

Л.В. Натрус

## Особливості реакцій нейронів переднього гіпоталамуса на електричну стимуляцію кори головного мозку у кішок

*В условиях острого эксперимента с помощью стеклянных микроэлектродов внеклеточно регистрировали импульсную активность гипоталамических нейронов кошек. Раздражающие импульсы наносили в течение 5 с с частотой 12, 30, 100 с<sup>-1</sup> на зоны гиппокампа (поле СА3), пириформной коры, поясной и прореальной извилин. Анализировали изменение средней частоты импульсной нейронной активности в бине по сравнению с фоновой. Выявлено два типа реакций нейронов переднего гипоталамуса в ответ на кортикальную стимуляцию, выраженные в изменении средней частоты импульсации непосредственно во время стимуляции и в период последствия (через 15–30 с после окончания раздражения). Показано, что высокочастотная электрическая стимуляция (100 с<sup>-1</sup>) всех исследуемых областей коры больших полушарий, а также раздражение гиппокампа с частотой 30 с<sup>-1</sup>, вызывает у наибольшего количества нейронов гипоталамуса (включая и преоптическую область) достоверное изменение средней частоты импульсации в период последствия. Предполагается, что кортикофугальная импульсация оказывает значительное влияние на паттерн импульсной активности нейронов переднего гипоталамуса.*

### ВСТУП

Гіпоталамус – найважливіший підкірковий рівень регуляції вісцеральних функцій організму. Жодна ділянка мозку не демонструє таке різноманіття функціональних проявів, яке спостерігається при подразненні або руйнуванні гіпоталамічних ядер [7, 12, 14]. Вивчення конвергентних властивостей нейронів переднього гіпоталамуса щодо температурних, осмотичних, глюкозних і пресорних аферентних подразників показало, що 92 % нейронів преоптичної ділянки (RPO) виявили чутливість до двох і більше вісцеральних стимулів [1]. Вважається, що саме ця ділянка мозку є вищим інтеграційним центром, який регулює температурний, водно-електролітний, кардіоваскулярний, харчовий гомеостаз, а також забезпечує їх взаємодію, що дає можливість організму найбільш адекватно

реагувати на зміни умов зовнішнього середовища [10, 11, 16]. Результати електрофізіологічних і морфологічних досліджень переконливо доводять, що кортикальні ділянки лімбічного мозку тісно пов'язані з передніми та латеральними відділами гіпоталамуса [6, 8, 9, 13–15]. Відносна автономія гіпоталамуса у забезпеченні вегетативного гомеостазу організму знаходиться під впливом (контролюється) аферентними посилками з кори великих півкуль. Встановлено, що у вищих тварин і людини контролюючі впливи кори розповсюджуються на діяльність нейронів гіпоталамуса при формуванні емоційно-мотиваційних реакцій.

Дослідження патерну імпульсації центральних нейронів може мати самостійне значення як спроба пов'язати особливості імпульсної активності (ІА) нейрона з його функціональним позначенням [1, 2]. Відо-

© Л.В. Натрус

мо, що ІА гіпоталамічних нейронів досить лабільна та може змінюватися при дії різних впливів на стан нервової системи. Одним з актуальних питань сучасної нейрофізіології є вивчення факторів, які призводять до перебудови ІА нейронів головного мозку. Встановлено, що серійна електрична стимуляція дозволяє виявляти навіть слабкі функціональні зв'язки між структурами нервової системи [3, 5, 6, 15]. Тому ми визнали доцільним застосування різночастотної електричної стимуляції кортикальних ділянок як своєрідного тесту для виявлення спроможності нейронів гіпоталамуса перебудовувати фонову ІА.

Метою нашої роботи був аналіз реакцій нейронів переднього гіпоталамуса (включно і RPO) в умовах електричної стимуляції еволюційно-гетерогенних зон кори великих півкуль, які відносяться до лімбічного мозку та мають тісні морфофункціональні зв'язки зі структурами гіпоталамуса.

## МЕТОДИКА

У гострих дослідах на 26 дорослих кішках обох статей масою 2,5–3,2 кг, що знаходилися під змішаним наркозом (кетамін – 25 мг/кг, внутрішньом'язово, а також закис азоту і кисень, інгаляційно), позаклітинно відводили ІА нейронів, локалізованих у RPO і прилеглих гіпоталамічних структурах – латеральному та медіальному преоптичних ядрах, ділянці опорного ядра термінального тяжа, супраоптичному ядрі, латеральному гіпоталамусі й передньому гіпоталамічному полі. Точки відведення знаходилися в планах Fr 10,5–15,0 згідно з координатам атласу Джаспера і Аймон–Марсана [17]; їх розташування верифікувалося після експерименту на серійних фронтальних зрізах досліджуваних ділянок мозку. Використовували скляні мікроелектроди з опором 10–20 МОм, які були заповнені 3,0 М розчином NaCl.

Подразнювальні біполярні вольфрамові електроди (з міжполюсною відстанню 0,8 мм)

розташовували в ділянці дорсального гіпокампа (поле CA3), піриформній корі, цингулярній (поле 24) та префронтальній (поле 8) звивинах. Електричні стимули були з частотою 12, 30, 100 с<sup>-1</sup>. Реєстрацію й аналіз біопотенціалів, а також індикацію розташування кінчика мікроелектрода при його переміщенні здійснювали за допомогою програмно-технічного комплексу.

Активність нейрона починали реєструвати тільки в тому разі, якщо відведення було стабільним і фонові ІА мала стаціонарний характер протягом декількох хвилин. У цій роботі ми не проводили постійного аналізу часової структури патернів ІА нейронів, а лише аналізували середню частоту імпульсації в межах певних тимчасових інтервалів. Для цього будували частотограми нейрональної ІА при ширині біна 1 с. Оцінку частоти ІА нейрона проводили в трьох епохах аналізу: 1) фон (відрізок тривалістю 30 с) перед початком кортикальної стимуляції, 2) під час нанесення електричного подразнення протягом 5 с і безпосередньо після нього (відрізок загальною тривалістю до 10 с) і 3) в період післядії (протягом 30-секундного інтервалу після закінчення кортикального подразнення). В межах кожної епохи розраховували середню частоту ІА (усереднюванням значень усіх бінів частотограми для кожного часового періоду). Достовірність відхилень визначали за допомогою U-критерію Вілкоксона – Манна–Уїтні; відхилення вважалися значущими при P<0,05. Достовірною вважалася реакція на подразнення кори лише в тому разі, коли середня частота ІА коливалася у порівнянні з фоною не менше ніж на 40 %.

## РЕЗУЛЬТАТИ

Ми зареєстрували фонову активність близько 75 нейронів структур переднього гіпоталамуса (і RPO) та проаналізували 854 реакції, які виникали на нейронах під час корти-

кальної електричної стимуляції у кішок.

Структура відповідей нейронів на подразнення різних ділянок кори головного мозку серійними стимулами з частотою 12, 30, 100 с<sup>-1</sup> виявилася достатньо різноманітною. Було виділено два основні типи відповідей. Реакція першого типу виглядала як відносно короткочасна зміна середньої

частоти ІА (підвищення або зниження), яка спостерігалася безпосередньо під час електричного подразнення кортикальної ділянки з подальшою стабілізацією значення середньої частоти. Ілюстрацію таких короткочасних реакцій нейронів преоптичної ділянки наведено на рис. 1.

Другий тип реакції полягав у тому, що

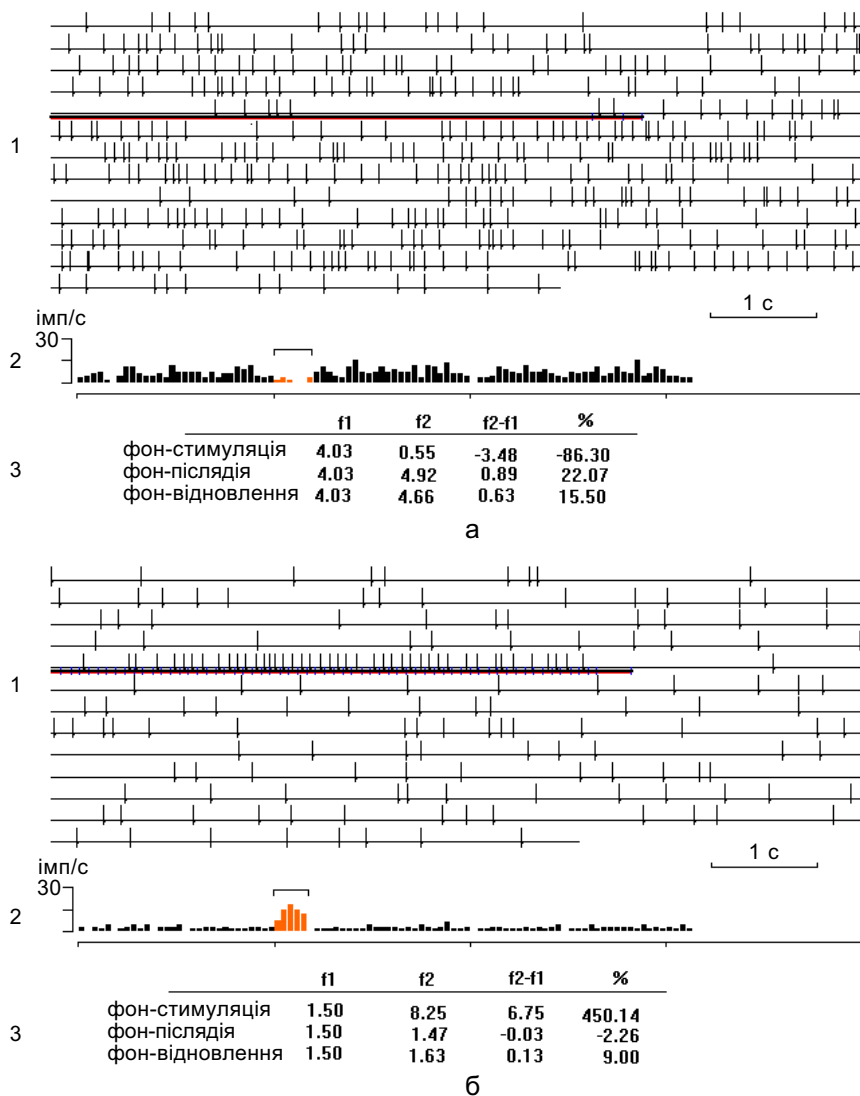
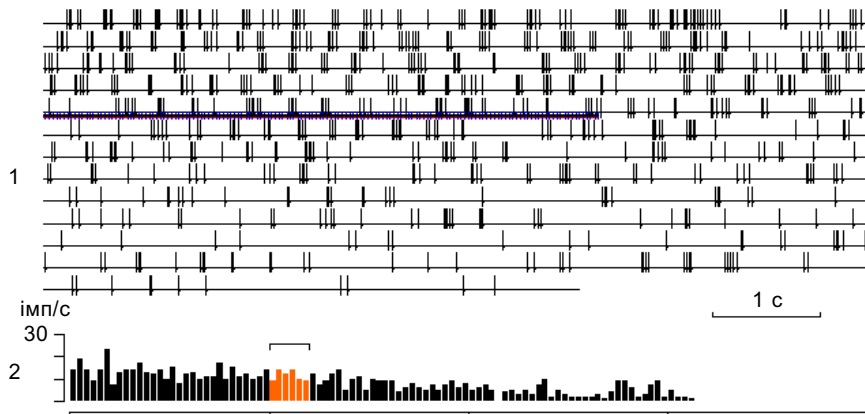


Рис. 1. Короткострокові реакції першого типу нейронів преоптичної ділянки гіпоталамуса на кортикальну стимуляцію: а – гальмівна реакція нейрона латеральної преоптичної ділянки на стимуляцію поясної звивини з частотою 100 с<sup>-1</sup>, б – активаційна реакція нейрона медіальної преоптичної ділянки на стимуляцію піриформної кори з частотою 12 с<sup>-1</sup>; 1 – нейронограма; 2 – частотограма (бін 1 с). Горизонтальна лінія на нейронограмі та позначка на частотограмі – термін стимуляції; 3 – статистичний звіт, який показує зміну середньої частоти у біні. f1 – епоха фонового спостереження, f2 – періоди стимуляції, післядії, відновлення. f1-f2 – різниця середньої частоти в абсолютних та у відносних числах (%)

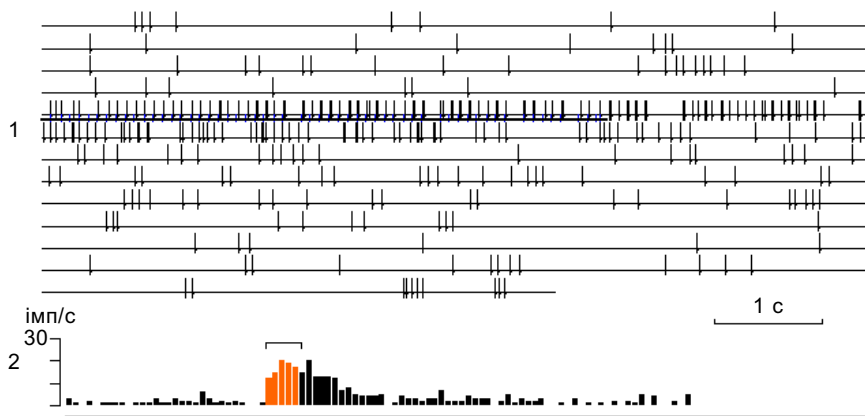
не спостерігалось зміни середньої частоти імпульсації під час проведення кортикальної стимуляції, але її значення достовірно змінювалось в період післядії (через 15–30 с після закінчення подразнення). Зразки нейрональних реакцій в період післядії наведені на рис. 2. У протоколі статистичного аналізу відображено, що нейрон латерального гіпоталамуса (див. рис. 2,а)

не змінює середню частоту ІА під час подразнення кори, але вже через 10 с після закінчення стимуляції її значення достовірно змінюється щодо фону майже на 70 %. Другий приклад (див. рис. 2,б) демонструє реакцію нейрона на стимуляцію поясної звивини. Реакція починається під час подразнення кори та тримає ще 12–25 с у період післядії. Реєструвалися нейрони з on-off-



	f1	f2	f2-f1	%
фон-стимуляція	12.87	11.74	-1.12	-8.74
фон-післядія	12.87	7.42	-5.44	-42.30
фон-відновлення	12.87	4.06	-8.81	-68.44

а



	f1	f2	f2-f1	%
фон-стимуляція	1.40	16.29	14.89	1064.02
фон-післядія	1.40	5.54	4.14	295.92
фон-відновлення	1.40	1.63	0.23	16.35

б

Рис. 2. Приклади реакцій другого типу, які викликаються у нейронів переднього гіпоталамуса на кортикальну стимуляцію і тривають в період післядії: а – гальмівна реакція нейрона латерального гіпоталамуса у відповідь на стимуляцію гіпокампа з частотою 30 с<sup>-1</sup>, реакція реєструється тільки в період післядії; б – активаційна відповідь на стимуляцію поясної звивини з частотою 12 с<sup>-1</sup> і реакція, яка продовжується в період післядії. Позначення як на рис. 1

ефектом, тобто змінювали спрямованість реакції в період післядії у порівнянні з реакцією під час стимуляції. На діаграмі (рис. 3) відображений розподіл відносної кількості досліджених нейронів, які на подразнення різних зон неоархіпалеокортекса стимулами з частотою 12, 30 і 100 с<sup>-1</sup> відповідають миттєвими короткочасними відповідями або формують реакцію в період післядії.

При стимуляції гіпокампа з частотою 12 с<sup>-1</sup> встановлено, що 41,3 % нейронів відповідають короткотривалою реакцією першого типу. При стимуляції гіпокампа з частотою 30 і 100 с<sup>-1</sup> таких нейронів реєструвалося 26,7 і 24,3 % відповідно. Подразнення піриформної кори стимулами з частотою 12 с<sup>-1</sup> викликає у 33,7 % нейронів реакції першого типу, з частотою 30 с<sup>-1</sup> – у 36,4 % нейронів. На стимуляцію піриформної кори імпульсами з частотою 100 с<sup>-1</sup> короткотривалими відповідями реагували 23,6 % нейронів гіпоталамуса. Подразнення поясної (цингулярної) звивини стимулами із частотою 12 с<sup>-1</sup> дозволило виявити такі

реакції у 37 %, а з частотою 30 с<sup>-1</sup> у 35 % гіпоталамічних нейронів. За умов подразнення поясної кори з частотою 100 с<sup>-1</sup> було зареєстровано 27,8 % реакцій першого типу. Серійна електрична стимуляція прореальної звивини з частотою 12 с<sup>-1</sup> викликає у 28,2 % нейронів реакції без післядії, з частотою 30 і 100 с<sup>-1</sup> 29,3 і 25,4 % відповідно.

Було зареєстровано багато нейронів, які за умов електричної серійної стимуляції гіпокампа достовірно змінювали значення середньої частоти ІА в період післядії. Так, при стимуляції гіпокампа з частотою 12 і 30 с<sup>-1</sup> реакції другого типу становили 18,7 і 43 % нейронів гіпоталамуса, піриформної кори – 28,5 і 28,8 %, поясної звивини – 19,2 і 25,6 %, а прореальної звивини – 26,8 і 24,6 % відповідно. При стимуляції з частотою 100 с<sup>-1</sup> гіпокампа 44,3 % нейронів переднього гіпоталамуса в період післядії достовірно змінюють середню частоту імпульсації. Також піриформної кори – 38 %, поясної звивини – 37 %, прореальної звивини – 41,3 % нейронів.

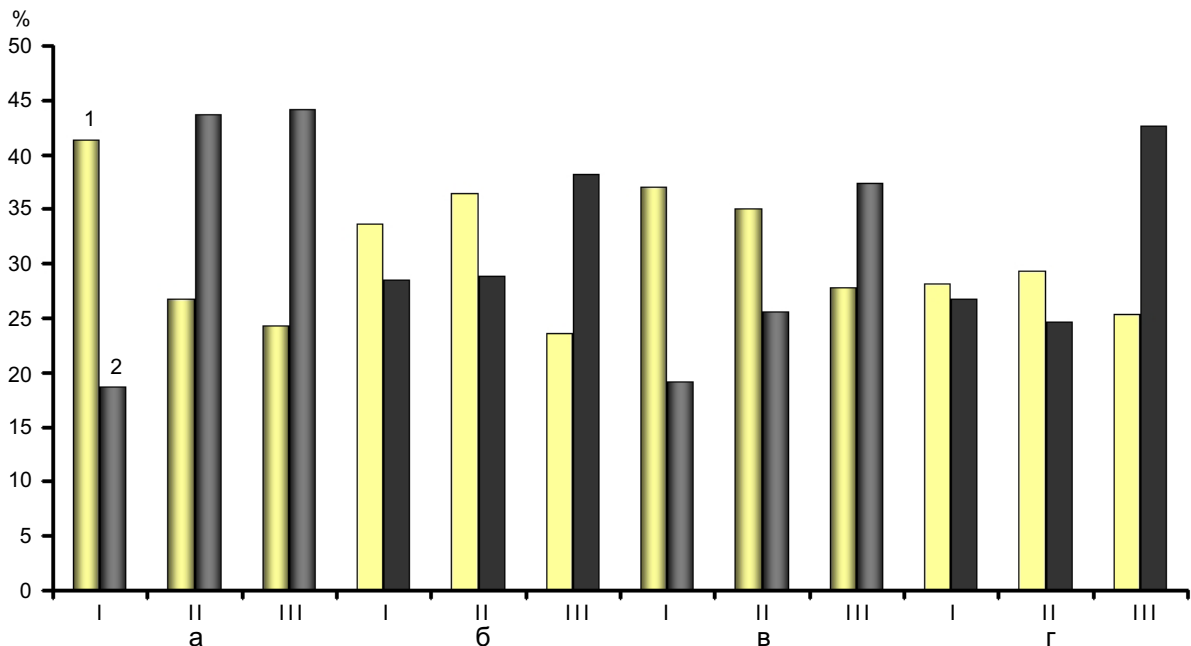


Рис. 3. Реактивність нейронів переднього гіпоталамуса на електричну стимуляцію різних зон неоархіпалеокортекса з частотою 12 с<sup>-1</sup> (I), 30 с<sup>-1</sup> (II) і 100 (III). Показана відносна кількість нейронів (%), які змінюють середню частоту імпульсної активності під час стимуляції кори головного мозку (1) і в період післядії (2). а – гіпокамп, б – піриформна кора, в – поясна звивина, г – прореальна звивина

**ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ**

Проведене дослідження показує, що електрична стимуляція кортикальних ділянок серіями імпульсів з різною частотою викликає у нейронах гіпоталамуса різноманітні відповіді у вигляді достовірного коливання значення середньої частоти їх імпульсації. Деякі нейрони залучалися до стимуляції (подібно реакції рекрутування) і змінювали середню частоту ІА під час стимуляції, але відразу після припинення подразнення відновлювали фонову частоту імпульсації. Це може свідчити про наявність «жорстко» детермінованих кортико-гіпоталамічних міжнейронних зв'язків, які створені невеликою кількістю полісинаптичних ланцюгів і активуються під час надходження низхідної імпульсації [6, 8, 9]. Деякі нейрони зберігали зміну ІА протягом кількох секунд після закінчення подразнення. Ймовірно, такі реакції спостерігаються в результаті більш тривалої циркуляції збудження в сформованих нейронних ланцюгах. Можна припустити, що в них відбувається збільшення ефективності синаптичної передачі, ініційоване частотною стимуляцією, яке викликається високочастотною короткотривалою тетанізацією пресинаптичних волокон [4]. Слід зазначити, що такі аспекти аналізу модуляції патерна ІА гіпоталамічних нейронів раніше залишалися без уваги.

За нашими результатами, співвідношення короткострокових нейрональних відповідей під час стимуляції різних ділянок кори головного мозку, а також реакцій протягом періоду післядії мають декілька суперечливий характер. Так, при стимуляції гіпокампа з частотою  $12\text{ с}^{-1}$  реєструвалася максимальна кількість короткострокових реакцій. А стимуляція з частотою  $30$  і  $100\text{ с}^{-1}$  у цій ділянці мозку виявила дуже схожу реактивність нейронів гіпоталамічних структур. Кількість нейронних відповідей у даному випадку носить практично протилежний характер, ніж при стимуляції з

частотою  $\alpha$ -ритму. Вірогідно, подразнення гіпокампа з частотами  $12$  і  $30\text{ с}^{-1}$  викликає збудження різних аферентних гіпоталамічних входів, або включаються різні механізми кортико-гіпоталамічної взаємодії. Відомо, що імпульсація з частотами в діапазонах  $\tau$ - і  $\beta$ -ритмів генерується нейронам гіпокампа при різних функціональних станах даної структури. Слід підкреслити, що стимуляція гіпокампа з частотою  $30\text{ с}^{-1}$  викликає найвищу реактивність гіпоталамічних нейронів. Більше ніж  $70\%$  зареєстрованих нейронів відповідають зміною середньої частоти ІА саме на цей вид кортикальної стимуляції. Стимуляція піриформної кори з частотами  $12$  і  $30\text{ с}^{-1}$ , навпаки, викликає схожу картину відповідей гіпоталамічних нейронів. За цих умов співвідношення короткострокових відповідей під час стимуляції та в період післядії мало відрізняється, проте високочастотна стимуляція цієї кортикальної ділянки викликає більше реакцій другого типу. Таку саму картину ми спостерігали при стимуляції прореальної звивини. При цьому відмінність у кількості різних типів реакцій під час стимуляції даної ділянки з частотами  $12$ ,  $30\text{ с}^{-1}$  була ще менш значущою. Інший характер мали відповіді гіпоталамічних нейронів на стимуляцію поясної звивини. Із збільшенням частоти стимуляції проградієнтно зменшувалася кількість нейронів, які відповідають недовготривалими реакціями на стимуляцію кори. Також збільшувалася кількість гіпоталамічних нейронів, які змінювали середню частоту ІА в період післядії.

Підвищенням частоти стимуляції кори та гіпокампа неодмінно було б забезпечити збільшення ефективності викликаних кортикофугальних впливів на нейрони гіпоталамуса. Однак інтенсивність гіпоталамічних нейронних реакцій у відповідь на стимуляцію структур лімбічної кори із частотою  $100\text{ с}^{-1}$  відрізнялася від ефектів низькочастотної стимуляції не так різко, як

очікувалося. Цілком очевидно, що застосування високочастотної стимуляції кортикальних зон викликає збільшення числа реакцій другого типу, що тривають у період післядії.

Середня частота імпульсації є одним із важливих та інформативних критеріїв характеристики ІА нейрона [2]. Відомо, що в нейронних ланцюгах спостерігається висока частотна залежність (позитивна і негативна) генерації імпульсів та інтенсивності постсинаптичних ефектів. Враховуючи той факт, що нейрони досліджуваних ділянок гіпоталамуса причетні до регуляції констант гомеостазу, ймовірно, в їх еферентних структурах-мішенях існують механізми, які чутливі до змін частоти ІА нейрона. Коливання середньої частоти ІА нейронів, яке ми реєстрували, відображають особливості організації кортикальних входів до нейронів досліджуваних ділянок гіпоталамуса, що відмічалось цілою низкою дослідників [7, 8, 10, 13, 14].

Ми припускаємо, що оцінювати властивості гіпоталамічних нейронів можливо за здатністю зберігати параметри їх ІА та нівелювати потужні синаптичні надходження, демонструвати лабільність патерна імпульсації та його залежність від особливостей аферентації.

**L.V. Natrus**

**THE PARTICULARS OF THE ROSTRAL HYPOTHALAMIC NEURON REACTIONS IN REACTION TO THE ELECTRICAL STIMULATION TO THE NEOARCHIPALEO-CORTEX OF THE CAT BRAIN**

In acute experiments we have used the glass microelectrodes and registered outside cell's impulse activity of the cats' hypothalamic neurons. We used the serial stimulation during 5 s (with frequency impulse 12, 30, 100 s<sup>-1</sup>) to the hippocampus (zone CA3), pyriform, cingulated and preoral cortexes. We have compared the background impulse activity (in the bine) of the neurons with the impulse activity after the stimulation. Two types of the neuron' reactions in response to the cortical stimulations were defined, they consisted in the mean frequency changes to the impulse activity during stimulation and

during period in 15-30 sec after completion the stimulation. It is shown that the most of hypothalamic neurons explored (and neurons of the preoptic region) have changed their impulse activity during period, which approached through 15-30 sec after completion the high frequency (100 s<sup>-1</sup>) stimulation to the all cortical zones and the stimulation of hippocamp with frequency 30 s<sup>-1</sup>. We supposed that the cortical stimulations have a significant effect on the impulse activity pattern of the rostral hypothalamic neurons

*Physiology Department, Donetsk State Medical University named after M.Gorky, Donetsk, Ukraine*

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Казаков В.Н. Сопряжение констант, как форма управления гомеостатическими функциями преоптической областью // *Нейронауки: теоретич. и клинич. аспекты.* – 2005. – 1, № 1. – С. 58–69.
2. Казаков В.Н., Натрус Л.В. Фоновая активность нейронов переднего гипоталамуса и ее модуляция, как функциональная основа гипоталамических механизмов регуляции // *Нейрофизиология.* – 2005. – 37, № 4. – С. 33–39.
3. Кузнецов И.Э., Натрус Л.В., Гайдарова Е.В. Адекватность применения серийной стимуляции для изучения кортико-гипоталамических связей // *Эксперим. та кліні. фізіологія і біохімія.* – 1999. – 7, № 3. – С. 43–48.
4. Сухов А.Г., Бездудная Т.Г., Медведев Д.С. Особенности посттетанической модификации синаптической передачи в таламо-кортикальном входе соматической коры крыс // *Журн. высш. нерв. деятельности.* – 2003. – 53, № 5. – С. 622–632.
5. Behbehani M.M., Da Costa Gomez T.M. Properties of a projection pathway from the medial preoptic nucleus to the midbrain periaqueductal gray of the rat and its role in the regulation of cardiovascular function // *Brain Res.* – 1996. – 740, № 1–2. – P. 141–150.
6. Cavada C., Company T., Tejedor J. et al. The anatomical connections of the macaque monkey orbitofrontal cortex // *Cerebral Cortex.* – 2000. – 10, № 3. – P. 220–242.
7. Cavdar S., Onat F., Aker R. et al. The afferent connections of the posterior hypothalamic nucleus in the rat using horseradish peroxidase // *J. Anat.* – 2001. – 198 (Pt 4). – P. 463–472.
8. Floyd N.S., Price J.L., Ferry A.T. et al. Orbitomedial prefrontal cortical projections to hypothalamus in the rat // *J. Comp Neurol.* – 2001. – 432, № 3. – P. 307–328.
9. Gabbott P.L., Warner T.A., Jays P.R. et al. Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers // *J. Comp Neurol.* – 2005. – 492, № 2. – P. 145–177.
10. Kelley A.E., Baldo B.A., Pratt W.E. et al. Corticostriatal-hypothalamic circuitry and food motivation: integration of energy, action and reward // *Physiol. Behav.* – 2005. – 86, № 5. – P. 773–795.

11. Krout K.E., Kawano J., Mettenleiter T.C. et al. CNS inputs to the suprachiasmatic nucleus of the rat // *Neuroscience*. – 2002. – **110**, № 1. – P. 73–92.
12. Pajolla G.P., Crippa G.E., Correa S.A. et al. The lateral hypothalamus is involved in the pathway mediating the hypotensive response to cingulate cortex-cholinergic stimulation // *Cell Mol. Neurobiol.* – 2001. – **21**, № 4. – P. 341–356.
13. Petrovich G.D., Holland P.C., Gallagher M. Amygdalar and prefrontal pathways to the lateral hypothalamus are activated by a learned cue that stimulates eating // *J. Neurosci.* – 2005. – **25**, № 36. – P. 8295–8302.
14. Price J.L. Prefrontal cortical networks related to visceral function and mood // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1999. – **877**. – P. 383–396.
15. Saper C.B. Hypothalamic connections with the cerebral cortex // *Prog. Brain Res.* – 2000. – **126**. – P. 39–48.
16. Seymour B. Carry on eating: neural pathways mediating conditioned potentiation of feeding // *J. Neurosci.* – 2006. – **26**, № 4. – P. 1061–1062.
17. Jasper H.H., Ajmone-Marsan C. A stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat. – Ottawa, 1954. – 324 p.

*Держ. мед. ун-т ім. М. Горького, Донецьк*

*Матеріал надійшов до редакції 19.10.2005*