
... ФІЗИОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН ...
... PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS ...

УДК: 612.821.6

Електрична активність риненцефальних структур лабораторних тварин за умов запахової стимуляції**Л.М.Ілюха**

*Науково-дослідний інститут фізіології імені М.Босого Черкаського національного університету імені Б.Хмельницького (Черкаси, Україна)
ilyuhaliidiya@mail.ua*

Проведено спектральний аналіз електричної активності нюхових цибулин білих нелінійних мишей *Mus musculus* і морських свинок *Cavia* як тварин з добре розвиненим нюхом в нормі та в умовах запахової стимуляції. Виявлені суттєві відмінності топографічних особливостей веретен ольфакто-амігдалярного ритму, значимі потужнісно-частотні різниці усереднених спектрів високочастотних складових і різний частотний розподіл окремих компонентів у межах характеристичних веретен кожного виду. Отримані дані дозволяють суттєво конкретизувати характеристики окремих патернів риненцефальних структур і відкривають нові уявлення для їх інтерпретації.

Ключові слова: *риненцефальні структури, ольфакто-амігдалярний ритм, запахова стимуляція.*

Электрическая активность ринэнцефальных структур лабораторных животных в условиях запаховой стимуляции**Л.М.Илюха**

Проведен спектральный анализ электрической активности обонятельных луковиц белых нелинейных мышей и морских свинок как животных с хорошо развитым обонянием в норме и в условиях запаховой стимуляции. Выявлены существенные отличия топографических особенностей веретен ольфакто-амігдалярного ритма, значительные мощностно-частотные отличия усредненных спектров высокочастотных компонентів и разное частотное распределение отдельных компонентів в пределах характеристических веретен каждого вида. Полученные данные позволяют существенно конкретизировать характеристики отдельных паттернов ринэнцефальных структур и открывают новые представления для их интерпретации.

Ключевые слова: *ринэнцефальные структуры, ольфакто-амігдалярный ритм, запаховая стимуляция.*

The electrical activity of the rhinencephal structures of the laboratorial animals in conditions of an olfactory stimulation**L.M.Ilyuha**

The spectral analysis of olfactory bulb's electrical activity of male mice *Mus musculus* and guinea-pigs *Cavia* as animals with well-developed sense of smell in conditions of an olfactory stimulation has been carried out. Essential differences of topographical peculiarities of olfacto-amygdalar rhythm spindles, considerable power-frequency differences of average spectrums of their high wave components and different frequency distribution of definite components in the measures of characteristic spindles of each kind were discovered. Obtained data allow essentially concretizing characteristics of separate patterns of rhinencephal structures and open new perspectives of their interpretation.

Key words: *rhinencephal structures, olfacto-amygdalar rhythm, olfactory stimulation.*

Вступ

Пояснення механізмів перцепції запахових чинників переважно ґрунтується на уявленні про частотне кодування подразників. Сприйняття та аналіз запахових чинників тваринами, як правило, супроводжується появою або змінами параметрів «викликаних хвиль» (Adrian, 1950; Ache, Young, 2005), які, виходячи з анатомо-морфологічного підходу до місця їхнього формування і найкращої вираженості, визначають як ольфакто-амігдалярний ритм (ОАР) (Ганжа, 2000). Спроби інтерпретації

цього феномену з точки зору кодування ольфактивної інформації в просторово-амплітудному патерні «40-80 Гц» спалахової активності мають достатнє підґрунтя, оскільки «викликані хвилі» даного діапазону проявляються під час пред'явлення одоранту (Freeman, 1991; Rolls et al., 2003, Gervais et al., 2007). Однак запах-специфічні патерни не виявляються у звикнутих тварин, а амплітуда та випадки спалахової активності зменшуються внаслідок звикання або переходу до дрімання (Ганжа і др., 1995).

Останнім часом ця проблема привертає увагу в зв'язку з уявленнями про суттєву роль нюхового аналізатора в регуляції багатьох функцій організму (Hamana et al., 2003; Masago et al., 2001), різних форм поведінки (Макарчук, Калуев, 2000) та розглядається з позиції використання у медичних цілях (Rioux et al., 2005; Lotsch, Hummel, 2006; Bohnen et al., 2007).

З огляду на вищевикладене та виходячи з особливої ролі нюхового аналізатора не лише в поточному забезпеченні життєдіяльності тварин-макросматиків, але й у самому формуванні переднього мозку в філогенезі хребетних, а також зважаючи на недостатню вивченість нейрофізіологічних механізмів його функціонування і участі в регуляторних та інтегративних процесах, досліджували прояви основних компонентів електричної активності риненцефальних структур та їх динаміку при специфічній для них стимуляції у близьких видів лабораторних тварин, які мають різномірно ускладнений неокортекс.

Об'єкт та методи дослідження

У роботі аналізуються експериментальні дані хронічних електрофізіологічних експериментів, отриманих на 16 морських свинках *Cavia* і 11 лабораторних мишах *Mus musculus* із вживленими ніхромовими глибинними електродами в нюхові цибулини (НЦ) і піріформну кору (ПК) та поверхневими в області неокортексу.

Експериментальні тварини утримувались у віварії в стандартних умовах, на звичайному харчовому раціоні. Для дослідів підбирали спокійних, зрівноважених тварин.

Для реєстрації електричної активності коркових областей головного мозку від твердої мозкової оболонки скальпованим тваринам вживляли через отвори в кістках монополярні ніхромові електроди, виготовлені з дроту ПЕВНХ діаметром 0,15 мм у заводській ізоляції й додатково ізольовані по всій довжині, крім кінчика (0,5 мм), бакелітовим лаком. Такі ж електроди застосовувалися для реєстрації електричної активності підкоркових структур. Така комутація забезпечувала можливість вживлення в мозок тварини близько 20 електродів у різні мозкові структури.

Операції вживлення хронічних електродів здійснювали за дотримання умов асептики, у спеціально обладнаній операційній. Для наркозу застосовували премедикаційний коктейль та каліпсол із розрахунку 25 мг/кг ваги тварини. Імплантацію електродів у глибинні структури проводили за допомогою модифікованого стереотаксичного апарату СЕЖ-1. Координати розраховували за відповідними атласами мозку, вводячи поправки за допомогою коефіцієнтів, для врахування індивідуальних розмірів мозку. Контроль точності вживлення електродів до риненцефальних структур здійснювали електроенцефалографічно під час операції за проявами специфічних патернів електричної активності.

В експеримент тварин брали не раніше 5–6 днів після операції. Аналіз біоелектрики здійснювали за умов спонтанної поведінки тварин у боксі експериментальної установки (в нормі) та за умов ольфакторної стимуляції. Запахову стимуляцію здійснювали шляхом тривалого (10–30 хв.) переведення тварин за умов бадьорості на дихання повітрям, насиченим одорантом. При цьому аналізу піддавались як усереднені спектральні оцінки ольфакторних реакцій, так і вибірккові їхні реалізації на подання перших порцій одоранту. В якості запахових чинників використовували лавандову олію та ванілін.

Біоелектричну активність головного мозку кожної тварини вивчали протягом 10–70 діб залежно від мети конкретної серії досліджень, після чого здійснювали морфологічний контроль розміщення кінчиків електродів у досліджуваних структурах, використовуючи відповідні атласи мозку.

Електричну активність мозку реєстрували за допомогою 16-канальної плати АЦП/ЦАП TADC 004.01/02 на базі ET1042, розміщеної в слоті материнської плати комп'ютера IBM PC/AT 386/387 з тактовою частотою 8/25 МГц. Попереднє підсилення потенціалів проводили за допомогою підсилювачів біопотенціалів з активними RC-фільтрами УБФ 4-03 (150 Гц, 0,15 с).

Оцифровані відрізки біоелектричної активності підлягали візуальному контролю на присутність артефактів та вибраковці, після чого формували файли даних, що накопичувались для наступної "off line" обробки або ж вона проводилась безпосередньо під час експерименту – "on line".

При проведенні спектрального аналізу виділяли традиційні частотні діапазони та високочастотні смуги складових, а саме: 25–90, 25–48 та 52–150 Гц, проводячи паралельний аналіз цільних динамічних спектрів без виділення із них окремих діапазонів.

Аналіз спектрального складу ЕЕГ проводили з використанням швидкого перетворення Фур'є. Достовірність відмінностей усереднених спектральних характеристик для різних станів тварин та окремих складових електричної активності НЦ оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента.

Результати та обговорення

Результати хронічних експериментів по вивченню спонтанної та пролонгованої електричної активності (ЕА) вузлових риненцефальних структур (нюхових цибулин (НЦ), амігдалярного комплексу ядер (АМ) та піріформної кори (ПК) зокрема) дозволяють стверджувати про можливість її адекватної характеристики проявами (наявності/відсутності), амплітудно-часовими та потужнісно-частотними характеристиками специфічних для неї електрофізіологічних феноменів. Серед останніх, як основні компоненти ЕА риненцефальних структур (РС) доцільно виділяти високочастотну синхронізовану електричну активність (ВСА), ольфакто-амігдалярний ритм (ОАР), респіраторні хвилі (РХ) та поліморфну активність (ПА).

Пред'явлення тваринам запахових чинників, як правило, супроводжувалося принохуваннями, дослідницькими та орієнтовними реакціями.

Характерно, що при спонтанному принохуванні (не пролонгованому ольфактивним подразником) в електричній активності нюхових цибулин мишей різко зростали показники частоти дихання, що супроводжувалося значним скороченням тривалості кожного окремого веретена (рис. 1). Спектральний аналіз ділянок електричної активності нюхових цибулин вказує на значне (4–5-кратне) зростання потужності спалахових компонентів ОАР, порівняно з нормою, переважно низькочастотних спектральних складових.

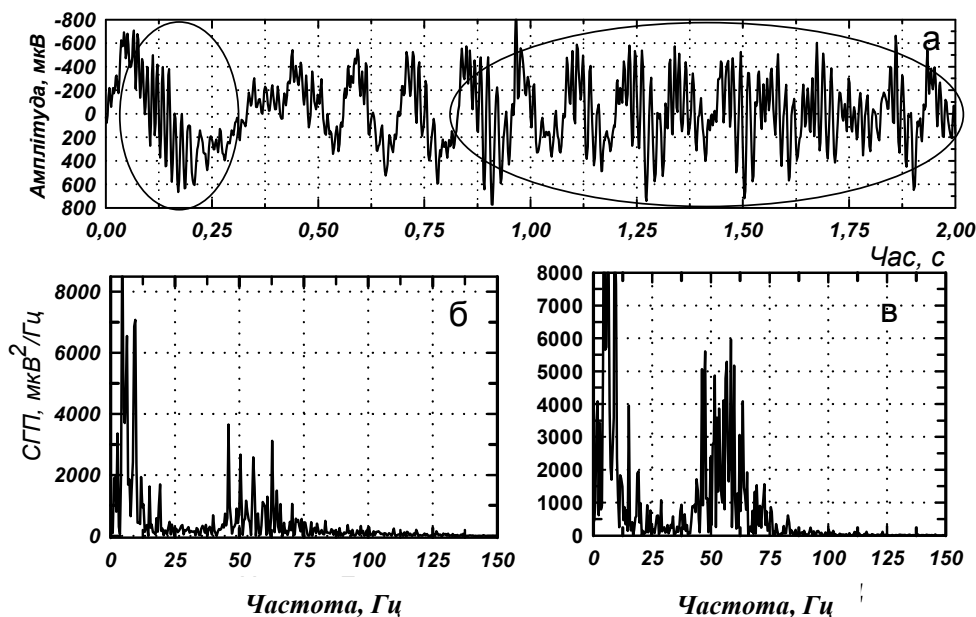


Рис. 1. Вибіркові спектральні оцінки (б, в) фрагментів електричної активності нюхової цибулини миші (а) за умов принохування

Застосування запахових подразників з метою провокування спалахової активності спричиняло виражені зміни ($p < 0,05$) не лише динаміки топограм ЕА РС, а й їхніх вибірових і усереднених спектрограм як на поодинокую стимуляцію, так і на довготривале пред'явлення запахових чинників.

Перебудова електрогенезу стосувалася не лише безпосередніх проєкцій із первинних нюхових центрів, а функціонально і топографічно віддалених коркових областей. Різноманітність реакцій на запахову стимуляцію у досліджуваних видів охоплювала весь можливий діапазон змін електрогенезу – від різкої активації до повного пригнічення ОАР. Спрямування і рівень прояву останніх, на наш погляд, обумовлений переважно значними індивідуальними відмінностями стосовно нюхової чутливості та здатності ідентифікації (тобто кількісних відмінностей перцептивних можливостей), відображенням

яких є EA НЦ. Головною причиною таких розбіжностей, очевидно, є генотип, різна близькість біологічного значення використаних запахових подразників до екології тварини, попередній сенсорний досвід, оточуюче середовище та інші фактори, які можуть суттєво впливати на виконання нюхової функції.

Слід відмітити, що найчіткіші зміни в топограмі високочастотних феноменів EA НЦ морських свинок та їхніх спектральних показників як на поодинокую стимуляцію, так і на довготривале пред'явлення запахових чинників простежувалися лише протягом короткого проміжку часу відразу ж після пред'явлення ольфактивного подразника. Серед особливостей такої перебудови, на наш погляд, на особливу увагу заслуговують зростання амплітуди РХ і виражена активація ВСА активності, хоча усереднені спектрограми при пред'явленні запахових чинників відображали лише несуттєве зростання частотного екстремуму 52–150 Гц діапазону без вірогідних змін його індексного показника. Стосовно зрушень у топограмі веретен ОАР можна відмітити значне ($p < 0,05$) вкорочення їхньої тривалості, втрату чіткої веретеновидної форми, контрастніший частотний розподіл у межах кожного окремого веретена, а також зменшення жорсткої прив'язаності до певної фази дихального циклу, а саме: веретена виникали не лише на піці інспірації-початку експіраторної фази, а й у паузі, особливо ті, що містили лише високочастотні компоненти (рис. 2).

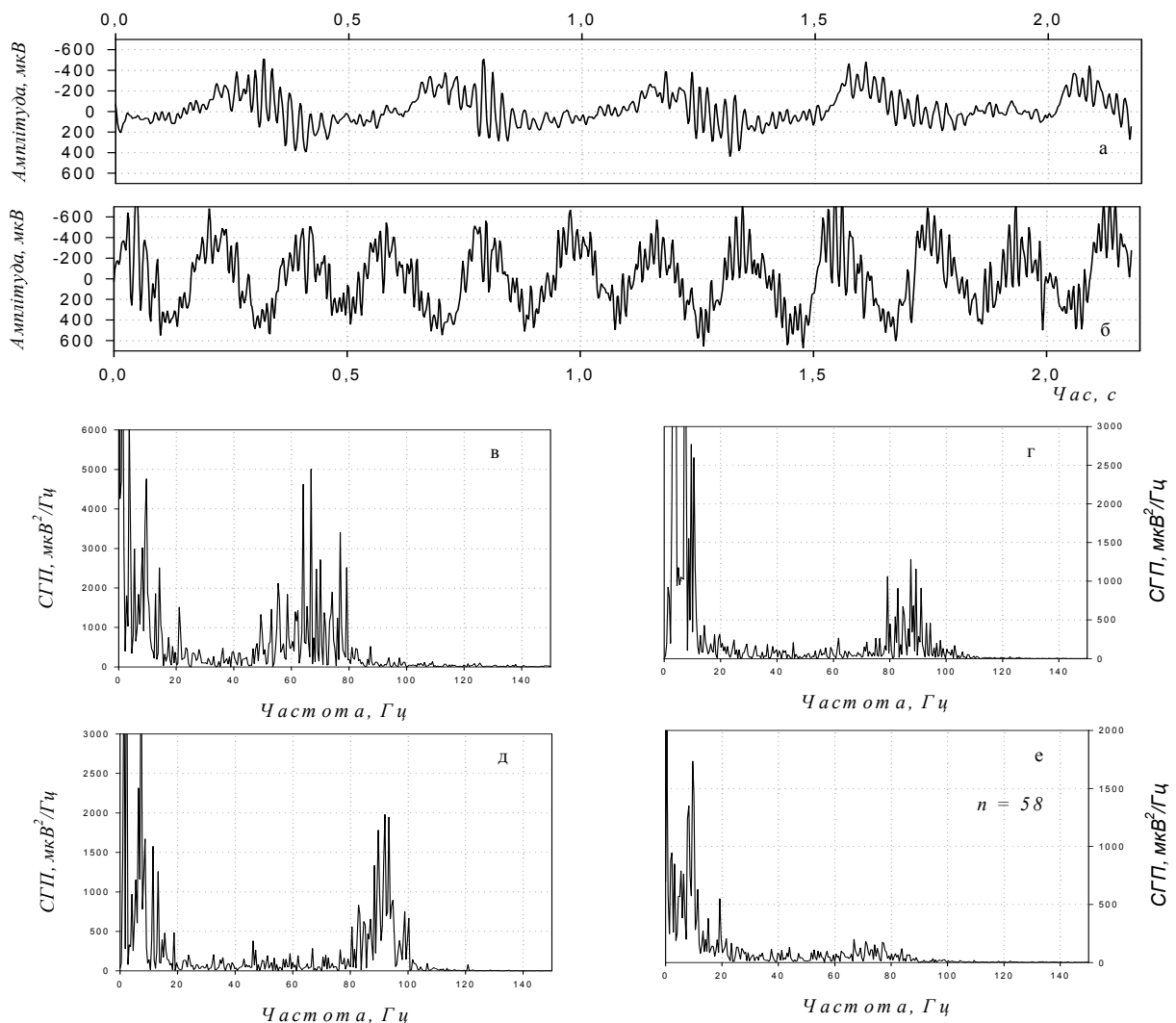


Рис. 2. Динаміка змін вибірових (г, д) та усереднених (е) спектральних оцінок редагованих векторів фрагментів електричної активності нюхових цибулин (б) морської свинки на пред'явлення одоранту (лавандова олія) порівняно із відповідними достимульними записами (а) і вибіровими оцінками (в)

Спектральний аналіз одоропролонгованих векторів ЕА РС морських свинок свідчить про зміщення спектрального піку ОАР в ЕА НЦ у високочастотнішу область із одночасним розширенням площі під його усередненим екстремумом, тобто збільшенням числа його спектральних компонентів, порівняно з фоном. Тотожні зрушення простежувалися і в низькочастотній області, очевидно за рахунок значної варіабельності показника ЧД за цих умов (рис. 2б). Окрім того, цікавим виявився той факт, що в ЕА РС відбувалася значно регулярніша генерація веретен, що відзначалися значним ($p < 0,05$) зростанням потужності спектрального екстремуму ОАР 40–80 Гц, але з відсутністю вираженого повторюваного спектрального максимуму. Останнє разом зі значимим ($p < 0,01$) зростанням показників спектральної густини потужності низькочастотних компонентів на усереднених спектрограмах спричиняло повне нівелювання піку ОАР, на відміну від чіткого його прояву в нормі за умов поведінкового збудження. Відмічене також незначне зростання частоти усередненого спектрального максимуму 52–150 Гц діапазону, але не його індексного показника ($p > 0,05$). Розглядувані зміни спектральних показників ЕА НЦ за умов запахового впливу дають підстави стверджувати про значно стабільніші, порівняно із ОАР, прояви окремих високочастотних складових веретен (можливо власне ВСА).

Аналіз експериментальних даних реакцій тварин на запахові суміші з метою виділення характеристичних піків окремих їх компонентів на основі специфіки сумарних спектрограм кожного одоранту не дав позитивних наслідків. Очевидно, ідентифікація запахового чинника та його параметрів проходить достатньо швидко і якщо вона й знаходить відображення у амплітудно-частотному патерні ЕА НЦ, тоді, можливо, вона втрачається при усередненні. Або ж, згідно запропонованої гіпотези (Buck, 2000), запахова суміш має свій власний, відмінний від окремих компонентів «електрографічний портрет».

Цікавим у цьому плані видається той факт, що подібна перебудова електрогенезу відмічалася і при пред'явленні тваринам, які перебували в стані спокою, подразників неольфактивної природи.

Отримані результати, на наш погляд, вказують на здатність НЦ реагувати змінами не лише їхнього потужнісно-частотного складу ЕА на пред'явлення специфічних нюхових подразників, але й свідчать, очевидно, про «чутливість» НЦ до значно тонших центральних ефектів, навіть таких, як коливання функціональної активності церебральних структур, зокрема неокортексу, в зв'язку із обробкою сенсорних сигналів.

Серед відмітних реакцій, на наш погляд, слід виділити специфічний тип відповіді на ольфактивну стимуляцію у мишей при пред'явленні ваніліну і лавандової олії. При незначних відмінностях у характері реагування на кожний конкретний запаховий агент у цих тварин в цілому спостерігалось суттєве пригнічення амплітудно-часових показників «веретен» ЕА НЦ і зростання проявів РХ, більш виражених при пред'явленні лавандової олії. Спектрограми ЕА НЦ за цих умов, порівняно із фоновими сумарними спектрами, відзначались різким значним (майже повним) послідовним пригніченням спалахів ОАР, зниженням показників спектральної густини потужності високочастотної області на протязі всього часу стимуляції (рис. 3).

Така перебудова цибулинного електрогенезу торкалася не лише пікових компонентів спектрограм, а й потужності частотних діапазонів. Найбільш виражена перебудова відбувалася в гамма-діапазоні для всіх його складових. Привертає увагу вірогідне ($p < 0,01–0,05$) майже двохкратне зниження потужності (індексу, %) всіх високочастотних діапазонів, що піддавалися аналізу. Співвідношення ж низько- та високочастотних складових гамма-діапазону залишалось незмінним, порівняно зі станом поведінкового збудження.

Подібні реакції були виявлені у морських свинок. Однак, виходячи зі специфіки сумарних спектрограм цих двох одорантів, при переведенні тварин на дихання їх запаховою сумішшю на сумарних спектрограмах не вдалося виділити характеристичні піки окремих компонентів суміші ($p > 0,05$). Очевидно, ідентифікація запахового чинника та його параметрів проходить достатньо швидко і якщо вона й знаходить відображення у амплітудно-частотному патерні ЕА НЦ, тоді, можливо, вона втрачається при усередненні.

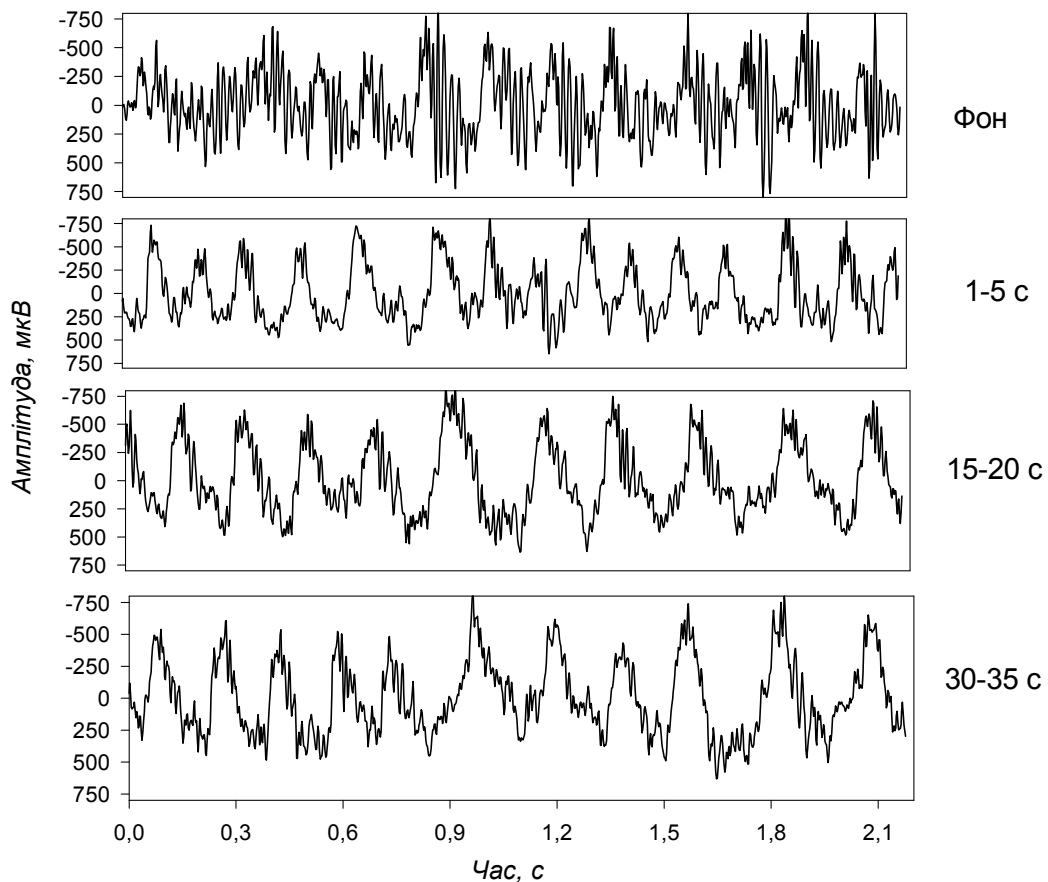


Рис. 3. Динаміка змін біоелектричної активності НЦ мишей на пред'явлення одоранту (лавандова олія)

Отримані результати, на наш погляд, не лише вказують на здатність НЦ реагувати змінами їх потужнісно-частотного складу ЕА на пред'явлення специфічних нюхових подразників, але й свідчать, очевидно, про «чутливість» НЦ до значно тонших центральних ефектів, навіть таких, як коливання функціональної активності церебральних структур, зокрема неокортексу, в зв'язку із сенсорними процесами.

Висновки

Ольфактивна стимуляція лавандовою олією та ваніліном у лабораторних тварин зумовлює суттєве ($p < 0,01-0,05$) пригнічення в ЕА НЦ спалахових компонентів ОАР і зростання проявів респіраторних хвиль ($p < 0,01$), що ставить під сумнів суто ольфактивну природу ОАР і зумовлює необхідність детальних досліджень риненцефально-неокортикальних взаємовідношень.

Простежена динаміка спектральних характеристик ЕА риненцефальних структур при пред'явленні запахів подразників, суттєвіша у тварин з нижчим рівнем диференціації неокортексу, дозволяє стверджувати про провоковану вірогідну ($p < 0,01-0,05$) перебудову проявів спалахових компонентів високочастотних діапазонів поряд зі зростанням проявів РХ ($p < 0,01$) в первинних нюхових центрах.

Список літератури

Ганжа Б.Л. Ольфакто-амигдалярна система мозку як нейробиологічна концепція // Вісник Київського національного університету. Проблеми регуляції фізіологічних функцій. Вип.6. – К.: ВЦ «Київський університет», 2000. – С. 36–40. /Ganzha B.L. Ol'fakto-amygdalyarna systema mozku yak neyrobiologichna kontseptsiya // Visnyk Kyivs'kogo natsional'nogo universytetu. Problemy regulyatsii fiziologichnykh funktsiy. Vyp.6. – K.: VTs «Kyivs'kiy universytet», 2000. – S. 36–40/

- Ганжа Б.Л., Зима И.Г., Илюха В.А. Пейсмейкерный механизм генерации ольфакто-амигдалярного ритма в обонятельной луковице собаки и крысы // Матеріали XI Международн. научн. конф. по нейрокибернетике. – Ростов на Дону, 1995. – С. 78–79. /Ganzha B.L., Zima I.G., Ilyukha V.A. Peysmekernyy mekhanizm generatsii ol'fakto-amigdalyarnogo ritma v obonyatel'noy lukovitse sobaki i krysy // Materialy XI Mezhdunarodn. nauchn. konf. po neyrokibernetike. – Rostov na Donu, 1995. – S. 78–79/
- Макарчук Н.Е., Калуев А.В. Обоняние и поведение. – К.: КСФ, 2000. – 134с. /Makarchuk N.Ye., Kaluev A.V. Obonyaniye i povedeniye. – K.: KSF, 2000. – 134s./
- Ache B.W., Young J.M. Olfaction: diverse species, conserved principles // Neuron. – 2005. – Vol.48. – P. 417–430.
- Adrian A.D. Sensory discrimination, with some recent evidence from the olfactory organ // Brit. Ved. Bull. – 1950. – Vol.6. – P. 330–332.
- Bohnen N.I., Gedela S., Kuwabara H. et al. Selective hyposmia and nigrostriatal dopaminergic denervation in Parkinson's disease // J. Neurol. – 2007. – Vol.254. – P. 84–90.
- Buck L.B. Smell and taste // In: Principles of neural science. Fourth edition. – McGrew-Hill, 2000 – P. 625–647.
- Freeman W.J. The physiology of perception // Sci. American. – 1991. – P. 74–85.
- Gervais R., Buonviso N., Martin C., Ravel N. What do electrophysiological studies tell us about processing at the olfactory bulb level? // J. Physiol. Paris. – 2007. – Vol.101. – P. 40–45.
- Hamana H., Hirono J., Kizumi M. et al. Sensitivity-dependent hierarchial receptor codes for odors // Chem. Senses. – 2003. – Vol.28. – P. 87–104.
- Lotsch J., Hummel T. The clinical significance of electrophysiological measures of olfactory function // Behav. Brain Res. – 2006. – Vol.170. – P. 78–83.
- Masago R., Shimomura Y., Iwanga K. et al. The effects of hedonic properties of odors and attentional modulation on the olfactory event-related potentials // J. Physiol. Anthropol. and Appl. Human Sci. – 2001. – Vol.20, №1. – P. 7–13.
- Rioux L., Gelber E.I., Parand L. et al. Characterization of olfactory bulb glomeruli in schizophrenia // Schizophrenia Research. – 2005. – Vol.77, issue 2–3. – P. 229–239.
- Rolls E.T., Kringelbach M.L., de Aranjó I.E.T. et al. Different representation of pleasant and unpleasant odours in the human brain // Eur. J. Neuropsychol. – 2003. – Vol.18. – P. 695–703.

Представлено: Н.В.Загоруйко / Presented by: N.V.Zagoruiko

Рекомендовано до друку: В.В.Мартиненко / Recommended for publishing by: V.V.Martynenko

Подано до редакції / Received: 20.07.2010.