



Биол. журн. Армении, 1 (64), 2012

## ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГИППОКАМПА НА АКТИВНОСТЬ РЕТИКУЛЯРНЫХ НЕЙРОНОВ ДЫХАТЕЛЬНОГО ЦЕНТРА ПРИ ГИПОКСИИ

Р.С. АРУТЮНЯН, Н.Ю. АДАМЯН, М.А. КАРАПЕТЯН

*Ереванский госуниверситет, кафедра физиологии человека и животных  
marietta\_karapetyan@yahoo.com*

В норме и в условиях гипоксии изучено влияние CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> полей гиппокампа на импульсную активность ретикулярных нейронов бульбарного дыхательного центра. В условиях нормоксии раздражение CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> полей гиппокампа оказывало преимущественно тормозящее влияние. В начале “подъема”, на “высоте” 4000-5000 м, наблюдалось повышение импульсной активности нейронов. На этом фоне тормозящее влияние раздражения CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> полей гиппокампа, по сравнению с нормоксией, было более выраженным. На “высоте” 7500-8000 м, в тяжелых условиях кислородной недостаточности на фоне резкого угнетения фоновой активности нейронов дыхательного центра тормозящее влияние CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> полей гиппокампа было слабо выражено.

*Гиппокамп – CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> поля – гипоксия – дыхательный центр –  
ретикулярные нейроны*

Մթնոլորտային ճնշման բնականոն պայմաններում և թթվածնային անբավարարության պայմաններում ուսումնասիրվել է հիպոկամպի CA<sub>1</sub> և CA<sub>3</sub> դաշտերի էլեկտրալթաթանման ազդեցությունը երկարավուն ուղեղի ռետիկուլյար նեյրոնների իմպուլսային ակտիվության վրա:

Նորմոթաթայում հիպոկամպի CA<sub>1</sub> և CA<sub>3</sub> դաշտերի խթանումը թողել է առավելապես ար-էլակոդ ազդեցություն: 4-5 հազ. մ բարձրության վրա, հիպոթսիկ ակտիվ ֆոնի վրա CA<sub>3</sub> դաշտի ար-էլակոդ ազդեցությունը CA<sub>1</sub>-ի համեմատ եղել է առավել արտահայտված, որը բացատրվում է այդ հատվածում արյունատար անոթների հատուկ տեղադրությամբ: Թթվածնաքաղցի երկրորդ փուլում՝ 7,5-8 հազ.մ բարձրության վրա դիտվել է նյարդային բջիջների ակտիվության անկում: Նման ճնշված ֆոնի վրա հիպոկամպի CA<sub>1</sub> և CA<sub>3</sub> դաշտերի ազդեցությունը եղել է թույլ արտահայտված:

*Հիպոկամպ – CA<sub>1</sub> և CA<sub>3</sub> դաշտեր – թթվածնաքաղց – շնչառական կենտրոն – ռետիկուլյար նեյրոններ*

The influence of stimulation of the CA<sub>1</sub> and CA<sub>3</sub> areas of the hippocampus on the impulse activity of reticular neurons (RN) of the medulla oblongata under normal and oxygen deficiency conditions was studied.

In case of normal atmospheric pressure the electrical stimulation of the CA<sub>1</sub> and CA<sub>3</sub> areas of the hippocampus had mainly an inhibiting influence. In the initial phase, at 4-5 thousand meter altitudes, activation of frequent discharge of neurons occurred. In this situation, stimulation of the CA<sub>1</sub> and CA<sub>3</sub> areas was more accentuated than under conditions of normoxia. In the second phase (altitudes of 7,5-8 thousand meters) the reduction of the impulse activity of neurons were recorded. The stimulation of the CA<sub>1</sub> and CA<sub>3</sub> areas of the hippocampus displayed untypical responses of these neurons.

*Hippocampus – CA<sub>1</sub> and CA<sub>3</sub> areas – hypoxia – respiratory centre – reticular neurons*

Важную роль в обеспечении деятельности дыхательного центра продолговатого мозга, особенно в гипоксических условиях, играет надбульбарный отдел головного мозга, благодаря респираторным влияниям которого происходят перестройка деятельности дыхательного центра (ДЦ) и тонкое приспособление дыхания к изменяющимся условиям жизнедеятельности организма [1]. Оценивая участие различных супрабульбарных структур в регуляции дыхания, в этих механизмах следует признать особую роль гиппокампа, характеризуемого исследователями как “сердце” лимбической системы. Несмотря на важность этого уровня регуляции дыхания, в известной нам литературе данные о роли гиппокампа в этих процессах, особенно в динамике гипоксии, малочисленны.

Для выяснения регулирующей роли СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> полей гиппокампа в динамике гипоксии нами было изучено влияние электростимуляции этих полей на импульсную активность нейронов дыхательного центра продолговатого мозга.

**Материал и методика.** Исследования проведены на 34 крысах, наркотизированных смесью хлоралозы и нембутала (30 и 10 мг/кг соответственно, внутривенно). Животное жестко фиксировали в стереотаксическом приборе для введения раздражающих электродов и отведения активности ретикулярных нейронов. СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> поля гиппокампа раздражали биполярными константовыми электродами (межэлектродное расстояние – 0,2-0,3 мм), ориентированными в соответствующую структуру по координатам стереотаксического атласа [11]. Для раздражения указанной структуры подавали прямоугольные импульсы тока длительностью 0,1-0,3 мс, частотой 80-100 Гц в течение 3-10 с. Ток стимуляции составлял 100 – 200 мкА.

Для отведения активности ретикулярных нейронов (РН) с дорсальной стороны обнажался продолговатый мозг на уровне 2,5 мм ростральнее и каудальнее задвижки (obex) на 2,5 мм латеральнее от средней линии. Экстраклеточную регистрацию нейронов производили в основном из вентральной зоны дыхательного центра продолговатого мозга стеклянными микроэлектродами, заполненными 4 М раствором NaCl (диаметр кончика – 1,5-2 мкм, сопротивление – 3-5 МОм).

Эксперименты проведены в динамике гипоксического воздействия. Для этого животное, фиксированное в стереотаксическом приборе, помещали в барокамеру для “подъема”. Регистрацию изучаемых показателей производили до «подъема» животного, т.е. в условиях нормоксии (pO<sub>2</sub>= 142 мм рт.ст.), а также на высоте 4-5 тыс.м (pO<sub>2</sub>= 98-85 мм рт.ст.), 7,5-8 тыс.м (pO<sub>2</sub>=64-58 мм рт.ст.) и после “спуска”, в условиях нормального атмосферного давления, до и сразу после раздражения СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> полей гиппокампа. “Подъем” и “спуск” животного в барокамере производили со скоростью 15-20 м/с.

После эксперимента проводили электрокоагуляцию точек раздражения для последующего гистологического контроля. По окончании опытов для этаназии внутривенно вводили те же наркотические вещества с превышением дозы в 3 раза (90 и 30 мг/кг хлоралоза и нембутал соответственно).

Регистрация производилась с помощью программы, обеспечивающей в режиме “on-line” селекцию спайков посредством амплитудной дискриминации. Строили перистимульную гистограмму межспайковых интервалов (PETH - Peri-Event Time Histogram и график скользящей частоты. При этом со сдвигом в среднем в 70 мс рассчитывалась частота разряда нейронов в интервале 120-150 мс. На основании вычисленных для фоновой активности средней частоты и стандартного отклонения определялся диапазон частот M±2SD (M – среднее значение, SD – стандартное отклонение), относительно которого выявлялись периоды посттетанической активации и (или) депрессии. Фазы активации и торможения определялись по тем временным отрезкам, когда величина гистограмм соответственно была больше или меньше вычисленного среднего значения фоновой активности (M±2SD). В случае, когда 2SD превышает M, уровень торможения определялся по 0-ой линии. Отклонения средней величины вычислялись по Стьюденту (p< 0,05).

**Результаты и обсуждение.** По характеру ответной реакции на электростимуляцию СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> полей гиппокампа нейроны подразделились на три групп-пы: 1-активировавшиеся, 2-тормозившиеся, 3-ареактивные. Одновременно была замечена некоторая закономерность между фоновой активностью этих нейронов и их ответной реакцией на раздражение.

Совокупность РН (ретикулярные нейроны) разделялась нами на группы: I–нейроны с низкой 1-0 имп/с, II–средней 11-30 имп/с, III–высокой 31-60 имп/с фоновой импульсной активностью.

Поскольку СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> поля гиппокампа оказывали однонаправленное гене-рализованное влияние и в норме, и в условиях гипоксии, мы сочли целесообразным обсудить полученные результаты по этим полям вместе.

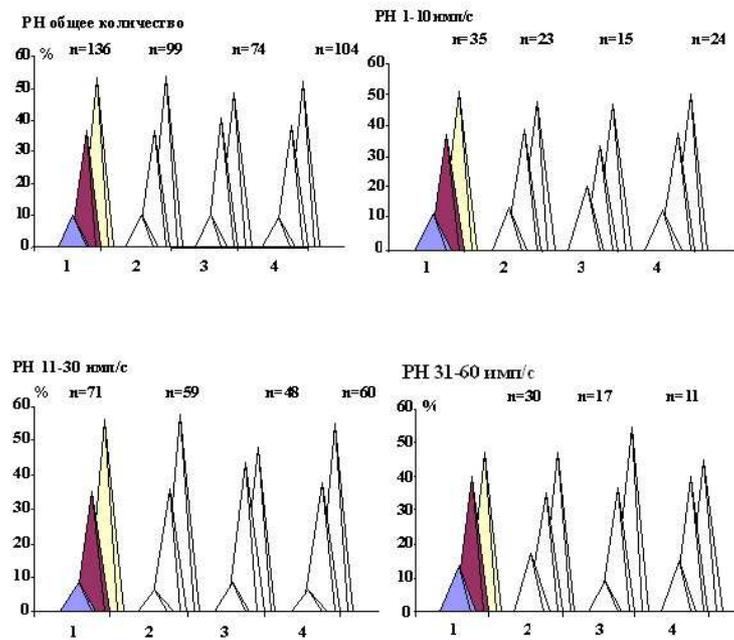
Число нейронов, проявляющих ритмическую активность, связанную с дыхательными циклами вдоха и выдоха, по отношению к общей массе РН значительно меньше. В наших исследованиях РН встречались в 3-4 раза чаще, чем фазные дыхательные нейроны, однако в литературе приводятся многочисленные данные об активном участии РН в регуляции дыхания [3, 9]. Они могут исполнять функцию вставочных нейронов на афферентном входе к ритмообразующим нейронам и активировать деятельность ДН. Отмечено также, что вовлеченность РН в дыхательную ритмику особенно выражена в режимах затрудненного дыхания, асфиксии и т.д. [5]. В связи с этим нами была изучена активность 136 бульбарных РН дыхательного центра. В условиях нормоксии из всех зарегистрированных РН 35 (25,73%) отнесены к I группе, 71 (52,2%) – ко II и 30 (22,06%) – к III группе. Из всех РН на электростимуляцию гиппокампа 72 (52,94%) нейрона ответили торможением активности, 50(36,76%) нейронов ответили активацией и лишь 10,29% остались ареактивными (рис.1). Раздражение гиппокампа в большинстве случаев вызывало также урежение внешнего дыхания: наблюдалось урежение дыхания у 40% животных, учащение - у 22%.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в условиях нормоксии раздражение СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> полей гиппокампа оказывало тормозящее влияние на РН. Эти данные являлись контрольными для экспериментов в динамике гипоксии.

В начале “подъема”, на “высоте” 4-5 тыс. м, в результате пониженного рО<sub>2</sub> проявляли активность 99 нейронов (72,79%), из них 23 (23,23%) принадлежали к I группе, 59 (59,6%) – ко II и лишь 17 (17,17%) – к III. Из этих оставшихся активными нейронов на электростимуляцию СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> полей гиппокампа 53,54% ответило торможением активности и 36,36% – активацией. Изменения активности ретикулярных нейронов в динамике гипоксии приведены на рис. 1, 2. Закономерность тормозящего влияния СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> полей гиппокампа на внешнее дыхание обнаруживалась и в динамике гипоксии. Так, на “высоте” 4-5 тыс. м наблюдалось некоторое учащение и углубление дыхания. На таком фоне стимуляция гиппокампа вызывает достоверное удлинение дыхательного цикла и урежение дыхания у 37% зарегистрированных животных.

В тяжелой фазе гипоксии, на “высоте” 7,5-8 тыс. м, сохранили активность 54,41% от исходного количества РН, причем нейроны I и III групп в основном угнетались, большую устойчивость обнаруживали нейроны II группы. Во второй фазе гипоксии на раздражение СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> полей гиппокампа торможением ответили 48,65% нейронов, активацией – 40,54% и 10,81% остались ареактивными (рис.1). На этой стадии под воздействием острой кислородной недостаточности внешнее дыхание замедляется, становится поверхностным, а у части животных полностью прекращается. Интересно отметить, что изменения частоты внешнего дыхания – учащение или урежение – под воздействием гипоксии и раздражения гиппокампа происходят в основном за счет продолжительности выдоха.

Для более точной оценки влияния раздражения СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> полей гиппокампа на импульсную активность РН была определена степень изменения их импульсной активности. При этом было выявлено, что в нормальных условиях кислородного снабжения у I группы нейронов, ответивших на раздражение торможением, средняя частота импульсации достоверно ( $p<0,05$ ) уменьшилась на 22,86%, у II – на 34,37% ( $p<0,01$ ), у III – 16,95% ( $p<0,05$ ) (рис. 2).



**Рис.1.** Количественное соотношение реакции ретикулярных нейронов дыхательного центра продолговатого мозга при стимуляции СА1 и СА3 поля гиппокампа в норме и динамике гипоксии.

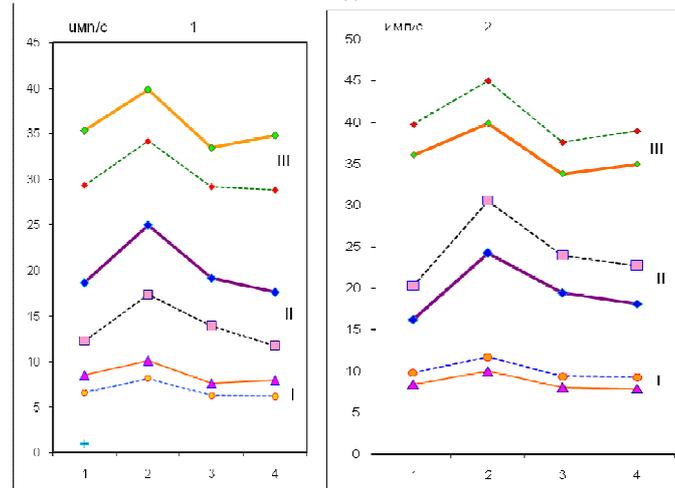
Горизонтально – отдельные фазы гипоксии: 1- норма, 2- "высота" 4-5 тыс.м, 3- "высота" 7,5-8 тыс.м, 4- после "спуска". Вертикально (% нейронов, n- количество нейронов на данной "высоте".

□ - тормозящиеся, □ - активизирующиеся, □ - ареактивные нейроны.

В первой фазе гипоксии происходило увеличение импульсной активности всех 3-х групп нейронов. На таком облегченном фоне электростимуляция СА1 поля гиппокампа оказывала также тормозящее воздействие (рис. 2). В тяжелой фазе гипоксии, на "высоте" 7,5-8 тыс.м, острая нехватка кислорода приводила к резкому угнетению импульсной активности РН. На этом фоне ответная реакция нейронов на раздражение изучаемого поля гиппокампа была менее выраженной. Так, I группа нейронов, ответившая торможением, достоверно ( $p < 0,05$ ) уменьшала среднюю частоту импульсации на 18,22%. У II и III групп нейронов степень изменения составляла соответственно 27,59% ( $p < 0,05$ ) и 12,68% ( $p < 0,2$ ). Сравнительный анализ устойчивости подгрупп РН выявил, что наиболее чувствительны к кислородной недостаточности нейроны III группы, т.е. с высокой фоновой активностью (31-60 имп/с). Эти нейроны частично или полностью прекращали импульсацию уже на "высоте" 4,5-5 тыс.м (рис. 2).

После "спуска" животных через 15-20 мин наблюдалась как тенденция к восстановлению исходных показателей импульсной активности ретикулярных нейронов, так и их реакции на раздражение. При сравнительном анализе степени восстановления различных групп РН после "спуска" обнаружили очень низкую (66,7%) восстанавливаемость у нейронов III группы (рис. 1, 2).

Таким образом, выявлено, что в условиях нормоксии и в динамике гипоксического воздействия электростимуляция СА1 и СА3 полей гиппокампа оказывает на дыхательные нейроны как тормозящее, так и активирующее влияние с преобладанием первого.



**Рис.2.** Изменение импульсной активности ретикулярных нейронов бульбарного дыхательного центра при стимуляции CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> поля гиппокампа в условиях гипоксии. Горизонтально: отдельные фазы гипоксии. 1. норма, 2. “высота” 4-5 тыс.м, 3. “высота” 7,5-8 тыс.м, 4. после “спуска”. Вертикально: изменения средней частоты импульсации. 1. тормозившиеся нейроны, 2. активирующиеся нейроны. I - изменение средней частоты импульсации у нейронов с фоновой активностью 1-10 имп/с; II – 11-30 имп/с.; III – 31-60 имп/с. Сплошная линия – до стимуляции, пунктир – после стимуляции.

В проведенных нами исследованиях была обнаружена определенная зависимость между фоновой активностью нейрона и его ответной реакцией на гипоксию. Так, в наших условиях опыта наиболее реактивными оказались ретикулярные нейроны со средней фоновой активностью 11-30 имп/с. Нейроны с низкой (1-10 имп/с) и высокой (31-60 имп/с) фоновой активностью оказались наиболее уязвимыми при воздействии гипоксии и не проявляли выраженной реакции, особенно во второй фазе гипоксии. Такая низкая реактивность этих нейронов сопряжена с нарушениями возникновения потенциала действия, устойчивым уровнем деполяризации мембраны и катодной депрессией [8]. Электростимуляция CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> полей гиппокампа оказывала как тормозящее, так и активирующее влияние на импульсную активность нейронов дыхательного центра, с достоверным преобладанием реакций первого типа. В литературе также неоднократно отмечается, что гиппокамповая формация располагает одним из самых мощных тормозных аппаратов в головном мозге [2, 6]. Такое воздействие объясняется тем, что гиппокамп содержит большое количество ГАМК-эргических клеток, которые с помощью особых терминалей осуществляют избирательное угнетение пресинаптического высвобождения глутамата. Примечательно, что в электрофизиологических исследованиях указывается, что наиболее чувствительной системой, реагирующей на изменение функционального состояния гиппокампа, является дыхание [6].

При сравнительном анализе характера воздействия CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> полей гиппокампа различия в степени преобладающего тормозного влияния этих полей при нормоксии были незначительны. В динамике же гипоксического воздействия нами были выявлены следующие особенности. Так, в динамике кислородной недостаточности, на фоне гипоксической активации импульсного разряда нейронов, тормозящий эффект электростимуляции CA<sub>1</sub> поля гиппокампа по сравнению с полем CA<sub>3</sub> был менее выраженным, что отражалось на степени изменения импульсной активности всех подгрупп как инспираторных, экспираторных, так и ретикулярных нейронов. Описанные выше различия нагляднее проявляются и носят достоверный характер в фазе тяжелой гипоксии, на “высоте” 7,5-8 тыс. м. Однако гиппо-

кампа характеризуется избирательной чувствительностью к кислородному дефициту, по сравнению с другими структурами мозга у человека и животных. При этом поле СА<sub>1</sub> является наиболее уязвимой областью гиппокампа в сравнении с другими областями, особенно СА<sub>3</sub> полем и зубчатой фасцией [10]. Полагают, что избирательная реакция поля СА<sub>1</sub> гиппокампа может быть обусловлена как особенностями анатомии сосудов этой области гиппокампа [7], так и особой чувствительностью клеток к ГАМК, который выделяется в условиях гипоксии [10].

Обобщая полученные нами данные, можно утверждать, что совокупность ответных реакций дыхательной системы при стимуляции гиппокампа свидетельствует о воздействии этой структуры на разные уровни дыхательного центра. Можно считать, что эти влияния, как и воздействия на другие висцеральные органы, опосредованы мощными связями гиппокампа с мезэнцефалическим отделом ретикулярной формации, а также прямыми проекциями этой структуры к продолговатому мозгу [4].

Описанные нами результаты исследования показали, что неодинаковое поведение исследуемых структур мозга в условиях гипоксии в значительной степени изменяет их функциональное состояние и вносит определенные коррективы в сложные взаимоотношения дыхательного центра с другими подкорковыми структурами мозга. Данный тип взаимоотношений между дыхательным центром и структурами лимбической системы, вероятно, биологически "оправдан". Адекватные изменения дыхания в различных фазах гипоксии вместе с другими составляющими сложных поведенческих реакций обеспечивают наиболее совершенную приспособляемость организма к изменяющимся условиям окружающей среды.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян Н.С., Адамян Н.Ю., Саркисян Н.В., Арутюнян Р.С., Карапетян М.А. Влияние лимбических структур на дыхание в условиях гипоксии. Успехи физиол. наук, М., 35, 4, 41-48, 2004.
2. Ведясова О.А. Респираторные эффекты раздражения лимбической коры и их модуляция серотонином у крыс. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 140, 9, 244-246, 2005.
3. Гордиевская Н.А., Киреева Н.Я. Участие ретикулярных нейронов продолговатого мозга кошки в интегративной деятельности дыхательного центра. Росс. физиол. ж. им. Сеченова, 84, 4, 293-299, 1998.
4. Крылова Н.В., Искренко И.А. Мозг и проводящие пути. М., Мед. инф. агенство, 122, 2004.
5. Сафонов В.А. Человек в воздушном океане, М., 215, 2006.
6. Тараканов И.А., Головатюк Е.А., Турская Е.П., Сафонов В.А. Формирование периодического апнейтического дыхания при активации ГАМК-эргической системы мозга. Бюлл. эксп. биол. и мед., 6, 583-587, 1993.
7. Ткачук С.С., Ткачук А.В. и др. Патогенетическое обоснование возрастных отличий селективной чувствительности полей гиппокампа крыс к ишемическим повреждениям. Матер. II Съезда физиологов СНГ "Физиология и здоровье человека" Москва-Кишинев, 82, 2008.
8. Чумаченко А.А., Ефимов В.Н. Изучение нейрональной организации центрального механизма дыхательного ритма и построение его модели. Автореф. на соиск уч.ст. кандидата биол. наук., Ростов-на-Дону, 22, 1970.
9. Dempsey Ed.J., Pack A. Regulation of breathing, London, 248, 1994.
10. Stroeve S.A., Tyul'kova E.I., T. S. Glushchenko I.A., Tugoi et. al. Thioredoxin-1 expression levels in rat hippocampal neurons in moderate hypobaric hypoxia. Neuroscience and Behavioral Physiology 39, 1, 1-5, 2009.
11. Paxinos G., Watson Ch. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Academic Press. 122, 1986.

Поступила 20.06.2011