

**ФИЗИОЛОГИЯ ПОВЕДЕНИЯ;  
ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ**

УДК 612.821.6

**НЕРАВНОМЕРНАЯ РОСТРО-КАУДАЛЬНАЯ АКТИВАЦИЯ ГИППОКАМПА  
ПОСЛЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МЫШАМИ НОВОГО ПРОСТРАНСТВА**

© 2012 г. П. А. Купцов, М. Г. Плескачева, К. В. Анохин

*Кафедра высшей нервной деятельности Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,  
Институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва,  
e-mail: kuptsov.pavel@gmail.com*

Поступила в редакцию 22.03.2011 г.

Принята в печать 10.10.2011 г.

Для оценки активности гиппокампа у мышей линии C57BL/6 при обследовании нового пространства разной степени сложности и обучении использовали нейрокартинг с помощью индуцируемого нервной активностью белка c-Fos. Подсчет c-Fos-иммунопозитивных нейронов осуществляли на восьми уровнях, расположенных вдоль всей росто-каудальной оси гиппокампа. В эксперименте 1 мышам в течение 6 попыток одного дня давали находить выход в “домашнюю клетку” через один из рукавов модифицированного 8-рукавного радиального лабиринта. Животных группы активного контроля в день эксперимента 6 раз выпускали в “домашнюю клетку” через изолированный рукав. У мышей, тестируемых в 8-рукавном лабиринте, обнаружено неравномерное увеличение экспрессии c-Fos вдоль росто-каудальной оси: активация в каудальной части полей CA1, CA3 и зубчатой фасции была значительно выше, чем в ростральной. В эксперименте 2 животных тестировали в новом для них “открытом поле”. В этом случае прирост экспрессии в каудальной части поля CA1 был выше, чем в ростральной, однако в поле CA3 и зубчатой фасции активация усиливалась равномерно на всем их росто-каудальном протяжении. В обоих экспериментах выявлены положительные корреляции между плотностью c-Fos-положительных нейронов и показателями исследовательской активности. Полученные данные свидетельствуют о том, что пребывание животных в новом пространстве неравномерно активизирует поля гиппокампа вдоль его росто-каудальной оси.

*Ключевые слова: исследовательская активность, экспрессия c-Fos, гиппокамп, CA1, CA3, зубчатая фасция, росто-каудальная ось, радиальный лабиринт, “открытое поле”.*

**Inhomogeneous Hippocampal Activation Along the Rostrocaudal Axis in Mice  
after Exploration of Novel Environment**

**P. A. Kuptsov, M. G. Pleskacheva, K. V. Anokhin**

*Lomonosov State University, Anokhin Institute of Normal Physiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow,  
e-mail: kuptsov.pavel@gmail.com*

Levels of the c-Fos protein expression in neurons were used as an index of neural activation in the hippocampus of C57BL/6 mice after their exploration of novel environments. C-Fos expression was measured at 8 levels along the rostrocaudal axis of the hippocampus. In Experiment 1, C57BL/6 mice were trained in a modified 8-arm radial maze to find the entry to a home cage through a target arm (1 day, 6 trials). Animals of control group were trained to enter the home cage through an isolated arm. In mice trained in 8-arm maze, functional rostrocaudal inhomogeneity of hippocampus was found. C-Fos expression was increased, mainly, in the caudal parts of CA1, CA3 and *dentate gyrus* as compared to the control group. In Experiment 2, C57BL/6 mice were tested (1 day, 6 trials) in a novel open-field arena. In this case, c-Fos activity was increased in CA1 (to a greater extent in the caudal than in rostral parts) and CA3 and *dentate gyrus* (equally in rostrocaudal direction). Significant positive correlations between the exploration activity and density of c-Fos positive cells were found in both experiments. The findings suggest that exploration in novel environment differentially affects the hippocampal subfields along the hippocampal rostrocaudal axis.

*Keywords: exploration activity, c-Fos expression, hippocampus, CA1, CA3, dentate gyrus, rostrocaudal axis, radial maze, open field.*

Исследования последних лет свидетельствуют о функциональной неоднородности гиппокампа (Гп) вдоль его росто-каудальной оси. Ростральная и каудальная часть этой сложной трехмерной структуры получают проекции от разных отделов как новой коры, так и подкорковых структур [30]. Функциональные характеристики “клеток места” Гп различаются в разных точках его росто-каудальной оси. В частности, клетки места, регистрируемые в каудальной области, имеют меньшую пространственную точность [14, 25]. Многие исследования, в которых проводили избирательное удаление разных частей этой структуры, подтверждают важную роль ростральной части Гп в процессах пространственного обучения (например, [9, 20, 23]), тогда как функции каудальной части остаются неясными. В ряде работ (например, [6, 9]) показано, что эта область вовлечена в контроль пространственного обучения. Однако другие исследователи [20, 23] не обнаружили изменения пространственного поведения при разрушении каудального отдела Гп у грызунов.

В наших предыдущих исследованиях, где использовался метод функционального нейромаркирования активности Гп, мы также обнаружили функциональную гетерогенность полей Гп и зубчатой фасции (ЗФ) вдоль росто-каудальной оси при пространственном обучении полевок [2]. В качестве маркера использовали иммуногистохимическую окраску на белок *c-Fos*, индуцирующийся в нервных клетках в связи с приобретением и консолидацией нового опыта [1, 15]. Этот метод оценки сравнительно недавно начал применяться для исследования механизмов пространственного обучения [11, 28]. У крыс и мышей после обучения в различных вариантах радиального лабиринта обнаружено значительное увеличение числа *c-Fos* положительных нейронов во всех полях Гп и ЗФ, как в их ростральной, так и в каудальной части, однако детального картирования полей Гп на разных уровнях в этих работах не проводилось [18, 27, 28]. Необходимо отметить, что в большинстве указанных работ оценку экспрессии осуществляли после длительного обучения в сложных тестах, что также затрудняет детальную трактовку полученных результатов. В наших экспериментах мы оценивали эффект выполнения новой простой пространственной задачи, не осложненной дополнительными влияниями. Нами приме-

нялась модификация радиального лабиринта [2], где в качестве подкрепления использовали возможность возвращения в “домашнюю клетку” через один из его рукавов. Было выявлено, что обыкновенные полевки (*Microtus arvalis*) успешно, в течение нескольких попыток одного дня, обучались находить выход из этого лабиринта, причем обучение сопровождалось высоким уровнем исследовательской активности. Передвижение по лабиринту вызывало активацию экспрессии *c-Fos* главным образом в каудальных отделах Гп.

В настоящей работе мы проверяли выявленные особенности различий активации передних и задних отделов Гп на другом виде животных – часто используемых в поведенческих и нейробиологических экспериментах мышцах линии C57BL/6. Для этого использовали разработанную ранее модель пространственного обучения в 8-рукавном радиальном лабиринте. Для дополнительной оценки влияния фактора новизны экспериментального пространства, нами было также проведено дополнительное исследование, где мышцей тестировали в новом для них “открытом поле”. Известно, что исследование новой арены вызывает увеличение экспрессии *c-fos* в ростральном Гп [3, 21], но подробной оценки активации различных полей Гп в этих условиях не проводили. Таким образом, целью настоящей работы было оценить росто-каудальные паттерны экспрессии *c-Fos* в полях Гп у мышей линии C57BL/6 при обучении и обследовании нового пространства.

## МЕТОДИКА

В эксперименте использовали самцов мышцей инбредной линии C57BL/6, полученных из питомника “Столбовая”, массой 18–21 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария. Корм и воду грызуны получали *ad libitum*. Эксперименты были проведены в соответствии с директивой Евросоюза № 86–609.

### Эксперимент в радиальном лабиринте

В опыте использовали разработанную нами ранее для полевок методику [2]. 8-рукавный радиальный лабиринт, сделанный из прозрачного пластика (длина рукава 32 см, диаметр центральной части 36 см, ее высота 45 см), размещали на вращающейся площадке, приподнятой над уровнем пола на 82 см. В конце рукавов (на расстоянии 26 см от стенки

**Таблица 1.** Уровни анализа срезов и их соответствие координатам атласа [10]

**Table 1.** Analyzed levels and AP coordinates according to mouse brain atlas [10]

Выбранные уровни	1	2	3	4	5	6	7	8
Координата <i>AP</i> (расстояние от брегмы, мм)	-1.22, -1.34, -1.46	-1.58, -1.7	-1.82, -1.94 -2.06	-2.18, -2.3	-2.46, -2.52, -2.7	-2.8, -2.92 -3.08	-3.16, -3.28 – -3.4	-3.52, -3.64, -3.8

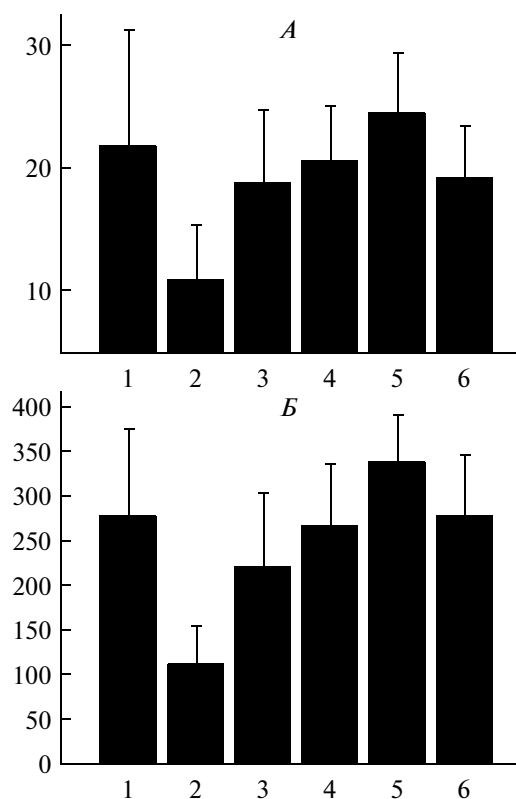
центральной части) устанавливали одностороннюю непрозрачную дверь, закрывающую вход в отсек длиной 6 см, который соединялся с клеткой для содержания грызунов (25.5 × 18.5 × 13 см). Во время эксперимента все двери были заблокированы, за исключением одной (в целевом рукаве), которая могла быть свободно открыта животным. Выйдя через нее в конечный отсек, мышь через трубку, отходящую от него, попадала в клетку, где находились опилки из “домашней клетки”. Чтобы избежать ориентации животных по запаху, такие же опилки были насыпаны и в другие клетки, к которым вели трубки заблокированных рукавов. Кроме того, после каждой попытки лабиринт поворачивали, сохраняя направление целевого рукава. Это направление для разных особей было разным, но оно не менялось от попытки к попытке. Установку помещали в комнату, где на стенах были развешены плакаты. Лабиринт ярко освещали (две лампы по 250 Вт), чтобы усилить мотивацию выхода из него.

Регистрацию поведения животных осуществляли с помощью автоматизированной системы, состоящей из видеокамеры “Sony” (Япония), расположенной на высоте 170 см от центра лабиринта, и компьютера, оснащенного дополнительной платой видеоввода PicoLo. Программа EthoVision 3.0 (“Noldus”, Нидерланды), позволяла сохранять траекторию перемещения животного в виде координат с частотой 12.5 кадра в 1 с. Исходя из полученной траектории, с помощью программы EthoVision рассчитывали длину пути, латентный период выхода в “домашнюю клетку” и захода в различные рукава. Число стоек в центральной части лабиринта вычисляли по характеру изображения животного, используя программу EthoVision. Дополнительно рассчитывали показатель интенсивности стоек – отношение их числа к длине пройденного пути [22].

Животных двух групп (экспериментальной, (*n* = 6) и активного контроля (*n* = 6)) в той же комнате предварительно обучали

(5 дней по 6 попыток с интервалом 40 мин) выходить в “домашнюю клетку” через рукав, отсоединенный от лабиринта (подробнее см. [2]). Каждый раз направления рукава меняли относительно дистантных стимулов. На 6-й день (основной эксперимент) мышей из экспериментальной группы обучали в лабиринте (6 попыток с интервалом 15 мин). Животное выпускали из непрозрачного цилиндра в центр лабиринта. Попытка продолжалась до самостоятельного выхода мыши из лабиринта (около 4 мин). Животных из группы активного контроля выпускали (6 раз с интервалом 15 мин) в рукав, отсоединенный от лабиринта (так же как и при предварительном обучении). После окончания эксперимента мышь отсаживали в “домашнюю клетку” на 1.5 ч, по истечении которых проводили декапитацию. Для контроля фонового уровня экспрессии были взяты интактные животные, которых декапитировали сразу после взятия из “домашней клетки”. Сразу после декапитации извлекали мозг, который замораживали в парах жидкого азота. Коронарные срезы толщиной 20 мкм начинали собирать на предметные стекла с момента появления Пп (расстояние от брегмы –1.06 мм [10]) и до уровня последних срезов, где была видна эта структура (расстояние от брегмы –3.8 мм). Для анализа экспрессии в разных частях Пп было выбрано восемь последовательных уровней, каждый из которых объединял два или три последовательных значения координаты *AP* из стереотаксического атласа [10] (табл. 1). Для каждого животного было проанализировано 22 среза, по одному на каждое значение координаты *AP*.

Экспрессию гена *c-fos* определяли иммуногистохимически, авидин-биотин-пероксидазным методом. Использовали первичные поликлональные кроличьи антитела к белку *c-Fos* (AB-5, “Calbiochem”, США) в разведении 1 : 2500 и вторичные биотинилированные антитела (“Vector Laboratories Inc.”, США) в разведении 1 : 200. Гистологическая методика окраски была идентична описан-



**Рис. 1.** Длина пройденного пути и латентный период выхода из лабиринта в различные попытки. Приведены средние ( $\pm$ ошибка средней) значения показателей, по оси абсцисс – номер попытки, по оси ординат: *A* – длина пройденного пути, м; *B* – латентный период выхода, с.

**Fig. 1.** Mean ( $\pm$ SE) path length and latency of exit at different trials. Horizontal axis – trial number. Vertical axis: *A* – path length, m; *B* – latency of exit, s.

ной в предыдущей работе [2]. Изображения Пп оцифровывали на 32-кратном увеличении с разрешением  $3840 \times 3072$  с помощью цифровой камеры “Nikon” (Япония) и программы Act-1. С-Fos-положительные клетки подсчитывали в полях СА1, СА3 и ЗФ, границы которых определяли по атласу [10]. С помощью программы ImageJ 1.43 определяли площадь исследуемой структуры (в  $\text{мм}^2$ ) и количество с-Fos-экспрессирующих клеток. Для каждой структуры рассчитывали показатель плотности как отношение количества с-Fos-положительных нейронов к площади структуры. Анализировали как абсолютные значения экспрессии, так и прирост ее относительно значений контрольных групп.

### Эксперимент в “открытом поле”

Круглую арену диаметром 150 см и высотой стенок 50 см устанавливали на 70 см выше уровня пола. “Поле” освещали матовой лампой мощностью 40 Вт, закрепленной на высоте 250 см от центра арены. Освещенность внутри арены на уровне дна составляла 30 лк. Снаружи “поле” было окружено непрозрачным занавесом черного цвета диаметром 250 см. Регистрацию поведения животного осуществляли с помощью системы видеотрекинга EthoVision (см. выше). Для анализа поведения определяли длину пройденного пути, число и интенсивность стоек и долю времени проведенного в 15-сантиметровой пристеночной зоне.

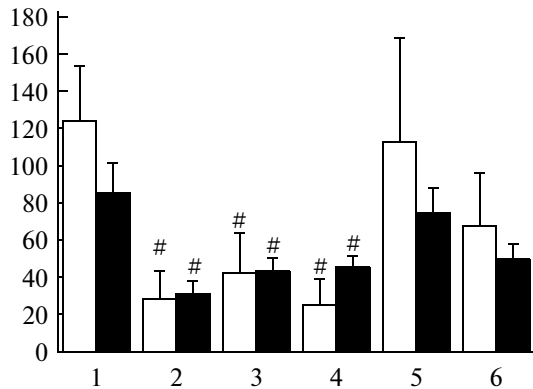
Самцов мышей линии C57BL/6 из экспериментальной группы ( $n = 6$ ) выпускали в арену 6 раз на 6 мин с интервалом 10 мин. После каждой попытки дно арены протирали спиртом. После последней попытки мышью отсаживали в отдельную клетку на 45 мин, по истечении которых проводили декапитацию. Контрольных интактных животных ( $n = 4$ ) декапитировали непосредственно после взятия из “домашней клетки”. Иммуногистохимическая процедура была идентичной описанной выше.

Обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0. Использовали методы факторного дисперсионного анализа (фактор “группа”, “эксперимент”) для повторных измерений, методы непараметрической статистики (критерии Вилкоксона и Манна–Уитни, критерий Фридмана, а также корреляционный анализ Спирмана).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Эксперимент 1: Радиальный лабиринт

Анализ поведения показал, что мыши успешно находили выход из лабиринта, обычно за 2–4 мин, но в ходе эксперимента статистически значимых изменений длины пройденного пути и времени выхода из лабиринта не было выявлено (рис. 1, *A*, *B*). Животные активно передвигались по лабиринту, неоднократно посещая рукава. Несмотря на предварительное ознакомление с лабиринтом, мыши не выходили из него сразу, а многократно заглядывали в выходные отсеки и возвращались в центральную часть. Во вторую попытку была отмечена тенденция к снижению времени выхода из лабиринта и



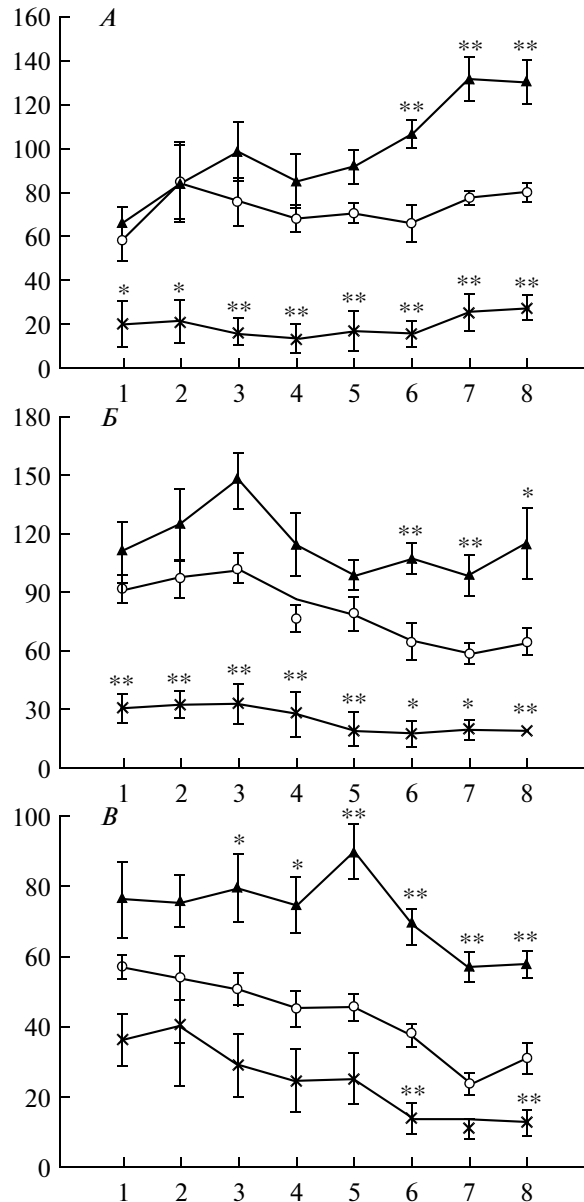
**Рис. 2.** Латентные периоды первого захода (среднее  $\pm$ ошибка средней) мышей в рукава в разные попытки тестирования. По оси абсцисс – номер попытки, по оси ординат – латентный период захода, с. Светлые столбики – целевой рукав, темные – нецелевой. Разница латентных периодов по сравнению с показателем в первую попытку достоверна при: # –  $p < 0.05$  (критерий Вилкоксона).

**Fig. 2.** Latency of the first entry (mean  $\pm$ SE) in goal and non-goal arms at different trials. Horizontal axis – trial number. Vertical axis – latency, s. Light columns – goal arm, dark columns – non-goal arm. # –  $p < 0.05$  as compared with the first trial (Wilcoxon's test).

длины пройденного пути, но в последующие выпуски эти показатели соответствовали уровню первой попытки. Число стоек также не изменялось от попытки к попытке и составляло в среднем (здесь и далее  $\pm$ ошибка средней)  $26.50 \pm 10.9$  в первую и  $24.17 \pm 6.4$  в последнюю попытку.

Латентные периоды первого посещения рукавов не различались для целевого и нецелевых, но достоверно изменялись в ходе тестирования (эффект попытки:  $F_{1,228} = 5.86, p < 0.001$ ; рис. 2). Так, в первую попытку этот показатель составлял в среднем 1.5–2 мин, со второй по четвертую попытку – достоверно снижался, а далее – возрастал до уровня первой попытки.

Анализ плотности c-Fos-положительных клеток показал существенные различия по интенсивности экспрессии у разных групп (рис. 3). В контрольной группе по сравнению с интактными животными наблюдали достоверно большую интенсивность экспрессии во всех исследуемых структурах (CA1, CA3 и ЗФ) на всем их протяжении. В табл. 2 приведены значения F-критерия для дисперсионного анализа. При этом в поле CA3 и ЗФ (но не в



**Рис. 3.** Плотность c-Fos экспрессирующих нейронов (среднее  $\pm$ ошибка средней), обнаруженная на различных уровнях срезов гиппокампа. Эксперимент с радиальным лабиринтом. По оси абсцисс – анализируемые уровни мозга (см. табл. 1), по оси ординат – плотность клеток, кл/мм<sup>2</sup>. Темные треугольники – группа, обучающаяся в лабиринте, светлые кружки – контрольная группа, крестики – интактные животные. А – поле CA1, Б – поле CA3, В – зубчатая фасция. Разница показателей по сравнению с результатами контрольной группы достоверна при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$  (критерий Манна–Уитни).

**Fig. 3.** Density of c-Fos-positive neurons (mean  $\pm$ SE) in different levels of hippocampus. Radial maze experiment. Horizontal axis – levels (see table 1). Vertical axis – density (cells/mm<sup>2</sup>). Black triangles – maze learning group, white circles – control group, crosses – naive mice. А – CA1, Б – CA3, В – dentate gyrus. \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$  – as compared with the control group (Mann–Whitney test).

**Таблица 2.** Значения F-критерия дисперсионного анализа  
**Table 2.** Repeat measures ANOVA

Эксперимент	Группы	СА1			СА3			Зубчатая фасция		
		группа	уровень	группа × уровень	группа	уровень	группа × уровень	группа	уровень	группа × уровень
Эксперимент 1 (Модифицированный радиальный лабиринт)	ПК vs. АК	29.73 (1,56) $p < 0.001$	н.д.	н.д.	73.34 (1,56) $p < 0.001$	5.29 (7,56) $p < 0.01$	н.д.	5.08 (1,70) $p < 0.05$	12.70 (7,70) $p < 0.001$	н.д.
	АК vs. РЛ	9.85 (1,70) $p < 0.01$	5.24 (7,70) $p < 0.01$	2.56 (1,7, 70) $p < 0.05$	11.45 (1,70) $p < 0.01$	3.98 (7,70) $p < 0.01$	н.д.	26.60 (1,70) $p < 0.001$	8.95 (7,70) $p < 0.001$	н.д.
Эксперимент 2 (“Открытое поле”)	ПК vs. ОП	38.38 (1,56) $p < 0.001$	9.57 (7,56) $p < 0.001$	8.45 (1,7, 56) $p < 0.001$	54.87 (1,56) $p < 0.001$	2.25 (7,56) $p < 0.05$	н.д.	38.14 (1,7, 56) $p < 0.001$	9.05 (7,56) $p < 0.001$	2.36 (1,7, 56) $p < 0.05$

*Примечание.* Указаны уровни значимости (н.д. – различия недостоверны,  $p > 0.05$ ), в скобках приведены степени свободы. РЛ – группа, тестирующаяся в радиальном лабиринте, АК – группа активного контроля, ПК – интактные животные, ОП – группа, тестирующаяся в “открытом поле”.

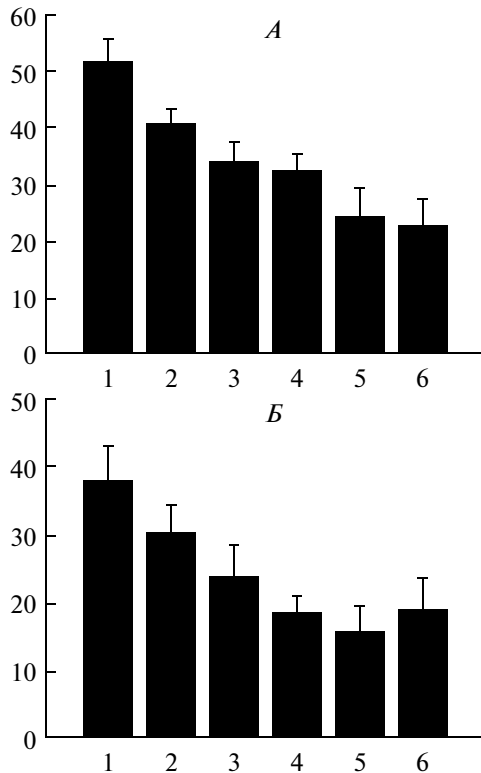
поле СА1) было выявлено градиентное снижение экспрессии с-Fos от ростральных к каудальным отделам. Дисперсионный анализ выявил (факторы “структура”, повторные измерения по уровню) достоверный эффект структуры ( $F_{2,105} = 20.17$ ,  $p < 0.001$ ), уровня ( $F_{7,105} = 6.62$ ,  $p < 0.01$ ) и взаимодействия этих факторов ( $F_{2,7,7105} = 2.98$ ,  $p < 0.05$ ) в контрольной группе. Дополнительный анализ распределения активации вдоль росто-каудальной оси по критерию Фридмана подтвердил неоднородность экспрессии в поле СА3 ( $F_7 = 21.17$ ,  $p < 0.01$ ) и в ЗФ ( $F_7 = 29.06$ ,  $p < 0.01$ ).

Передвижение мышей по лабиринту вызвало дополнительное усиление экспрессии с-Fos относительно активного контроля. Это увеличение происходило неравномерно в отделах Пп вдоль его росто-каудальной оси (рис. 3). Наибольшая активация (в 2–2.5 раза) обнаружена в каудальных частях полей Пп. В ростральных отделах прирост активации был выражен слабее или его не было. Относительно уровня интактного контроля прирост активации составил для полей СА1 и СА3 в ростральных отделах в 3–4 раза в средних и каудальных – в 5 раз, а для ЗФ в ростральных в 2–3 раза, в средних и каудальных – в 3–4.

Сравнение характеристик разных структур в экспериментальной группе выявило наибольший уровень экспрессии в поле СА3, а наименьший – в ЗФ. Росто-каудальный градиент экспрессии обнаружен в поле СА1: плотность с-Fos-положительных клеток в каудальных отделах была выше, чем в ростральных.

Дисперсионный анализ выявил достоверные различия структур ( $F_{2,105} = 9.25$ ,  $p < 0.01$ ) и достоверный эффект взаимодействия структуры и уровня ( $F_{2,7,105} = 3.54$ ,  $p < 0.05$ ). Критерий Фридмана подтвердил неоднородность активации в поле СА1 ( $F_7 = 21.67$ ,  $p < 0.01$ ) и выявил выраженную тенденцию в ЗФ ( $F_7 = 13.89$ ,  $p < 0.06$ ). Не было выявлено достоверных различий по интенсивности экспрессии с-Fos в правом и левом полушариях.

Для определения возможной связи между экспрессией с-Fos и поведенческими показателями проводили корреляционный анализ. Не выявлено выраженных корреляций характеристик скорости и длины пути и плотности с-Fos-положительных нейронов на разных уровнях полей Пп. Однако для показателя число стоек отмечены достоверные ( $p < 0.05$ ) положительные корреляции для некоторых уровней полей СА1, СА3 и ЗФ: для первой попытки – с 6-м уровнем СА3 ( $R = 0.89$ ), для четвертой попытки – с 7-м уровнем СА1 ( $R = 0.90$ ), для пятой попытки – с 6-м уровнем ЗФ ( $R = 0.88$ ), для шестой попытки – с 3-м уровнем СА1 ( $R = 0.94$ ), 4-м уровнем СА3 ( $R = 0.83$ ) и 3-м уровнем ЗФ ( $R = 0.94$ ). Для показателя интенсивности стоек корреляции были менее выражены (для первой попытки – с 6-м и 7-м уровнем СА1 ( $R = 0.82$  и  $R = 0.88$  соответственно) и для шестой – с 4-м уровнем СА1 ( $R = 0.83$ ) и с 1-м уровнем ЗФ ( $R = 0.83$ )).

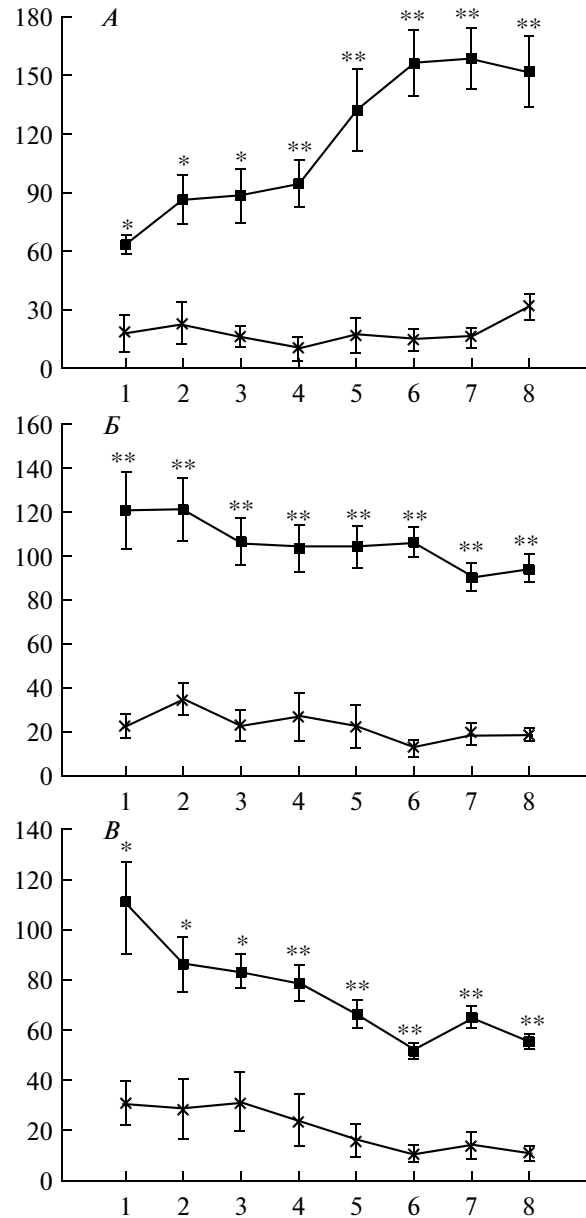


**Рис. 4.** Длина пройденного пути и число стоек в “открытом поле”. Приведены средние ( $\pm$ ошибка средней) значения показателей. По оси абсцисс – номер попытки, по оси ординат: *A* – длина пройденного пути, м, *B* – число стоек.

**Fig. 4.** Mean path length ( $\pm SE$ ) and number of rearing at different trials in open field. Horizontal axis – trial number. Vertical axis: *A* – path length, m; *B* – number of rearing.

**Эксперимент 2: “Открытое поле”**

Все мыши активно передвигались по “открытому полю” и исследовали его. Длина пройденного пути составляла в первую попытку  $51.50 \pm 3.84$  м и достоверно снижалась к шестой попытке ( $22.5 \pm 4.4$  м) ( $t_6 = 7.77, p < 0.001$ ; рис. 4, *A*). При этом отмечено достоверное повышение доли времени, проведенного в периферической зоне арены, с  $82.4 \pm 2.4\%$  в первую попытку до  $92.5 \pm 3.01\%$  в последнюю ( $t_6 = 3.16, p < 0.05$ ), а также снижение числа стоек (в первую попытку  $37.8 \pm 5.0$ , в последнюю  $18.7 \pm 4.8, t_6 = 4.22, p < 0.01$ ; рис. 4, *B*). При этом интенсивность стоек не изменялась от попытки к попытке и составляла в первую попытку  $0.8 \pm 0.2$ , во вторую  $0.8 \pm 0.2$ , в третью  $0.7 \pm 0.3$ , в четвертую  $0.6 \pm 0.2$ , в пятую  $0.7 \pm 0.4$  и в шестую  $0.8 \pm 0.3$  стоек/м.



**Рис. 5.** Плотность c-Fos экспрессирующих нейронов (среднее  $\pm$ ошибка средней), обнаруженная на различных уровнях срезов гиппокампа. Эксперимент с “открытым полем”. По оси абсцисс – анализируемые уровни мозга (см. табл. 1), по оси ординат – плотность клеток, кл/мм<sup>2</sup>. Темные квадраты – экспериментальная группа, крестики – интактные животные. *A* – поле CA1, *B* – поле CA3, *B* – зубчатая фасция. Разница показателей по сравнению с результатами интактных животных достоверна при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ .

**Fig. 5.** Density of c-Fos-positive neurons (mean  $\pm SE$ ) in different levels of hippocampus. “Open field” experiment. Horizontal axis – levels (see table 1). Vertical axis – density (cells/mm<sup>2</sup>). Dark squares – open field group, crosses – naive mice. *A* – CA1, *B* – CA3, *B* – dentate gyrus. \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$  – as compared with naive animals.

**Таблица 3.** Значения коэффициента корреляции Спирмана. Эксперимент с “открытым полем”  
**Table 3.** Spearman correlation coefficient. “Open field experiment”. \* – significant correlation,  $p < 0.05$

Структура	Интервалы	Первая попытка		Вторая попытка		Третья попытка		Четвертая попытка		Пятая попытка		Шестая попытка	
		число стоек	интенсивность стоек	число стоек	интенсивность стоек	число стоек	интенсивность стоек	число стоек	интенсивность стоек	число стоек	интенсивность стоек	число стоек	интенсивность стоек
Поле СА1	1	0.14	0.26	-0.66	-0.20	-0.29	-0.09	-0.66	-0.43	0.03	0.09	0.03	-0.14
	2	0.58	0.77	0.31	0.66	0.64	0.60	-0.03	-0.09	0.66	0.31	0.58	0.60
	3	0.32	0.20	0.14	0.31	0.49	0.31	0.26	0.14	0.83*	0.49	0.93*	0.43
	4	0.52	0.26	0.20	0.49	0.20	0.26	0.66	0.77	0.54	0.94*	0.55	0.60
	5	0.61	0.54	0.60	0.89*	0.58	0.49	0.77	0.66	0.77	0.83*	0.64	0.83*
	6	0.99*	0.89*	0.37	0.66	0.46	0.83*	0.20	0.66	0.20	0.77	0.32	0.83*
	7	0.99*	0.94*	0.60	0.83*	0.72	0.94*	0.31	0.60	0.43	0.71	0.52	0.94*
	8	0.87*	0.89*	0.09	0.54	0.32	0.66	-0.09	0.31	0.26	0.66	0.29	0.66
Поле СА3	1	0.93*	0.89*	0.43	0.77	0.67	0.83*	0.26	0.49	0.60	0.77	0.67	0.89*
	2	0.93*	0.89*	0.43	0.77	0.67	0.83*	0.26	0.49	0.60	0.77	0.67	0.89*
	3	0.75	0.60	0.54	0.83*	0.58	0.60	0.71	0.77	0.71	0.94*	0.70	0.89*
	4	0.35	0.03	0.26	0.37	0.14	0.14	0.77	0.83*	0.43	0.83*	0.46	0.49
	5	0.75	0.54	0.31	0.66	0.32	0.49	0.60	0.83*	0.49	0.94*	0.49	0.77
	6	0.78	0.66	-0.09	0.31	0.20	0.54	-0.09	0.37	0.26	0.71	0.41	0.54
	7	-0.23	-0.37	-0.09	0.09	-0.32	-0.49	0.60	0.37	0.26	0.43	0.03	-0.03
	8	0.12	-0.26	-0.14	-0.14	-0.20	-0.09	0.37	0.60	0.03	0.54	0.20	0.09
ЗФ	1	0.93	0.89*	0.43	0.77	0.67	0.83*	0.26	0.49	0.60	0.77	0.67	0.89*
	2	0.93	0.89*	0.43	0.77	0.67	0.83*	0.26	0.49	0.60	0.77	0.67	0.89*
	3	0.03	-0.03	-0.09	0.09	0.29	0.03	0.09	-0.14	0.77	0.26	0.81*	0.14
	4	0.32	0.31	0.49	0.66	0.70	0.37	0.54	0.20	0.94*	0.49	0.93*	0.60
	5	0.38	0.09	-0.37	-0.14	-0.23	0.09	-0.03	0.43	-0.03	0.60	0.17	0.14
	6	0.38	0.37	-0.14	0.03	-0.35	0.14	-0.20	0.31	-0.66	0.20	-0.67	0.09
	7	0.12	0.37	0.37	0.49	0.64	0.31	0.03	-0.37	0.71	-0.09	0.58	0.31
	8	-0.46	-0.54	0.09	-0.09	0.17	-0.31	0.37	-0.14	0.60	-0.09	0.58	-0.14

Примечание. Корреляции достоверны при: \* –  $p < 0.05$ .

Анализ плотности с-Fos-положительных клеток выявил существенно большую активацию по сравнению с контрольной группой во всех полях Гп и ЗФ после исследования нового “открытого поля” (рис. 5). Дисперсионный анализ подтвердил значимость групповых различий и зависимость интенсивности экспрессии от уровня среза во всех исследуемых структурах, а достоверный эффект взаимодействия группы и уровня – только для поля СА1 и ЗФ (табл. 2). В поле СА1 в ростральных отделах прирост активации был значительно меньше (в 3–4 раза), чем в каудальных (в 5–6 раз). В ЗФ было отмечено снижение экспрессии с-Fos от ростральных к каудальным отделам. У мышей, выпускав-

шихся в поле, в ростральных отделах наибольшая плотность с-Fos-положительных клеток обнаружена в поле СА3, а в каудальных – в поле СА1. Наименьшая активация как в ростральных, так и в каудальных отделах была в ЗФ. Дисперсионный анализ (фактор “структура”) выявил достоверные различия между полями Гп и ЗФ ( $F_{2,105} = 6.01, p < 0.01$ ) и достоверный эффект взаимодействия структуры и уровня ( $F_{2,7,105} = 13.36, p < 0.001$ ). Анализ с помощью критерия Фридмана подтвердил выявленную неоднородность вдоль rostro-каудальной оси для СА1 ( $F_7 = 31.28, p < 0.001$ ) и ЗФ ( $F_7 = 18.56, p < 0.01$ ). Достоверных различий по интенсивности экспрессии



c-Fos в правом и левом полушариях не найдено.

Как и в эксперименте с лабиринтом, не выявлено достоверных корреляций активации c-Fos с длиной пройденного пути и скоростью передвижения животных. Не обнаружены корреляции с долей времени, проведенного в разных зонах арены, и уровнем дефекации. Однако, как и в предыдущем случае, показатель числа и интенсивности стоек положительно коррелировал (табл. 3) с плотностью c-Fos на различных уровнях полей Гп, при этом корреляции с числом стоек были менее выражены.

#### Сравнение активации гиппокампа в экспериментах 1 и 2

Экспрессия c-Fos в лабиринте и “открытом поле” в целом была схожа и по интенсивности, и по приросту относительно показателей интактных животных, и по характеру распределения вдоль росто-каудальной оси Гп. Однако обнаружены и статистически значимые различия в активации полей. В “открытом поле” по сравнению с лабиринтом активация каудальной части СА1 была значительно выше. В этом случае дисперсионный анализ (фактор “эксперимент”) выявил достоверный эффект эксперимента ( $F_{1,80} = 6.66, p < 0.05$ ) и уровня ( $F_{1,80} = 9.66, p < 0.001$ ). Отмечены достоверные отличия по плотности c-Fos-положительных нейронов поля СА1 на уровне 6 ( $Z = 2.08, p < 0.05$ ). В ЗФ экспрессия была ниже в “открытом поле” по сравнению с лабиринтом на 5-м и 6-м уровнях ( $Z = 2.08, p < 0.05$ ). Однако дисперсионный анализ не показал достоверного эффекта эксперимента для этой структуры. Различий по уровню экспрессии c-Fos в группах интактного контроля не было.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### Эксперимент в радиальном лабиринте

Проведенное исследование показало, что тестирование мышей линии C57BL/6 в лабиринте вызывало выраженную активацию экспрессии c-Fos на протяжении всего Гп, особенно его каудальных отделов. Это подтвердили данные, полученные ранее на полевок [2]. Необходимо отметить, что мыши активно исследовали окружающее пространство и долго не выходили в клетку, несмотря на яркое освещение лабиринта. У обыкновенных

полевок в отличие от мышей мы смогли выявить признаки запоминания целевого направления на фоне интенсивной исследовательской активности и выраженные индивидуальные различия [2]. Однако, несмотря на поведенческие различия, у обоих видов отмечен сходный паттерн увеличения экспрессии c-Fos в Гп по сравнению с контрольными грызунами, которые проходили по отсоединенному рукаву в “домашнюю клетку”. Наибольшая активация при передвижении по лабиринту наблюдалась у обоих видов в средних (уровни 4 и 5) и каудальных (уровни 6–8) частях СА1, СА3 и ЗФ. В ростральных отделах экспрессия усиливалась в меньшей степени, повышаясь лишь в поле СА3 и в ЗФ, и только у мышей. Возможно, это вызвано более выраженной исследовательской активностью, свойственной мышам линии C57BL/6 [8]. Однако необходимо отметить, что у мышей уровень экспрессии был выше, чем у полевок, во всех группах, в том числе и в интактном контроле. Возможно, существуют видоспецифические особенности экспрессии c-Fos в Гп.

Данные литературы об активации c-Fos в Гп после обучения грызунов в лабиринте крайне немногочисленны. Так, ранее выявлено усиление экспрессии c-Fos в Гп мышей линии C57BL/6 после обучения их в модифицированном радиальном [18, 27] лабиринте. Однако в этих исследованиях авторы анализировали только один уровень данной структуры (3-й согласно схеме, принятой в нашей работе). Необходимо отметить, что, несмотря на значительные различия процедур обучения и используемых контрольных групп, в приведенных работах прирост экспрессии c-Fos на этом уровне был сопоставим с нашими данными. К сожалению, нам не известны исследования, в которых оценивали бы активацию c-Fos хотя бы на одном уровне каудальной части Гп мышей. Существуют немногочисленные работы, выполненные на крысах, в которых отмечена активация рострального Гп (на уровнях, приблизительно соответствующих уровням 2 и 3 согласно нашей схеме) после выполнения стандартной пространственной задачи в радиальном лабиринте [11, 28]. В единичных работах дополнительно к ростральной части оценивали активацию и в одной точке каудального Гп (5.0 мм каудальнее брегмы, что приблизительно соответствует уровню 6 в нашей работе) (см. [28]). Установлено, что обучение в радиальном лаби-

ринте усиливает активацию и в этой точке, однако в меньшей степени, чем в настоящем исследовании. Анализ серии срезов позволил нам впервые показать активацию и на соседних уровнях (5, 7, 8). Однако анализ экспрессии с-Fos на данном уровне в работе С. Ванн с соавт. [28] проводился без разделения на поля СА1, СА3 и ЗФ, что затрудняет сопоставление с полученными данными.

В нашем эксперименте повышенный уровень экспрессии с-Fos отмечен и в группе активного контроля по сравнению с интактными животными. В других исследованиях [18, 27], где в качестве контроля были мыши, которые передвигались не в лабиринте, а по беговой дорожке, активация с-Fos в полях СА1 и СА3 в этих группах была достаточно низкая (авторы анализировали только ростральный Гп). В ЗФ количество с-Fos-положительных нейронов было сопоставимо с нашими данными [27]. Возможно, низкая экспрессия с-Fos у контрольных мышей в обеих упомянутых работах была связана с большей длительностью предварительного знакомства с контрольной процедурой. Необходимо отметить, что в отличие от ряда работ (например [11]), где крыс контрольной группы помещали в такой же лабиринт, как и экспериментальных, в нашем случае группу активного контроля составляли грызуны, которые выходили в “домашнюю клетку” через отсоединенный от лабиринта рукав. Иначе говоря, в контроле не было той же самой, что и в опыте, пространственно-структурированной среды, однако были сохранены все внешние стимулы и ориентиры. Активация, связанная с выполнением этого навыка, могла быть вызвана тем, что у грызунов, несмотря на приучение, сохранилась реакция на пространственные и непространственные стимулы экспериментальной среды, в которой проводили тестирование.

#### Эксперимент в “открытом поле”

В настоящей работе впервые проведено подробное картирование активации полей Гп вдоль всей росто-каудальной оси после исследования мышами нового “открытого поля”. Эксперимент показал, что исследование нового неструктурированного пространства вызывает выраженную активацию с-Fos как в ростральных, так и в каудальных отделах Гп. Наши результаты отчасти подтверждают немногочисленные исследования, в которых

было описано усиление экспрессии с-Fos в ростральном Гп после исследования нового пространства. Так, недавно обнаружено [24], что однократное помещение (на 20 мин) мышей линии CD1 в “открытое поле” усиливало активацию с-Fos в точке 1.94 мм (уровень 3) в 2 раза в полях СА1 и СА3 и не влияло на активацию ЗФ. Можно предположить, что больший прирост экспрессии в нашем исследовании был вызван суммарно более длительным временем тестирования. Несмотря на эти различия, нами выявлено такое же соотношение активности между полями СА и ЗФ (наибольшая активация в СА1 и СА3 и наименьшая в ЗФ) на этом уровне. Все другие аналогичные исследования проведены на крысах [3, 21, 29]. В этих работах обнаружено повышение активации в ростральной части полей Гп и ЗФ (приблизительно 2–3-й уровень согласно нашей схеме) после исследования нового для животных “открытого поля”. К сожалению, эти исследования проводили на единственном уровне Гп. Более того, в работе Д. Виртшафтера [29] осуществляли лишь качественную оценку экспрессии, а в работе Е. Бадовской и соавт. [3] не анализировали активацию отдельных полей Гп.

Как известно, при попадании животных в новое “открытое поле” в поведении проявляется как исследовательская активность, так и тревожность [7]. Мы можем предположить, что влияние тревожной реакции на высокую экспрессию в нашем эксперименте не определяющее. Об этом, в частности, свидетельствует факт отсутствия корреляций между показателями тревожного поведения и экспрессией с-Fos. Ранее в работе Т. Пайса и соавт. [21] показано, что интенсивность экспрессии с-Fos в ростральном Гп (каудальную часть не анализировали) не коррелирует с уровнем адренкортикотропного гормона после пребывания крыс в разных по уровню стресса экспериментальных установках. При этом только те тесты, где животное могло свободно передвигаться, вызывали высокую активацию с-Fos в различных полях Гп. Это привело авторов к выводу о том, что активация Гп связана в основном с исследовательским компонентом. Ранее нами было показано, что у полевок интенсивность стоек в “открытом поле” уменьшается при разрушении каудального Гп [22]. Это позволило предположить, что и эта часть Гп вовлечена в контроль исследовательской активности. Результаты настоящей работы (положительные

корреляции “интенсивности стоек” с плотностью с-Fos-экспрессирующих клеток в каудальных отделах *CA1*) подтверждают это предположение.

Проведенное нами картирование активности Гп позволило подтвердить полученные другими методами (см. обзоры [4, 5]) данные о его функциональной гетерогенности. Наши эксперименты показали, что исследование нового пространства активизирует ростральную, но в большей степени каудальную часть Гп и ЗФ. Большинство исследований рострального отдела Гп подтверждает его важную роль в контроле пространственного обучения, основанного на обработке дистантной зрительной информации [9, 20, 23]. Функции же каудального отдела Гп, как уже упоминалось выше, во многом неясны и в настоящее время являются предметом дискуссий. Предполагается, что эти отделы по сравнению с ростральными практически не участвуют в обеспечении пространственного обучения. Такое представление базируется главным образом на исследованиях эффектов избирательного разрушения каудального Гп (см. обзор [4]). С другой стороны, есть данные о том, что разрушение каудальных отделов Гп нарушает обучение в различных пространственных тестах [6, 9]. Значительный вклад в понимание специфики функционирования каудальной части Гп вносят работы, посвященные изучению клеток места. Наличие этих клеток свидетельствует о том, что каудальный Гп вовлечен в обработку пространственной информации [14, 25]. Однако это участие может, по видимому, осуществляться иным по сравнению с ростральным отделом образом. Недавно получены факты о специфическом кодировании клетками заднего Гп мотивационно значимых мест [25]. Кроме того, наличие больших “рецептивных полей” клеток места каудального Гп по сравнению с ростральным навело на мысль о том, что разные отделы Гп кодируют пространство с разной степенью разрешения [14].

Известно, что зрительная информация приходит главным образом в ростральную часть, тогда как пути, несущие обонятельную информацию, проецируются по всей длине Гп [30]. Этот и другие факты позволили предположить, что ростральная часть Гп в большей степени отвечает за точное определение местоположения животного в пространстве, основанное главным образом на зрительной дистантной информации. В то же время роль

каудального, вероятно, связана с обработкой информации другой модальности, например обонятельной, а также кодированием мест различной мотивационной значимости [5, 25].

Сравнение активации Гп после исследования лабиринта и “открытого поля” позволяет нам сделать вывод, что в целом субрегиональный паттерн активации Гп схож в обеих задачах. Различия в интенсивности экспрессии наблюдаются только в каудальных отделах поля *CA1* и ЗФ. Каудальные участки *CA1* больше активировались в “открытом поле”, а ЗФ – в радиальном лабиринте. Кроме того, необходимо отметить и разное соотношение активности каудальных частей полей *CA1* и *CA3*. В эксперименте с лабиринтом активность поля *CA3* была выше *CA1*, а с “открытым полем” – наоборот. В литературе описаны функциональные различия полей *CA1* и *CA3* (см. обзор [16]), но только для их ростральных частей.

Мы можем отметить ряд особенностей методик, которые могли повлиять на активацию полей в нашей работе.

Во-первых, мыши были предварительно ознакомлены с элементами лабиринта (рукавами), тогда как “открытое поле” было абсолютно новым для животных. В литературе есть данные об усилении активации в большей степени в поле *CA1* (по уровню экспрессии ранних генов), чем в *CA3*, при исследовании новой экспериментальной установки [12, 21]. Мы можем предположить, что и в нашей работе высокая экспрессия с-Fos в поле *CA1* в опытах с “открытым полем” связана именно с его новизной для животного.

Во-вторых, площадь лабиринта была значительно меньше площади “открытого поля”. Животные находились в лабиринте меньше времени, чем в “поле”. Известны факты, свидетельствующие о временных особенностях активации полей *CA1* и *CA3* при обработке новой информации, более длительное тестирование могло в большей степени вовлекать поле *CA1* [13].

В-третьих, в лабиринте в ходе опыта животные выходили в “домашнюю клетку” через один из рукавов, т.е. экспериментальное пространство было мотивационно неравномерным и имела возможность для пространственного обучения. Известно, что клетки места в каудальной части поля *CA3* могут кодировать мотивационную информацию (концы рукавов, где находится приманка, или лучи лабиринта, не имеющие стенок)

[25]. Именно поле *CA3* больше, чем *CA1*, вовлечено в формирование пространственной памяти, особенно на начальных этапах обучения [13]. Существуют и другие методические факторы, которые могли бы потенциально повлиять на функционирование разных полей Гп. Это различная длина пройденного пути в лабиринте и в “поле”, разная степень свободы в выборе маршрута, ограничение зрительной дистантной информации в “открытом поле” и др. Однако в настоящее время существует крайне мало данных, позволяющих убедительно интерпретировать результаты наших экспериментов. Еще раз отметим, что трактовку затрудняет крайне ограниченная информация по функционированию каудальных частей полей *CA1*, *CA3* и *ЗФ*.

Представленная нами работа, так же как и наше предыдущее исследование [2], доказывают высокую активность каудальных отделов Гп и *ЗФ* при исследовании животными нового пространства. При этом выявлена неравномерная активация полей *CA1*, *CA3* и *ЗФ*, что, несомненно, требует дальнейшего изучения. По-видимому, активация каудальных частей Гп и *ЗФ* не связана со зрительной информацией, так как высокий уровень экспрессии *c-Fos* отмечен в экспериментах в “открытом поле” с ограниченным доступом зрительных дистантных ориентиров. Как известно, при планировании и контроле передвижения в пространстве (особенно новом) важную роль играют базовые процессы счисления пути (интеграции кинестетических и вестибулярных сигналов, с помощью которых животное может запоминать свой путь [19]). Есть данные, что такие процессы требуют вовлечения Гп [17], ограничение притока кинестетической информации нарушает нормальное функционирование клеток места ростральной части поля *CA1* [26]. В настоящее время нет данных о специфических особенностях функционирования ростральных и каудальных отделов при контроле процессов эгоцентрической навигации, но мы не можем исключить влияние этих процессов на высокую экспрессию *c-Fos* в каудальном Гп в наших экспериментах.

## ВЫВОДЫ

1. Исследование мышами нового пространства (лабиринта или “открытого поля”) сопровождалось увеличением экспрессии *c-Fos* в гиппокампе и зубчатой фасции.

2. Полученные данные свидетельствуют о функциональной гетерогенности гиппокампа вдоль росто-каудальной оси. Экспрессия *c-Fos* больше увеличивалась в каудальных по сравнению с ростральными отделами гиппокампа и зубчатой фасции.

3. По-видимому, усиление экспрессии *c-Fos* вызывается исследовательским компонентом поведения. Обнаружены положительные корреляции интенсивности исследовательской активности в “открытом поле” и уровня экспрессии в средних и каудальных отделах *CA1*, а также в ростральных *CA3* и зубчатой фракции.

4. Соотношение активации полей *CA1* и *CA3* зависело от типа эксперимента. В “открытом поле” выявлена бо́льшая активность в *CA1* по сравнению с *CA3*, в то время как исследование лабиринта в бо́льшей степени активировало поле *CA3*, чем *CA1*. Возможно, бо́льшая активация поля *CA3* в лабиринте отражает начальные процессы пространственного обучения. В то же время высокая активность каудальных отделов *CA1* в “открытом поле” может быть связана с исследованием пространства бо́льшего размера при ограниченном доступе зрительной информации.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 10-04-00891-а).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анохин К.В. Молекулярно-генетические предпосылки системогенеза поведенческих актов. Теория системогенеза. Под ред. Судакова К.В. М.: Гориздат, 1997: 215–276.
2. Купцов П.А., Плескачева М.Г., Воронков Д.Н., Липп Х.П., Анохин К.В. Особенности экспрессии гена *c-Fos* по росто-каудальной оси гиппокампа обыкновенных полевков после быстрого обучения пространственной задаче. Журн. высш. нерв. деят. 2005. 55 (2): 231–240.
3. *Badowska-Szalewska E., Klejbor I., Dziwiatkowski J., Spodnik J.H., Mory J.* The influence of acute and chronic open-field exposure on the hippocampal formation: an immunohistochemical study. *Folia Morphol. (Warsz)*. 2006. 65(4): 343–351.
4. *Bannerman D.M., Rawlins J.N., McHugh S.B., Deacon R.M., Yee B.K., Bast T., Zhang W.N., Pothuizen H.H., Feldon J.* Regional dissociations within the hippocampus – memory and anxiety. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2004. 28(3): 273–283.
5. *Bast T.* Toward an integrative perspective on hippocampal function: from the rapid encoding of experience to adaptive behavior. *Rev. Neurosci.* 2007. 18(3–4): 253–281.

6. *Bast T., Wilson I.A., Witter M.P., Morris R.G.* From rapid place learning to behavioral performance: a key role for the intermediate hippocampus. *PLoS Biol.* 2009. 7(4): 0730–0746.
7. *Belzung C.* The genetic basis of the pharmacological effects of anxiolytics: a review based on rodent models. *Behav. Pharmacol.* 2001. 12: 451–460.
8. *Crusio W.E., Schwegler H., van Abeelen J.H.* Behavioral responses to novelty and structural variation of the hippocampus in mice. I. Quantitative-genetic analysis of behavior in the open-field. *Behav. Brain Res.* 1989. 32: 75–80.
9. *Ferbinteanu J., Ray C., McDonald R.J.* Both dorsal and ventral hippocampus contribute to spatial learning in Long-Evans rats. *Neurosci. Lett.* 2003. 345(2): 131–135.
10. *Franklin K., Paxinos G.* The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. San Diego: Acad. Press. 1997. 115 p.
11. *He J., Yamada K., Nabeshima T.* A role of Fos expression in the CA3 region of the hippocampus in spatial memory formation in rats. *Neuropsychopharmacology.* 2002. 26: 259–268.
12. *Hess U.S., Lynch G., Gall C.M.* Regional patterns of *c-fos* mRNA expression in rat hippocampus following exploration of a novel environment versus performance of a well-learned discrimination. *J. Neurosci.* 1995. 15(12): 7796–7809.
13. *Kesner R.P., Hunsaker M.R.* The temporal attributes of episodic memory. *Behav. Brain Res.* 2010. 215(2): 299–309.
14. *Kjelstrup K.B., Solstad T., Brun V.H., Hafting T., Leutgeb S., Witter M.P., Moser E.I., Moser M.B.* Finite scale of spatial representation in the hippocampus. *Science.* 2008. 321(5885): 140–143.
15. *Kubik S., Miyashita T., Guzowski J.F.* Using immediate-early genes to map hippocampal subregional functions. *Learn. Mem.* 2007. 14(11): 758–770.
16. *Langston R.F., Stevenson C.H., Wilson C.L., Saunders I., Wood E.R.* The role of hippocampal subregions in memory for stimulus associations. *Behav. Brain Res.* 2010. 215(2): 275–291.
17. *McNaughton B.L., Barnes C.A., Gerrard J.L., Gothard K., Jung M.W., Knierim J.J., Kudrximoti H., Qin Y., Skaggs W.E., Suster M., Weaver K.L.* Deciphering the hippocampal polyglot: the hippocampus as a path integration system. *J. Exp. Biol.* 1996. 199 (Pt 1): 173–185.
18. *Mingaud F., Le Moine C., Etchamendy N., Mormède C., Jaffard R., Marighetto A.* The hippocampus plays a critical role at encoding discontinuous events for subsequent declarative memory expression in mice. *Hippocampus.* 2007. 17(4): 264–270.
19. *Mittelstaedt H.* Triple-loop model of path control by head direction and place cells. *Biol. Cybern.* 2000. 83(3): 261–270.
20. *Moser M.B., Moser E.I.* Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus.* 1998. 8: 608–619.
21. *Pace T.W., Gaylord R., Topczewski F., Girotti M., Rubin B., Spencer R.L.* Immediate-early gene induction in hippocampus and cortex as a result of novel experience is not directly related to the stressfulness of that experience. *Eur. J. Neurosci.* 2005. 22(7): 1679–1690.
22. *Pleskacheva M., Kuptsov P., Lebedev I., Bezriadnov D., Malygin V., Deacon R., Anokhin K.* Functional specificity of caudal hippocampus in exploratory behaviour and spatial learning in bank voles. *Frontiers in Behavioral Neuroscience. Conference Abstract: 41st European Brain and Behaviour Society Meeting.* 2009. doi:10.3389/conf.neuro.08.2009.09.260.
23. *Pothuizen H.H., Zhang W.N., A.L., Feldon J., Yee B.K.* Dissociation of function between the dorsal and the ventral hippocampus in spatial learning abilities of the rat: a within-subject, within-task comparison of reference and working spatial memory. *Eur. J. Neurosci.* 2004. 19(3): 705–712.
24. *Rinaldi A., Romeo S., Agustín-Pavón C., Oliverio A., Mele A.* Distinct patterns of Fos immunoreactivity in striatum and hippocampus induced by different kinds of novelty in mice. *Neurobiol. Learn. Mem.* 2010. 94(3): 373–381.
25. *Royer S., Sirota A., Patel J., Buzsáki G.* Distinct representations and theta dynamics in dorsal and ventral hippocampus. *J. Neurosci.* 2010. 30(5):1777–1787.
26. *Terrazas A., Krause M., Lipa P., Gothard K.M., Barnes C.A., McNaughton B.L.* Self-motion and the hippocampal spatial metric. *J. Neurosci.* 2005. 25(35): 8085–8096.
27. *Touzani K., Marighetto A., Jaffard R.* Fos imaging reveals ageing-related changes in hippocampal response to radial maze discrimination testing in mice. *Eur. J. Neurosci.* 2003. 17(3): 628–640.
28. *Vann S.D., Brown M.W., Erichsen J.T., Aggleton J.P.* Fos imaging reveals differential patterns of hippocampal and parahippocampal subfield activation in rats in response to different spatial memory tests. *J. Neurosci.* 2000. 20: 2711–2718.
29. *Wirtshafter D.* Cholinergic involvement in the cortical and hippocampal Fos expression induced in the rat by placement in a novel environment. *Brain Res.* 2005. 1051(1–2): 57–65.
30. *Witter M.P., Amaral D.G.* Hippocampal formation. The rat nervous system. Ed. Paxinos G. San Diego (California): Elsevier Acad. Press. 2004: 635–704.