

А. М. Тальнов

## Кореляція змін частоти гіпокампального $\theta$ -ритму з сигнальним значенням звукових стимулів, прихованими періодами та тривалістю умовно-рефлекторних пересувань у щурів

*На щурах, які вільно пересувалися, в умовах водної депривації дослідили зміни гіпокампального  $\theta$ -ритму під час вироблення умовного рефлексу (одержання питного підкріплення після пред'явлення позитивного умовного звукового стимулу). Було показано, що правильна поведінкова реакція (відвідування поїлки) у відповідь на позитивний умовний стимул в умовах диференціювання двох звукових стимулів супроводжувалася підвищенням частоти  $\theta$ -ритму. Хоча підвищення частоти спостерігалось тільки у відповідь на позитивний умовний стимул, воно було тісно пов'язане з процесом диференціювання – підвищення частоти  $\theta$ -ритму ставало достовірним, після того як тварини впродовж тренування починали відрізняти умовний позитивний стимул від негативного. Детальний аналіз показав, що виявлене підвищення частоти  $\theta$ -ритму складалося з двох послідовних хвиль. Перша з них в часі виникнення була пов'язана з моментом пред'явлення умовного позитивного стимулу, а друга – з часом виникнення та тривалістю пересування до поїлки. При цьому частота була достовірно вищою при виконанні правильних поведінкових відповідей у порівнянні з помилковими. Отже, частота  $\theta$ -ритму підвищувалася при аналізі сенсорної інформації, коли треба було виділити сигнал, який спонукав тварину йти до підкріплення та вийти зі стану внутрішнього гальмування. З іншого боку, частота підвищувалася при організації цілеспрямованих рухів.*

*Ключові слова:* гіпокамп,  $\theta$ -ритм, умовні рефлекси.

### ВСТУП

Основною особливістю гіпокампальної електроенцефалограми (ЕЕГ) є наявність у її складі коливань з частотою 6–9 Гц, відомих як  $\theta$ -ритм. Цей ритм у тварин, які вільно пересувалися, мав тенденцію змінюватися залежно від динамічного стану тварин [6, 8, 29]. Велика кількість досліджень продемонструвала, що показники  $\theta$ -ритму змінювалися залежно від характеристик таких довільних рухів, як пересування, орієнтовно – дослідницька поведінка, стрибки тощо [2, 4, 7, 16, 17, 20, 28]. Також  $\theta$ -ритм стабільно виникав в умовах локомотивної тварин [24].

Разом з тим існує досить багато досліджень, в яких показано, що  $\theta$ -ритм не пов'язаний виключно з моторною функцією, а має функціональне відношення і до обробки сенсорної інформації та її сигнального значення [1, 3, 9, 13, 22]. На початку дослідження цих функцій  $\theta$ -ритму їх протиставляли одна одній, але на сьогодні, скоріш за все, визнається їх сумісне існування. Проте є поодинокі праці [7, 32], в яких паралельно досліджувались зміни  $\theta$ -ритму відносно сенсорної та моторної функції при навчанні та реалізації цільного поведінкового акту.

Мета цієї роботи – дослідження змін частоти гіпокампального  $\theta$ -ритму в часі від

подачі умовного стимулу до переміщення тварини до поїлки для підкріплення. Тварина повинна була навчитися відрізнити два звукові стимули (позитивний і негативний) в умовах нечастого застосування позитивного стимула на тлі частого застосування негативного стимула, 20 та 80 % відповідно. Порівнювались зміни  $\theta$ -ритму в часі в 100 перших реалізаціях після початку навчання та в 100 фінальних реалізаціях. В цих серіях порівнювались зміни  $\theta$ -ритму у відповідях на позитивний і негативний стимули.

## МЕТОДИКА

Експерименти було виконано відповідно до Європейської директиви ради громад від 24 листопада 1986 р. (86/609/ЕЕС). Щурів лінії Long Evans утримували в умовах добового циклу світло/темрява у співвідношенні 12/12 з вільним доступом до їжі. Кількість питної води не обмежувалась до початку навчання, потім щури отримували воду як підкріплення під час експериментальної сесії та протягом 15 хв після кожної сесії.

10 самців щурів масою 300–400 г анестезували еквітезіном (3 мл/кг внутрішньоочередивно) та поміщали в стереотаксичний апарат. Два ніхромових дроти у лаковій ізоляції діаметром 80 мкм кожна, імплантували перпендикулярно до кліткових шарів у гіпокамп (4,2 мм назад від брегми, 2 мм латерально від середньої лінії, 2,5 та 3 мм в глибину від брегми). Два стимулювальних електроди (ніхромові дроти 80 мкм у лаковій ізоляції) імплантували в кутовий пучок (8 мм назад від брегми, 5,7 мм латерально від середньої лінії, 5 мм в глибину від брегми) для стимуляції волокон перфорантного шляху. Маленькі гвинти з нержавіючої сталі фіксували у кістці черепа, один над оксипітальною корою (V2ML), яка у щурів лежить над дорсальним гіпокампом (5 мм назад від брегми, 3 мм латерально від середньої лінії) та інший над нюховою цибулиною (8 мм уперед від брегми, 3 мм латерально від середньої

лінії). Ще два гвинта розташовували над мозочком як земляний і референтний електроди. Після завершення дослідів тварин анестезували, пропускали через глибинні електроди постійний електричний струм (+20 мА упродовж 20 с) та робили транскардіальну послідовну перфузію фізіологічного розчину, розчину червоної кров'яної солі та 10%-го розчину формаліну. Головний мозок препарували та робили фронтальні зрізи (40 мкм), які фарбували крезил-віолетом. Положення електродів установлювали за допомогою світлового мікроскопа.

Через тиждень після операції тварин піддавали водній депривації протягом 23 год, після чого вони зберігали більше, ніж 90 % початкової маси. На тлі депривації тварини навчались підходити до поїлки та отримувати воду після нанесення звукового тону (8 кГц) – позитивний кондиціонувальний стимул ( $КС^+$ ) та ігнорувати поїлку після нанесення тону (4 кГц) – негативний кондиціонувальний стимул ( $КС^-$ ). Тривалість кожного тону становила 50 мс, інтенсивність 84 дБ, тони наростали до максимуму та спадали до нуля за 5 мс. Тони подавали у псевдовипадковому порядку з таким розрахунком, що зі 100 пред'явлень  $КС^+$  з'явиться 20–25 разів (20–25 %), а  $КС^-$  – 75–80 разів (75–80 %). Після пред'явлення  $КС^+$  тварини мали нагоду підійти до поїлки та отримати кілька крапель води, отримати воду можна було тільки в перші 6 с після  $КС^+$ . Світловий промінь переривався, коли щури встромляли ніс у поїлку, це переривання передавалося у комп'ютер, який запускав подачу води та подальші пред'явлення кондиціонувальних стимулів. Рухи тварин виявляли за допомогою маленького магнітоіндуктивного пристрою, який кріпився в оксипітальній частині черепа. Електричні сигнали, що генерував цей пристрій, записували на жорсткий диск комп'ютера та використовували для вимірів прихованого періоду рухів. Після кожної експериментальної сесії

тварини отримували вільний доступ до води упродовж 15 хв.

Під час експериментальної сесії у щурів, які вільно рухалися, реєстрували відрізки ЕЕГ тривалістю 6 с включно з 1,5-секундним періодом перед початком кондиціонуючого стимулу. Записи ЕЕГ провадили в полосі пропускання підсилювача 0,1 Гц–1 кГц, відцифровували з розрізненням 2 кГц. Записані відрізки ЕЕГ сортували відповідно до виду КС та поведінкової відповіді на них та зберігали на жорсткому диску для подальшого аналізу.

Записи ЕЕГ в кожній пробі (пред'явлення відповідного КС) оцінювали візуально і тільки вільні від артефактів проби та проби без ознак сну та дрімоти прибрали для аналізу. ЕЕГ-записи від епідурального електрода над оксипітальною корою (V2ML), яка локалізована над дорсальним гіпокампом, аналізували за їхньою ритмічною якістю. Для цього розраховували показник ритмічності ( $\theta$ -показник), як результат відношення потужності ЕЕГ, яка була відфільтрована в полосі 5–12 Гц, до потужності нефільтрованої ЕЕГ. Програмно створена хвиля, яка містила коливання з частотами 5–12 Гц, давала  $\theta$ -показник 1,0. Псевдовипадковий аналоговий шум давав показник  $<0,05$ . Записи ЕЕГ з  $\theta$ -показниками  $>0,35$  рахувались як  $\theta$ -ритмічні та  $<0,2$  як неритмічні. Для оцінки змін частоти лімбічного  $\theta$ -ритму в часі використовували безперервне хвильове перетворення Морлета [12, 29]. Вейвлет-аналіз є різновидом спектрального аналізу, в якому роль простих коливань відіграють особливі функції. Базисна функція вейвлет – це деяке «коротке» коливання, поняття частоти з класичного спектрального аналізу замінено масштабом. Для перекриття «короткими хвилями» всієї часової осі, запроваджено зсув функцій в часі. Таким чином, базис вейвлетів – це функції типу  $\psi((t-b)/a)$ , де  $b$  – зсув,  $a$  – масштаб. Для здійснення вейвлет-аналізу використовували пакет програм “Matlab”. Результати вейвлет-аналізу були викорис-

тані для побудови графіків залежності частоти  $\theta$ -ритму в часі – 1,5 с до та 4,5 с після нанесення КС<sup>+</sup> або КС<sup>-</sup>. Для цього кожні 2,5 мс на всьому відрізку ЕЕГ, який піддавали аналізу, визначали значення частоти, яка мала в цей момент максимальну потужність, і відкладали це значення на осі ординат відповідно до часової осі (вісь абсцис). В результаті цих дій отримували графік зміни частоти максимальної потужності в часі в поодинокій спробі. В свою чергу графіки змін частоти в часі в поодиноких пробах усереднювали по 30, 50 або 100 проб.

Для статистичного аналізу вираховували медіани, середні та стандартні похибки. Достовірність різниці між групами вираховували методом Крускал-Валісса та застосуванням лінійного сумарного тесту Манна-Уїтні, попарні множинні порівняння робили за методом Дюнна. Для кореляційного аналізу використовували непараметричний лінійний тест Спірмана. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми “SigmaPlot” та програми для “NCSS 2000”.

## РЕЗУЛЬТАТИ

На 7 тваринах були досліджені зміни частоти  $\theta$ -ритму (5–12 Гц) в часі, до і після надбання двома кондиціонувальними стимулами (звукові тони 8 і 4 кГц) умовно позитивного (КС<sup>+</sup>) та умовно негативного (КС<sup>-</sup>) значень відповідно. На рис. 1, І, показані графіки зміни частоти  $\theta$ -ритму протягом 0,75 с до та 2 с після нанесення КС<sup>+</sup> у правильних (цілеспрямований рух до поїлки) та помилкових (відсутність цілеспрямованого руху до поїлки) спробах. Видно, що на початку навчання у нетренованих тварин, після нанесення КС<sup>+</sup> частота  $\theta$ -ритму дещо знижувалась як у правильних, так і в помилкових спробах (див. рис. 1, І, а). В 100 останніх експериментальних спробах у тренованих тварин у правильних спробах після нанесення КС<sup>+</sup> частота

$\theta$ -ритму помітно підвищувалася з 7,25 Гц до 8,00 Гц, а в помилкових спробах знижувалася. Слід зазначити, що при цьому фонові частота  $\theta$ -ритму (до нанесення  $КС^+$ ) в помилкових спробах була помітно вищою за фонову частоту в спробах з правильними поведінковими відповідями (див. рис. 1, I, б). На рис. 1, II, показані графіки зміни частоти  $\theta$ -ритму протягом 0,75 с до та 2 с після нанесення  $КС^-$  у правильних і помилкових спробах. Перебіг частоти  $\theta$ -ритму після нанесення  $КС^-$  у правильних і помилкових спробах істотно не відрізнявся, як у 100 спробах на початку тренування, так і в 100 фінальних спробах. Можна відмітити невелике підвищення частоти  $\theta$ -ритму у випадках, коли тварини помилково ходили до поїлки після нанесення негативного умовного стимулу  $КС^-$ . Коли тварини не ходили до поїлки після нанесення  $КС^-$  частота трохи зменшувалась (див. рис. 1, II, б). Таким чином, суттєве підвищення частоти  $\theta$ -ритму (рис. 1, I, б) спостерігалось тільки у відповідь на позитивний умовний стимул, лише у добре тренуваних тварин у разі правильних поведінкових відповідей.

Ми провели аналіз залежності ступеня підвищення частоти  $\theta$ -ритму в реалізаціях з вірними правильними на  $КС^+$  від ступеня тренуваності тварин (рис. 2, а). За ступінь тренуваності було взято кількість спроб, в яких тварини отримали підкріплення. Виявили, що частота  $\theta$ -ритму після нанесення  $КС^+$  ставала достовірно ( $P < 0,01$ ) вищою від фонові частоти після 125 правильних спроб і продовжувала підвищуватися аж до 400-ї спроби, після чого виходила на плато. Такий самий аналіз змін частоти  $\theta$ -ритму після нанесення  $КС^-$  в помилкових спробах, тобто в спробах, де тварина після нанесення  $КС^-$  відвідувала поїлку, не показав достовірного підвищення частоти, залежного від ступеня тренування. На рис. 2, в наведені криві навчання для  $КС^+$  та  $КС^-$ , які показали, що після 125-ї правильної спроби кількість правильних поведінкових відповідей на  $КС^-$  збільшувалася аж до 400-ї спроби. Не важко помітити, що момент, коли частота  $\theta$ -ритму після пред'явлення  $КС^+$  підвищувалася достовірно, під час навчання збігався з моментом, коли тварини починали ігнорувати поїлку у відповідь на  $КС^-$ . У свою чергу зростання частоти у

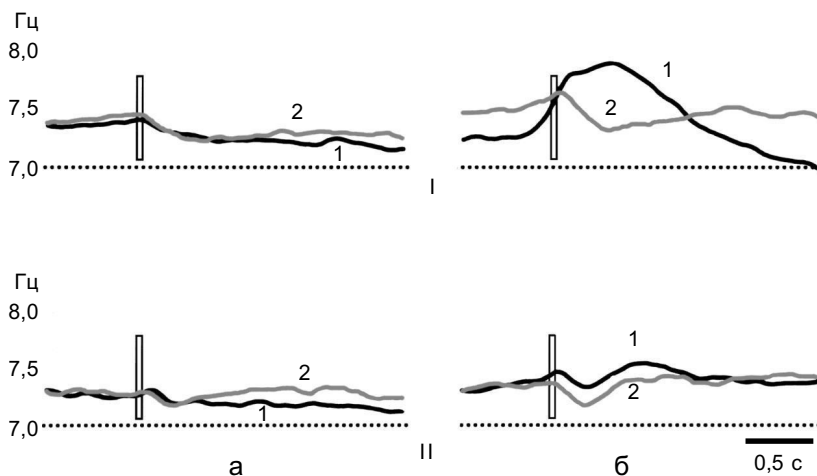


Рис. 1 Підвищення частоти гіпокампального  $\theta$ -ритму у відповідь на позитивний кондиціонувальний стимул при умові виникнення адекватної поведінкової реакції. I, II – зміни частоти  $\theta$ -ритму в часі до та після пред'явлення тваринам позитивного та негативного умовних стимулів відповідно; пунктирні горизонтальні лінії – частота електроенцефалограми (ЕЕГ) у 7 Гц; а – результати усереднення 700 спроб 7-ми тварин на початку тренування; б – результати усереднення 700 спроб 7-ми тварин в кінці тренування; 1 – зміни частоти ЕЕГ при відвідуванні поїлки; 2 – зміни частоти при ігноруванні обох стимулів (відсутність візитів до поїлки)

відповідь на  $КС^+$  під час тренування продовжувалося доти, доки тварини не досягали максимального ігнорування поїлки у відповідь на  $КС^-$  (75–80 % від кількості пред'явлених  $КС^-$ ). В період тренувань на тлі збільшення частоти  $\theta$ -ритму у відповідь на  $КС^+$  у правильних поведінкових відповідях зменшувалась кількість міжсигнальних підходів до поїлки (див. рис. 2, г).

Подальший аналіз показав, що підвищення частоти  $\theta$ -ритму, яке ми спостерігали, не було однорідним. При усередненні перебігу частоти  $\theta$ -ритму у часі в спробах, розділених за прихованими періодами рухових реакцій, починаючи з групи спроб з прихованим періодом рухових реакцій 400 мс, на графіках з'являлися два піки підвищення частоти (рис. 3,а). Перший пік виникав тільки у правильних відповідях на  $КС^+$  (тварина відвідувала поїлку), у помил-

кових відповідях на  $КС^-$ , де тварина також відвідувала поїлку, перший пік був відсутній. Це добре видно на рис. 3, а та на графіках порівняння пікової частоти першого підвищення  $\theta$ -ритму при правильних відповідях на  $КС^+$  з частотами, взятими в тих самих часових інтервалах (кореспондовані інтервали) при помилкових відповідях на  $КС^-$  та з фоновими частотами перед  $КС^+$  та  $КС^-$  для випадків з різними прихованими періодами рухових реакцій (див. рис. 3,б). Рівень частоти  $\theta$ -ритму в першому піку підвищення після нанесення  $КС^+$  був достовірно вищим ( $P < 0,001$ ) від рівня фонові частоти в тих самих спробах та рівня частоти в кореспондованих інтервалах після нанесення  $КС^-$ . Водночас не спостерігалося достовірної різниці між рівнем частоти  $\theta$ -ритму в кореспондованих інтервалах після нанесення  $КС^-$  і рівнем фонові частоти в тих самих спробах.

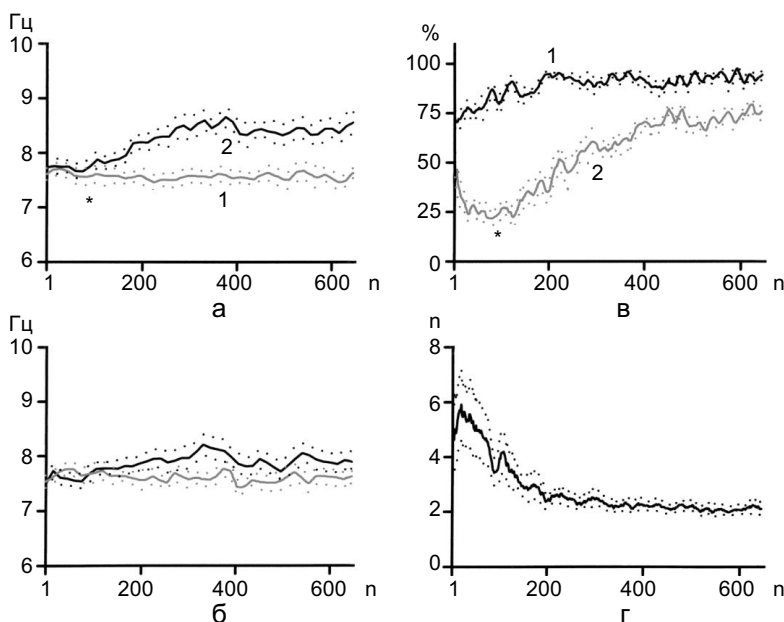


Рис. 2 Підвищення частоти гіпокампального  $\theta$ -ритму під час вироблення умовного рефлексу та його диференціювання: а – залежність  $\theta$ -частоти від кількості підкріплень у правильних відповідях на позитивний умовний стимул; 1 – частота до пред'явлення позитивного умовного стимулу, 2 – після; крапки показують стандартну похибку для кожної кривої. \*  $P < 0,01$ ; за віссю ординат відкладена частота в Гц, за віссю абсцис – кількість послідовних спроб; б – залежність  $\theta$ -частоти від кількості спроб у помилкових відповідях на негативний умовний стимул; в – криві навчання, 1 – умовний рефлекс, 2 – його диференціювання; за віссю ординат відсоток правильних відповідей; \* – момент коли кількість відповідей на негативний стимул почала стійко підвищуватись; г – залежність середньої кількості міжсигнальних підходів до поїлки в одній спробі від кількості проведених спроб

Другий пік підвищення частоти  $\theta$ -ритму в правильних відповідях на  $KC^+$  був достовірно більший від фонові частоти та від

другого піку підвищення частоти в помилкових відповідях на  $KC^-$  ( $P < 0,001$ ). В свою чергу другий пік підвищення частоти

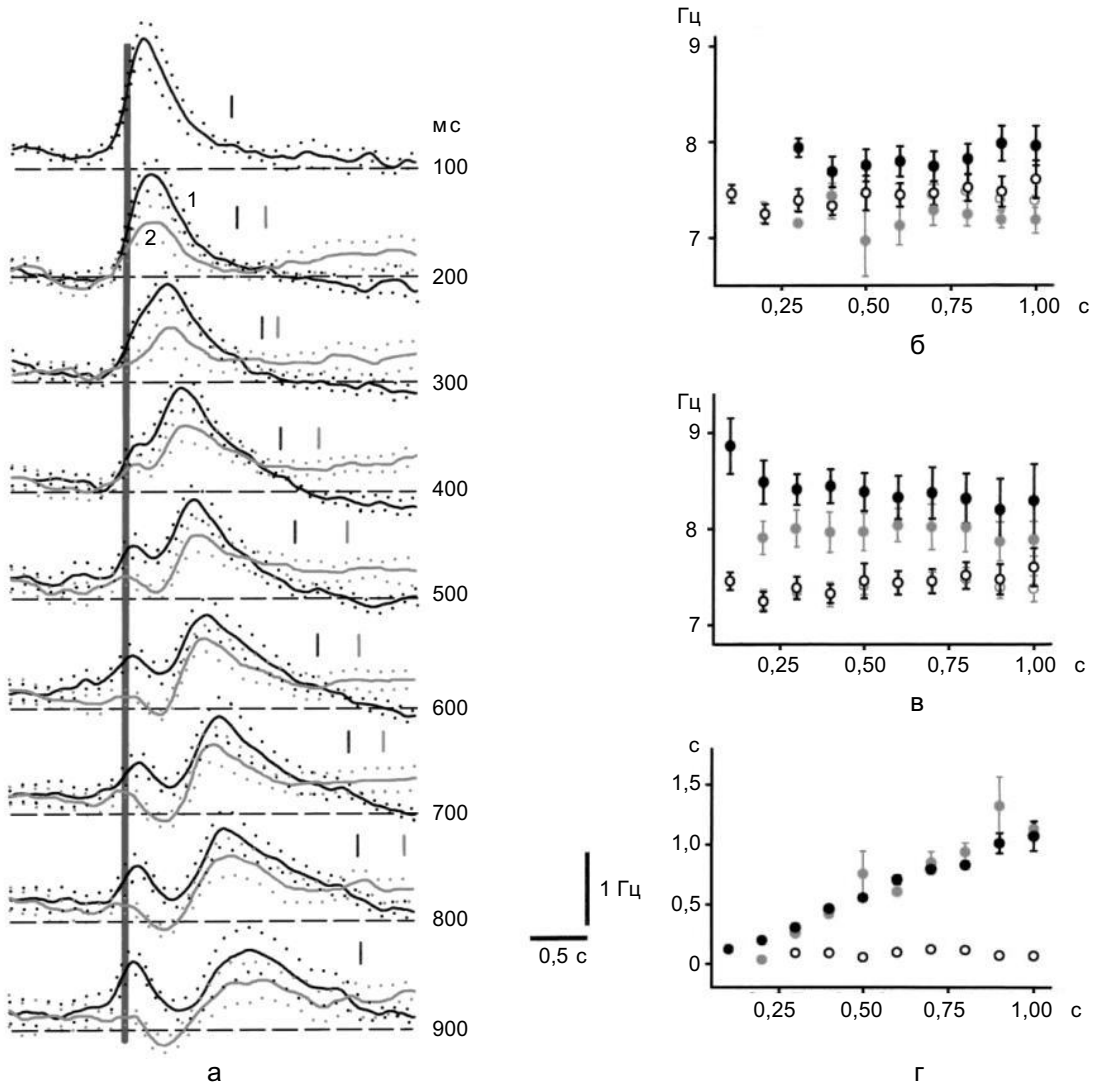


Рис. 3 Виявлення двох хвиль підвищення  $\theta$ -частоти у правильних відповідях на позитивний кондиціонувальний стимул: а – усередненні графіки змін  $\theta$ -частоти в часі ( $n = 250$ ); цифри праворуч від графіків вказують прихований період рухових реакцій в поодиноких спробах; 1 – зміна частоти при правильних відповідях на позитивний умовний стимул, 2 – при помилкових відповідях на негативний умовний стимул, велика вертикальна лінія показує початок та тривалість умовних стимулів, горизонтальна пунктирна лінія – рівень частоти ЕЕГ у 7 Гц; короткі вертикальні лінії зліва направо позначають момент досягнення поїлки у відповідь на позитивні та негативні умовні стимули відповідно, б – значення пікової частоти першої хвилі підвищення  $\theta$ -ритму при правильних відповідях на кондиціонувальний стимул –  $KC^+$  (чорні заштриховані кружки) та при помилкових відповідях на  $KC^-$  (сірі заштриховані кружки); чорні та сірі кільця значення фонових частот до нанесення  $KC^+$  та  $KC^-$  відповідно; за віссю ординат відкладена частота  $\theta$ -ритму в Гц, за віссю абсцис – приховані періоди рухових реакцій в секундах, в – те саме, що і на „б” для другої хвилі підвищення  $\theta$ -ритму, г – залежність часу виникнення піків першого та другого підвищення  $\theta$ -ритму (вісь ординат) від прихованих періодів рухових реакцій (вісь абсцис); чорні та сірі заштриховані кружки – час виникнення першого піку; чорні та сірі заштриховані кружки – час виникнення другого піку при правильній та помилковій відповіді на  $KC^+$  та  $KC^-$  відповідно

$\theta$ -ритму в помилкових відповідях на  $KС^-$  був достовірно більшим ( $P < 0,001$ ) від фонові частоти в тих самих спробах (див. рис. 3,в). При цьому прихований період другого піку підвищення частоти як у правильних відповідях на  $KС^+$ , так і в помилкових на  $KС^-$  мав позитивну кореляцію з прихованим періодом рухової реакції до поїлки,  $R=0,998$ ,  $P < 0,001$  та  $R=0,979$ ,  $P < 0,001$  відповідно (див. рис. 3,г). Водночас прихований період першого піку не залежав від прихованих періодів рухових реакцій (див. рис. 3,г). Слід відзначити, що два піки підвищення  $\theta$ -частоти виникали у більшості досліджених тварин, але не у всіх. У одній з семи тварин

виникав тільки другий пік підвищення частоти, пов'язаний з руховою реакцією.

Окрім позитивної кореляції часу виникнення другого піку підвищення частоти  $\theta$ -ритму з прихованими періодами рухових реакцій, було виявлено зв'язок між тривалістю рухів (час переміщення до поїлки) та тривалістю підвищення частоти в другому піці (рис. 4,а). При цьому виявилось, що у тварин, у яких виникали обидва піки підвищення частоти, час руху до поїлки був значно меншим в порівнянні з тваринами, які демонстрували тільки другий пік (див. рис. 4,б). Але в усіх випадках спостерігалася позитивна кореляція ( $R=0,999$ ,

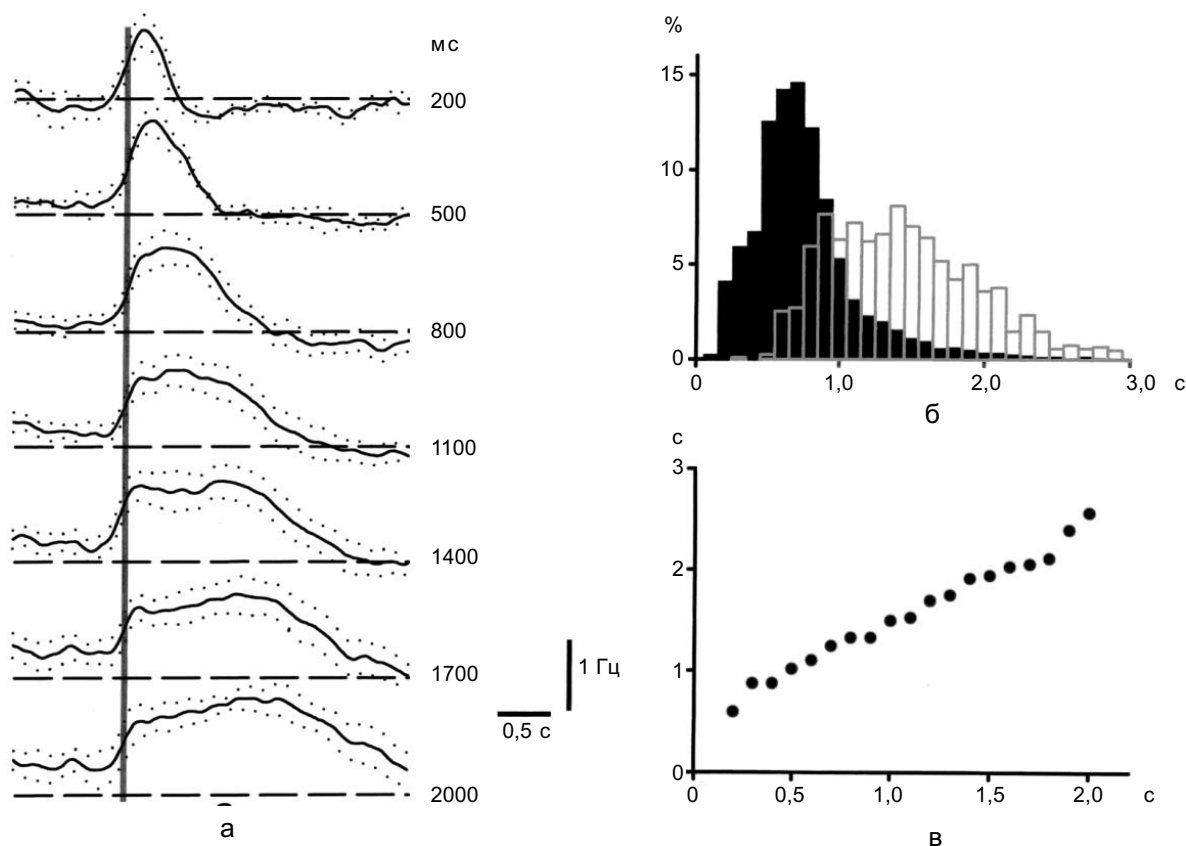


Рис. 4. Зв'язок тривалості другої хвилі підвищення  $\theta$ -частоти з тривалістю руху до поїлки: а – усередненні графіки змін  $\theta$ -частоти в часі ( $n = 250$ ) синхронізовані по початку руху до поїлки (вертикальна лінія), цифри праворуч від графіків означають тривалість рухів в поодиноких спробах; горизонтальна пунктирна лінія – рівень  $\theta$ -частоти у 7 Гц, б – гістограми розподілу тривалості рухів при виникненні обох хвиль підвищення  $\theta$ -частоти (чорні заповнені стовпчики) та при відсутності раннього підвищення  $\theta$ -частоти (сірі незаповнені стовпчики); за віссю абсцис відкладена тривалість руху (1 бін дорівнює 100 мс), за віссю ординат – кількість рухів відповідної тривалості в відсотках від загальної кількості рухів, в – кореляція тривалості підвищення  $\theta$ -частоти з тривалістю переміщення до поїлки, за віссю абсцис відкладено тривалість руху, за віссю ординат – тривалість підвищення  $\theta$ -частоти

$P < 0,001$ ) тривалості підвищення  $\theta$ -частоти в другому піці з тривалістю переміщення до поїлки (див. рис. 4,в).

## ОБГОВОРЕННЯ

Одержані нами результати показали, що в умовах, коли тварини повинні для одержання підкріплення розрізняти сенсорні сигнали та пов'язувати з ними свою подальшу рухову поведінку, виникало два типи підвищення частоти  $\theta$ -ритму. Перший пік підвищення частот був зв'язаний з сенсорним сигналом (позитивний умовний стимул), а другий із руховою реакцією. Ці факти збігаються з літературними даними, які показали зміни  $\theta$ -ритму у зв'язку як з сенсорними, так і з моторними процесами [1, 2, 3, 4, 7, 9].

Сучасні трактування функцій  $\theta$ -ритму попри багато протиріч збігаються на тому, що однією з них є кодування та декодування аферентних сигналів в часі при їх запам'ятовуванні та відтворенні відповідно [18, 27, 30]. Одержані нами результати вказують на те, що роль гіпокампальної системи при відтворенні запам'ятовуваних сигналів досить специфічна. Підвищення частоти  $\theta$ -ритму у відповідь на позитивний умовний стимул спостерігалось тільки після початку виникнення стану внутрішнього гальмування. Проте вже до початку вироблення внутрішнього гальмування кількість вірних поведінкових відповідей на позитивний умовний стимул сягала 80 % та більше. Тобто, тварини пам'ятали, що цей стимул пов'язаний з підкріпленням, але підвищення частоти  $\theta$ -ритму не спостерігалось. Характерно, що в цей час тварини не відрізняли позитивний стимул від негативного, який не підкріплювався, і у відповідь на який вони ходили до поїлки в тих самих 80 % випадків. Більш ранні гіпотези стосовно функцій гіпокампа [10, 11, 23] припускали, що частина механізму пам'яті, яка пов'язана з гіпокампальною

(лімбічною) системою використовується для відрізняння аферентних потоків з метою виділення з них підкріплюваних стимулів та гальмування інших. Досліджена залежність підвищення  $\theta$ -частоти від часу навчання показала, що момент (після 125 правильних спроб), коли різниця між частотами до пред'явлення позитивного умовного стимулу та після ставала достовірною ( $P < 0,01$ ), збігався з моментом, коли тварини починали ігнорувати поїлку (початок внутрішнього гальмування) у відповідь на негативний умовний стимул. Після чого зростання частоти продовжувалося доти (400-та правильна спроба), доки тварини не починали ігнорувати поїлку (75 % випадків від кількості пред'явлених негативних стимулів), і тільки після цього частота  $\theta$ -ритму виходила на плато. Таким чином, підвищення частоти  $\theta$ -ритму у відповідь на позитивний умовний стимул було пов'язане насамперед з розвитком внутрішнього гальмування.

Відповідно до припущення Граштияна та Лішака [12, 19], в момент появи  $\theta$ -ритму гіпокамп припиняє свій гальмівний вплив на загальну активуючу систему мозку і виникає стан подібний до "arousal". В наших експериментах диференціювання вироблялося за умов, коли позитивний і негативний стимули подавались у випадковому порядку в пропорції 20 та 80 % відповідно. Це означає, що приблизно 80 % часу експерименту, після випрацювання диференціювання тварини знаходились у стані внутрішнього гальмування, тобто вони не бігали до поїлки у відповідь на негативні умовні стимули. Можна припустити, що саме підвищення частоти  $\theta$ -ритму після нанесення позитивного умовного стимулу виводило тварин зі стану внутрішнього гальмування. Про це свідчить той факт, що більшість тварин ходила до поїлки (правильні поведінкові відповіді, 80–90 % від кількості пред'явлених КС<sup>+</sup>) тільки у разі, коли після позитивного умов-



ного стимулу спостерігалось підвищення частоти  $\theta$ -ритму. Якщо підвищення не було, тварини не відволікалися від своєї звичайної поведінки і не ходили до поїлки (помилкові відповіді, 10–20 % від кількості пред'явлених КС<sup>-</sup>).

Раніш у таких самих експериментальних умовах було показано, що при подачі нечастих позитивних стимулів поведінка тварин була правильною тільки після того, як через 100 мс після позитивного умовного стимулу нейрони гіпокампа в dentate gyrus активувалися з боку енторинальної кори. Ці синаптичні входи вимикалися, коли число позитивних стимулів зрівнювалось або було більшим, ніж число негативних, тобто позитивні стимули починали надходити досить часто і знову вмикалися, коли позитивні стимули почали надходити рідко. Отже, енторинальні збуджувальні входи до гіпокампа вимикають внутрішнє гальмування та спонукають тварину підійти до підкріплення [26]. Правдоподібним буде припущення, що підвищення частоти  $\theta$ -ритму у відповідь на позитивний умовний стимул, яке спостерігали в нашому дослідженні, відбувалося внаслідок активації цих самих аферентних входів з боку енторинальної кори, пам'ятаючи про те, що входи до гіпокампа з боку енторинальної кори відіграють значну роль у механізмі генерації гіпокампального  $\theta$ -ритму [15].

Як уже відмічалось, дуже багато робіт вказують на зв'язок показників  $\theta$ -ритму з руховою діяльністю тварин, яку умовно можна характеризувати як довільну, на відміну від автоматичної рухової діяльності, такої, як грумінг, чесання тощо [5, 6, 8, 29]. І досі функція  $\theta$ -ритму, який пов'язаний з довільними рухами, залишається невідомою. Найімовірнішим припущенням нині є думка, що  $\theta$ -ритм відіграє важливу роль у навігації тварин, кодуючи та декодуючи просторову інформацію виділенням у гіпокампі груп послідовно активованих

“place”-нейронів [14, 21, 25]. Одержані нами результати чітко вказують на те, що друге за часом підвищення частоти  $\theta$ -ритму пов'язане з руховою реакцією тварин. Час виникнення підвищення частоти та його тривалість добре корелює як з прихованим періодом руху, так і з його тривалістю відповідно. При цьому частота ритму достовірно підвищувалася відносно фоновій як при рухах до поїлки після позитивного умовного стимулу, так і при помилкових рухах у відповідь на негативний умовний стимул. Все це узгоджується з гіпотезами, які пов'язують зміни  $\theta$ -ритму з переміщеннями в просторі, а також кодуванням і декодуванням інформації для здійснення правильного переміщення, в нашому дослідженні переміщення до поїлки. Проте і в цьому разі ми виявили, що зміни частоти  $\theta$ -ритму були зв'язані не тільки з питанням, куди переміщується тварина, а також з питанням, навіщо вона переміщується. Про це свідчить факт достовірно вищої частоти  $\theta$ -ритму при переміщенні тварин до поїлки після КС<sup>+</sup>, порівняно з переміщенням після КС<sup>-</sup>. Ми припускаємо, що в першому випадку тварина знала, що іде пити, а в другому вона йшла перевірити, чи не змінився зв'язок між стимулами та підкріпленням. Останнє припущення витікає з факту неможливості виробити 100%-го гальмування, скільки б довго ви його не виробляли. Завжди залишалися 10–20 % відвідувань поїлки у відповідь на негативний умовний стимул, як ми вважаємо, для контролю можливої зміни ситуації. Відмінності показників  $\theta$ -ритму, які виникали залежно від того, рухалися тварини до підкріплення чи ні, описано також Wallenstein та співавт. [32].

Таким чином, частота  $\theta$ -ритму збільшувалася як при аналізі сенсорної інформації, так і при організації цілеспрямованих рухів. В першому випадку це було пов'язано з виділенням сигналу про можливе підкріплення та виходом зі стану внут-

рішнього гальмування, а в другому – з організацією рухів, які вели до підкріплення.

**А.М. Тальнов**

**КОРРЕЛЯЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ ЧАСТОТЫ ГИПОКАМПАЛЬНОГО  $\theta$ -РИТМА С СИГНАЛЬНЫМ ЗНАЧЕНИЕМ ЗВУКОВЫХ СТИМУЛОВ, СКРЫТЫМИ ПЕРИОДАМИ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬЮ УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНЫХ ПЕРЕДВИЖЕНИЙ У КРЫС**

На свободно передвигающихся крысах, в условиях водной депривации исследовали изменения гиппокампального  $\theta$ -ритма во время выработки условного рефлекса (получение питьевого подкрепления после предъявления положительного условного звукового стимула). Было показано, что правильная поведенческая реакция (посещение поилки) в ответ на положительный условный стимул в условиях дифференцирования двух звуковых стимулов сопровождалась повышением частоты  $\theta$ -ритма. Хотя повышение частоты наблюдалось только в ответ на условный положительный стимул, оно было тесно связано с дифференцированием – повышение частоты  $\theta$ -ритма становилось достоверным, после того как животные, в период обучения, начинали различать условный положительный и условный отрицательный стимулы. Детальный анализ показал, что обнаруженное повышение частоты  $\theta$ -ритма состояло из двух последовательных волн. Первая по времени возникновения была связана с моментом предъявления условного положительного стимула, а вторая – со временем возникновения и длительностью перемещения к поилке, как после нанесения условного положительного стимула (правильные поведенческие ответы), так и после условного отрицательного стимула (ошибочные ответы). При этом частота была достоверно выше во время правильных поведенческих ответов, по сравнению с ошибочными. Делается вывод, что частота  $\theta$ -ритма увеличивалась при анализе сенсорной информации, когда нужно было выделить сигнал, ведущий к подкреплению, и выйти из состояния внутреннего торможения. С другой стороны, частота увеличивалась при организации целенаправленных движений.

Ключевые слова: гиппокамп,  $\theta$ -ритм, условный рефлекс.

**A. M. Talnov**

**CORRELATIONS OF HIPPOCAMPAL THETA FREQUENCY WITH CONDITIONED STIMULI, MOTOR LATENCY AND MOVING TIME IN RATS**

The hippocampal theta rhythm was studied during an adaptive behaviour elaboration (a receiving of drinking reward in response on a specific audio stimulus) in freely moving water deprived rats. It was revealed that a right behavioral response (a drinking tank visit) in conditions of discrimination of two

sound stimuli emerged only in case of the theta rhythm frequency increase in response on the positive conditional stimulus. Although this increase occurred only in response to positive signal it was also linked with the differentiation process – the theta rhythm frequency increase became significant when animals started to recognize positive and negative conditional stimuli. The detailed analysis revealed the detected theta rhythm frequency increase consisted of two waves. One of them was connected with the positive conditional stimulus presentation moment. The other one was connected with the time of appearance and duration of movement to drinking tank after positive conditional stimulus presentation (right behavioral answers) as well as after negative conditional stimulus (wrong answers). At the same time the frequency was significantly higher during right behavioral answers comparing with wrong ones. It is concluded that the theta rhythm frequency increased during the sensory information analysis when it was needed to choose a signal leading to reinforcement and to exit from the state of the internal inhibition. On the other hand the frequency increased during the purposive movements.

Key words: hippocamp,  $\theta$ -rhythm, conditioned reflex.

*O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv*

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Меликов Э.М. Функциональная дифференциация и-ритма гиппокампа у кошек // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1985. – **35**, № 3. – С. 457–464.
2. Павлова И.В., Ванециан Г.Л. Активность нейронов неокортекса и гиппокампа кроликов при ориентировочно-исследовательском поведении и замирании // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2006. – **92**, № 11. – С. 1273–1284.
3. Преображенская Л.А. Гиппокампальный и-ритм и двигательная активность // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1974. – **24**, № 1. – С. 227–235.
4. Федотова И.Р. Высоочастотная компонента гиппокампальной тета-активности // Там же. – 2003. – **53**, № 1. – С. 70–80.
5. Bland B.H. The physiology and pharmacology of the hippocampal formation theta rhythms // Prog. Neurobiol. – 1986. – **26**. – P. 1–54.
6. Bland B.H., Colom L.V. Extrinsic and intrinsic properties underlying oscillation and synchrony in limbic cortex // Prog. Neurobiol. – 1993. – **41**. – P. 157–208.
7. Bland B.H., Jackson J., Derrie-Gillespie D. et al. Amplitude, frequency, and phase analysis of hippocampal theta during sensorimotor processing in a jump avoidance task // Hippocampus. – 2006. – **16**, № 8. – P. 673–681.
8. Buzsaki G. Theta oscillations in the hippocampus // Neuron. – 2002. – **33**. – P. 1–16.
9. Buzsaki G., Haubenreiser J., Grastybn E. et al. Hippocampal slow wave activity during appetitive and aversive conditioning in the cat // Electroencephalogr.

- Clin. Neurophysiol. – 1981. – **51**, №3. – P.276–290.
10. Deadwyler S., West M., Lynch G. Activity of dentate granule cells during learning: differentiation of perforant path input // Brain Res. – 1979. – **169**. – P. 29–43.
  11. Douglas R.J. The hippocampus and behavior // Psychol. Bull. – 1967. – **67**, № 6. – P. 416–422.
  12. Goupillaud P., Grossmann A., Morlet J. Cycle-Octave and Related Transforms in Seismic Signal Analysis // Geoexploration. – 1984–1985. – **23**. – P. 85–102.
  13. Grastyan E., Lissóck K., Madarósz J., Danhoffer H. Hippocampal electrical activity during the development of conditioned reflexes // EEG and Clin. Neurophysiol. – 1959. – **11**, №3. – P.409–430.
  14. Jeewajee A., Lever C., Burton S. et al. Environmental novelty is signaled by reduction of the hippocampal theta frequency // Hippocampus. – 2008. – **18**, № 4. – P. 340–348.
  15. Huxter J., Burgess N., O'Keefe J. Independent rate and temporal coding in hippocampal pyramidal cells // Nature. – 2003. – **425**. – P. 828–832.
  16. Kocsis B., Bragin A., Buzsáki G. Interdependence of multiple theta generators in the hippocampus: a partial coherence analysis // J. Neurosci. – 1999. – **19**. – P. 6200–6212.
  17. Leung L.S. Pharmacology of theta phase shift in the hippocampal CA1 region of freely moving rats // Electroencephalogr. Clin. Neurol. – 1984. – **58**. – P.457–466.
  18. Leung L.W. Model of gradual phase shift of theta rhythm in the rat // J. Neurophysiol. – 1984. – **52**. – P. 1051–1065.
  19. Lisman J.E., Idiart M.A. Storage of  $7 \pm 2$  short-term memories in oscillatory subcycles // Science. – 1995. – **267**. – P. 1512–1515.
  20. Lissak K., Grastyan E., Csanaky A. et al. A study of hippocampal function in the waking and sleeping animal with chronically implanted electrodes // Acta Physiol. Pharmacol. Neerl. – 1957. – **6**. – P. 451–459.
  21. Oddie S.D., Bland B.H. Hippocampal formation theta activity and movement selection // Neurosci. Biobehav. Rev. – 1998. – **22**, №2. – P. 221–231.
  22. O'Keefe J., Recce M.L. Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm // Hippocampus – 1993. – **3**. – P. 317–330.
  23. Olvera-Cortés E., Guevara M.A., González-Burgos I. Increase of the hippocampal theta activity in the Morris water maze reflects learning rather than motor activity // Brain Res. Bull. – 2004. – **62**, №5. – P.379–384.
  24. Pribram K.H. The limbic system, efferent control of neural inhibition and behavior // Progr. Brain Res. – 1967. – **27**. – P. 318–336.
  25. Shin J., Talnov A. A single trial analysis of hippocampal theta frequency during nonsteady wheel running in rats // Brain Res. – 2001. – **897**, № 1–2. – P.217–221.
  26. Skaggs W.E., McNaughton B.L., Wilson M.A., Barnes CA. Theta phase precession in hippocampal neuronal populations and the compression of temporal sequences // Hippocampus. – 1996. – **6**. – P. 149–172.
  27. Talnov A. N., Quiñones Quiroga R., Meier M. et al. Entorhinal inputs to dentate gyrus are activated mainly by conditioned events with long time intervals // Ibid. – 2003. – **13**, №6. – P. 755–765.
  28. Tesche C.D., Karhu J. Theta oscillations index human hippocampal activation during a working memory task // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2000. – **97**, №2. – P.919–924.
  29. Torrence C., Compo G.P. A practical guide to wavelet analysis // Bull. Amer. Meteorol. Soc. – 1998. – **79**. – P. 61–78.
  30. Vanderwolf C.H. Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat // Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. – 1969. – P. 407–418.
  31. Vertes R.P., Hoover W.B., Viana Di Prisco G. Theta rhythm of the hippocampus: subcortical control and functional significance // Behav. Cogn. Neurosci. Rev. – 2004. – **3**. – P. 173–200.
  32. Wallenstein G.V., Hasselmo M.E. GABAergic modulation of hippocampal population activity: sequence learning, place field development, and the phase precession effect // J. Neurophysiol. – 1997. – **78**. – P. 393–408.
  33. Wilson M.A., McNaughton B.L. Dynamics of the hippocampal ensemble code for space // Science. – 1993. – **261**, №5124. – P. 1055–1058.
  34. Wyble B.P., Hyman J.M., Rossi CA., Hasselmo M.E. Analysis of theta power in hippocampal EEG during bar pressing and running behavior in rats during distinct behavioral contexts // Hippocampus. – 2004. – **14**, №5. – P.662–674.

*Ін-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ*  
 E-mail: talnov@biph.kiev.ua

*Матеріал надійшов до редакції 24.06.2009*