

ВПЛИВ ПОДРАЗНИКІВ РІЗНИХ МОДАЛЬНОСТЕЙ НА ІМПУЛЬСНУ АКТИВНІСТЬ НЕЙРОНІВ ГІПОКАМПА

Д. П. Артеменко, В. М. Шабан

*Відділ електрофізіології нервової системи
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ*

До недавнього часу вважали, що гіпокамп бере участь лише в нюхових функціях організму. Проте в 1936 р. Джерарду і співробітникам [12] вдалося зареєструвати викликані потенціали (ВП) гіпокампа і на деякі ненюхові периферичні подразники. Можливість зміни електричної активності гіпокампа під впливом подразнення різних аферентних систем доведена пізніше багатьма авторами [6, 7, 14, 17, 18, 20, 22, 23]. Були одержані також ВП від поверхні гіпокампа на периферичні подразники різних модальностей [2, 3, 4, 9, 13]. Крім того, в дослідженнях Серкова і Макулькіна [4] показано, що різні периферичні подразники викликають в кожній будь-якій точці дорсального відділу гіпокампа дуже схожі ВП; виходячи з цього, автори припускали наявність конвергенції різних аферентних систем на одних і тих же нейронах цієї структури.

Грін і Машне [15], а також Виноградова [1] з допомогою мікроелектродів вивчали спайкову активність поодиноких нейронів гіпокампа на периферичні подразнення, проте результати досліджень цих авторів суперечливі. Так, Грін і Машне вважали, що більшість нейронів гіпокампа змінюють частоту своїх спайків лише у відповідь на певні специфічні для них подразники, і тільки невелика кількість нейронів полімодальна. За даними Виноградової, 60% обстежених нейронів, що реагували на подразнення, полімодальні. Згадані автори відзначали також дуже великий латентний період нейронних реакцій, що значно перевищує латентний період ВП гіпокампа.

З метою внесення деякої ясності в ці суперечливі питання, ми досліджували характер зміни спайкової активності нейронів гіпокампа у відповідь на деякі периферичні подразники.

Методика досліджень

Досліди проведені на 18 кроликах вагою 1,5—2,5 кг.

Голову заздалегідь трахеотомованої тварини закріплювали у стереотаксичному апараті МВ-4101. Хірургічна операція провадилась при місцевому обезболенні новокаїном; новокаїнізували також місця здавлення шкіри при закріпленні голови у стереотаксичному апараті. До сідничного нерва з гомолатерального боку прикладали срібні біполярні електроди. Шкіру скальпа зрізали, кістки склепіння черепа оголяли. Тварину знерухомлювали тубокурарином (1 мг/кг).

В обох тим'яних кістках висвердлювали симетричні отвори діаметром 1,5 мм за координатами L5—P5 згідно з стереотаксичними картами Сойера та ін. [24]. Тверду мозкову оболонку ретельно видаляли. У трепанаційний отвір черепа заливали теплий (38°С) 4%-ний агар на розчині Рінгера, який після застигання зменшував пульсові та дихальні коливання мозку.

Для відведення застосовували скляні мікроелектроди, заповнені 4 М NaCl або 2,5 М KCl, з опором від 2 до 20 мом. В деяких дослідах використовували металеві зі скляною ізоляцією електроди, діаметр кінчика по ізоляції яких дорівнював 3—7 мк.

Мікроелектрод з'єднували з сіткою катодного повторювача. Електричні сигнали посилювалися з допомогою підсилювача УБП1-02. Електричні реакції фотографували з екрана катодного осцилографа на нерухому фотоплівку. Тривалі реєстрації проводились з допомогою шлейфного осцилографа Н-102. У ряді дослідів реєстрація здійснювалась також на рухомій паперовій стрічці приладу РПЧ2-01, сигнали до якого надходили через спеціальний пристрій, що перетворював спайкові потенціали у стан-

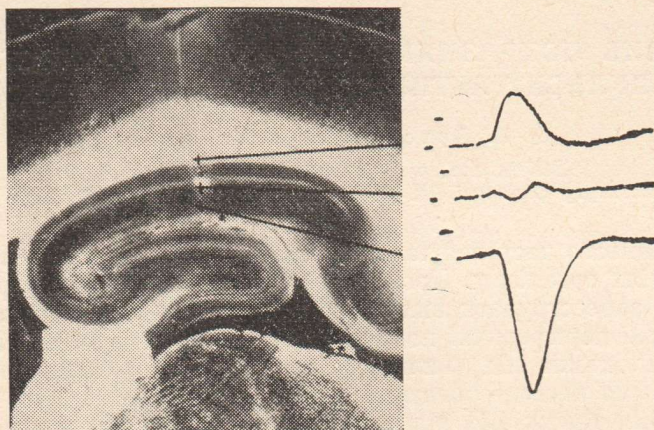


Рис. 1. Зліва: сагітальний зріз через лівий дорсальний відділ гіпокампа на 5 мм вбік від середньої лінії. Збільшення 1:7. Справа: електрограми трансгіпокампальних викликаних потенціалів, одержаних на різних глибинах поля CA₁ гіпокампа, позначених хрестиками. Калібровка: 1 мв, 5 мсек. Інші пояснення в тексті.

дартні прямокутні імпульси. Мікроелектрод з допомогою механічного мікроманіпулятора занурювали в поля CA₁ і CA₂ [19] дорсального відділу гіпокампа через неокортекс, який у наших дослідах зберігався. За референтну точку відрахунку глибини занурення мікроелектрода в гіпокамп приймали ізоелектричний рівень потенціалу, викликаного при подразненні симетричної точки протилежного гіпокампа (рис. 1, електрограми справа). За даними деяких авторів [5, 10, 16], цей рівень на 150—200 мк нижче шару сом гіпокампальних пірамідних нейронів. Після ряду дослідів через реєструючий електрод пропускали електричний струм силою близько 1 мка протягом кількох секунд. При цьому навколо кінчика мікроелектрода утворювалась зона електролітичного ушкодження, яку потім знаходили на непофарбованих гістологічних препаратах і фотографували (рис. 1).

Для подразнення протилежного гіпокампа користувались біполярним електродом коаксальної конструкції, який занурювали в гіпокамп з допомогою стереотаксичного приладу; проводився гістологічний контроль локалізації цього електрода. Подразнення протилежного гіпокампа та сідничного нерва здійснювались з допомогою електронного стимулятора через ізолюючий трансформатор. Водночас з цими подразниками застосовували також обдування струменем повітря шерсті тулуба, сильні звукові поштовхи та сильні світлові спалахи близько 40 дж від електричної лампи «Молнія» (ЕВ-1).

Результати досліджень

Спайкова активність нейронів найчастіше відводилась на 150—250 мк вище глибини ізоелектричного рівня потенціалу, викликаного при подразненні протилежного гіпокампа. При цьому реєструвались спайки трьох типів: двофазні з початковою позитивністю, монофазні позитивні та монофазні негативні. Слід відзначити, що частота реєстрації того чи іншого виду спайків залежала від діаметра кінчика застосованого мікроелектрода. Так, з допомогою грубих мікроелектродів з

низьким електричним опором частіше відводились монофазні негативні (0,5—2 мв) і іноді — двофазні спайки (3—20 мв). При використанні тонких електродів найчастіше траплялись монофазні позитивні спайки досить великої амплітуди (до 40 мв). При відведенні позитивних монофазних спайків нерідко можна було реєструвати постійний негативний потенціал незначної величини — від 5 до 40 мв.

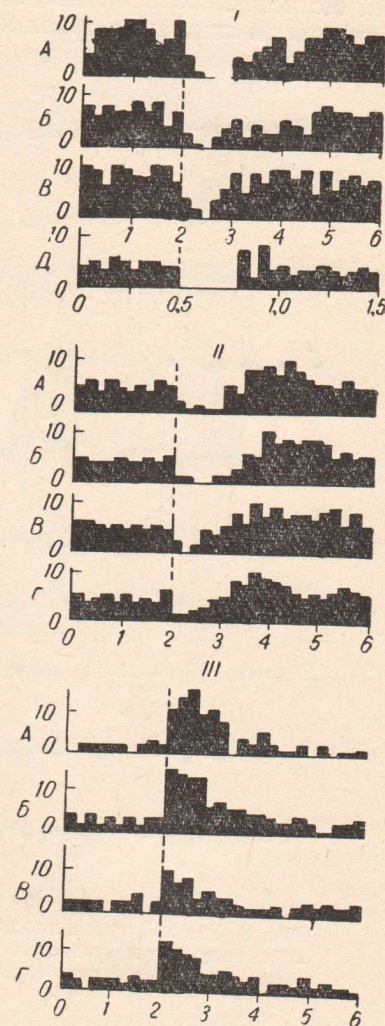
Часто відзначалось згрупування спайкових розрядів, по два-три в групі; при цьому вони проявляли тенденцію збігатися з тією чи іншою фазою повільної хвилеподібної електричної активності гіпокампа, що також відводилась позаклітинно і мала частоту 3—5 за сек (так званий «тета-ритм» за Гріном і Ардуїні [14]).

Слід відзначити досить низьку частоту фонові спайкової активності нейронів гіпокампа, що не перевищувала 10 за сек.

Нерідким явищем було відведення спайків від «мовчазних» нейронів. Такі спайки досить великої амплітуди з'являлися раптово при повільному заглибленні мікроелектрода у гіпокамп. Якщо в цьому випадку мікроелектрод трохи відвести назад, частота спайків при незмінній їх амплітуді різко знижувалась і невдовзі нейрон «замовкав» зовсім; при обережному русі мікроелектрода вперед частота спайків такого нейрона завжди збільшувалась.

Помітні зміни фонові імпульсної активності у відповідь на периферичні подразнення різних модальностей одержано

Рис. 2. Гістограми змін спайкової активності трьох нейронів гіпокампа (I, II, III) у відповідь на периферичні подразнення різної модальності: А — сідничного нерва, Б — тактильне, В — звукове, Г — зорове, Д — подразнення протилежного гіпокампа. Гістограми I, II побудовані при підрахунку спайків десяти реакцій нейрона, гістограма III — п'яти реакцій. По вертикалі: кількість спайків у проміжку часу 200 мсек (на гістограмі I, Д — 100 мсек). По горизонталі позначено час у сек.



при відведенні від 84 нейронів. Як зазначалось вище, нами були застосовані подразнення сідничного нерва, тактильні, зорові та слухові; у деяких випадках вивчали також зміну спайкової активності нейронів при подразненні симетричної точки протилежного гіпокампа. Слід відзначити, що використовувались досить сильні периферичні подразники, особливо зорові.

Найбільш впливовими виявились супрамаксимальні подразнення сідничного нерва та короткочасні обдування струменем повітря шерсті тулуба. Менш виразна зміна спайкової активності спостерігалась при звукових подразненнях, незважаючи на їх значну силу. Слід зауважити, що при наявності хоча б невиразної реакції на ці останні подразники завжди можна було спостерігати аналогічну реакцію на тактильні подразнення та подразнення сідничного нерва.

На рис. 2 зображені гістограми змін спайкової активності трьох нейронів у відповідь на периферичні подразнення всіх чотирьох модальностей та протилежного гіпокампа (рис. 2, I, Д). Легко помітити, що всі подразники викликають у одного й того ж нейрона однотипні реакції, що відрізняються лише інтенсивністю та тривалістю. Проте, характер реакцій кожного з трьох нейронів різний. Так, у нейрона I на рис. 2

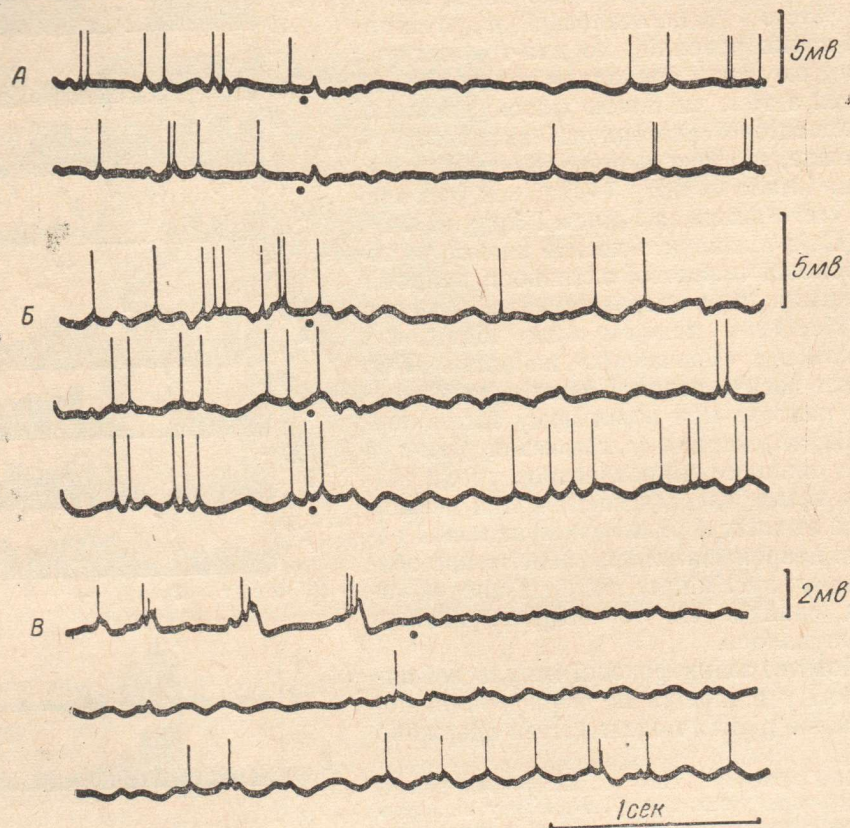


Рис. 3. Реакції трьох поодиноких нейронів гіпокампа (А, Б, В) гальмівного типу на подразнення сідничного нерва. Чорним кружком, як і на рис. 4, позначено момент подразнення.

у відповідь на периферичні подразники та подразнення протилежного гіпокампа спостерігалось гальмування; у нейрона II, рис. 2 — спочатку гальмування, а потім пізня активація; нейрон III, рис. 2 на периферичні подразники відповідав збудженням, що проявлялося різким збільшенням частоти спайкових розрядів.

Слід відзначити, що вираженість реакцій різних нейронів на периферичні подразники значно варіювала. Найчастіше траплялись нейрони з досить невиразною реакцією на всі застосовані подразники, хоча помітних ознак їх ушкодження не виявлено. Водночас, траплялись нейрони, які на кожне подразнення давали дуже чітку реакцію (рис. 3, 4).

Характерною ознакою реакцій нейронів гіпокампа, як гальмівного, так і активаційного типу, є надзвичайна їх тривалість (рис. 3, В, 4, В), іноді понад 10 сек. Найчастіше ж тривалість реакцій коливалась у межах 1,5—2,0 сек (рис. 2, I, II, III; 3, А, Б; 4, Д). Проте, траплялись та-

кож нейрони, які на периферичне подразнення реагували короткою пачкою спайків (три нейрона; рис. 4, А). Характерно, що латентний період таких реакцій завжди короткий — 25—30 мсек.

Латентні періоди тривалих реакцій активаційного типу (24 нейрона) можна поділити на дві групи: короткі (16 нейронів) 25—40 мсек (рис. 2, III; 4, Б, В) і довгі (вісім нейронів) — 60—600 мсек (рис. 4, Г).

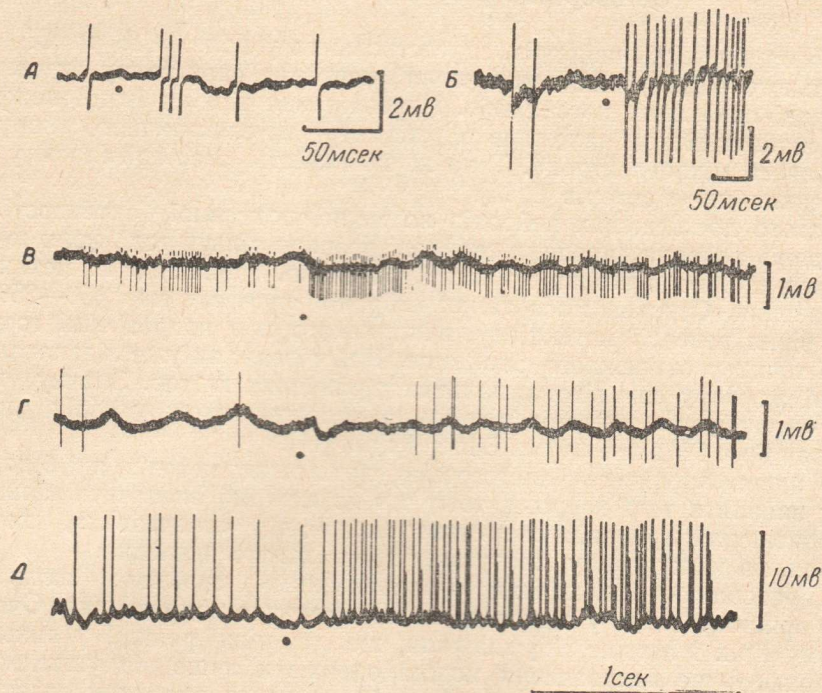


Рис. 4. Реакції п'яти поодиноких нейронів гіпокампа (А, Б, В, Г, Д) активаційного типу на подразнення сідничного нерва (А, Б, Г, Д) та звукове подразнення (В).

Для гальмівного типу реакцій було характерне різке зменшення частоти спайкових розрядів нейронів або їх повне випадіння, що тривало найчастіше в межах 1—2 сек (рис. 2, I, II; рис. 3, А, Б), а іноді — кілька сек (рис. 3, В); після цього частота спайків повільно відновлювалась до рівня фонові.

У деяких випадках після періоду гальмування наставало тимчасове збільшення частоти спайків у порівнянні з фоном (рис. 2, II, два нейрона).

При зіставленні деяких реакцій на будь-яке подразнення, наприклад, сідничного нерва, можна було помітити, що періоду гальмування ряду нейронів передують короткочасне збудження у вигляді поодинокого спайкового розряду, що регулярно спостерігався на багатьох електрограмах (рис. 3, Б). Таке початкове збудження спостерігалось у восьми нейронів із 60, що виявили гальмівну реакцію. Латентний період початкового спайка цих нейронів становив 25 мсек. У тих нейронів, які не виявляли початкового спайка, латентний період реакцій визначити важко через те, що частота фонових спайків досить низька (1—10/сек), але з певністю можна сказати, що він не перевищує 50 мсек.

При визначенні глибини реєстрації тих чи інших нейронів було помічено, що нейрони гальмівного типу, включаючи ті, що виявляють

початковий спайк, зосереджені на глибині приблизно 100—200 мк вище рівня реверсії потенціалу, викликаного при подразненні протилежного гіпокампа. Нейрони, що виявляли реакцію активаційного типу на периферичні подразники, траплялись на 100—400 мк вище рівня реверсії ВП.

Обговорення результатів досліджень

Певна кількість нейронів, зареєстрованих у полях CA_1 та CA_2 [19] дорсального відділу гіпокампа, мала спонтанну електричну активність у вигляді спайкових потенціалів. Переважання тієї чи іншої конфігурації спайків цілком залежало від діаметра та електричного опору застосованого мікроелектрода. Така ж залежність спостерігалась у дослідженнях інших авторів [8, 11].

Багато досліджених нейронів не мали спонтанної активності. Ці «мовчазні» нейрони виявляли спайкові розряди тільки тоді, коли мікроелектрод щільно підходив до них і, очевидно, спричиняв їх механічне подразнення. Основна маса таких нейронів виявлена на 150—250 мк вище рівня реверсії потенціалу, викликаного при подразненні гомотопічної точки протилежного гіпокампа. Цей рівень, як уже відзначалось, відповідає шару сом гіпокампальних пірамідних клітин. Значну кількість «мовчазних» нейронів гіпокампа виявили також у своїх дослідженнях Грін і Машне [15] та Ейлер і Грін [11].

У наших дослідках не застосовано спеціальних методів, які б давали змогу виявляти такі нейрони, тому ми не можемо визначити кількісне співвідношення нейронів спонтанно активних і «мовчазних», хоч це питання, на нашу думку, заслуговує спеціального вивчення.

Спровокована механічним «подразненням» спайкова активність часто пригнічувалась у відповідь на периферичне подразнення. Очевидно тому Грін і Машне [15] вважали, що гальмівні реакції у відповідь на периферичне подразнення можна одержати лише від ушкоджених нейронів. Проте такі «ушкоджені» нейрони часто виявляли здатність зберігати свою спайкову активність протягом досить тривалого часу, іноді до двох годин. Крім того, іноді реєструвались також гальмівні нейрони, що відводились у вигляді низькоамплітудних негативних спайків; при наближенні до таких нейронів амплітуда їх підвищувалась, проте частота спайкових розрядів залишалась незмінною, що давало змогу стверджувати відсутність їх ушкодження. У зв'язку з цим ми вважаємо, що механічне «подразнення» нейронів не спотворювало реакцій, а лише сприяло їх виявленню.

Водночас, нейрони, що реагували збудженням на периферичні подразники, як правило, виявляли стійку фонову ритміку, частота спайків якої була завжди вищою у порівнянні з нейронами, яким властива реакція гальмування. Очевидно, це може бути однією з причин того цікавого факту, що активність нейронів збудного типу частіше відводиться у вигляді низькоамплітудних монофазних негативних та двофазних спайків при застосуванні порівняно грубих мікроелектродів. У зв'язку з цією обставиною ми вважаємо, що спроба кількісної оцінки співвідношення нейронів з різним типом реакцій має лише умовне значення. Цим, мабуть, і можна пояснити розбіжність даних питомої ваги збудних та гальмівних нейронів у дослідженнях Гріна і Машне [15] та Виноградової [1].

Всі досліджені нами нейрони, як із збудними, так і гальмівними реакціями, по відношенню до застосованих нами периферичних подразників, виявилися полімодальними. У цьому відношенні наші дослідження більш-менш збігаються з даними Виноградової [1], яка також від-

значала, що більшість зареєстрованих нейронів реагувала на всі застосовані автором подразники. Проте наші дані суперечать дослідженням Гріна і Машне [15] та Ейлера і Гріна [11], які виявили переважно мономодальні нейрони гіпокампа у межах його полів CA_1 та CA_2 . Крім того, Виноградова [1] також виявила деяку кількість мономодальних нейронів. У наших дослідах таких нейронів, проте, знайти не вдалося. Відсутність мономодальних нейронів навряд чи можна пояснити можливим впливом на нейронну активність тубокурарину, оскільки Грін і Машне [15] також користувались цим препаратом для знерухомлення тварин.

Грін і Машне [15] та Ейлер і Грін [11] відзначали також специфічність реакцій нейронів на певні периферичні подразники, наприклад, реакції нейронів у вигляді коротких пачок тільки на вимкнення світла. На наших гістограмах (рис. 2, I, II, III) видно, що реакції одних і тих же нейронів на всі застосовані подразники однотипні.

Щодо дуже великої тривалості реакцій нейронів гіпокампа, наші дані зберігаються з результатами інших авторів [1, 7, 15, 21]. Але, водночас, нами виявлені нейрони, що мають коротку тривалість реакцій у вигляді пачок з трьох-чотирьох спайків.

Слід особливо підкреслити, що Грін і Машне [15], а також Виноградова [1] відзначали дуже великі латентні періоди реакцій нейронів гіпокампа у відповідь на периферичні подразники. Ми також іноді мали змогу констатувати тривалі латентні періоди. Та поряд з цим знайдено багато нейронів з реакціями активаційного та гальмівного типів, що мали порівняно короткі латентні періоди 25—40 мсек. Такі приховані періоди за своєю величиною наближаються до латентних періодів окремих фаз викликаних потенціалів гіпокампа, що їх можна одержати у відповідь на ті ж периферичні подразники [3, 4].

Висновки

1. Конфігурація та амплітуда спайкових потенціалів, відведених від нейронів гіпокампа, залежать від діаметра кінчика застосованого мікроелектрода.
2. В гіпокампі знайдено велику кількість «мовчазних» нейронів.
3. Нейрони гіпокампа на периферичні подразники, застосовані в наших дослідах, виявилися полімодальними. Найбільш впливовими на спайкову активність нейронів виявилися периферичні подразники значної сили.
4. Найбільш численна група нейронів у відповідь на периферичні подразнення реагує гальмуванням спайкової активності, менш численна — збудженням. Спостерігались також складні реакції, серед яких особливої уваги заслуговують реакції у вигляді тривалого гальмування, якому передують короткочасне збудження.
5. Більшість реакцій нейронів гіпокампа мала короткий латентний період (25—40 мсек), що наближався до латентного періоду окремих фаз викликаного потенціалу у відповідь на ті ж периферичні подразники. Траплялись також нейрони із значними латентними періодами, що перевищували 60 мсек.
6. Більшості реакцій гальмівного та активаційного типу притаманна значна їх тривалість. Невелика група нейронів на периферичне подразнення відповідала коротким збудженням.

Література

1. Виноградова О. С.—Журн. высш. нервн. деят., 1965, 15, 500.
2. Дзидзишвили Н. Н., Квирквелия Л. Р.—В кн.: Электрофизиол. нервной системы, Ростов-на-Дону, 1963, 129.
3. Серков Ф. Н., Братусь Н. В.—В кн.: Соврем. пробл. электрофизиол. центр. нервн. системы, М., 1967, 253.
4. Серков Ф. Н., Макулькин Р. Ф.—Физиол. журн. СССР, 1966, 52, 6, 645.
5. Andersen P.—Acta physiol. scand., 1960, 48, 178.
6. Arduini A., Arduini M., Green J.—EEG Clin. Neurophysiol., 1953, 5, 473.
7. Arduini A., Pompeiano O.—Arch. Sci. Biol., 1955, 39, 397.
8. Brücke F., Gogolak G., Stumpf Ch.—Pflüg. Arch. ges. Physiol., 1963, 276, 456.
9. Dunlop M.—EEG Clin. Neurophysiol., 1963, 15, 353.
10. Eidelberg E.—J. Neurophysiol., 1961, 5, 521.
11. Euler C., Green J.—Acta physiol., scand., 1960, 48, 95.
12. Gerard R., Marshall W., Saul L.—Arch. Neurol. Psychiat. (Chicago), 1936, 36, 675.
13. Green J., Adey W.—EEG Clin. Neurophysiol., 1955, 8, 245.
14. Green J., Arduini A.—J. Neurophysiol., 1954, 6, 533.
15. Green J., Machne X.—Amer. J. Physiol., 1955, 181, 219.
16. Green J., Petsche H.—EEG Clin. Neurophysiol., 1961, 13, 847.
17. Jung R., Kornmüller A.—Arch. Psychiat., 1938, 109, 1.
18. Liberson W., Cadilhac J.—Montpelier Medical, 1954, 45, 515.
19. Lorente de No R.—J. Physiol., Neurol., 1934, 46, 113.
20. Mac Lean P., Horwitz N., Robinson F.—Yale J. Biol. Med., 1952, 25, 159.
21. Renshaw B., Forbes A., Morison B.—J. Neurophysiol., 1940, 3, 74.
22. Robinson F., Lennox M.—Fed. Proc., 1951, 10, 110.
23. Sager O., Nestianu V., Florea-Ciocioiu V.—EEG Clin. Neurophysiol., 1960, 12, 3, 749.
24. Sawyer C., Everett Y., Green J.—J. Comp. Neurol., 1954, 101, 804.

Надійшла до редакції
28.IV 1969 р.

EFFECT OF STIMULATORS OF DIFFERENT MODALITIES ON IMPULSE ACTIVITY OF HIPPOCAMP NEURONS

D. P. Artemenko, V. M. Shaban

*Department of Electrophysiology of Nervous System, the A. A. Bogomoletz Institute
of Physiology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev*

Summary

In experiments with narcotized rabbits, made motionless by tubocurarine, the effect was studied of peripheral stimulations of different modality (stimulations of ischiatic nerve with electrical current, taxil, optical and auditory) on impulse activity of neurons in the CA₁ and CA₂ fields of hippocamp dorsal division area.

Peripheral stimulators in most cases evoked long inhibition of spike activity of neurons and only in a negligible minority—their activation. Independently of the type of the reaction, all the investigated neurons proved to be polymodal with respect to the applied stimulators. The reactions of most neurons were extremely long only a small group of neurons responded to peripheral stimulation by short-term excitation.

Latent periods of the response of most neurons were small and similar to the latent periods of separate phases of the hippocamp evoked potential in response to the same peripheral stimulations. There were also neurons the latent period of which exceeded 60 msec.