

Л.В. Натрус

## Зміни реакції нейронів гіпоталамуса у відповідь на фізіологічні коливання констант гомеостазу

*В условиях острого эксперимента под смешанным наркозом (кетамин и закись азота), с помощью стеклянных микроэлектродов внеклеточно регистрировали импульсную активность нейронов гипоталамуса кошек и анализировали ее модуляцию в условиях висцеральной стимуляции. В качестве стимуляции подогревали или охлаждали (на 7°C) подушечку лапы, охлаждали тело животного, вводили в сонную артерию 5%-й раствор глюкозы, 0,2%-й и 3%-й раствор NaCl, в v.fetoralis – раствор фенилэфрина. Таким образом, моделировали в организме животного колебание констант гомеостаза в физиологических пределах. Показано, что наибольшее количество исследованных нейронов – более 10 % достоверно изменяет паттерн импульсации при введении в организм животного изотонического раствора глюкозы и гипоосмотического раствора хлорида натрия. В других случаях степень трансформации паттерна была меньше (6–7 %) и приблизительно одинаковая. При введении фенилэфрина в v.fetoralis, т.е. модуляции прессорного эффекта – число нейронов, изменяющих паттерн импульсной активности, было минимальным – 1,4 %. Изучение показателей ИА подкорковых нейронов в условиях гомеостатических сдвигов может служить основой для выявления перестройки функционального состояния нейронов, принимающих участие в регуляторных механизмах поддержки гомеостаза.*

### ВСТУП

Як відомо, зрушення якої-небудь константи гомеостазу в організмі, наприклад концентрації глюкози в плазмі, її осмолярності, температури, артеріального тиску тощо, створює біологічну необхідність відновити показник. Такий стан оцінюється нейронами гіпоталамуса та вважається, що саме у гіпоталамусі, особливо в преоптичній ділянці (RPO), відбувається формування необхідної мотивації [1, 4, 8, 10].

Питання про те, яким чином сигнал про коливання гомеостазу надходить в мозкові відділи ЦНС, інтенсивно вивчається. Показано, що при внутрішньовенному введенні глюкози латентні періоди реакцій глюкосенситивних нейронів гіпоталамуса були коротшими, ніж при внутрішньо-артеріальному [8]. Це свідчить про наявність периферичних рецепторів, які, насам-

перед сприймають інформацію про кількість поживних речовин, а від них імпульсація спрямовується в “харчові” центри гіпоталамуса. Є дані, котрі показують, що реакції нейронів гіпоталамуса на екзогенну стимуляцію в умовах ізольованої тканини відрізняються від реакції нейронів на такі самі подразники в умовах *in vivo* [10, 11]. Це може свідчити про те, що в гіпоталамус та RPO надходять сигнали про коливання гомеостатичних констант в основному опосередковано по нервовим шляхам від первинних рецепторів. Імовірно, такий засіб аферентації має перевагу в порівнянні з сигналізацією, яка надходить до гіпоталамуса гуморально через кров і ліквор, і приймається безпосередньо мембранними рецепторами нейронів. Основна роль гіпоталамуса, як вищого центру вегетативної нервової системи, полягає в тому,

© Л.В. Натрус

щоб акцептувати інформацію про зрушення гомеостазу та передавати її на ефекторні ланки регуляції. Тобто, цю структуру можна й потрібно розглядати як своєрідний «центральный колектор» вісцеральних сигналів, а також реле, у якому відбувається важливе переключення з аферентного на еферентний шлях.

У наших попередніх роботах показано, що реакції нейронів RPO на пред'явлення різних вісцеральних подразників, схожі між собою. Це свідчить про високу конвергентну ємність нейронів даної структури в сприйнятті вісцеральних сигналів [4, 5]. Було висловлено припущення, що механізми підтримки констант гомеостазу, в яких бере участь RPO, спрямовані не на збереження якої-небудь однієї константи, а на взаємодію регуляторних систем, котрі одночасно втримують вегетативні функції в певних межах [4]. Як відомо, структури мозку, які проявляють високу конвергентну ємність, забезпечують найскладніші інтегративні функції. Оскільки нейрони RPO мають таку властивість до вісцеральних подразнень, тут відбувається інтеграція сигналів і, завдяки кортикальним впливам, їхня оцінка. Ймовірно, синтез та інтеграція сигналів на рівні RPO дозволяє в ефекторній відповіді одночасно включати різні регуляторні механізми й активувати не одну, а декілька систем для компенсації вегетативного дискомфорту. Така обробка інформації в ядрах і структурах гіпоталамуса має важливе біологічне значення для реалізації мотивацій. Ми вважаємо актуальним вивчення нейронних механізмів взаємодії гіпоталамічних систем регуляції гомеостазу.

Одним із способів дослідження діяльності центральних нейронів є аналіз основних показників їх фонові імпульсної активності (ФІА). Вважають, що причиною фонового ритму гіпоталамічних нейронів є аферентна імпульсація, що надходить до нейрона від екстеро- й інтерорецепторів, а також інших нервових клітин [2]. При

цьому ФІА нейронів може змінюватися під впливом факторів, що впливають на функціональний стан нервової системи [1]. Тому дослідження зміни імпульсації нейронів гіпоталамуса в умовах вісцеральної стимуляції має значення для з'ясування функціонального стану нейронів, які беруть участь у регуляції вегетативного гомеостазу. На наш погляд, певний інтерес має аналіз структури ІА, оскільки зміна патерну імпульсації може відображати принципову перебудову роботи клітини.

Метою цієї роботи був аналіз зміни патерну імпульсації нейронів гіпоталамуса та RPO за умов коливання констант гомеостазу у фізіологічних межах.

## МЕТОДИКА

У гострому досліді на 26 дорослих кішках обох статей масою 2,5–3,2 кг, під змішаним наркозом (кетамін 25 мг/кг, внутрішньом'язово), інгаляційно – кисень і закис азоту, позаклітинно реєстрували ФІА від нейронів RPO і латеро-дорсальних ділянок переднього та середнього відділів гіпоталамуса ( $F_r=10,5-15,0$  за атласом [12]) за допомогою скляних мікроелектродів, заповнених розчином NaCl (3 моль/л) з опором 10–20 МОм. Процедура реєстрації реакцій нейронів на стимуляцію починалася тільки у тому разі, якщо ФІА мала стабільний характер. Спочатку протягом 30 с реєстрували фонову імпульсацію, далі подавали стимуляцію, яка закінчувалася постстимульним записом ІА нейрона не менше ніж 1 хв. Вісцеральна стимуляція полягала у введенні у внутрішню сонну артерію 3,0%-го розчину NaCl (гіперосмічний вплив), 0,2%-го розчину NaCl (гіпоосмічний вплив), 5,5%-го ізотонічного розчину глюкози (гіперглікемічний вплив). Пресорний ефект досягався введенням у *v.femoralis* 0,002%-го розчину фенілефрину гідрохлориду. Системний артеріальний тиск, який вимірювали електронним тоно-

метром у сонній артерії, підвищувався на 3,9–6,7 кПа, тобто на 25–40 % від вихідного значення (14,7–17,3 кПа). Середня доза кожного розчину була 200 мкл. При введенні 200 мкл 3,0%-го розчину NaCl доза введеної речовини становила 0,1 ммоль/л NaCl, що призводило до збільшення осмолярної концентрації в басейні внутрішньої сонної артерії до (+) 15 мосмоль/л або на 5 % від вихідного рівня. При введенні такого самого об'єму 0,2%-го розчину NaCl доза становила 0,03 ммоль/л NaCl, що знижувало осмолярну концентрацію на (-) 4,6 ммоль/л або на 1,5 % від вихідного рівня. Нарешті, при введенні 5%-го розчину глюкози доза введеної речовини становила 0,06 ммоль/л і викликала збільшення концентрації глюкози в басейні внутрішньої сонної артерії в 2,2 раза. Такі дози спричиняли коливання констант крові у фізіологічних межах. Темп інфузії становив 50 мкл/с. При введенні послідовність речовин мала випадковий характер. Контроль волюмефекту здійснювали введенням такого самого об'єму 0,9%-го розчину NaCl. Під час експерименту контролювали сумарний об'єм введених речовин, послідовність та інтервали між введеннями, щоб уникнути взаємного впливу різних інфузій. Для цього в однієї тварини досліджували активність у середньому 6–8 нейронів, а в досліді проводили не більше ніж 15 інфузій з інтервалом не меншим як 4 хв. Локальну термостимуляцію здійснювали нагріванням або охолодженням подушечки контралатеральної передньої лапи за допомогою оригінального термостимулятора (на основі батареї Пельтьє). Підвищення або зниження температури поверхні термоелемента в порівнянні з фоном становило  $\pm 7^{\circ}\text{C}$ , загальна тривалість впливу не перевищувала 45 с, крутість наростання температури була  $0,5^{\circ}\text{C}/\text{с}$ . Генералізовану термостимуляцію виконували охолодженням усієї поверхні тіла, крім голови, за допомогою прокачування води низької температури через спе-

ціальний теплообмінний кожух, у якому знаходилася тварина. Введення розчинів, зміну температури, реєстрацію й аналіз біопотенціалів, а також індикацію положення кінчика мікроелектрода при його переміщенні здійснювали за допомогою програмно-технічного комплексу, створеного в нашій лабораторії [5].

Достовірність розходження середньої частоти в біні ФІА нейронів та ІА під час стимуляції та в період післядії визначали за допомогою критерію U Вілкоксона–Манна–Уїтні. Розходження вважали достовірними при  $P < 0,05$ . Статистичний аналіз структури ІА нейронів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми, що дозволяє за гістограмами середньої частоти (з біном 1000 мс) обчислювати медіану частот у двох епохах: ФІА протягом 30 с й ІА впродовж 30 с відразу після закінчення стимуляції [3]. За результатами будували гістограми відносного відхилення поточної частоти нейрона в кожному біні від медіани. Далі були побудовані дві теоретичні функції за сумою найбільш типових розподілів відхилень, з якими порівнювали експериментальні гістограми згідно з критерієм Пірсона ( $\chi^2$ ) за допомогою комп'ютерної програми "STADIA". Ми вважали, що емпірична крива узгоджується з теоретичною при  $P > 0,05$ . Таким чином, ми визначали в кожного зареєстрованого нейрона ступінь відмінності гістограми розподілу відхилень поточної частоти від середньої при реєстрації ФІА й її ІА після стимуляції, тобто статистично вірогідно визначали перебування структури ІА нейрона.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Під час роботи ми проаналізували імпульсацію більше ніж 120 нейронів дорсального та латерального відділів гіпоталамуса й РРО. У середньому кожний вид вісцеральної стимуляції ми здійснювали протягом реєстрації ФІА 80–85 нейронів й оцінили

577 реакцій нейронів на вісцеральні подразнення. На рис. 1 наведено приклади реакцій нейрона латеральної преоптичної ділянки (LPO) на локальну температурну стимуляцію та нейрона дорсальної ділянки

переднього відділу гіпоталамуса (aHd) на введення гіпоосмічного розчину (0,2 % NaCl) у контралатеральну сонну артерію кішки. Слід зазначити, що під час нагрівання подушечки лапи тварини (див.

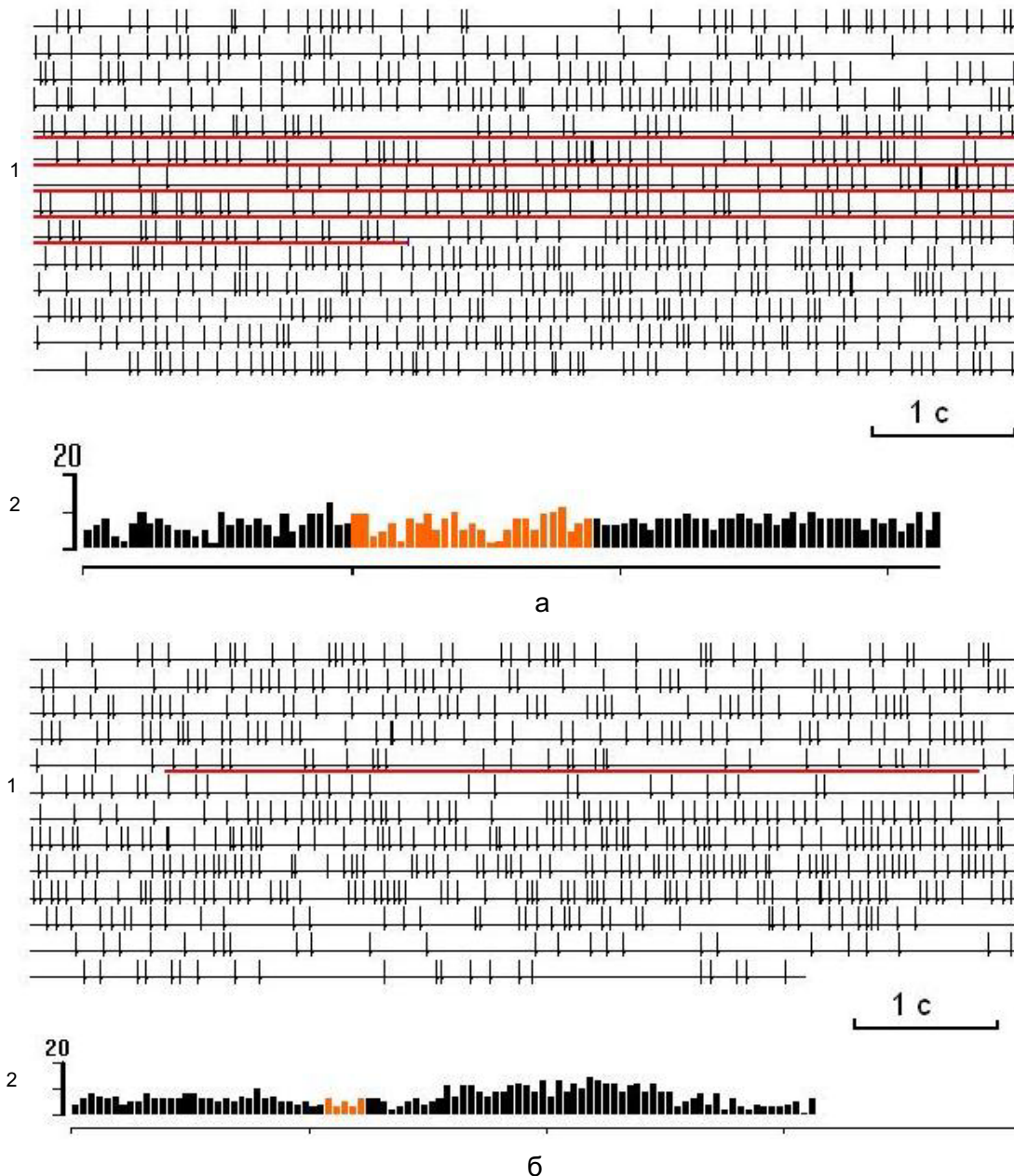


Рис. 1. Перетворення структури патерну імпульсації нейронів преоптичної ділянки гіпоталамуса після вісцеральної стимуляції: а – реакція нейрона латеральної преоптичної ділянки на нагрівання лапи тварини; б – реакція нейрона дорсальної ділянки переднього відділу гіпоталамуса на введення в контралатеральну сонну артерію 0,2%-го розчину NaCl. 1 – нейронограма, 2 – гістограма середньої частоти (бін 1 с). Горизонтальна лінія під нейронограмою та світлий колір на гістограмі – термін стимуляції

рис.1,а) нейрон LPO не відповідав зміною середньої частоти ІА. Однак після закінчення дії стимулу структура його імпульсації вірогідно змінювалася, що було доведено статистично [3]. При введенні гіпоосмічного розчину (див. рис 1,б) нейрон переднього дорсального ядра так само вірогідно не змінював середню частоту ІА під час вісцерального впливу, але після закінчення стимуляції, тобто в період післядії, спостерігалась активація ІА і перетворювалася структура патерну.

Аналіз структури ІА досліджених нейронів виявив (рис. 2), що в умовах вісцеральної стимуляції більше ніж 10% клітин вірогідно змінює патерн імпульсації при введенні в організм тварини ізотонічного розчину глюкози й гіпоосмічного розчину хлориду натрію. В іншому разі ступінь трансформації патерну була меншою і приблизно однаковою при всіх впливах: 7 % – локальне нагрівання, 7,3 % – локальне охолодження, 6 % – генералізоване охолодження, 7,2 % – введення гіперосмічного розчину. І тільки при введенні мікродози фенілефрину, тобто модуляції пресорного ефекту – число нейронів, що змінюють патерн ІА, було мінімальним – 1,4 %.

На перший погляд, важко інтерпретувати таку різноманітність отриманих

результатів. Але ми вважаємо, що цю картину можна розглядати з точки зору загальнобіологічного значення станів, які ми моделювали в організмі, пред'являючи вісцеральні стимули. Надходження в кров невеликої кількості глюкози імітує насичення або принаймні відсутність почуття голоду, тобто відсутність біологічної потреби в глюкозі та мотивації пошуку їжі. Введення гіпоосмічного розчину призводить до зниження осмолярності плазми. А такий стан настає після пиття, при задоволенні почуття спраги. Тобто знову виникає ситуація, коли немає біологічної потреби і необхідності формувати мотивацію. Ми вже висловлювали думку, що, можливо, осмосенситивність нейронів латеральних ділянок гіпоталамуса пов'язана не з осмотичним гомеостазом, а з забезпеченням питного та харчового апетиту як компонентів харчової поведінки [4]. Відомо, що тварина, яка сита та не відчуває спраги, буде ігнорувати і їжу, і воду. Ймовірно, при подібних станах, регуляторні шляхи даних систем тимчасово припиняють свою активну діяльність, що можна зрівняти з періодом «відносної рефрактерності». Гіпотетично можна припустити, що в організмі розвивається ситуація, коли якась частина регуляторної системи в цей мо-

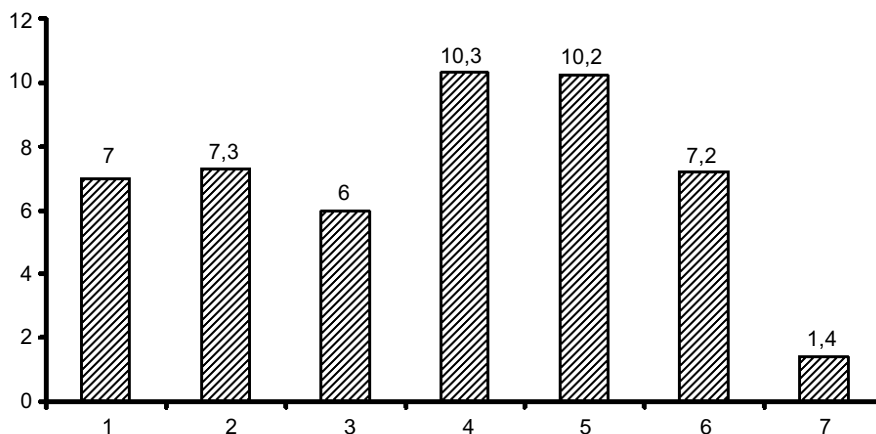


Рис. 2. Кількість нейронів преоптичної ділянки гіпоталамуса, переднього та середнього відділів гіпоталамуса (%), які змінюють структуру патерну імпульсної активності після вісцеральної стимуляції: нагрівання і охолодження подушечки лапи на 7 °С (1, 2 відповідно), охолодження тіла тварини (3), введення розчинів: ізотонічного розчину глюкози 5 % (4), 0,2 і 3 % NaCl (5, 6 відповідно), фенілефрину (7)

мент перебуває в стані запобігання формування мотивації, і деякі нейрони гіпоталамуса перебудовують свою роботу, змінюючи рисунок патерну. Протилежну картину ми бачимо в іншій ситуації, коли регуляторні системи повинні бути максимально зосереджені для компенсації гомеостатичного зрушення, як наприклад в умовах підвищення артеріального тиску. В цьому разі ми реєструємо мінімальну кількість нейронів, що змінюють свій патерн. Вірогідно, регуляторна система максимально мобілізована й, можливо, її активність зростає. Такі вісцеральні регуляторні системи – динамічні утворення, які мають властивість до саморегулювання й високої пластичності [8]. Протягом усього життя організму вони напружено працюють і не можуть перебувати в стані спокою. Але їхня функціональна активність може дещо знижуватися до мінімального рівня у разі, коли організм перебуває у стані комфорту, а при відхиленні показників гомеостазу від константного рівня – різко підсилюватися.

Можна припустити, що таке «виключення» з роботи у вигляді переходу в інший функціональний стан, та перебудови патерну імпульсації, заощаджує резерви й можливості регуляторних механізмів для контролю інших показників або ж для здійснення якогось іншого виду діяльності. Таким чином, можна уявити, що гіпоталамус і RPO відіграють не тільки роль релейно-інтегративного утворення та колектора вісцеральних імпульсів, але й своєрідного «сита» сигналів, що оцінює стан гомеостазу організму в цей момент, важливість й актуальність мобілізації різних регуляторних систем.

Ми вважаємо, що модуляцію патерну нейрона, яку часто спостерігають без зміни середньої частоти в умовах вісцеральної стимуляції, можна розцінювати як спосіб своєрідного реагування клітиною на зміни, котрі відбуваються в організмі [6]. Ймовірно, це один із шляхів кодування інформації, енергетично вигідніший, якщо не збільшується частота імпульсації, більш швид-

кий, тобто для запуску тих або інших реакцій організму, можливо, за певних умов досить змінити рисунок патерну імпульсації. Традиційно вважалося, що зміна функціонального стану центральних нейронів перш за все супроводжується коливанням середньої частоти імпульсації. Але є літературні дані про те, що нейрони, які перебувають у принципово різних функціональних станах, змінюють структуру проходження імпульсів. Наприклад, дослідження частоти розрядів кіркових нейронів у тварин у стані голоду та після їжі показали, що при голодуванні спостерігаються переважно пачкова та змішана імпульсна активність клітин, а після годування тварин реєструвалася спонтанна імпульсація з переважним поодиноким типом генерації біопотенціалів [8]. Деякі автори доводять [9], що при реєстрації реакцій термочутливих нейронів заднього відділу гіпоталамуса кроликів в умовах хронічного експерименту, у 50 % випадків зміни структури імпульсації нейронів не супроводжувалися значимими змінами середньої частоти.

Таким чином, ми виявили, що нейрони гіпоталамуса і RPO можуть змінювати патерн ФІА у відповідь на коливання констант гомеостазу. Вивчення показників ІА підкіркових нейронів за різних умов може бути основою для виявлення перебудови функціонального стану нейронів, які беруть участь у регуляторних механізмах підтримки гомеостазу. Зіставлення модифікації показників ІА гіпоталамічних нейронів при вісцеральних впливах дозволить надалі аналізувати механізми інтеграції різних аферентних сигналів, їх взаємодію й синтез у нейронах гіпоталамуса.

**L.V. Natrus**

#### **TRANSFORMATION OF THE IMPULSE ACTIVITY CHARACTER OF THE ROSTRAL HYPOTHALAMIC NEURONS IN REPLY TO PHYSIOLOGICAL FLUCTUATIONS OF THE HOMEOSTASIS CONSTANTS**

In acute experiments on cats under the combined narcosis (ketamine + N<sub>2</sub>O) we have investigated impulse activity of the rostral hypothalamic neurons and analyzed its modifications

due to visceral stimulation. As stimulation we used warmed up or cooled (on 7°C) a paw of an animals, cooled a body of an animal, we administered solutions into a carotid artery: 5 % of glucose, 0,2 % and 3 % NaCl, phenilephrine. Thus we modeled fluctuation of homeostasis's constants in physiological limits in an animal organism. It is shown that the greatest quantity of investigated neurons – more than 10 % authentically changes a pattern impulse activity when we entered solutions of 5 % of glucose and 0,2 % NaCl into a carotid artery of animals. In other cases the degree of transformation of a pattern was less (6–7 %) and approximately identical. When we entered of a microdose phenilephrine into the v.femoralis in order to modulate press effect we registered minimal quantity of neurons (1,4%). Studing of the parameters of the IA hypothalamic neurons during the homeostatic changes could be a basis for finding of transformation of the functional state of neurons which take part in the regulator mechanisms for maintaining of homeostasis.

*Donetsk State Medical University named after M.Gorky,  
Department of physiology, Donetsk*

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Баклаваджян О.Г. Висцеросоматические афферентные системы гипоталамуса. – Л.: Наука, 1985. – 215 с.
2. Волошин М.Я. Электрофизиологические методы исследования головного мозга в эксперименте. – К.: Наук. думка, 1987. – 192 с.
3. Казаков В.М., Натрус Л.В., Гайдарова О.В. та ін. Новый метод дослідження імпульсної активності гіпоталамічних нейронів // Фізіол. журн. – 2004. – 50, № 4. – С. 100–107.
4. Казаков В.Н. Сопряжение констант, как форма управления гомеостатическими функциями преоптической областью // Нейронауки: теоретич. и клинич. аспекты. – 2005. – 1, № 1. – С. 58–69.
5. Казаков В.Н., Кравцов П.Я., Кузнецов И.Э., Терещенко А.В. Метод изучения активности нейронов преоптической области в условиях их адекватной стимуляции // Физиол. журн. – 1992. – 78, № 5. – С. 116–120.
6. Казаков В.Н., Натрус Л.В. Фоновая активность нейронов переднего гипоталамуса и ее модуляция, как функциональная основа гипоталамических механизмов регуляции // Нейрофизиология. – 2005. – № 4.
7. Натрус Л.В. Изменение структуры импульсной активности нейронов преоптической области гипоталамуса при температурном воздействии на организм // Укр. мед. альманах. – 2004. – 7. – № 5. – С. 111–114.
8. Системные механизмы мотивации / Под ред. К.В.Су-дакова. – М.: Медицина, 1979. – 200 с.
9. Чернова Н.Д., Дымникова Л.П. Определение реакций нейронов центра терморегуляции в заднем гипоталамусе кролика на термическое воздействие // Нейрофизиология. – 1998. – 20, № 3. – С. 291–301.
10. Boulant J.A. Hypothalamic control of thermoregulation: neurophysiological basis // Handbook of the hypothalamus. – 1980. – 3, part A. – P. 1–82.
11. Hori T. An update on thermosensitive neurons in the brain: from cellular biology to thermal and non-thermal homeostatic functions // Jap. J. Physiol. – 1991. – 41, №1. – P. 1–22.
12. Jasper H., Ajmone-Marsan C. A stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat. – Ottawa, 1954. – 324 p.

*Дон. мед. ун-т ім. М. Горького*

*Матеріал надійшов до редакції 19.10.2005*