

Дослідження чутливості різних відділів головного мозку собаки за допомогою електродів-канюль

А. Я. Могилевський

Відділ біохімії Українського інституту експериментальної ендокринології, Харків,
відділ нейроендокринології Психо-неврологічного інституту, Одеса

Метод введення активних препаратів у загальний кровострумін не завжди дає можливість дістати уявлення про їх безпосередній вплив на структури головного мозку. Ці труднощі аналізу зумовлюються тим, що багато речовин впливають безпосередньо на периферичні відділи вегетативної нервової системи та її рецепторні апарати, в результаті чого виникають складні реакції, що супроводжуються зрушеннями в гомеостазі і в системі кровообігу, які, звичайно, не можуть не позначитись на активності різних відділів головного мозку.

Прийом, розроблений Ротбаллером і Джарвіком [19], який дозволяє в хронічному експерименті провадити через катетер ін'єкції різних речовин у сонну і хребетну артерії, не усуває їх впливу на рефлексогенні хеморецептивні зони цих судин. Крім того, гематоенцефалічний бар'єр обмежує або навіть блокує надходження ряду речовин з крові в мозок.

Введення різних речовин у шлуночки головного мозку (2, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 17, 20) дає більшу можливість простежити за впливом досліджуваних речовин на головний мозок. Проте ці впливи опосередковуються дифузно через структури, що прилягають до стінок шлуночків мозку (гіпоталамус, медіальні відділи зорового бугра, центральна сіра речовина сільвієвого водопроводу і дно четвертого шлуночка).

Разом з тим речовини, введені навіть у шлуночки мозку, на шляху свого руху до нервових центрів натрапляють на перешкоди у вигляді різних епітеліальних утворень і часто дають ефекти, протилежні тим, які спостерігаються при їх внутрішньому введенні. Отже, метод інтравентрикулярного введення також може мати обмежене застосування.

З особливо великими труднощами доводиться стикатись при вивченні катехоламінів (адреналіну і норадреналіну) на центральну нервову систему, оскільки центральні ефекти цих речовин маскуються їх потужним впливом на периферичні відділи симпатичної нервової системи [9, 10, 11, 12, 18].

Тому для вивчення локальних, безпосередніх реакцій різних відділів мозку потрібна така постановка експерименту, яка давала б можливість провадити мікроін'єкції досліджуваних речовин у перичелюлярні простори обмежених груп нервових клітин. Застосовувані для гострого одноразового дослідження скляні мікропіпетки, природно, не можуть бути використані в хронічних дослідах в зв'язку з дифузією їх наповнювачів, а також через технічні труднощі в їх фіксації.

Крім того, бажано мати можливість сполучити локальну мікроін'єкцію з локальним відведенням біопотенціалів нервових клітин, в які була зроблена ін'єкція.

З цією метою нами розроблені комбіновані електроди-канюлі для імплантації в різні відділи головного мозку собаки.

Електрод-канюля зроблений з нікельової трубки із зовнішнім діаметром 0,25—0,3 мм. Трубку виготовляють з випаленої нікельової стрічки 0,05 мм завтовшки з наступним протягуванням її через набір цейзерів до потрібного діаметра. В її канал вводять трубку меншого діаметра (0,1 мм), попередньо вкриту кількома шарами лакової ізоляції. До кінців трубок підпаюють провідники, які під час операції приєднують до комутаційної колодки для відведення біострумів на вхід електроенцефалографа. Трубки щільно запресовують в отвір плексигласової втулки, яка має в своїй основі площадку з отворами для шурупів, у середній частині — виїмку для шкірного рубця та у верхній циліндричній частині — нарізку для нагвинчування ковпачка. Через канал втулки в канюлю вводять мандрен з вольфрамового дрослика, верхній кінець якого зігнутий під прямим кутом і прилягає до поверхні втулки. Канюлю герметично загвинчують ковпачком з внутрішньою нарізкою, а гумова прокладка, що знаходиться всередині нього, створює повну герметизацію канюлі й охороняє ковпачок від випадкового згвинчування. Канюлю зовні вкривають кількома шарами лакової або плексигласової ізоляції, якість якої перевіряють омметром і під мікроскопом у щільній камері, заповненій електролітом.

Оскільки до операції важко заздалегідь обчислити глибину залягання ядер мозку собаки, в які належить вводити електроди-канюлі, то заготовочна довжина їх трубок має становити не менше як 70 мм.

Укріпивши голову собаки в стереотаксичному апараті та вимірявши її череп, визначають глибину залягання даного ядра від горизонтальної нульової площини та від поверхні черепа. Трепанують у черепі отвір діаметром в 1 мм і вимірюють товщину кістки, на яку вносять поправку при обчисленні глибини залягання ядра від поверхні черепа. Відповідно до цього зайву частину канюлі зрізають гострими ножицями під

Дослідж

деяким кутом. На закритий мандрено-трот-канюлю виготовляють канал мандреном.

Після трепани канюлю орієнтовану стереотаксично ки не ляже на скелет.

Площадку модифікують її отвори вгвинчують фіксацію канюлі. На

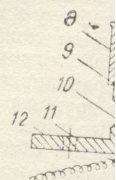


Рис. 1. Схема різ електрод-канюлі. 1 — канал канюлі, 2 — внутрішня трубка, 3 — внутрішня трубка, 4 — внутрішня трубка, 5 — внутрішня трубка, 6 — внутрішня трубка, 7 — внутрішня трубка, 8 — внутрішня трубка, 9 — внутрішня трубка, 10 — внутрішня трубка, 11 — внутрішня трубка, 12 — внутрішня трубка.

тально просочують її на спеціальній колодці, яку прикріплюють до пластмасової.

Після зашивання шкіри для того, щоб головка канюлі виступала над поверхню ковпачка з контактними поверхностями.

Такі канюлі-електроди використовують тільки голки зрізають з такою довжиною 1 мм. Можна виготовити і канюлі, змонтовані на електродів щодо поздовжньої відстані досліджуваних ядер стовбура мозку у собаки. Довжину кожного електроду імплантації одиначної канюлі

Мозку

деяким кутом. На зрізі видно два концентричних полюси електрода і канал канюлі, закритий мандреном. В тих випадках, коли бажано мати монополярне відведення, електрод-канюлю виготовляють з однієї трубки, вкритої зовні ізоляцією і з введеним в її канал мандреном.

Після трепанації черепа й остаточного уточнення довжини канюлі, тверду мозкову оболонку проколюють гострою голкою і через отвір у кістці електрод-канюлю, орієнтовану стереотаксичним апаратом, занурюють у мозок доти, поки площадка втулки не ляже на склепіння черепа.

Площадку моделюють нагрітим шпателем відповідно до поверхні черепа і через її отвори вгвинчують у кістку шурупи з нержавіючої сталі, які забезпечують міцну фіксацію канюлі. На відвідні провідники надягають поліхлорвінілову панчішку і ре-

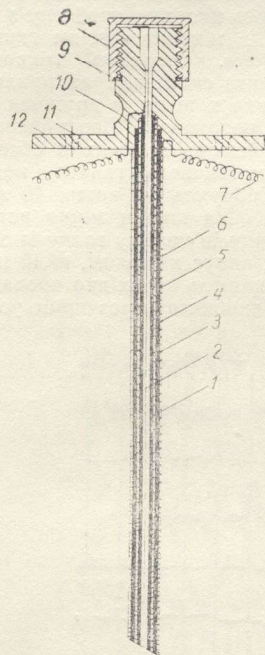


Рис. 1. Схематичний розріз електрода-канюлі.
1 — канал канюлі, 2 — мандрен, 3 — внутрішня трубка, 4 — внутрішня ізоляція, 5 — зовнішня трубка, 6 — зовнішня ізоляція, 7 — відвідні проводи, 8 — ковпачок канюлі, 9 — гумова шайба, 10 — виїмка втулки, 11 — отвори для шурупів, 12 — площадка канюлі.

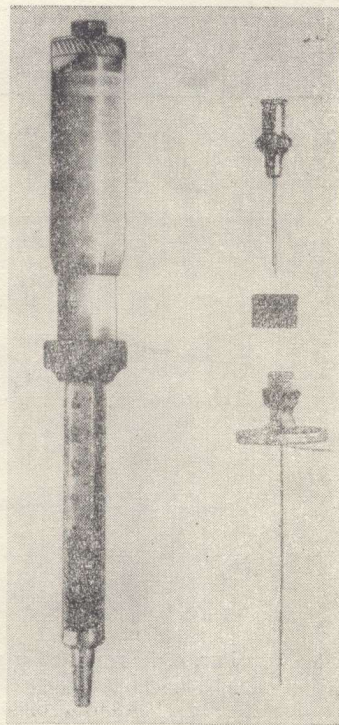


Рис. 2. Загальний вигляд електрода-канюлі і мікроін'єктора.

тельно просочують її на торці рідким плексигласом. Проводи підпаюють до комутаційної колодки, яку прикріплюють до надбрівних дуг шурупами і самотвердіючою пластмасою.

Після зашивання шкіри доцільно прикріпити шовну лігатуру до шийки канюлі для того, щоб головка канюлі не пішла під шкіру. Над поверхнею шкіри після її зашивання виступають ковпачок канюлі, що замикає вхід в її канал, і комутаційна колодка з контактними поверхнями (рис. 3).

Такі канюль-електроди можна імплантувати в різні відділи кори великих півкуль головного мозку. Техніка їх імплантації практично нічим не відрізняється від описаної, тільки голки зрізають з таким розрахунком, щоб їх кінці ввійшли в кору на глибину 1 мм. Можна виготовити і блок канюль-електродів, що складається з чотирьох-пяти канюль, змонтованих на спільній плексигласовій основі. Розташування канюль-електродів щодо поздовжньої осі спільної основи визначають заздалегідь відповідно до відстані досліджуваних ядер від сагітальної «нульової» площини, яка для багатьох ядер стовбура мозку у собак навіть з різними розмірами черепа відносно стабільна.

Довжину кожного електрода-канюлі обчислюють так само, як це роблять при імплантації одиничної канюль-електрода. Зайву частину голок зрізають і після тре-

паначії крапкових отворів (відповідно до положення канюль-електродів в основі втулок) блок обережно опускають на поверхню черепа і фіксують до нього чотирма шурупами.

Перед мікроін'єкцією необхідно старанно вистригти шерсть навколо канюлі, промити шкіру йод-бензином, а після цього ще й спиртом. Обережно згвинчують головку канюлі і пінцетом виймають мандрен. Перед тим записують вихідну електроенцефалограму.

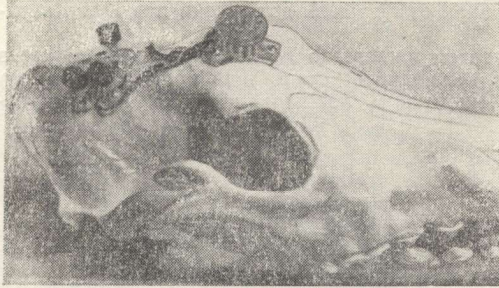


Рис. 3. Укріплені на черепі собаки електроди канюлі і комутаційна колодка.

Для мікроін'єкції дуже зручно користуватися туберкуліновим шприцом, циліндр і поршень якого попередньо вкорочують. На шприц надягають насадку, зроблену з плексигласу, з мікрометричним гвинтом і ноніусом. Стержень мікрометричного гвинта своїм вістря прилягає до головки поршня, а пружина фіксує його положення. Переміщення поршня здійснюється шляхом обертання мікрометричного гвинта, ноніус якого калібрують на кожні 10 мк.

На шприц міцно встановлюють тонку ін'єкційну голку із загостренням на конус кінчиком, який щільно входить у канал головки канюлі. Припасування голок і канюль необхідно провадити перед операцією при підігріванні плексигласової втулки. Заповнюють розчином усю систему,

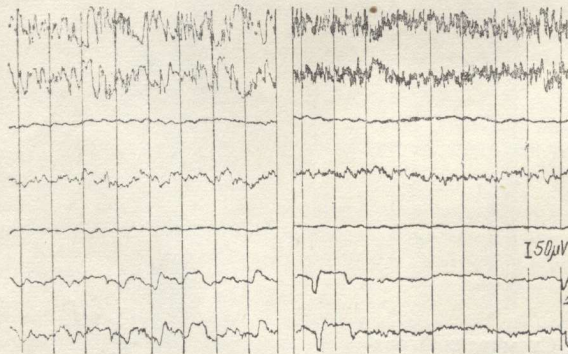


Рис. 4. Ін'єкція 0,5 у адреналіну в мезенцефалічну ретикулярну формулю: лівий фрагмент — до ін'єкції, правий — після ін'єкції.

після чого голку щільно вводять у втулку канюлі і, обернувши мікрометричний гвинт на потрібну поділку, роблять мікроін'єкцію. За допомогою цього простого пристосування, переміщаючи мікрометричний гвинт на 10 мк, можна провадити ін'єкції в об'ємі менш ніж 0,0005 мл.

Такий спосіб забезпечує плавне, поступове надходження постійного об'єму розчину, виключає неточності при ін'єкції і можливість випадкової травми. Після ін'єкції голку виймають, а до моменту закінчення дослідження в канал канюлі вводять простерилізований мандрен і щільно загвинчують головку.

Якщо імплантувати канюлю з короткою трубкою, то її можна використати як напрямну втулку, через яку опускають на різну глибину в кожному досліді скляні капіляри, наповнені розчином, який належить ін'єкувати. Таким шляхом можна в хронічному експерименті послідовно вивчити хімічну чутливість різних структур мозку, що лежать за напрямком осі канюлі.

Для індикації кінців електродів-канюль у тканину мозку собаки негайно після умиртвіння тварини через канюлю провадять мікроін'єкцію розчину азотнокислого срібла, яке потім виявляється на препаратах звичайними гістологічними методами. Можна провадити також і мікроін'єкції розчину хлористого свинцю, який у тканині випадає в осад і при проведенні зрізу через розчин сульфиду амонію дає пофарбовану в чорно-бурий колір точку сульфиду свинцю (індикатори Леманна) [16].

Якщо об'єм розчину індикатора дорівнюватиме об'єму препарату, який вводили в мозок, то можна з забарвлення відносно судити про величину дифузії розчину в да-

ному об'ємі по періоду хімічного подразнення. Проведене за допомогою різних відділів ко- цій різних відділів ко- ну і норадреналіну п ліну в деякі точки ре- клітинних груп, в як

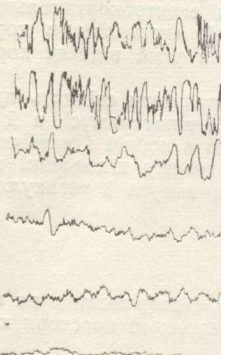


Рис. 5. Швидкість руху стрічки —

1
а
2
1
5
2
1
8
2

а — в
велич
Лівий
тіопен

відділів ретикулярної фо- виникає реакція десинхро- ться пробудженням собак З наведеної на рис. в мезенцефалічну ретикул клітин, приводить до пос- вільна високовольтна елек- кої тіопенталової анестезії десинхронізується.

Зміни біоелектричної амінів у різні відділи к

ному об'ємі по перичелюлярних просторах і про те, які структури зазнають при цьому хімічного подразнення.

Проведене за допомогою описаного методу вивчення характеру локальних реакцій різних відділів кори і підкори при мікроін'єкціях в їх тканини розчинів адреналіну і норадреналіну показало, що мікроін'єкція 0,25—0,5 μ адреналіну або норадреналіну в деякі точки ретикулярної формації приводить до посилення активності розрядки клітинних груп, в які була зроблена мікроін'єкція, а також зв'язаних з ними інших

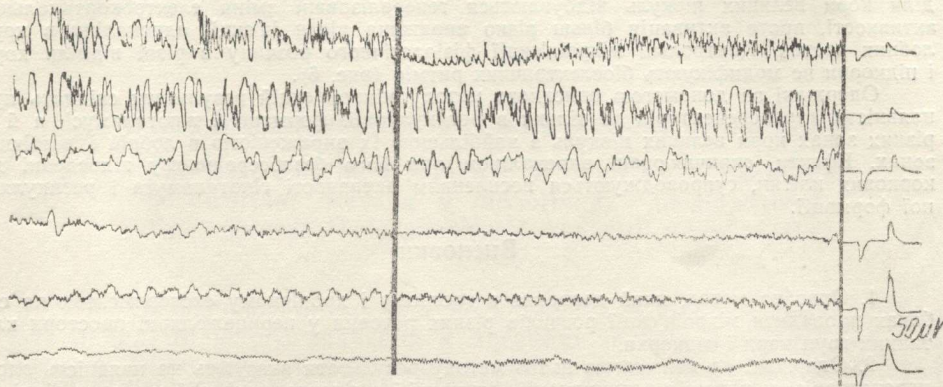


Рис. 5. Ін'єкція 0,5 μ адреналіну в поясну закрутку.

Швидкість руху стрічки — 15 мм на секунду. Лівий фрагмент — до ін'єкції, правий фрагмент — безпосередньо після ін'єкції.

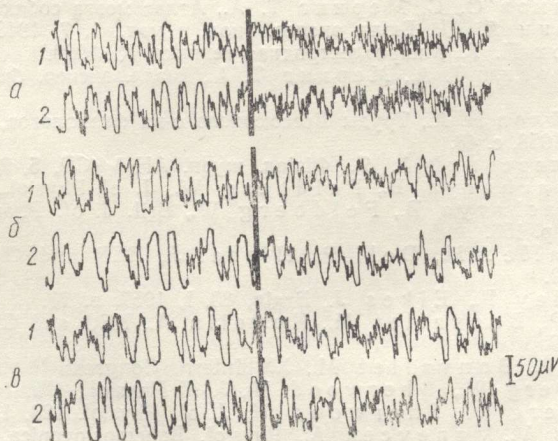


Рис. 6. Ін'єкція 0,5 μ адреналіну:

а — в лобну, б — в тім'яну і в — в потиличну зону кори великих півкуль. Канал 1 — лоб, канал 2 — потилиця. Лівий фрагмент — вихідна активність під час легкої тіопенталової анестезії до ін'єкції, правий фрагмент — безпосередньо після ін'єкції.

відділів ретикулярної формації і гіпоталамуса. Одночасно в широких коркових зонах виникає реакція десинхронізації. Цей комплекс біоелектричних реакцій супроводжується пробудженням собаки, який перебуває в стані легкої барбітурової анестезії.

З наведеної на рис. 4 електроенцефалограми видно, що ін'єкція 0,25 μ адреналіну в мезенцефалічну ретикулярну формацію (канал 7), поряд з посиленням розрядки її клітин, приводить до посилення розрядки гіпоталамуса (канал 4). Разом з тим, повільна високовольтна електрокортикограма, реєстрація якої провадиться в умовах легкої тіопенталової анестезії в лобній (канал 1) і потиличній (канал 2) частках кори, десинхронізується.

Зміни біоелектричної активності мозку відбуваються і після мікроін'єкції катехоламінів у різні відділи кори великих півкуль. На наведеній електроенцефалограмі

(рис. 5) видно, що мікроін'єкція 0,5 у адреналіну в поясну закрутку (канал 3) приводить до посилення біоелектричної активності гіпоталамуса (канал 4), бульбарної та мезенцефалічної ретикулярної формації (канали 5 і 6) з десинхронізацією електрокортикограми в лобному відведенні (канал 1).

Порівнюючи характер електрокортикографічних реакцій лобної і потиличної часток кори після мікроін'єкцій 0,5 у адреналіну а) в лобну, б) в тім'яну і в) в потиличну частку кори великих півкуль, можна сказати, що після ін'єкцій адреналіну в різні відділи кори великих півкуль відбуваються генералізовані зміни електрокортикальної активності, проте активація більш різко виражена після ін'єкції адреналіну в кору лобних часток. Контрольні мікроін'єкції фізіологічного розчину в різні відділи кори і підкорки не модифікують біоелектричних ритмів (рис. 6).

Одержані за допомогою описаного методу мікроін'єкцій результати свідчать про наявність адренорецепторів не тільки в ретикулярній формації і гіпоталамусі, а й у різних зонах кори великих півкуль з найбільшою їх вираженістю в лобній і лімбічній зонах. Ефекти, спричинювані адреналіном при його безпосередньому підведенні до коркових клітин, супроводжуються посиленням активності гіпоталамуса і ретикулярної формації.

Висновки

1. Описано метод, який дозволяє в гострому і хронічному експериментах на собаках провадити мікроін'єкції розчинів різних речовин у перинейроцелюлярні простори клітинних груп кори і підкорки.
2. Одержані за допомогою цього методу результати вказують на наявність адренорецепторів не тільки в ретикулярній формації і в гіпоталамусі, а й у різних відділах кори великих півкуль з їх переважною вираженістю в лобній і лімбічній частках.

ЛІТЕРАТУРА

1. Адрианов О. С., Меринг Т. А., Атлас мозга собаки, Медгиз, 1959.
2. Головин А. П., Бюлл. exper. биол. и мед., 1, 7, 1948, с. 68.
3. Костюк П. Г., Микроэлектродная техника, К., 1960.
4. Леонтович Т. А., Меринг Т. А., Бюлл. exper. биол. и мед., 8, 1956, с. 71.
5. Мануйлов И. А., Труды Всесоюзного о-ва физиологов, биохимиков и фармакологов, т. 4, 1958, с. 48.
6. Могилевський А. Я., Фізіол. журн. АН УРСР, 5, 2, 1959, с. 270.
7. Bhattacharya B., Feldberg W., J. of Physiol., 135, 1, 1957, p. 4.
8. Bhattacharya B., Feldberg W., Brit. J. of Pharmacol. and Chemother., 13, 2, 1958, p. 156.
9. Bonvallet M., Dell P., Hiebel J., EER and Clinical Neurophysiol., VI, 1, 1954, p. 119.
10. Bradley P., Elkes J., Brain, 80, 1, 1957, p. 77.
11. Dell P., Bonvallet M., Hugelin A., EEG and Clinical Neurophysiol., VI, 4, 1954, p. 599.
12. Dell P., Bonvallet M., XX Intern. Congress Physiol., 19 56, p. 286.
13. Feldberg W., Sherwood H., J. of Physiol., 120, 1—2, 1953, p. 3.
14. Feldberg W., Sherwood H., J. of Physiol. 123, 1, 1954, p. 148.
15. Krebs V., Vanevcek A., Physiol. Bohemoslovenica, 8, 2, 1959, p. 167.
16. Lehmann H., Naturwissenschaften, 42, 7, 1955, S. 185.
17. Lilly J., Science, 127, 3307, 1958, p. 1181.
18. Rothballer A., EEG and Clinical Neurophysiol., VIII, 4, 1956, p. 603.
19. Rothballer A., Jarvik M., Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med., 9, 4, 1958, p. 699—703.
20. Traczyk W., Acta Physiol. Polonica, VIII, 4, 1957, s. 745.

Надійшла до редакції
26.V 1960 р.

Цінні

(И.
фізіо
Виде

Електрофізіологія дедалі більш розвивається. Відповідно до цього скоріше оволодівають експериментальною методикою на шляху була відсутність практичних посібників університетів, в тому викладенню сучасної ділено уваги. Тому посібника з електрофізіології вчених.

Згадана книга жуть бути перед вами. Крім великої кількості напрямків найбільш необхідний їх виникнення. Таким чином технічні і спеціальні електрофізіологічні книги починають формуватися, що стосуються електричного функціонування біоелектричних автор не приділяють електрофізіологічній зорі мембранної і Другий розділ апаратури і технічного подразнення, рів, підсилювачів, переобтяжені матеріалом. Важливе значення шкодами і засобів. Наступні розділи задач із загальної