ КОГНІТИВНИХ ПРОЦЕСІВ ПІД ВПЛИВОМ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНИХ ТКАНИН ЗА УМОВ ЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ**

На моделі емоційного стресу у щурів досліджено порушення когнітивних процесів під час виконання умовно-рефлекторної реакції уникання. Показано значення орієнтовно-дослідницької реакції у відновленні когнітивних порушень загальної та емоційної активності під впливом алотрансплантації комплексу ембріональних тканин передніх відділів неокортексу і *locus coeruleus*.

**Ключові слова:** когнітивні порушення, орієнтовно-дослідницькі реакції, стрес, нейро-трансплантація.

*T.M. Vorobjova, O. G. Berchenko*

**ROLE OF ORIENTATE-SEARCHING REACTION IN COGNITIVE PROCESSES RECOVERING UNDER EMBRYONIC TISSUES TRANSPLANTATION INFLUENCE IN EMOTIONAL STRESS CONDITION**

Has been discovered cognitive processes dysfunction under the orientate-searching escape reaction realization on the rat emotional stress model. Has been showed the role of orientate-searching reaction in the cognitive dysfunction of general and emotional activity under influence of the neocortex ventral sections and *locus coeruleus* embryonic tissues complex allotransplantation.

**Key words:** *cognitive dysfunction, orientate-searching reaction, stress, neurotransplantation.*

*Поступила 07.02.13*