

DOI: 10.7868/S0869813918070043

**ПОВЕДЕНИЕ КРЫС С ВЫСОКИМ И НИЗКИМ  
УРОВНЯМИ ЗАМИРАНИЯ В ОБОРОНИТЕЛЬНЫХ СИТУАЦИЯХ  
И ПРИ ВЫБОРЕ ПИЩЕВОГО ПОДКРЕПЛЕНИЯ**

© *И. В. Павлова, М. П. Рысакова, М. И. Зайченко,  
Н. Д. Брошевицкая*

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,  
Москва, Россия  
E-mail: pavlofvml@mail.ru

У крыс с разными уровнями замирания при классическом оборонительном условном рефлексе сопоставляли поведение при выработке условных рефлексов пассивного и активного избегания, а также при выборе пищевого подкрепления разной ценности. Крысы с длительным замиранием лучше вырабатывали рефлекс пассивного избегания и дольше сохраняли его в процессе угашения, чем животные с кратковременным замиранием. В то же время рефлекс активного избегания в челночной камере легче вырабатывался у животных с коротким замиранием. Крысы с длительным замиранием предпочитали задержанное и более ценное подкрепление в модели выбора пищевого подкрепления разной ценности (низкий уровень импульсивности), в то время как животные с коротким замиранием предпочитали малоценное подкрепление без задержки (высокий уровень импульсивности). Пороги болевой чувствительности не отличались у крыс разных групп. Таким образом, крысы с длительным замиранием демонстрировали пассивную стратегию поведения в оборонительных ситуациях и низкий уровень импульсивности, а крысы с коротким замиранием придерживались активной стратегии поведения и показали высокий уровень импульсивности.

*Ключевые слова:* классический оборонительный рефлекс, рефлекс пассивного избегания, рефлекс активного избегания, пороги болевой чувствительности, выбор пищевого подкрепления разной ценности (delay-discounting).

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 7. С. 780—796. 2018

*I. V. Pavlova, M. P. Rysakova, M. I. Zaichenko, N. D. Broshevitskaya.* THE BEHAVIOR OF RATS WITH HIGH AND LOW FREEZING LEVELS IN CONDITIONED DEFENSIVE PARADIGMS AND DURING DELAY DISCOUNTING TASK. Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the RAS, Moscow, Russia; e-mail: pavlofvml@mail.ru.

The behavior of rats with different freezing levels in Pavlovian fear conditioning was compared in the development of conditioned reflexes in passive and active avoidance and in the delay discounting paradigm with different values of the food reward. Rats with high freezing worked out better a reflex of passive avoidance and kept it longer in the process of extinction than animals with low freezing. At the same time, the reflex of active avoidance in the shuttle chamber was more easily produced in animals with low freezing. Rats with high freezing preferred delayed and more valuable reinforcement in the model of choosing food reinforcements of different value (low level of impulsivity), while animals with low freezing preferred short-lived reinforcement without delay (high level of impulsivity). There were no difference regard-

less of pain thresholds between groups. Thus, rats with high freezing level showed the passive coping strategy in conditioned defensive paradigms and low impulsivity, whereas low freezing rats displayed active defensive behavior and showed a high impulsivity.

*Key words:* Pavlovian fear conditioning, reflex of passive avoidance, reflex of active avoidance, pain thresholds, delay-discounting test.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 7. P. 780—796. 2018

Выработка классического оборонительного условного рефлекса (fear conditioning) в настоящее время широко используется при изучении памяти, механизмов обучения, эмоциональности. Во многих работах выявляется большая индивидуальная изменчивость в проявлении страха, у одних животных при тестировании рефлекса процент времени замирания превышает 90%, у других может быть менее 30% [9, 14, 17, 31]. Угашение рефлекса затруднено у животных с высоким уровнем замирания [10, 11]. В некоторых работах предполагается, что животные с высоким уровнем замирания обладают более прочной памятью о страхе [14] или большей пластичностью латерального ядра миндалины [18]. Другие авторы говорят об их высокой реактивности на страх [25] или о разном выражении страха [32], не связывая различия в замирании с памятью. В экспериментах с локальной инъекцией в миндалину лигандов дофаминергических и серотонинергических рецепторов была обнаружена различная чувствительность к ним у животных с разным уровнем замирания [10, 11]. Вопрос о механизмах, вызывающих в ответ на сигнал опасности разные проявления реакции страха по уровню замирания, далек от разрешения. Неясно, отличаются ли данные животные по способности к обучению, по болевой чувствительности, по предрасположенности к выработке других оборонительных рефлексов (активного и пассивного избегания), т. е. к разным стратегиям поведения. Неизвестно, как коррелирует разная способность к длительному замиранию в оборонительной ситуации с уровнем импульсивности этих же крыс, определяемому в пищевой ситуации по предпочтению подкрепления разной ценности и задержкой в получении (методика выбора пищевого подкрепления, delay-discounting) [4–6]. Проводимое ранее сопоставление не дало четких результатов [7].

Исходя из поставленных вопросов наша работа была предпринята с целью изучить дополнительные фенотипические признаки у крыс с разным уровнем замирания, которые в дальнейшем могли бы помочь в понимании причин появления таких индивидуально-групповых особенностей поведения. В задачи работы входило: 1) выделение групп крыс с разным уровнем замирания после выработки классического оборонительного условного рефлекса, 2) сопоставление болевых порогов у данных групп крыс (порогов вздрагивания, прыжков), 3) сопоставление выработки и угашения рефлекса пассивного избегания в темно-светлой камере у данных групп крыс, 4) изучение динамики выработки рефлекса активного избегания в челночной камере, 5) анализ уровня импульсивности данных групп крыс по их предпочтению малоценного немедленного или ценного задержанного подкрепления в модели выбора подкрепления разной ценности.

## МЕТОДИКА

*Объект исследования.* Опыты проводили в условиях хронического эксперимента на 46 крысах-самцах линии Вистар массой 330—400 г, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Животные содержались в виварии при обычном 12-часовом световом режиме со свободным до-

ступом к воде и стандартному корму в клетках по 5—6 крыс. В экспериментах соблюдали принципы гуманности, изложенные в директивах Европейского Сообщества (2010/63/EU), и положения ИВНД и НФ РАН о работе с экспериментальными животными.

*Определение порогов болевой чувствительности.* Опыты проводили в камере № 1 (Startle and Fear Combined System производства PanLab Harvard apparatus, Spain, 2000). Внутренняя камера размером 24×24×24 см, куда помещали животное, располагалась на 4 датчиках, фиксирующих движения крысы. Пол камеры представлял собой решетку, на которую подавался ток нарастающей силы (0, 0.025, 0.05 и далее с шагом от 0.05 до 0.35 мА) с межстимульным интервалом 90—120 с, длительностью 0.5 с. Реакцию крысы на ток определяли визуально, а также по записи механограммы. Для оценки силы реакции крысы и более четкого выделения реакции замирания анализировали механограмму в интервалах 5 с до, во время и 50 с после стимула. Определяли порог вздрагивания и прыжков. После опыта с определением порогов в течение 2 дней проводили угашение страха на обстановку камеры, для чего крыс помещали в камеру на 10 мин. Во всех последующих экспериментах в данной камере значительно меняли контекст: опилками покрывали пол, стены заклеивали бумагой.

*Выработка и угашение рефлекса пассивного избегания.* На втором этапе проводили выработку рефлекса пассивного избегания в новой светло-темной камере № 2, светлый отсек имел размеры 27×27×27 см, темный — 24×24×24 см. Пол темного отсека представлял собой решетку для подачи электрического тока, отсеки соединялись между собой через отверстие 7×5 см, которое могло закрываться путем опускания дверцы. Освещенность светлого отсека составляла 270—300 лкс, темного — 2—12 лкс. В начале опыта крысу помещали в светлый отсек для ознакомления с обстановкой, дверца при этом была закрыта. Через 30 с дверь открывалась, далее в течение 180 с определяли латентный период захода крысы в темный отсек, время нахождения в каждом отсеке, число болюсов и уринаций. После двух таких контрольных опытов вырабатывали рефлекс пассивного избегания, при этом после захода крысы в темный отсек дверца закрывалась, а на пол камеры подавался ток 0.8 мА в течение 3 с. После этого крысу удаляли из камеры. Через 24 ч тестировали выработку рефлекса, при этом крысе после открывания дверцы предоставлялась возможность зайти в темный отсек в течение 180 с. Подсчитывали латентный период захода в темный отсек, время нахождения в темном и светлом отсеке, число стоек, актов груминга, болюсов и уринаций, а также число заглядываний (разделяли заглядывания с засовыванием только головы и заглядывания с постановой одной или нескольких лап в темном отсеке). В дальнейшем смотрели сохранность рефлекса пассивного избегания в течение 7 или 14 дней. В конце проводили вынужденное угашение условно-рефлекторного страха на обстановку темного отсека камеры, помещая крыс в темный отсек на 10—15 мин в течение 2 опытов.

*Выработка, тестирование и угашение условно-рефлекторного страха.* На третьем этапе проводили выработку классического оборонительного рефлекса в камере № 1 (Startle and Fear Combined System производства PanLab Harvard apparatus, Spain, 2000). При обучении после 120-секундного периода ознакомления с камерой, предъявляли 3 сочетания звука (30 с, 80 дБ, 2000 Гц) и электрокожного раздражения лап через решетку пола (2 с, 0.8 мА, задержка 28 с от начала действия звука) с 40—60-секундными межстимульными интервалами. Через 24 ч после обучения тестировали условно-рефлекторный страх (Тест 1). При этом после 120-секундного периода исследования камеры предъявля-

ли звук (120 с, 80 дБ, 2000 Гц), после которого следовал 120-секундный период без стимулов (последствие). На основании времени замирания в Тесте 1 крыс делили на группы по уровню замирания.

В дальнейшем (через 2—3 дня) в трех опытах угашали условно-рефлекторный страх, при этом после 120 с периода исследования камеры следовало 10 изолированных звуковых стимулов (30 с, 80 дБ, 2000 Гц) без электрокожных раздражений с 20-секундными межсигнальными интервалами. Через 24 ч после каждого опыта с угашением тестировали сохранность рефлекса (соответственно Тест 2, 3 и 4).

*Выработка рефлекса активного избегания.* На четвертом этапе вырабатывали рефлекс активного избегания в новой челночной камере № 3, состоящей из двух одинаковых отсеков размером 25×21×18 см каждый, соединяющихся между собой отверстием 6×6 см. Пол отсеков представлял собой решетку, на которую подавался ток. Условным стимулом служил звук 60 дБ длительностью до 30 с, задержка безусловного стимула (ток) составляла 3 с, сила тока подбиралась индивидуально для каждой крысы и варьировала от 0.35 до 0.6 мА. При переходе крысы в другой отсек в ответ на включение звука (реакция избегания) или в ответ на ток (реакция избавления) все стимулы выключались. Межстимульные интервалы варьировали от 40 до 90 с. За опыт давали 10 сочетаний стимулов. Подсчитывали латентные периоды переходов крысы в другой отсек от начала звука, число реакций избегания, избавления и отсутствие переходов, число межсигнальных переходов между отсеками, а также число болюсов и уринаций.

*Определение уровня импульсивности с применением методики «права выбора (delay-discounting) ценности пищевого подкрепления».* Участвовали 22 крысы. Для поддержания пищевой мотивации в виварии количество подаваемой пищи ограничивали так, чтобы масса крысы составляла приблизительно 80% от массы животного при свободном доступе к пище. Экспериментальная установка представляла собой прямоугольную камеру размером 30×60×30 см (камера № 4). В середине передней стенки камеры была встроена кормушка, доступ в которую загоразживала подвижная шторка из прозрачного пластика. С двух сторон от кормушки размещались выдвижные педали. В кормушке и над каждой из педелей находились сигнальные лампочки. Предварительно крыс обучали в экспериментальной установке нажимать на педаль для получения пищи — стандартной пелетки (пищевая гранула) 45 мг производства фирмы «Bio3Serv» (США). Обучение проводилось до тех пор, пока крыса с равной вероятностью не нажимала на обе педали. Затем животным предоставлялась возможность выбирать либо малоценное немедленное подкрепление, либо ценное, но задержанное пищевое подкрепление. Схема экспериментальной пробы такова. После запуска экспериментальной программы в камере зажигалась лампочка общего освещения и одновременно лампочка в кормушке. В течение 10 с крысе предоставлялась возможность отодвинуть носом шторку, закрывающую доступ в кормушку. Отодвигание шторки приводило к выдвижению обеих педелей, которые оставались выдвинутыми в течение 10 с. При нажатии на правую педаль крыса получала 1 пелетку сразу, на левую — 4 пелетки с задержкой 5 с. Во время ежедневных экспериментов крыса осуществляла 25 проб. Время обучения до достижения крысами стабильности в выборе педели для получения подкрепления в соответствии с предпочитаемой стратегией занимало от 1 до 2 месяцев. После завершения экспериментов, после периода усиленного питания и восстановления первоначальной массы тела данные крысы проходили все 4 этапа с выработкой оборонительных рефлексов.

В каждом опыте анализировали число нажатий на педали для получения малоценного, но немедленного подкрепления ( $k_1$ ), число нажатий для получения более ценного, но задержанного подкрепления ( $k_2$ ), число пропусков реакции отодвигания шторки, число пропусков реакций нажатия на педаль. Рассчитывали коэффициент импульсивности  $K = k_2 / (k_1 + k_2)$ .

*Статистический анализ.* Для статистической обработки результатов использовали стандартную программу Statistica 8.0. При сопоставлении групп крыс применяли дисперсионный анализ ANOVA/MANOVA, раздел многофакторный анализ (*Factorial ANOVA*) и однофакторный анализ (*One-way ANOVA*). При *post-hoc* анализе использовали критерий *Fisher LSD*. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ , отмечали наличие тенденции при  $0.05 \leq p \leq 0.1$ . С применением *Basic Statistics* строили гистограммы распределения количества крыс в зависимости от времени замирания в Тесте 1. Кроме того, рассчитывали коэффициенты корреляции по Спирману между процентом времени замирания на звук в Тесте 1 и коэффициентом импульсивности (*Spearman Rank Order Correlations*, раздел *Nonparametrics STATISTICA*).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

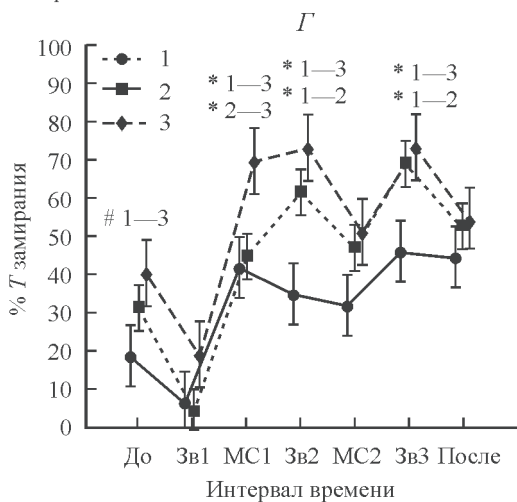
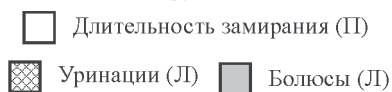
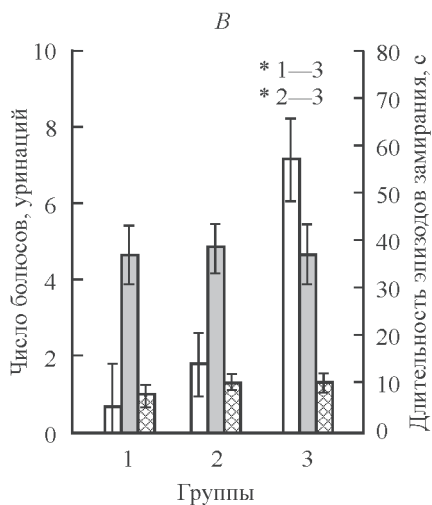
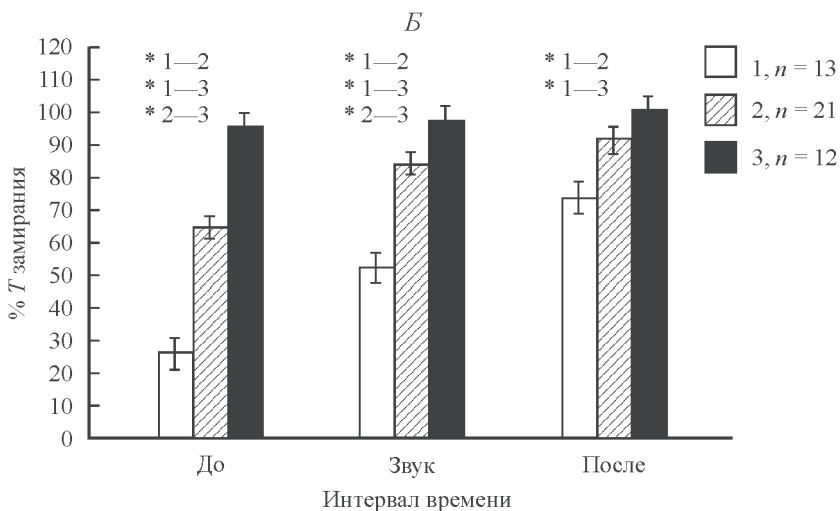
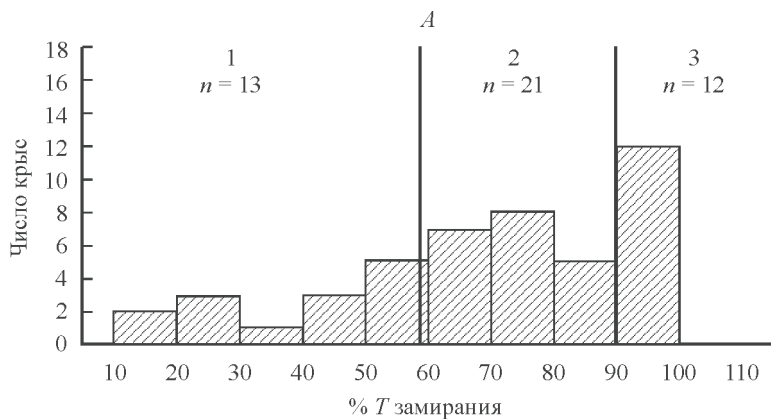
*Выделение и сопоставление групп крыс в зависимости от времени замирания в Тесте 1 после выработки классического оборонительного рефлекса.* На рис. 1, А представлено распределение крыс в зависимости от усредненного процента времени замирания в Тесте 1 в интервалах до и во время действия звука. Опираясь на характер распределения выделяли 3 группы крыс: «мало-» (1), «средне-» (2) и «многозамирающих» животных (3). В 1-ю группу попали животные с временем замирания менее 57% (13 крыс), в 3-ю — более 90% (12 крыс), во 2-ю — более 57 и менее 90% (21 крыса). Сопоставление с помощью *Factorial ANOVA* времени замирания в Тесте 1 выявило существенное влияние фактора «группа крыс» ( $F_{2,129} = 76.553, p < 0.001$ ). Сравнение времени замирания в различные интервалы времени в опыте (рис. 1, Б) с помощью *post-hoc* анализа показало, что как в интервале до, так и во время и после действия звука процент времени замирания был достоверно выше у 3-й группы крыс, чем у 1-й. Крысы 2-й группы занимали промежуточное положение и также достоверно отличались от крайних групп в интервалах до и во время звука. Крыс 3-й группы отличала большая длительность эпизодов замирания в Тесте 1 по сравнению с животными 1-й и 2-й группы (рис. 1, В). По числу болюсов и уринаций группы не отличались (рис. 1, В).

Различия между группами возникали на этапе обучения, фактор «группа крыс»  $F_{2,301} = 13.613, p < 0.001$  (рис. 1, Г). Сравнение времени замирания

---

Рис. 1. Выделение и сопоставление групп «мало-» (1), «средне-» (2) и «многозамирающих» крыс (3) при выработке и тестировании классического оборонительного условного рефлекса.

А — распределение крыс в зависимости от процента времени замирания в Тесте 1 после обучения. По оси абсцисс — число крыс; по оси ординат — процент времени замирания. Б — процент времени замирания крыс до (До), во время (Звук) и после (После) действия звука в Тесте 1. В — число болюсов, уринаций и средняя длительность эпизодов замирания в Тесте 1. Г — процент времени замирания в процессе обучения. По оси абсцисс — интервалы времени. До — до начала сочетаний, Зв1—3 — во время действия 1—3 звука, МС1,2 — во время 1-го и 2-го межсигнального интервала, После — после сочетаний.  $n$  — число крыс в группе.\* Статистически значимые различия между группами, цифры рядом указывают номера групп, # тенденция. Данные представлены в виде среднее  $\pm$  ошибка среднего.



в различные интервалы времени в опыте (рис. 1, Г) с помощью post-hoc анализа показало, что изначально в интервале до и во время первого звука времени замирания не отличалось в трех группах крыс, различия появлялись после применения первого удара тока (интервал МС1), при этом крысы 3-й группы замирали достоверно больше, чем животные 1-й группы. Сопоставление времени замирания при действии звука до сочетания (рис. 1, Г) и после обучения (рис. 1, Б) обнаружило достоверные различия у всех групп крыс, т. е. обучение прошло успешно у всех животных.

*Сопоставление болевой чувствительности и реактивности крыс на электрический ток.* Поскольку различия между группами крыс появлялись при обучении после первого удара током, возникло предположение о разной болевой чувствительности крыс. В методике определения болевой чувствительности «flinch-jump» основными показателями являются пороги вздрагивания и прыжков. Пороги вздрагивания в среднем у всех крыс составляли  $0.049 \pm 0.004$  мА, пороги прыжков  $0.227 \pm 0.013$  мА. Из рис. 2, А, Б видно, что пороги вздрагивания и прыжков не отличались у 1—3-й групп крыс (One-Way ANOVA, фактор «группа крыс»  $F_{2,34} = 0.051$ ,  $p = 0.95$  и  $F_{2,28} = 1.51$ ,  $p = 0.239$  соответственно), что свидетельствует об одинаковой болевой чувствительности крыс разных групп.

Анализ времени замирания крысы в течение 50 с после применения импульсов тока небольшой силы (от 0 до 0.25 мА) показал (рис. 2, В), что у крыс 3-й группы время замирания было несколько больше (на уровне тенденции), чем у крыс 1-й группы на ток такой же силы (Factorial ANOVA, post-hoc анализ). Таким образом, при стимуляции током небольшой силы крысы 3-й группы предпочитают реагировать замиранием чаще, чем крысы 1-й группы.

*Выработка и угашение условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ).* Анализ поведения крыс в процессе выработки и угашения УРПИ с помощью Factorial ANOVA выявил влияние фактора «группа крыс» на вероятность входа в темный отсек ( $F_{2,419} = 4.50$ ,  $p = 0.012$ ), латентность входа ( $F_{2,418} = 4.42$ ,  $p = 0.013$ ), число болюсов ( $F_{2,379} = 4.64$ ,  $p = 0.010$ ), число заглядываний с постановкой лап ( $F_{2,301} = 10.38$ ,  $p < 0.000$ ). Post-hoc анализ показал, что до выработки рефлекса при трех контрольных посадках в камеру не наблюдалось различий в поведении крыс разных групп, все животные входили в темный отсек с небольшой латентностью (рис. 3, А, Б). В 1-й и 2-й день после выработки наблюдались наибольшие различия в поведении крыс разных групп. Вероятность входа в темный отсек была достоверно больше, а латентность входа меньше у крыс 1-й группы, чем у 3-й группы (рис. 3, А, Б). В целом, в 1—2-й день в темный отсек заходило 46% крыс 1-й группы, 29% 2-й группы и только 8% крыс 3-й группы (рис. 3, Д), различие между 1-й и 3-й группами достоверно по критерию  $\chi^2$ ,  $p = 0.035$  ( $2 \times 2$  Table, Nonparametric Statistic). Эти данные свидетельствуют, что выработка УРПИ была более успешной у крыс 3-й группы, чем у 1-й.

Анализ числа болюсов на протяжении 7 дней после обучения показал (рис. 3, В), что у крыс 3-й группы их число было больше в 1—4-й день, чем у крыс 1-й группы, что свидетельствовало, по-видимому, о большем эмоциональном напряжении крыс 3-й группы. У крыс 1-й группы наблюдалось больше заглядываний с постановкой передних лап на пол темной камеры (рис. 3, Г).

Анализ динамики угашения УРПИ на протяжении 15 дней после выработки проводился на выборке из 21 крысы, которые успешно выработали рефлекс (не заходили в темный отсек в 1—2-й день). За весь период угашения ни разу не зашли в темный отсек из 1-й группы 50% крыс, из 2-й — 78% крыс, из

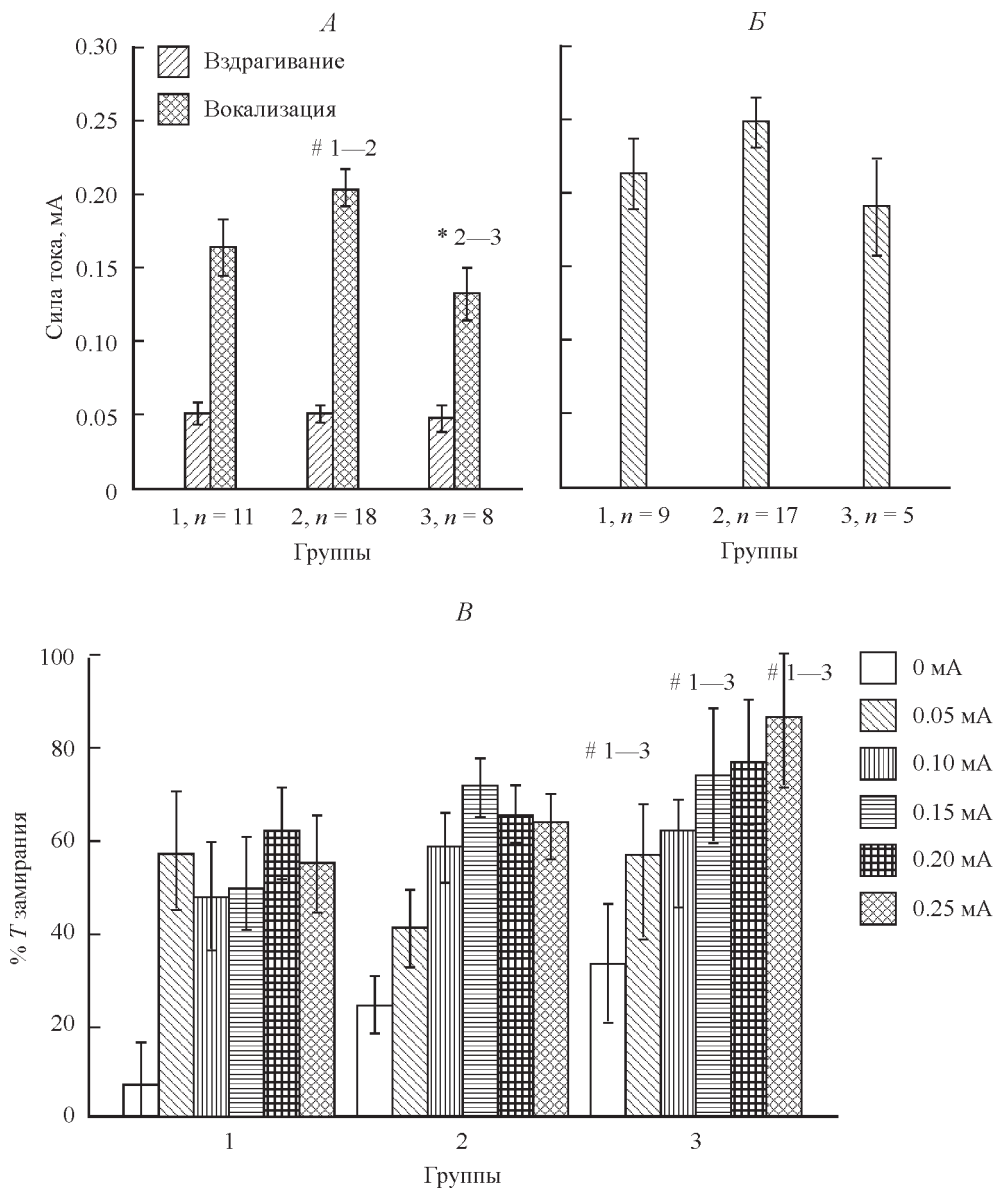


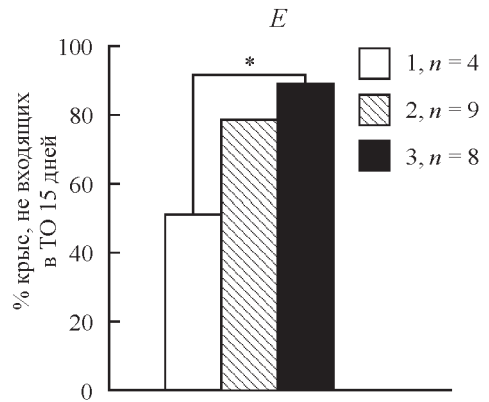
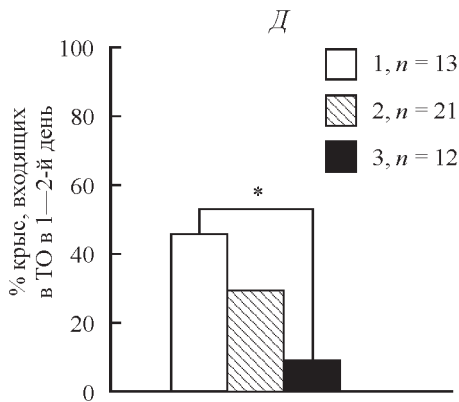
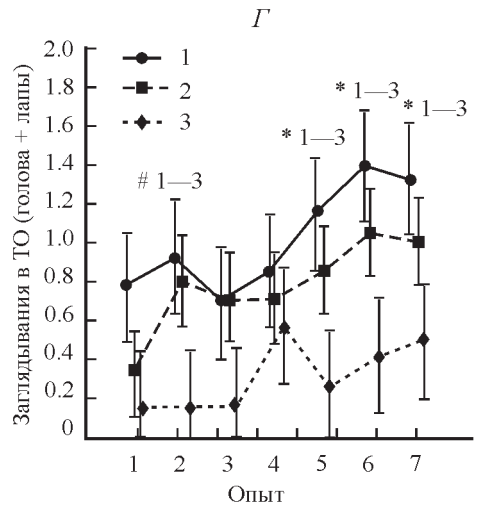
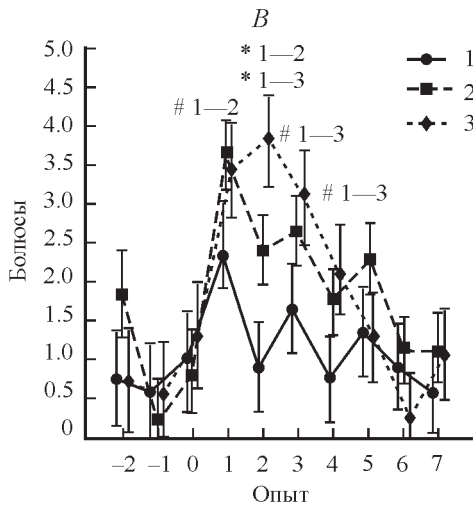
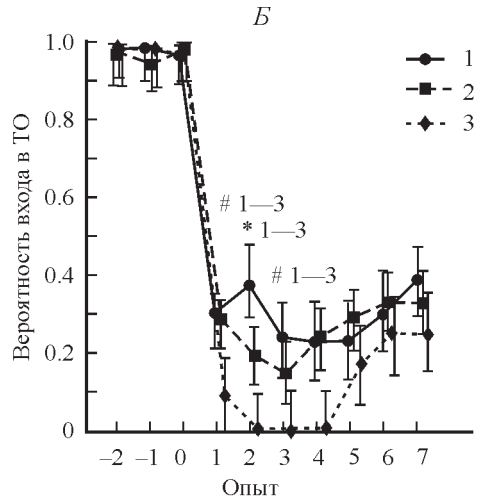
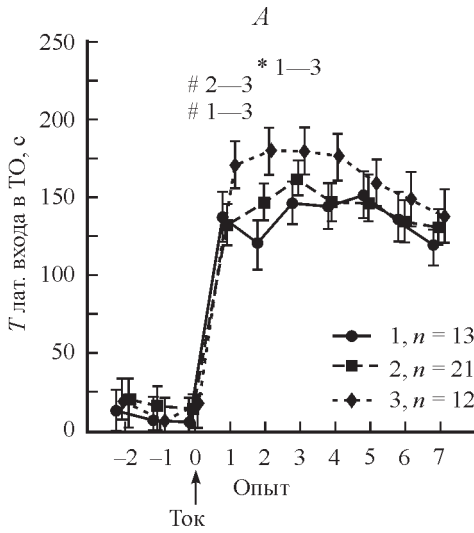
Рис. 2. Появление вздрагивания, прыжков и замирания при действии тока нарастающей силы у крыс 1, 2 и 3-й групп.

*A* — пороги вздрагивания, *Б* — пороги прыжков. По оси ординат на *A, Б* — сила тока, мА; по оси абсцисс — группы крыс. *В* — процент времени замирания у крыс в течение 50 с после действия тока нарастающей силы от 0 до 0.25 мА. # Тенденция появления различий между группами, цифры рядом указывают номера групп. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

3-й — 89% (рис. 3, *Е*). Различие между 1-й и 3-й группами крыс статистически значимое ( $2 \times 2$  Table, Nonparametric Statistic), т. е. устойчивость к угашению была выше у крыс 3-й группы, чем у 1-й.

Таким образом, крысы 3-й группы по сравнению с животными 1-й группы не только лучше вырабатывали УРПИ, но и хуже угашали рефлекс.





*Выработка рефлекса активного избегания.* Сопоставление динамики выработки реакции активного избегания выявило влияние фактора «группа крыс» на латентность перехода в другой отсек камеры ( $F_{2,217} = 13.16, p < 0.001$ , Factorial ANOVA). Сопоставление с помощью post-hoc анализа латентности перехода крыс из одного отсека в другой (рис. 4, А) показало, что у крыс 1-й группы латентность была меньше, чем у животных 2-й и 3-й группы в начале обучения с 1-го по 6-й опыты, а также в 8-м и 10-м опытах, в конце обучения достоверных отличий не наблюдалось.

Если анализировать отдельно реакции избавления и избегания, то фактор «группа крыс» оказывал влияние на уровне тенденции на вероятность избегания ( $F_{2,19} = 3.04, p = 0.072$ ) и на вероятность избавления ( $F_{2,19} = 3.11, p = 0.068$ ). В целом латентность избавления была достоверно ( $p = 0.033$ ) меньше у 1-й группы (5.72 с), чем у 3-й (6.58 с), а латентность избегания была меньше ( $p = 0.030$ ) у крыс 1-й группы (2.02 с), чем у 2-й (2.27 с).

Реакции избегания появлялись, начиная со 2-го опыта (рис. 4, Б). С 5-го по 8-й и в 10—11-й опытах согласно post-hoc анализу вероятность избегания была достоверно больше у крыс 1-й группы, чем у 3-й, у животных 2-й группы вероятность избегания не отличалась от 3-й группы.

Если анализировать успешность обучения (рис. 4, В), то в 1-й группе 86% крыс достигли критерия выработки активного избегания (70% реакций избегания за опыт), причем у 57% из них это происходило во время 4—6-го опытов. Во 2-й группе достигали критерия 57% крыс, в 3-й — только 25% крыс, причем это происходило только на 10—14-й день обучения. Различие между процентами обучившихся крыс в 1-й и 3-й группах достоверно по критерию  $\chi^2, p = 0.019$  (2×2Table, Nonparametric Statistic).

Таким образом, у крыс 1-й группы в начале обучения вероятность реакций избегания была выше, латентность переходов ниже, выработка реакции избегания проходила быстрее и успешнее, чем у крыс 3-й группы.

*Выбор пищевого подкрепления разной ценности.* Корреляционный анализ между коэффициентами импульсивности, полученными в модели выбора подкрепления разной ценности, и процентом времени замирания в Тесте 1 после выработки классического оборонительного рефлекса выявил положительную значимую корреляцию (коэффициент корреляции  $r = 0.592, p < 0.05$ , рис. 5, Б), т. е. у крыс при увеличении длительности замирания возрастало предпочтение ценного, но задержанного подкрепления. Анализ по группам крыс показал (post-hoc анализ, One-Way ANOVA, рис. 5, А), что крысы 1-й группы имели низкий коэффициент импульсивности (0.44), т. е. предпочитали малоценное подкрепление без задержки. Животные 3-й группы имели достоверно более высокий коэффициент импульсивности (0.72) и предпочитали ценное подкрепление с задержкой. Крысы 2-й группы занимали промежуточное положение.

Таким образом, обнаружена взаимосвязь между уровнем замирания крыс в оборонительной ситуации и уровнем импульсивности при выборе пищевого подкрепления разной ценности.

---

Рис. 3. Выработка и угашение рефлекса пассивного избегания у крыс 1, 2 и 3-й групп.

А — латентность входа в темный отсек камеры; Б — вероятность входа в темный отсек; В — число болюсов; Г — число заглядываний в темный отсек с постановкой лап. По оси абсцисс на А—Г — номера опытов (–2, –1 — до выработки рефлекса, 0 — в день выработки, 1—7 — после выработки); Д — процент крыс, заходящих в темный отсек в 1-2-м и опытах после обучения; Е — процент крыс, не заходящих в темный отсек ни разу на протяжении 15 дней после обучения. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

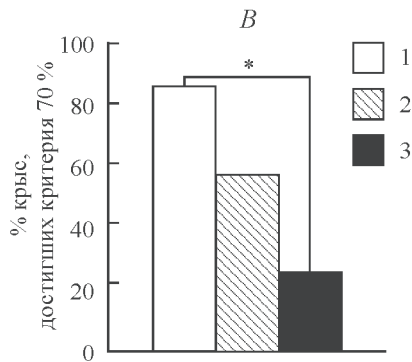
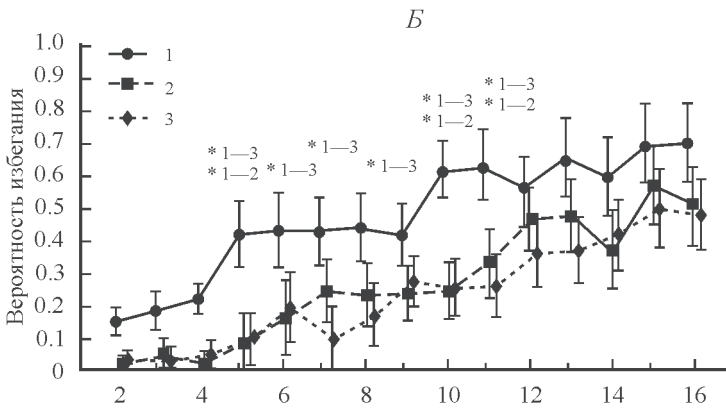
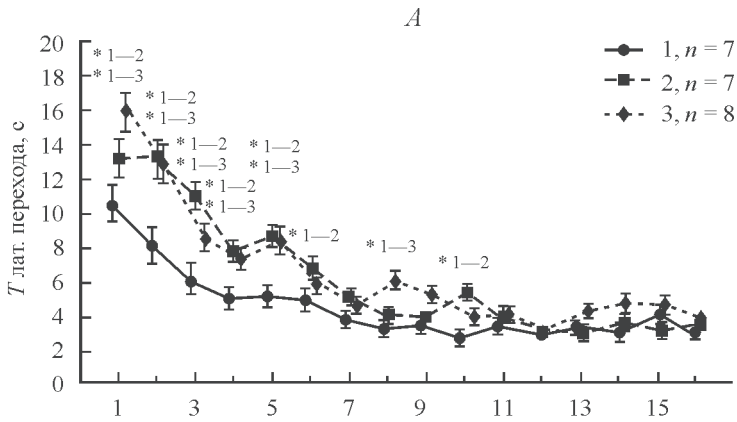


Рис. 4. Выработка рефлекса активного избегания у крыс 1, 2 и 3-й групп.

А — латентность перехода в другой отсек после включения звука, с; Б — вероятность реакции избегания (перехода в другой отсек до начала действия тока). По оси абсцисс на А и Б — номер опыта; В — процент крыс, достигших критерия 70% в появлении реакций избегания за опыт. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

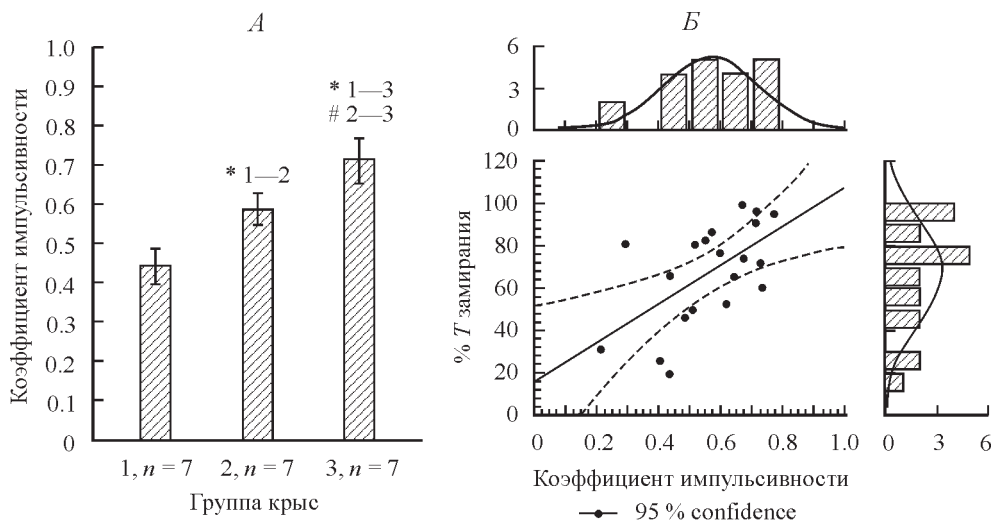


Рис. 5. Сопоставление уровня замирания в Тесте 1 после выработки классического оборонительного рефлекса и коэффициента импульсивности в модели выбора пищевого подкрепления разной ценности.

*A* — средний коэффициент импульсивности у 1—3-й групп крыс; *B* — корреляционная матрица между коэффициентом импульсивности и процентом времени замирания. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе при выработке классического оборонительного рефлекса давали три сочетания условного и безусловного стимула, а не пять, как было в наших предыдущих исследованиях [9—11]. Это делалось с целью уменьшить прочность рефлекса и облегчить последующее его угашение. В настоящей работе, так же как после применения пяти сочетаний, крысы показали большой разброс процента времени замирания в тесте после обучения. Достаточный объем выборки позволил выделить три группы: «мало-», «средне-», и «многозамирающих» крыс. Процент времени замирания у всех групп крыс после обучения в ответ на звук был достоверно больше, чем до обучения, т. е. все животные выработали рефлекс. Данные группы крыс отличались также по длительности эпизодов замирания в Тесте 1, число же болюсов и уриаций не различалось. Эти данные позволили заключить, что как «мало-», так и «многозамирающие» крысы успешно выработали условно-рефлекторный страх, однако проявление страха в виде замирания в разных группах могло отличаться.

Поскольку различия между группами возникали уже при выработке рефлекса, после первого применения тока возникло предположение о разной болевой чувствительности выделенных групп крыс. Однако проведенный анализ порогов вздрагивания и прыжков не выявил достоверных различий между группами, что опровергло данное предположение. Ранее также не было обнаружено корреляции между уровнем замирания при условно-рефлекторном страхе на контекст и болевой чувствительностью крыс, определяемой в двух тестах «flinch-jump» и «tail-flick» [27].

В литературе содержатся противоречивые данные о болевых порогах у крыс, принадлежащих к разным линиям и группам. У крыс с высокой (линия КНА) и низкой скоростью выработки активного избегания (линия КЛА) не было обна-

ружено различий в порогах болевой чувствительности при стимуляции решетки пола током, при этом анализировали пороги вздрагивания и переступания лапами [3]. У крыс Римских линий с высокой и низкой скоростью выработки активного избегания пороги переступания и прыжков все же различались [29]. У крыс с высокой и низкой исследовательской активностью в открытом поле (HRA и LRA) также не было обнаружено различий в болевой чувствительности в тестах «горячая пластина» (hot-plate) и «удар по хвосту» (tail-flick) [16]. Вместе с тем в ряде работ при делении крыс на группы в зависимости от порогов болевой реакции была обнаружена разница в проявлении условных оборонительных рефлексов и в поведении в аверсивных ситуациях. При условно-рефлекторном страхе на контекст у низкочувствительных крыс с высоким порогом было больше реакций в виде ультразвуковой вокализации, а у высокочувствительных крыс с низким порогом — больше реакций замирания [26]. У крыс с низким (линия Н) и высоким (линии В) порогом возбуждения при электростимуляции задней конечности обнаружены различия в поведении в открытом поле [13], при выработке эмоционального резонанса и активного избегания [1].

Интересно отметить, что анализ времени замирания в 50-секундных интервалах после действия током небольшой силы (от 0 до 0.25 мА) в нашей работе обнаружил тенденцию к преобладанию времени замирания у «многозамирающих» крыс по сравнению с «малозамирающими» животными, т. е. при действии слабого тока уже начинает проявляться предпочтительный характер реагирования крыс разных групп.

Анализ успешности выработки условного рефлекса пассивного избегания в темно-светлой камере и динамики его угашения выявил существенные различия между группами крыс. «Многозамирающие» крысы более успешно выработали рефлекс по сравнению с «малозамирающими» животными. Анализ динамики угашения рефлекса на протяжении 14 дней у успешно обучившихся крыс показал более длительную сохранность рефлекса у «многозамирающих» животных по сравнению с «малозамирающими». По-видимому, более быстрому угашению рефлекса пассивного избегания у «малозамирающих» крыс способствовали заглядывания в темный отсек с постановкой передних лап. Вероятно, замирание как предпочтительная форма реакции на опасную ситуацию у «многозамирающих» крыс проявлялось при помещении в светлый отсек после обучения, подавляло исследовательскую мотивацию и препятствовало вхождению в темный отсек.

При выработке активного избегания в челночной камере существенные различия между группами крыс возникали в начале обучения. У «многозамирающих» крыс латентность перехода в другой отсек была выше, а вероятность избегания ниже, чем у «малозамирающих» животных. Процент крыс, достигших критерия 70% реакций избегания, был выше в группе «малозамирающих», чем в группе «многозамирающих» животных. В ситуации активного избегания предпочтительная реакция на сигнал опасности в виде замирания препятствовала выработке рефлекса у «многозамирающих» крыс.

Таким образом, доминирование активной (побежки, прыжки) или пассивной оборонительной реакции (замирание) на сигнал опасности у соответственно «мало- и многозамирающих» крыс приводило к разной успешности выработки рефлекса активного и пассивного избегания. Важно отметить сходство стратегии поведения у выделенных групп крыс Вистар при всех исследованных условных оборонительных рефлексах, т. е. при реальной опасности; крысы с высоким уровнем замирания демонстрировали пассивную стратегию поведения, а животные с низким уровнем замирания, наоборот, активную стратегию поведения. В отличие от условных оборонительных рефлексов при

потенциальной угрозе, в тестах на тревожность поведение одних и тех крыс варьировало в зависимости от вида теста [9].

Как известно, выбор вида оборонительного поведения зависит от характера и близости угрожающих стимулов, т. е. являются ли они потенциальными, удаленными или близкими [15, 30]. Кроме того, существуют индивидуальные особенности в выборе предпочтительной реакции. В литературе успешно развиваются представления об активной и пассивной стратегии поведения (active and passive coping style, strategies) в авersive ситуациях [2, 20–22, 33]. Показано, что животные с пассивной стратегией поведения имеют повышенный уровень активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и соответственно повышенный уровень кортикостерона в крови по сравнению с особями с активной стратегией [20, 33]. Большая роль в переключении поведенческого ответа с замирания на активное поведение у мышей отводится особой популяцией клеток центрального ядра миндалина, называемыми клетками I типа, которых отличает наличие деполяризации после генерации потенциала действия [21]. Торможение этих клеток ведет к уменьшению замирания и увеличению реакции arousal в коре головного мозга, являющейся холинергической по своей природе. Животные с предпочтением разных стратегий поведения различаются также устойчивостью к невротизации и стрессу [2, 8, 12, 24], чувствительностью к алкоголю [28] и наркотическим веществам [19], предрасположенностью к иммунопатологическим заболеваниям [23, 34]. Активная и пассивная стратегии поведения в авersive ситуациях дают определенные преимущества для выживания животных в различных условиях внешней среды [2, 24]. Так, например, особи с активной стратегией поведения имеют преимущества при социальных конфликтах при увеличенной численности популяции, а с пассивной стратегией — при неблагоприятных изменениях во внешней среде при снижении численности популяции.

В нашей работе была показана положительная корреляция между длительным замиранием в оборонительной ситуации и способностью выбирать ценное пищевое подкрепление с задержкой, т. е. обнаружена связь между стратегией поведения крыс в оборонительной и пищевой ситуациях. Можно предположить, что способность сдерживать активные моторные реакции является универсальным свойством нервной системы и проявляется как в оборонительной, так и пищевой ситуации. Ранее была показана связь между импульсивностью поведения в пищевой ситуации и тревожностью крыс в приподнятом крестообразном лабиринте [7], открытом поле и светло-темной камере [5], поведением в модели эмоционального резонанса [4]. Сопоставление времени замирания в ответ на звук при классическом оборонительном рефлексе ранее не обнаружало разницы у крыс с разным уровнем импульсивности [7], межгрупповые различия наблюдались только в ответ на предъявление контекста. В данной работе выработка проводилась с помощью одного сочетания, возможно «самоконтрольные» животные хуже обучились, поскольку их сигнальная память проявляется слабее, чем у «импульсивных» крыс [6].

Проведенное исследование позволяет ответить на ряд поставленных во введении вопросов. Условно-рефлекторный страх вырабатывается как у «мало-», так и «многозамирающих» крыс при выработке классического оборонительного рефлекса, однако проявление его различно — одни предпочитают активные двигательные реакции, другие — замирание. Доминирующая стратегия поведения на сигнал опасности хорошо видна при выработке рефлексов активного и пассивного избегания. Способность или неспособность к длительному замиранию проявляется и при выборе пищевого подкрепления разной ценности и с разной задержкой.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Крысы с высоким уровнем замирания при классическом оборонительном рефлексе в отличие от животных с низким уровнем успешнее вырабатывали и дольше сохраняли в процессе угашения рефлекс пассивного избегания.

Крысы с низким уровнем замирания быстрее вырабатывали рефлекс активного избегания в челночной камере, чем животные с длительным замиранием.

Пороги болевых реакций вздрагивания и прыжков при подаче тока на решетку пола не отличались у крыс с разным уровнем замирания.

Животные с высоким уровнем замирания предпочитали задержанное и более ценное подкрепление в модели выбора пищевого подкрепления разной ценности (низкий уровень импульсивности), в то время как «малозамирающие» крысы предпочитали малоценное подкрепление без задержки (высокий уровень импульсивности).

Крысы с высоким уровнем замирания демонстрировали пассивную стратегию поведения в оборонительных ситуациях и низкий уровень импульсивности при выборе пищевого подкрепления, крысы с низким уровнем замирания придерживались активной стратегии поведения и показали высокий уровень импульсивности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] Вайдо А. И., Жданова И. В., Ширяева Н. В. Реакция эмоционального резонанса у крыс с различным уровнем возбудимости нервной системы. Журн. высш. нерв. деятельности. 37(3): 575—577. 1987.

[2] Жуков Д. А. Психогенетика стресса. Поведенческие и эндокринные корреляты генетических детерминант стресс-реактивности при неконтролируемой ситуации. СПб. СПбЦНТИ. 1997.

[3] Жуков Д. А., Виноградова Е. П. Пороги болевой чувствительности у крыс, генетически селективированных по скорости выработки активного избегания. Журн. высш. нерв. деятельности. 47(1): 167—169. 1997.

[4] Зайченко М. И., Мержанова Г. Х., Демина А. В. Исследование поведения «импульсивных» и «самоконтролирующих» животных методом «эмоционального резонанса». Журн. высш. нерв. деятельности. 60(2): 192—200. 2010.

[5] Зайченко М. И., Ванециан Г. Л., Мержанова Г. Х. Различия в поведении импульсивных и самоконтролирующих крыс при исследовании их в тестах открытого поля и светло-темной камеры. Журн. высш. нерв. деятельности. 61(3): 340—350. 2011.

[6] Зайченко М. И., Шаркова А. В., Григорьян Г. А., Мержанова Г. Х. У высоко импульсивных крыс сигнальная память в 8-канальном радиальном лабиринте проявляется лучше, чем у низко импульсивных животных. Журн. высш. нерв. деятельности. 66(5): 600—610. 2016.

[7] Леванювская А. А., Зайченко М. И., Мержанова Г. Х., Саложин С. В. Оценка исследовательской активности и тревожности крыс, различающихся по выраженности импульсивного поведения. Журн. высш. нерв. деятельности. 63(6): 719—729. 2013.

[8] Ливанова Л. М., Левшина И. П., Ноздрачева Л. В., Курочкина Е. В., Элбанидзе М. Г., Айрапетянц Н. Г. Профилактическое влияние отрицательно заряженных аэроионов при остром стрессе у крыс с разными типологическими особенностями поведения. Журн. высш. нерв. деятельности. 46(3): 564—570. 1996.

[9] Павлова И. В., Рысакова М. П. Проявление тревожности крыс Вистар при выработке условнорефлекторного страха. Журн. высш. нерв. деятельности. 65(6): 719—735. 2015.

[10] Павлова И. В., Рысакова М. П. Влияние введения лигандов рецепторов серотонина 5-НТ1А в миндалину на поведение крыс с разным проявлением условнорефлекторного страха. Журн. высш. нерв. деятельности. 66(6): 710—724. 2016.

- [11] Павлова И. В., Рысакова М. П., Сергеева М. И. Влияние блокады D1 и D2 рецепторов в базолатеральной миндалине на поведение крыс с высоким и низким уровнем тревожности и страха. *Журн. высш. нерв. деятельности.* 65(4): 471—485. 2015.
- [12] Степаничев М. Ю., Тишкина А. О., Новикова М. Р., Левшина И. П., Пискунов А. К., Лазарева Н. А., Гуляева Н. В. Эффекты хронического комбинированного стресса: изменения поведения крыс с разной реакцией на новизну. *Журн. высш. нерв. деятельности.* 66(5): 611—625. 2016.
- [13] Ширяева Н. В., Вайдо А. И., Петров Е. С., Хофман Г. Н., Забродин И. Ю., Макарова Т. М. Поведение в открытом поле крыс с различным уровнем возбудимости нервной системы. *Журн. высш. нерв. деятельности.* 37(6): 1064—1069. 1987.
- [14] An X. L., Zheng X. G., Liang J., Bai Y. J. Corticosterone combined with intramedial prefrontal cortex infusion of SCH 23390 impairs the strong fear response in high-fear-reactivity rats. *Psychol. J.* 2(1): 1—10. 2013.
- [15] Blanchard D. C., Blanchard R. J. Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. *Annu. Rev. Psychol.* 39: 43—68. 1988.
- [16] Borta A., Schwarting R. K. Inhibitory avoidance, pain reactivity, and plus-maze behavior in Wistar rats with high versus low rearing activity. *Physiol. Behav.* 84(3): 387—396. 2005.
- [17] Bush D. E., Sotres-Bayon F., LeDoux J. E. Individual differences in fear: isolating fear reactivity and fear recovery phenotypes. *J. Trauma Stress.* 20(4): 413—422. 2007.
- [18] Coyner J., McGuire J. L., Parker C. C., Ursano R. J., Palmer A. A., Johnson L. R. Mice selectively bred for High and Low fear behavior show differences in the number of pMAPK (p44/42 ERK) expressing neurons in lateral amygdale following Pavlovian fear conditioning. *Neurobiol. Learn. Mem.* 112: 195—203. 2014.
- [19] Deroche V., Piazza P. V., Le Moal M., Simon H. Individual differences in the psychomotor effects of morphine are predicted by reactivity to novelty and influenced by corticosterone secretion. *Brain Res.* 623(2): 341—344. 1993.
- [20] Diaz-Moran S., Palencia M., Mont-Cardona C., Canete T., Blazquez G., Martinez-Membrives E., Lopez-Aumatell R., Tobena A., Fernandez-Teruel A. Coping style and stress hormone responses in genetically heterogeneous rats: comparison with the Roman rat strains. *Behav. Brain Res.* 228(1): 203—210. 2012.
- [21] Gozzi A., Jain A., Giovannelli A., Bertollini C., Crestan V., Schwarz A. J., Tsetsenis T., Ragozzino D., Gross C. T., Bifone A. A neural switch for active and passive fear. *Neuron.* 67(4): 656—666. 2010.
- [22] Gray J. A. The psychology of fear and stress. Cambridge. Cambridge Univ. Press. 1987.
- [23] Koolhaas J. M. Coping style and immunity in animals: making sense of individual variation. *Brain Behav. Immun.* 22(5): 662—667. 2008.
- [24] Koolhaas J. M., de Boer S. F., Buwalda B., van Reenen K. Individual variation in coping with stress: a multidimensional approach of ultimate and proximate mechanisms. *Brain Behav. Evol.* 70(4): 218—226. 2007.
- [25] Ledoux J. E., Sakaguchi A., Reis D. J. Strain differences in fear between spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Brain Res.* 277(1): 137—143. 1983.
- [26] Lehner M., Taracha E., Skorzewska A., Maciejak P., Wislowska-Stanek A., Zienowicz M., Szyndler J., Bidzinski A., Plaznik A. Behavioral, immunocytochemical and biochemical studies in rats differing in their sensitivity to pain. *Behav. Brain Res.* 171(2): 189—198. 2006.
- [27] Lehner M., Wislowska-Stanek A., Maciejak P., Szyndler J., Sobolewska A., Krzascik P., Plaznik A. The relationship between pain sensitivity and conditioned fear response in rats. *Acta Neurobiol. Exp.* 70(1): 56—66. 2010.
- [28] Rorick L. M., Finn P. R., Steinmetz J. E. Heart rate reactivity in HAD and LAD rats during Pavlovian fear conditioning. *Integr. Physiol. Behav. Sci.* 39(1): 24—41. 2004.
- [29] Satinder K. P., Hill K. D. Effects of genotype and postnatal experience on activity, avoidanceshock threshold, and open-field behavior of rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 86: 363—374. 1974.
- [30] Shuhama R., Del-Ben C. V., Loureiro S. R., Graeff F. G. Animal defense strategies and anxiety disorders. *An. Acad. Bras. Cienc.* 79(1): 97—109. 2007.
- [31] Skorzewska A., Lehner M., Wislowska-Stanek A., Turzynska D., Sobolewska A., Krzascik P., Plaznik A. Midazolam treatment before re-exposure to contextual fear reduces freezing behavior and amygdale activity differentially in high- and low-anxiety rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 129: 34—44. 2015.



[32] *Stiedl O., Radulovic J., Lohmann R., Birkenfeld K., Palve M., Kammermeier J., Sananbenesi F., Spiess J.* Strain and substrain differences in context- and tone-dependent fear conditioning of inbred mice. *Behav. Brain Res.* 104(1—2): 1—12. 1999.

[33] *Szklarczyk K., Korostynski M., Golda S., Piechota M., Ficek J., Przewlocki R.* Endogenous opioids regulate glucocorticoid-dependent stress-coping strategies in mice. *Neuroscience.* 330: 121—137. 2016.

[34] *Zozulya A. A., Gabaeva M. V., Sokolov O. Y., Surkina I. D., Kost N. V.* Personality, coping style, and constitutional neuroimmunology. *J. Immunotoxicol.* 5(2): 221—225. 2008.

Поступила 28 II 2018  
После доработки 13 IV 2018