

На правах рукописи

Григорчук Ольга Святославовна

РОЛЬ НЕЙРОНОВ ДОРСАЛЬНОГО ГИППОКАМПА В
МЕХАНИЗМАХ ФОРМИРОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ЭМОЦИОНАЛЬНО-
МОТИВАЦИОННЫХ СОСТОЯНИЙ У КРЫС: ЭФФЕКТЫ ПЕПТИДА
ДЕЛЬТА-СНА.

03.03.01 –физиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Москва, 2013

Работа выполнена в лаборатории системных механизмов эмоционального стресса Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт имени П.К. Анохина» Российской академии медицинских наук

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук

Умрюхин Павел Евгеньевич

Официальные оппоненты:

Анрианов Владимир Васильевич - доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии Первого московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова

Лосева Елена Владимировна - доктор биологических наук; главный научный сотрудник лаборатории функциональной нейробиологии Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

Ведущая организация: Биологический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Защита диссертации состоится «18» декабря 2013 г. в 13.00 ч. На заседание Диссертационного совета Д.001.008.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина» РАМН по адресу: 125009, г. Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт имени П.К. Анохина» РАМН

Автореферан разослан « » ноября 2013 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета

Кандидат биологических наук



О.В. Кубряк

Актуальность темы

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные актуальной проблеме физиологии эмоций, мотиваций и эмоциональных стрессов, роль отдельных лимбических структур в формировании эмоционально-мотивационного возбуждения требует уточнения. Одним из важных центров среди структур головного мозга, принимающих участие в системных механизмах поведения и интегративных функциях эмоций и мотиваций, является гиппокамп [Duric V. et al., 2012]. Ежегодное количество работ, посвященных изучению участия гиппокампа в механизмах эмоционально-мотивационных состояний, неуклонно увеличивается. В то время как отрицательные эмоции способны к суммации и способствуют генерализации эмоционального возбуждения, приводя к гормональным, вегетативным изменениям и психосоматическим заболеваниям [Судаков К.В., Умрюхин П.Е., 2009], позитивные эмоции обладают противоположным эффектом, нормализуя нарушенные функции организма. В процессе экспериментального изучения эмоциональных состояний выработаны модели «глубокой» электрической стимуляции мозговых центров, отвечающих за приятные и негативные переживания организма как у животных [Olds J., 1958], так и у человека [Hosseini H. et al., 2012]. В рамках этой модели при стимуляции разных гипоталамических центров достоверно воспроизводятся поведенческие, гуморальные и нейрональные механизмы, которые способствуют формированию эмоционально-мотивационных состояний разного знака. Принимая во внимание голографический принцип работы мозга [Судаков К.В., 2010] и обширные связи гипоталамуса с другими отделами мозга, актуальной задачей является изучение механизмов вовлечения нейронов других структур, в том числе гиппокампа, в интеграцию эмоционально-мотивационного возбуждения.

Согласно концепции о связи индивидуальных особенностей взаимодействия эмоционально-мотивациогенных мозговых структур (фронтальная кора, гиппокамп, гипоталамус, миндалина) с типологическими

различиями высшей нервной деятельности, П.В. Симонов рассматривал гиппокамп как структуру, детерминирующую поведение сангвиников и меланхоликов. Предположительно, различия нейронной активности гиппокампа при действии положительных или отрицательных эмоциональных стимулов могут обеспечивать формирование характерологических особенностей у животных, лежащих в основе различной поведенческой активности в тесте «открытое поле» и индивидуальных вариаций стрессреактивности.

Участие гиппокампа в формировании мотивационных и эмоциональных реакций, по данным литературы, сводится, в основном, к реализации тревожности и страха [Maratos E.J., et al., 2001; Gur R.C. et al., 2002; Vyas A., et al., 2002]. Поэтому важной целью является выяснение различий в механизмах вовлечения нейронов дорсального гиппокампа в эмоционально-мотивационное возбуждение при формировании различных эмоционально-мотивационных состояний.

С этой точки зрения перспективен поиск способов для управления механизмами, селективно включающими или выключающими процессы эмоционального возбуждения в центральной нервной системе. Поэтому одной из актуальных практических задач является поиск средств, лимитирующих распространение эмоционального возбуждения отрицательного знака. Этой возможностью обладают некоторые регуляторные пептидные соединения, в частности, пептид дельта сна [Л.Ф. Панченко и др., 2000]. Следовательно, необходимо оценить, какое влияние на электрическую активность нейронов гиппокампа в условиях «искусственных» эмоций и мотиваций, вызванных стимуляцией гипоталамуса, оказывает данный пептид.

Согласно современным представлениям, типологические характеристики животных во многом определяются индивидуальными особенностями специализированных структур головного мозга, связанных с информационными (гиппокамп и префронтальная кора) и мотивационными

процессами (миндалины и гипоталамус). Поэтому выявление особенностей активности нейронов гиппокампа при эмоционально-мотивационных состояниях у животных с различным типом поведения в тесте «открытое поле» позволит выявить индивидуальный подход к поиску таких веществ.

Цель исследования: выяснить изменения характеристик импульсной активности нейронов поля CA1 дорсального гиппокампа при формировании различных эмоционально-мотивационных состояний, вызванных стимуляцией разных зон гипоталамуса, в условиях микроионофоретического подведения пептида дельта-сна у крыс с различной поведенческой активностью в тесте «открытое поле».

Поставлены следующие **задачи:**

1. исследование распределения межимпульсных интервалов разрядной деятельности нейронов поля CA1 дорсального гиппокампа у животных с различными параметрами поведения;

2. исследование распределения межимпульсных интервалов разрядной деятельности нейронов поля CA1 дорсального гиппокампа у животных с различными параметрами поведения при стимуляции латерального или вентромедиального гипоталамуса

3. Исследование влияния предварительного микроионофоретического подведения пептида, вызывающего дельта-сон, (ПВДС) на характеристики распределения межимпульсных интервалов нейронов поля CA1 дорсального гиппокампа у животных с различными параметрами поведения при стимуляции латерального или вентромедиального гипоталамуса.

4. Исследование импульсной активности нейронов поля CA1 дорсального гиппокампа у крыс с различными характеристиками поведения при стимуляции латерального или вентромедиального гипоталамуса.

5. Исследование влияние пептида, вызывающего дельта-сон, на импульсную активность нейронов поля СА1 дорсального гиппокампа у крыс с различными характеристиками поведения при стимуляции латерального или вентромедиального гипоталамуса.

Научная новизна.

В данной работе впервые производилось сравнение влияния электрической стимуляции латерального и вентромедиального гипоталамуса на импульсную активность нейронов поля СА1 дорсального гиппокампа у животных, обладающих различной поведенческой активностью в тесте «открытое поле».

В работе впервые показано, что нейроны поля СА1 дорсального гиппокампа поведенчески активных в тесте «открытое поле» животных в меньшей степени изменяют параметры импульсной активности при стимуляции как вентромедиальной, так и латеральной области гипоталамуса по сравнению с пассивными особями.

Впервые выявлена специфика влияния ПВДС на изменение импульсной активности нейронов поля СА1 дорсального гиппокампа животных с различной поведенческой активностью в условиях стимуляции ВМГ и ЛГ. Так, у поведенчески активных в тесте «открытое поле» крыс, предварительное подведение ПВДС увеличило «чувствительность» нейронов поля СА1 дорсального гиппокампа к раздражению ВМГ, а у предрасположенных к стрессу животных – снизило. Подведение ПВДС уменьшило «чувствительность» нейронов поля СА1 дорсального гиппокампа к раздражению ЛГ как у поведенчески активных в тесте «открытое поле», так и поведенчески пассивных животных.

Выявлено модулирующее воздействие предварительного микроионофоретического подведения ПВДС на пространственно-временные характеристики паттернов импульсной активности. Выявлено, что ПВДС снижает количество нервных клеток поля СА1 дорсального гиппокампа,

характеризующихся перестройкой паттернов импульсной активности в условиях электрической стимуляции эмоционально-мотивационных зон гипоталамуса.

Теоретическая значимость работы.

Выявлены особенности активности нейронов поля CA1 дорсального гиппокампа у крыс с различной поведенческой активностью в условиях стимуляции латерального гипоталамуса и вентромедиального гипоталамуса. Нейроны гиппокампа поведенчески активных в тесте «открытое поле» животных изменяли характеристики импульсной активности в ответ на стимуляцию как ЛГ, так и ВМГ в достоверно меньшей степени, чем нейроны животных, обладающих пассивным поведением.

Пептид дельта сна изменяет дискриминационные способности нейронов дорсального гиппокампа. В работе установлен разнонаправленный характер модулирующего эффекта стресспротективного олигопептида ПВДС на нейроны дорсального гиппокампа крыс при стимуляции вентромедиального гипоталамуса, заключающийся в достоверном снижении частоты импульсной активности нейронов у животных, обладающих пассивным поведением в тесте «открытое поле», и усилении частоты импульсной активности нейронов поведенчески активных животных. Однако при стимуляции латерального гипоталамуса характер модулирующего действия ПВДС оказался однонаправленным. Предварительное подведение ПВДС вызывает тенденцию снижения частоты импульсной активности нейронов дорсального гиппокампа в ответ на стимуляцию данной зоны гипоталамуса.

Предварительное подведение ПВДС оказывает модулирующее действие на пространственно-временные характеристики паттернов активности нейронов поля CA1 дорсального гиппокампа в условиях стимуляции эмоционально-мотивационных структур (латерального и вентромедиального гипоталамуса). После подведения ПВДС характеристики паттернов менялись, в том числе, у нейронов дорсального гиппокампа, ранее

арективных при стимуляции зон гипоталамуса. Данный эффект может быть связан с тем, что ПВДС способен избирательно изменять чувствительность нейронов к нейромедиаторам и гормонам. Таким образом формируется новая специфическая нейрохимическая интеграция, которая определяется интегративной деятельностью нейронов поля CA1 гиппокампа.

Выявление особенностей активности нейронов гиппокампа при эмоционально-мотивационных состояниях у животных с различным типом поведения в тесте «открытое поле» определяет критерии для поиска веществ, лимитирующих распространение эмоционально-мотивационного возбуждения отрицательного знака в будущем.

Апробация работы. Результаты исследований представлены в виде докладов на VIII Международном Конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, Украина, 2012), II Международной междисциплинарной конференции "Современные проблемы системной регуляции физиологических функций" (Бодрум, Турция, 2012), III Научной Конференции молодых ученых и студентов «Экспериментальная и прикладная физиология. Инновационные подходы в физиологии и медицине» (Москва, 2012), III Международная междисциплинарная конференция "Современные проблемы системной регуляции физиологических функций" (Лимассол, Кипр, 2013).

Публикации. По теме опубликовано 10 научных работ (в том числе: статьи в журналах ВАК – 4, статьи в сборниках – 1, тезисы докладов конференций – 5), в которых изложены основные результаты выполненного исследования.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 119 страницах машинописного текста, содержит 7 таблиц, 23 рисунка и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания методов исследования (глава 2), изложения результатов исследования (глава 3), обсуждения полученных результатов (глава 4), выводов, библиографического указателя (207 источников, из них 93 на русском языке, 114 на английском языке).

Положения, выносимые на защиту:

1. нейроны поля CA1 дорсального гиппокампа у животных с разной поведенческой активностью обладают различной чувствительностью к электрической стимуляции латерального или вентромедиального гипоталамуса;
2. пространственно-временные характеристики паттернов импульсной активности нейронов дорсального гиппокампа у крыс изменяется в большей степени при электрической стимуляции латерального гипоталамуса, чем при раздражении вентромедиального гипоталамуса;
3. пептид, вызывающий дельта-сон, оказывает модулирующее воздействие на чувствительность нейронов поля CA1 дорсального гиппокампа к раздражению структур гипоталамуса у крыс. Характер влияния ПВДС на чувствительность нейронов указанной области головного мозга к электрической стимуляции латерального и вентромедиального гипоталамуса различается у поведенчески активных и пассивных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Тестирование крыс в открытом поле.

Предварительно 60 крыс-самцов линии Вистар тестировали в открытом поле в течение 3 мин для определения исходных поведенческих характеристик. На основе показателей поведения крыс в тесте «открытое поле» был рассчитан индекс активности (ИА) [8].

$$ИА = \frac{\text{Периферические амбуляции} + \text{центральные амбуляции}}{\text{ЛП первого движения} + \text{ЛП выхода в центр}}, \quad \text{где ЛП} -$$

латентный период.

Регистрация импульсной активности отдельных нейронов дорсального гиппокампа при стимуляции структур гипоталамуса и микроионофоретическое подведение веществ.

Для стимуляции эмоционально-мотивационных структур 10 животным (из них 5 были поведенчески активными и 5 – поведенчески пассивными) под хлоральгидратной анестезией (450 мг/кг внутривенно) вживляли металлические электроды в область ЛГ по координатам (AP: -1,2; LP: 1,9; Ventr: 8,6; угол наклона 0°) (Рис.5), другим 10 животным (из них 5 активных и 5 пассивных особей) – в область ВМГ по координатам (AP: -3,1; LP: 2,4; Ventr: 9,9; угол наклона 10°) (Рис.6) [Paxinos G., Watson C., 2006]. Через 1 сут. после вживления проводили контроль локализации электродов путем раздражения структуры в течение 1 секунды серией импульсов тока силой 50-200 мА (порог раздражения подбирали индивидуально), частотой 100 Гц и продолжительностью каждого прямоугольного стимула 1 мс. Критерием попадания в ЛГ у животных служило появление пищевого или питьевого поведения, в ВМГ – реакция агрессии и избегания. Затем животных наркотизировали уретаном (2 г/кг внутривенно) и скальпировали. В головной мозг крыс через трепанационное отверстие вводили стеклянные трехканальные микроэлектроды (стереотаксический аппарат Stoelting - USA) в соответствии со стереотаксическими координатами: AP: -4 мм, LP: 2 мм, Ventr: 2-4 мм. Угол наклона – 10 ° (Рис.7) [Paxinos G., Watson C., 2006]. Диаметр кончика трехканального микроэлектрода составлял 4-5 м-9, импеданс от 10 до 20 Мегом.

Регистрирующий канал микроэлектрода заполняли 3М раствором NaCl, второй – раствором ПВДС (100 мкг/мл, Serva). Третий канал для микроионофореза заполняли раствором NaCl для инъекций (контроль). Значение тока при микроионофорезе ПВДС или раствора NaCl для инъекций составляло +20 нА, удерживающий ток –5нА. Индифферентный электрод вживляли в носовые пазухи животных. Локализацию кончиков микроэлектродов контролировали на срезах мозга крыс после их декапитации [Paxinos G., Watson C., 2006].

Регистрацию нейрональной активности осуществляли экстраклеточно. Каждый эксперимент начинали с регистрации спонтанной (фоновой)

активности нейронов дорсального гиппокампа (поле CA1) в течение 30 секунд. Затем записывали импульсно-разрядную деятельность в течение 1,5 минуты после раздражения ВМГ или ЛГ, после чего следовал 2 минутный интервал, в течение которого активность нейрона восстанавливалась. Вслед за этим проводили микроионофоретическое подведение ПВДС в течение 30 секунд. После этого 30 секунд регистрировали импульсную активность нейрона до повторной стимуляции и 1,5 минуты после стимуляции соответствующей области гипоталамуса.

Таким образом, в период регистрации импульсной активности одной нервной клетки стимуляция структуры производилась дважды – после измерения фоновой импульсной активности и после предварительного введения ПВДС. В течение двухминутного перерыва происходило полное восстановление разрядной активности нейронов.

Среднюю частоту разрядной деятельности нейронов подсчитывали, усредняя количество спайков за совокупность эпох анализа, продолжительностью 2,8 секунды. Таким образом, проводя регистрацию нейрональной активности до стимуляции гипоталамуса в течение 30 секунд, среднюю частоту импульсной активности рассчитывали по 11 эпохам анализа.

При статистическом анализе данных использовали пакет программ STATISTICA 6. Для оценки изменения активности нейронов использовали t критерий Стьюдента. Достоверным усилением или уменьшением частоты импульсной активности считали отличие средней частоты разрядной деятельности с достоверностью $p < 0.05$. Для оценки полученных результатов анализа использовали критерий Манна-Уитни, многофакторный дисперсионный анализ (метод ANOVA), критерий знаков [Оуэн Д.Б., 1966].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты тестирования крыс в открытом поле

Было протестировано 60 крыс. В зависимости от значения индекса активности (ИА) были выделены 3 группы животных: поведенчески

активные ($n=10$) (высокий ИА: 2-6), пассивные ($n=10$) (низкий ИА: 0,2-0,6). Животных, индекс активности которых находился в промежуточном диапазоне, отнесли к амбивалентным особям ($n=40$). В дальнейших экспериментах мы использовали только поведенчески активные и пассивные животные, то есть крайние группы крыс.

Регистрация паттернов импульсной активности нейронов дорсального гиппокампа.

В исследовании были зарегистрированы 107 нейронов дорсального гиппокампа. При этом у активных животных было зарегистрировано 56 нейронов, а у пассивных животных был зарегистрирован 51 нейрон. Среднее число нейронов, которые удавалось зарегистрировать у одного животного в поле CA1 дорсального гиппокампа, составляло 5.0 ± 3 нервных клеток. Данное поле гиппокампа у крысы имеет глубину около 2000 микрон. Нейроны регистрировались на протяжении всей глубины структуры, хотя их распределение характеризовалось значительной неравномерностью. Наибольшее количество нейронов обнаружено в наиболее глубоком слое дорсального гиппокампа (1500-2000 микрон). Это можно объяснить тем, что он соответствует наиболее плотному распределению пирамидных клеток данной структуры.

При анализе фоновой импульсной активности нейроны по характеру структуры импульсного потока были разбиты на два типа:

- 1) Непрерывно-аритмический (63% от общего числа зарегистрированных клеток);
- 2) Пачечный или пачечно-групповой (37%), при котором разряды следовали пачками, разделенными межпачечными интервалами, обычно превышающими длину пачки.

При анализе распределения межимпульсных интервалов нейронов дорсального гиппокампа у поведенчески активных животных было зарегистрировано 55% случаев мономодального распределения межимпульсных интервалов. В 38% случаев наблюдалось бимодальное

распределение межимпульсных интервалов, и в 7% случаев – мультимодальное.

У поведенчески пассивных животных наблюдалось достоверное преобладание числа нейронов с мономодальным типом распределения межимпульсных интервалов (90%). Бимодальным типом распределения обладали 6% нервных клеток и 4% составляло мультимодальное распределение межимпульсных интервалов (Рис.1).

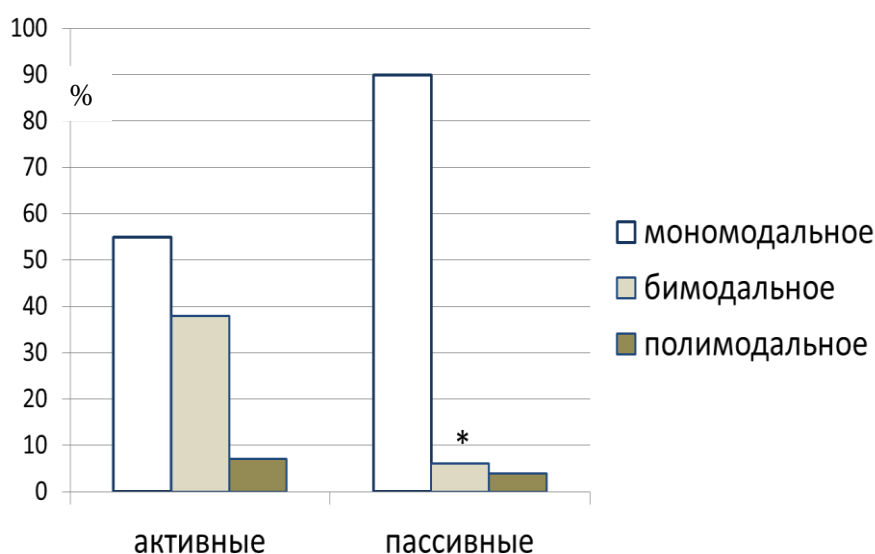


Рис.1 Процентное соотношение нейронов с разными типами распределения межимпульсных интервалов в поле CA1 дорсального гиппокампа у активных и пассивных крыс, * - $p < 0.05$ (по методу ANOVA).

Изменение распределения межимпульсных интервалов нейронов дорсального гиппокампа крыс при стимуляции ЛГ и ВМГ.

При исследовании изменения распределений межимпульсных интервалов в ответ на стимуляцию мотивациогенных структур произошло изменение паттернов нейронов дорсального гиппокампа в 23% случаев, причем в 20% случаев, изменения произошли после стимуляции ЛГ, и лишь в 3% случаев при стимуляции ВМГ (Рис. 10). Изменение паттернов импульсной активности при стимуляции ЛГ произошло как у поведенчески активных (10%), так и пассивных (9%) животных. При стимуляции ВМГ изменения наблюдались только у поведенчески активных животных (3%) (Рис. 2).

В 77 % случаев не наблюдалось достоверной перестройки паттернов в импульсном потоке.

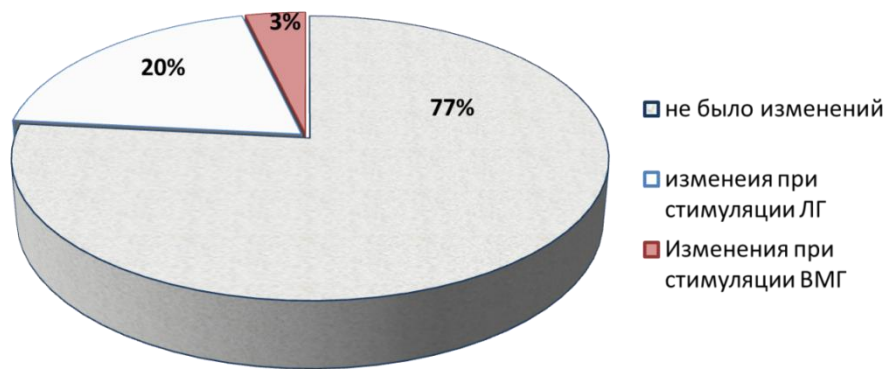


Рис.2 Процент числа нейронов дорсального гиппокампа крыс, характеризующийся изменением распределения межимпульсных интервалов в ответ на стимуляцию ЛГ и VMГ

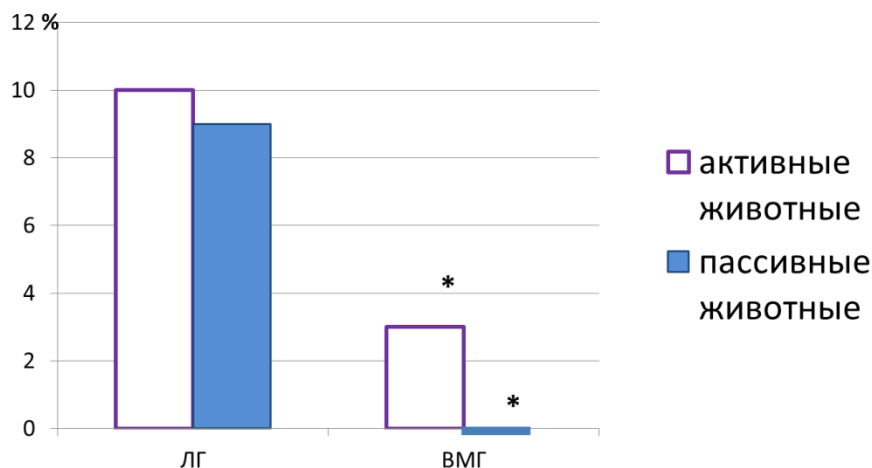


Рис.3 Процент числа нейронов дорсального гиппокампа поведенчески активных и пассивных крыс, характеризующийся изменением распределения межимпульсных интервалов в ответ на стимуляцию ЛГ и VMГ, * - $p < 0.05$ по сравнению со стимуляцией ЛГ (по методу ANOVA).

При стимуляции структур гипоталамуса обнаруживались разнообразные варианты изменения паттернов нейронной активности. Переход от мономодального к бимодальному типу распределения интервалов наблюдался лишь у 5% зарегистрированных нейронов (в 1% случае при стимуляции VMГ и в 4% случаев при стимуляции ЛГ). У 6% нейронов, наоборот, произошло изменение распределения активности от полимодального или бимодального к мономодальному (у 4% нервных

клеток при стимуляции ЛГ и у 2 % нейронов при стимуляции ВМГ). У 6% нейронов в ответ на стимуляцию ЛГ возникали новые фазы паттерна (за счет появления коротких, средних или длинных интервалов). В 2 % случаев наблюдалось угнетение активности (уменьшение площади ведущего пика при стимуляции ЛГ и ВМГ). Таким образом, изменения пространственно-временной организации паттернов нейронной активности, вызываемые стимуляцией структур гипоталамуса, вариабельны.

Часть нейронов (9%) достоверно не изменяли паттерны нейронной активности при стимуляции структур гипоталамуса, однако после предварительного подведения ПВДС эти же нейроны ответили на повторную стимуляцию гипоталамуса перестройкой пространственно-временных характеристик паттерна.

Изменение распределения межимпульсных интервалов нейронов дорсального гиппокампа при стимуляции ЛГ и ВМГ после предварительного подведения ПВДС.

При стимуляции структур гипоталамуса после предварительного подведения ПВДС у 14% нейронов произошло изменение паттернов активности (как у прежде отвечающих на стимуляцию ЛГ или ВМГ, так и оставшихся ареактивными в ответ на стимуляцию мотивационных структур). У 2% в ответ на стимуляцию ЛГ и ВМГ соответственно произошло угнетение активности (переход от бимодального распределения межимпульсных интервалов к мономодальному или от мультимодального к бимодальному). У 11% нейронов (в 10% случаях при стимуляции ЛГ и в 1% при стимуляции ВМГ) создавались новые фазы паттерна, т.е. происходил переход от мономодального распределения интервалов к би- и мультимодальному. Восемь процентов нейронов, отвечающих изменением паттернов нейронной активности на стимуляцию мотивационных структур после предварительного подведения ПВДС стали ареактивными в ответ на данную стимуляцию (не происходило достоверного изменения активности).

Таким образом, предварительное подведение ПВДС оказывает модулирующее влияние на изменение организации пространственно-временных характеристик паттернов нейронной активности в дорсальном гиппокампе. Мы выделили 3 варианта модулирующего влияния ПВДС: 1-й вариант характеризуется изменением паттернов нейронной активности при стимуляции мотивационных структур у нейронов, ранее ареактивных при данной стимуляции (9%); 2-ой вариант характеризуется угнетением изменений паттернов нейронов ранее «отвечающих» на стимуляцию мотивационных структур (8%); 3-ий вариант – изменение пространственно-временных характеристик паттерна у нейронов, «отвечающих» на стимуляцию мотивационных зон как до, так и после подведения ПВДС (4%).

Микроионофоретическое подведение ПВДС к нейронам поля СА1 дорсального гиппокампа у крыс снижало число нервных клеток данной области головного мозга, демонстрирующих изменения паттернов импульсной активности в ответ на электростимуляцию латерального и вентромедиального гипоталамуса у животных (Рис.4).

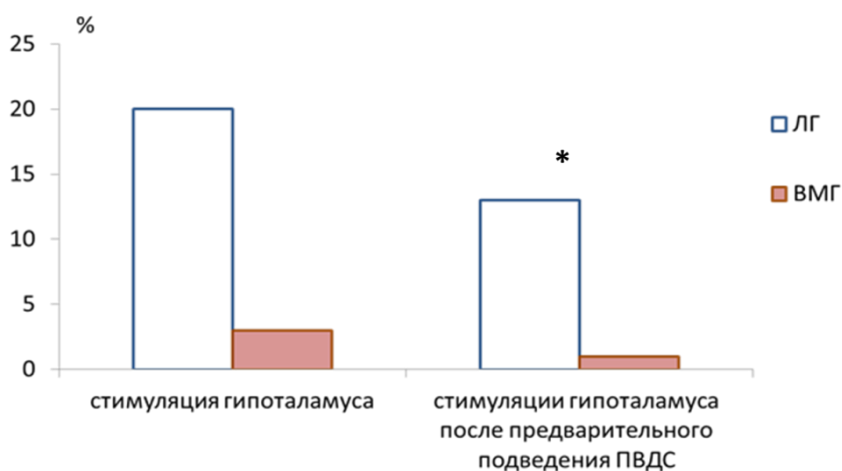


Рис. 4 Процент числа нейронов дорсального гиппокампа, изменивших пространственно-временные характеристики паттернов при стимуляции структур гипоталамуса до и после подведения ПВДС, * $p < 0.05$ по сравнению эффектом стимуляции структур гипоталамуса до микроионофоретического подведения ПВДС (по методу ANOVA).

Варианты изменений импульсной активности нейронов дорсального гиппокампа при стимуляции ЛГ и ВМГ

При оценке изменения импульсной активности нейронов дорсального гиппокампа были обнаружены 3 типа ответов нервных клеток в ответ на стимуляцию мотивациогенных структур:

1. увеличение частоты импульсной активности. Данный тип реакции характеризовался достоверным увеличением количества спайков по сравнению с «фоном» (т.е. количеством спайков в состоянии покоя);
2. снижение импульсной активности. Данный тип реакции характеризовался достоверным уменьшением количества спайков по сравнению с «фоном»;
3. отсутствие эффекта, т.е. не наблюдалось достоверного изменения частоты спайков.

Изменение импульсной активности нейронов дорсального гиппокампа крыс при стимуляции ЛГ и ВМГ.

Стимуляция латерального гипоталамуса привела к изменению импульсной активности (усиление или снижение, по сравнению с фоновой) у 37% обнаруженных нейронов дорсального гиппокампа. При этом усиление импульсной активности наблюдалось в 30% случаев, снизили импульсную активность 7% нервных клеток. Отсутствие изменений импульсной активности наблюдалось в 63% случаев. (Табл. 1)

При стимуляции вентромедиального гипоталамуса обнаружено изменение электрической импульсной активности в 56% случаев. При этом 52% нервных клеток ответили на стимуляцию усилением импульсной активности, 4% нейронов снизили импульсную активность по сравнению с фоновой. Отсутствие изменений в ответ на стимуляцию ВМГ наблюдалось у 44% нейронов. (Табл.1)

Таким образом, были отмечены различия в количестве нейронов дорсального гиппокампа, изменивших параметры импульсной активности при электрической стимуляции структур гипоталамуса (Рис. 5).

Условия / Изменение активности	Стимуляция ЛГ (56 нейронов)	Стимуляция ВМГ (51 нейрон)
Активация	17 (30%)**	26 (52%)**
Торможение	4 (7%)	2 (4%)
Отсутствие эффекта	36 (63%)	22 (44%)

Таблица 1. Процент числа нейронов дорсального гиппокампа, изменивших импульсную активность при стимуляции ЛГ и ВМГ, $p < 0.01$ - изменение активности нейронов является статистически значимым (по критерию знаков).

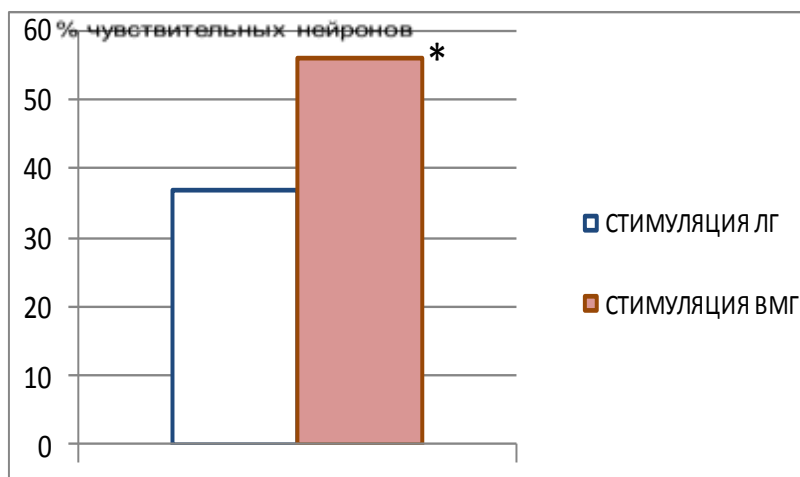


Рис. 5. Процент числа нейронов дорсального гиппокампа, изменивших импульсную активность при стимуляции ЛГ и ВМГ, * - $p < 0.05$ по сравнению со стимуляцией ЛГ (по методу ANOVA).

Изменение импульсной активности нейронов дорсального гиппокампа у крыс с различной поведенческой активностью при стимуляции ЛГ.

При стимуляции ЛГ у активных животных было зарегистрировано 33 нейрона дорсального гиппокампа, при этом изменили свою активность 33% нейронов. Из них 27% нейронов ответили усилением частоты импульсной активности, 6% нейронов ответили снижением частоты импульсной

активности. Нечувствительными к стимуляции ЛГ оказались 67% нейронов дорсального гиппокампа (Рис.6).

При стимуляции ЛГ у пассивных крыс было зарегистрировано 24 нейрона дорсального гиппокампа, при этом чувствительными к стимуляции оказались 42% нейронов. Из них 34% нейронов усилили импульсную активность, 8% нейронов ответили снижением частоты импульсной активности. Нечувствительными оказались 58% нейронов (Рис.6).

Таким образом, нейроны дорсального гиппокампа активных животных оказались достоверно ($p<0.05$) менее чувствительными к стимуляции ЛГ, чем у пассивных животных (Рис.6).

Изменение импульсной активности нейронов дорсального гиппокампа у крыс с различной поведенческой активностью при стимуляции ВМГ.

При стимуляции ВМГ у активных животных были зарегистрированы 23 нейрона дорсального гиппокампа. Изменили импульсную активность в ответ на стимуляцию 43% нейронов, из них 34% нейронов ответили усилением импульсной активности, 9% нейронов снизили импульсную активность, 57% нейронов оказались нечувствительными к стимуляции ВМГ (Рис. 6).

При стимуляции ВМГ у пассивных крыс было зарегистрировано 27 нейронов дорсального гиппокампа. Раздражение ВМГ привело к изменению чувствительности 67% нейронов, причем все чувствительные нейроны ответили усилением импульсной активности. У 33% нейронов дорсального гиппокампа стимуляция ВМГ не вызвала изменение импульсной активности.

Таким образом, нейроны дорсального гиппокампа крыс, активных в тесте «открытое поле», оказались достоверно ($p<0.05$) менее чувствительными к стимуляции ВМГ, чем у пассивных животных (Рис.6).

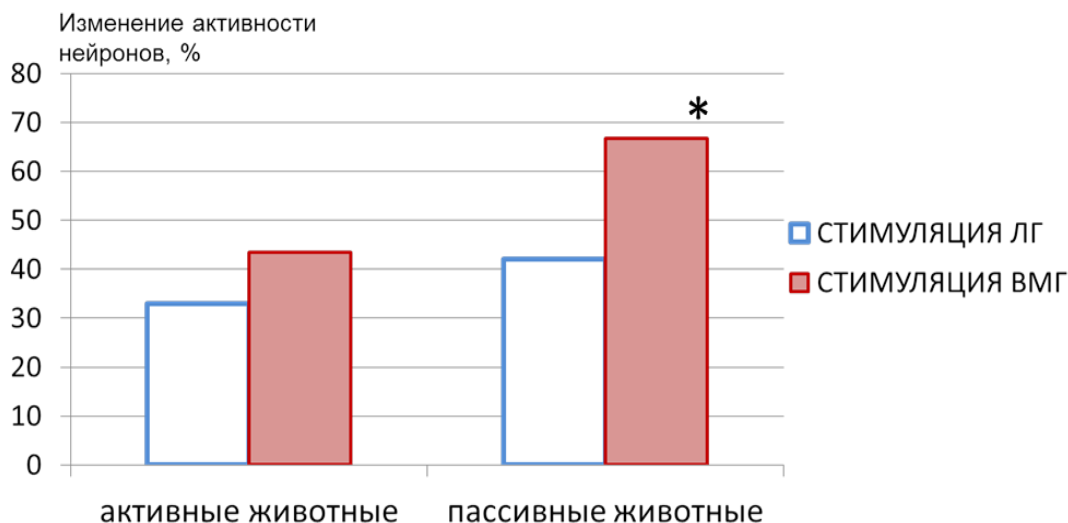


Рис. 6 Процент числа нейронов дорсального гиппокампа, изменивших импульсную активность при стимуляции ЛГ и ВМГ у пассивных и активных животных * - $p < 0.05$ по сравнению с активными животными (по методу ANOVA).

Изменение импульсной активности нейронов дорсального гиппокампа у крыс с различной поведенческой активностью при стимуляции ЛГ после предварительного микроионофоретического подведения ПВДС.

Предварительное микроионофоретическое подведение ПВДС привело к изменению чувствительности нейронов дорсального гиппокампа к стимуляции ЛГ и ВМГ.

Подведение ПВДС вызвало достоверное снижение чувствительности нейронов активных животных к стимуляции ЛГ ($p < 0.05$). Это привело к изменению активности 21% нейронов, из которых 15% нейронов ответили усилением импульсной активности, 6% нейронов снизили частоту импульсной активности. Отсутствие видимого ответа на стимуляцию наблюдалось у 79% нейронов (Рис.7).

В отличие от поведенчески активных крыс, у пассивных животных после подведения ПВДС выявлена лишь тенденция к снижению числа нервных клеток дорсального гиппокампа, демонстрирующих реакцию на электростимуляцию ЛГ. Обнаружилось изменение чувствительности у 37% нейронов дорсального гиппокампа путем усиления импульсной активности

29% нейронов и снижения 8% нейронов. Нечувствительными оказались 63% нейронов (Рис.7).

Изменение импульсной активности нейронов дорсального гиппокампа у крыс с различной поведенческой активностью при стимуляции ВМГ после предварительного микроионофоретического подведения ПВДС.

Подведение ПВДС у активных крыс привело к достоверному увеличению ($p<0.05$) чувствительности нейронов дорсального гиппокампа к стимуляции ВМГ (путем усиления импульсной активности нейронов) у 61% нейронов. Нечувствительными оказались 39% нейронов (Рис.7).

Подведение ПВДС у пассивных крыс стало причиной достоверного снижения чувствительности нейронов дорсального гиппокампа ($p<0.05$) к стимуляции ВМГ и привело к увеличению частоты импульсной активности у 15% нейронов. Нечувствительными к стимуляции ВМГ после подведения ПВДС оказались 85% нейронов (Рис.7).

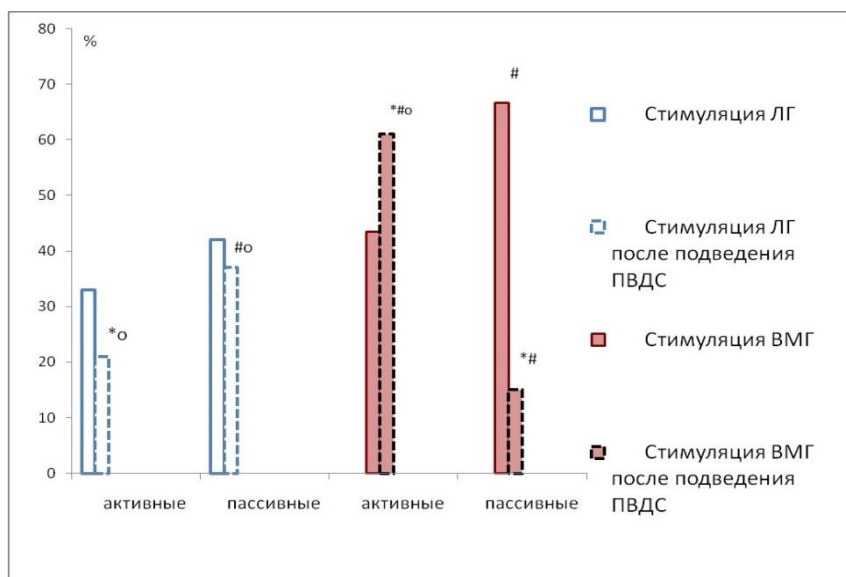


Рис. 7 Процент числа нейронов дорсального гиппокампа, изменивших импульсную активность при стимуляции ЛГ и ВМГ у пассивных и активных животных (по методу ANOVA).

* $p<0.05$ по сравнению с эффектом стимуляции структур гипоталамуса до микроионофоретического подведения ПВДС.

$p<0.05$ по сравнению с активными крысами.

° $p<0.05$ по сравнению с эффектом стимуляции ВМГ.

Заключение.

В результате проведенных экспериментов были обнаружены индивидуальные различия участия нейронов поля СА1 дорсального гиппокампа в формировании различных эмоционально-мотивационных состояний. По-видимому, нейроны дорсального гиппокампа у поведенчески активных животных в меньшей степени вовлекаются в формирование эмоционально-мотивационных состояний, чем у пассивных крыс.

При анализе изменений пространственно-временной организации паттернов нейронной активности, вызываемых стимуляцией структур гипоталамуса, были обнаружены разнообразные варианты реакций. Изменение паттернов импульсной активности нейронов дорсального гиппокампа при стимуляции латерального гипоталамуса произошло как у поведенчески активных, так и пассивных животных. При стимуляции вентромедиального гипоталамуса данные реакции наблюдались только у поведенчески активных животных.

Раздражение латерального гипоталамуса достоверно сильнее изменяет пространственно-временные характеристики паттернов активности нейронов в дорсальном гиппокампе, по сравнению со стимуляцией вентромедиального гипоталамуса.

Предварительное подведение ПВДС привело к изменению паттернов активности нейронов дорсального гиппокампа (как у прежде отвечающих на стимуляцию латерального или вентромедиального гипоталамуса, так и оставшихся ареактивными на стимуляцию мотивациогенных структур).

Пептид, вызывающий дельта-сон, уменьшает общее количество нервных клеток поля СА1 дорсального гиппокампа, меняющих пространственно-временные характеристики паттернов активности нейронов.

Нейроны поля СА1 дорсального гиппокампа поведенчески активных животных изменяют импульсную активность нейронов в меньшей степени по сравнению с пассивными особями, как в условиях стимуляции

вентромедиального, так и при стимуляции латерального гипоталамуса. Возможно, в механизмах ограничения чувствительности нейронов дорсального гиппокампа к стимуляции эмоционально-мотивационных зон у животных с высокой поведенческой активностью принимают участие эндогенные пептиды (в частности, ПВДС). Для оценки эффектов данного олигопептида мы осуществляли его предварительное подведение к исследуемым нейронам поля CA1 дорсального гиппокампа.

Показано, что предварительное микроионофоретическое подведение ПВДС оказывает модулирующее действие на импульсную активность нейронов дорсального гиппокампа в условиях электрической стимуляции структур гипоталамуса. Так, предварительное подведение ПВДС при электростимуляции латерального гипоталамуса приводит к достоверному снижению чувствительности нейронов дорсального гиппокампа у поведенчески активных животных, а также наблюдается тенденция к снижению изменения импульсной активности у поведенчески пассивных крыс. Однако при стимуляции вентромедиального гипоталамуса, ПВДС оказывает разнонаправленное действие: усиливает чувствительность нейронов гиппокампа у поведенчески активных животных, но снижает чувствительность нейронов дорсального гиппокампа у поведенчески пассивных особей.

Таким образом, приведенные данные показывают, что предварительное микроионофоретическое подведение пептида, вызывающего дельта-сон, обладает модулирующим действием на импульсную активность, а также на пространственно-временное распределение межимпульсных интервалов нейронов поля CA1 дорсального гиппокампа в условиях стимуляции вентромедиального и латерального гипоталамуса.

Выводы.

1. Микроионофоретическое подведение ПВДС к нейронам поля CA1 дорсального гиппокампа крыс с различными характеристиками поведения сопровождается изменением чувствительности нейронов поля CA1

дорсального гиппокампа в условиях электрической стимуляции латерального и вентромедиального гипоталамуса.

2. Поведенчески пассивные крысы характеризуются достоверным преобладанием нейронов поля СА1 дорсального гиппокампа с непрерывно-аритмическим типом распределения межимпульсных интервалов разрядной деятельности по сравнению с нервными клетками, демонстрирующими пачечный тип импульсной активности. Указанные отличия не выявлены у активных особей.

3. Изменения распределения межимпульсных интервалов разрядной деятельности нейронов поля СА1 дорсального гиппокампа в ответ на электрическую стимуляцию латерального гипоталамуса наблюдаются в равной степени как у поведенчески активных, так и у пассивных крыс. Характер распределения межимпульсных интервалов в паттернах импульсной активности нейронов указанной области гиппокампа у активных и, особенно, у пассивных животных достоверно не изменяется в условиях стимуляции вентромедиального гипоталамуса.

3. Микроионофоретическое подведение пептида, вызывающего дельта-сон, (ПВДС) к нейронам поля СА1 дорсального гиппокампа у крыс сопровождается уменьшением числа нервных клеток данной области головного мозга, демонстрирующих изменения паттернов импульсной активности в ответ на электростимуляцию латерального и вентромедиального гипоталамуса.

4. Изменения импульсной активности нейронов поля СА1 дорсального гиппокампа у крыс более выражены при электрической стимуляции вентромедиального гипоталамуса, чем при стимуляции латерального гипоталамуса. Нейроны поля СА1 дорсального гиппокампа у поведенчески активных животных менее чувствительны к электрической стимуляции указанных зон гипоталамуса, чем у пассивных особей.

5. Микроионофоретическое подведение ПВДС к нейронам поля СА1 дорсального гиппокампа у поведенчески активных крыс сопровождается

увеличением, а у пассивных – снижением числа нервных клеток данной структуры головного мозга, изменяющих частоту импульсной активности в ответ на электростимуляцию вентромедиального гипоталамуса. Чувствительность нейронов поля СА1 дорсального гиппокампа к стимуляции латерального гипоталамуса у животных с разными характеристиками поведения уменьшается после предварительного подведения ПВДС.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Григорчук О.С. Активность нейронов дорсального гиппокампа у крыс с различной поведенческой активностью в условиях стимуляции эмоциогенных структур мозга: эффекты пептида дельта-сна // Материалы Симпозиума с международным участием «Центральные и периферические механизмы эмоционального стресса», посвященного 50-летию организации ЦНИЛ ТГМУ им. Абуали ибни Сино, Душанбе, (Таджикистан). 23-24 ноября 2012 г. С. 18-19.
2. Григорчук О.С. Влияние пептида, вызывающего дельта-сон, на импульсную активность нейронов гиппокампа крыс при стимуляции эмоциогенных структур головного мозга // Abstracts of 2nd International Interdisciplinary Conference «Modern problems in systemic regulation of physiological functions», Bodrum (Turkey). June 22-29, 2012. С.29-31.
3. Григорчук О.С. Влияние пептида дельта-сна на активность нейронов дорсального гиппокампа крыс с различной поведенческой активностью в условиях стимуляции положительной и отрицательной эмоциогенных структур мозга, статья // **Журнал высшей нервной деятельности**. 2013. Т. 63, №3. С. 357-364.
4. Григорчук О.С. Влияние ПВДС на активность нейронов дорсального гиппокампа в условиях стимуляции латерального гипоталамуса // XVI научная школа-конференция молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Москва. 2012. С.44.

5. Григорчук О.С. Нейроны дорсального гиппокампа в механизмах различных эмоциональных состояний: эффекты пептида дельта-сна // Третья конференции молодых ученых и студентов «Экспериментальная и прикладная физиология». Москва. 29 ноября 2012 г. С. 11
6. Григорчук О.С., Умрюхин П.Е. Активность нейронов дорсального гиппокампа в условиях стимуляции латерального гипоталамуса: эффекты пептида дельта-сна // **Бюл. exper. биол. мед.** 2012. Т. 153, №5. С. 561-564.
7. Григорчук О.С., Умрюхин П.Е. Активность нейронов гиппокампа при стимуляции эмоциогенных структур головного мозга: эффекты пептида дельта-сна // VIII Международный междисциплинарный конгресс "Нейронаука для медицины и психологии", Судак, Крым, (Украина). 1-12 июня 2012 г. С. 142-143.
8. Григорчук О.С., Умрюхин П.Е. Влияние пептида дельта-сна на активность нейронов дорсального гиппокампа в условиях стимуляции вентромедиального гипоталамуса // **Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П.Павлова.** 2012. №1, С. 58-63.
9. Умрюхин П.Е., Григорчук О.С. Изменение паттернов активности нейронов дорсального гиппокампа в условиях стимуляции мотивациогенных структур: эффекты пептида дельта-сна // **Нейрокомпьютеры: разработка, применение.** 2013. №7, С.45-51.
10. Григорчук О.С., Умрюхин П.Е. Паттерны активности нейронов дорсального гиппокампа в условиях стимуляции эмоциогенных структур головного мозга у крыс с различной поведенческой активностью: эффекты пептида дельта-сна // Третья международная междисциплинарная конференция «Проблемы системной регуляции физиологических функций», г.Лимассол (Кипр). 1-8 октября 2013. С. 33-34.