

В. П. КАЗНАЧЕЕВ, М. Б. ШТАРК, В. П. ЛЕУТИН, Е. В. ШЕВЧУК

**О ВЛИЯНИИ АНТИСЫВОРОТОК К ГИППОКАМПУ
НА ИНТЕГРАЛЬНУЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ
ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС**

(Представлено академиком В. Д. Тимаковым 3 V 1971)

Современная иммунонейрофизиология, связанная с функциональным анализом белково-антигенной структуры головного мозга и изучением физиологической роли нервно-специфических белков, представлена в настоящее время четырьмя группами экспериментальных исследований. В первой из них речь идет об анализе влияния мозговых антисывороток (АС) на электрические свойства мембран нейронов и синапсов (^{3, 5, 7, 11, 15}), вторая посвящена изучению ультраструктурных изменений в нейроглиальном комплексе (^{13, 16}); в третьей говорится об эффектах АС в отношении поведения животных (^{8, 12}) и наконец, четвертая группа связана с оценкой характера воздействия АС на интегральную электрическую активность мозга (и.э.а.) (^{6, 9, 10, 14}). Последнее направление посвящено в основном анализу так называемого органоспецифического биоэлектрического эффекта и представляется нам наиболее перспективным. Настоящая работа может быть отнесена к подобным исследованиям и в нашем представлении связана с попыткой экспериментального анализа роли и места иммунонейрофизиологических закономерностей в клеточных механизмах консолидации памяти (²).

Нами исследовался характер влияния антигиппокампальных АС на и.э.а. различных отделов головного мозга крысы в условиях острого эксперимента с целью оценки э.э.г.-закономерностей органоспецифического биоэлектрического эффекта.

Исследования проведены на беспородных белых крысах обоего пола весом 250—330 г и состояли из получения АС и их испытания в рамках нейроэлектрофизиологического эксперимента. Для получения АС гомогенаты свежей ткани гиппокампа, удаленного оперативным путем, ресуспендировались с адъювантом Фрейнда (1:1) и инъектировались подкожно кроликам породы Шеншилла (из расчета 1 г ткани на 1 кг веса). Затем через 14 и 21 день повторялись инъекции ткани гиппокампа (1 г в физиологическом растворе на 1 кг веса). Присутствие антител в АС контролировалось иммунодиффузионными методами, γ -глобулины лиофилизировались и растворялись затем в дистиллированной воде до концентрации 40—60 мг белка в 1 мл непосредственно перед введением АС в мозг*.

Животные поверхностно наркотизировались эфиром, подвергались трахеотомии, курарезировались (*d*-тубокурарин, 0,02 мг на 100 г веса), переводились на аппаратное дыхание и фиксировались в головодержателе стереотаксического прибора. Погружение электродов в хвостатое ядро, правый и левый гиппокамп, задний гипоталамус, гигантоклеточное ядро ретикулярной формации проводилось по атласу Маршалла и Фифковой (*). Температура тела поддерживалась автоматически в пределах 36—38°. После оксечания опытов положение электродов маркировалось.

Анализируемый материал распределился следующим образом: а) I серия (16 контрольных экспериментов), куда входят длительная регистра-

* АС были получены С. М. Свиридовым в Институте цитологии и гистологии СО АН СССР, он же консультировал некоторые иммунологические вопросы, за что авторы ему глубоко признательны.

ция и.э.а. в течение 8—10 час, и опыты, где проводились интравентрикулярные введения неиммунного γ -глобулина и физиологического раствора; б) II серия, включающая весь материал по введению АС (6—12% раствора), которое производилось при помощи микроинъектора (0,01 мл) в левый боковой желудочек через час после погружения канюли и электродов. Для регистрации и.э.а. мозга крыс была предложена оригинальная конструкция — печатная плата, несущая электроды и разъемы для соединения со входом усилителя, которая закреплялась в стереотаксическом приборе (⁷).

Регистрация, анализ и интегрирование э.а. мозга проводились на многоканальной установке (рис. 1, А), где напряжение э.э.г. снималось с выхода анализатора частот и подавалось в схему измерения и.э.а. или ее ритма, выполненную при помощи двух аналоговых вычислительных машин типа МН-7. Эпоха интегрирования была равна 10 сек., после чего самописец вычерчивал на бумаге отметки, величина которых пропорциональна амплитуде выделенных ритмов. Последующая обработка сводилась либо к построению дискретных графиков по динамике ритмов, выделенных анализатором, либо к оценке и.э.а. путем нанесения на график средней отметки интегрирования за каждые 5 мин. (рис. 1, А, Б). Оценка влияния АС на и.э.а. проводилась с учетом динамики изменений регулярности и амплитуды выделенных частот, особенно 0-ритма, как доминирующей формы и.э.а. мозга крыс. Этот диапазон и.э.а. наиболее чувствителен к внешним воздействиям, в особенности связанным с экспериментальными влияниями на организм. Не менее важно и то, что в опытах использовалась АС к гиппокампу, участие которого (вместе с септум) в формировании 0-ритма является доказанным (¹).

Результаты. В контрольных экспериментах длительная регистрация и.э.а. и выделенных ритмов в течение 8—10 час., а также введение в желудочек физиологического раствора или 6—12% неиммунного γ -глобулина не меняли исходного уровня и.э.а. и характеризовались только присутствием «эффекта введения» — увеличением или падением регулярности и амплитуды 0-ритма в левом гиппокампе и некоторых других образованиях мозга в первые 30—45 мин. после инъекции (рис. 1 Б, II).

Анализ и.э.а. выделенных ритмов методом суперпозиции показал следующее (рис. 1, Б, I). В хвостатом ядре и ретикулярной формации среднего мозга отмечается «эффект введения», связываемый нами с изменениями ликвородинамики при интравентрикулярной инъекции АС. Во всех (кроме одного) экспериментах и.э.а. этих образований и исходные значения 0-ритма в них оставались постоянными. Если и наблюдались какие-либо сдвиги, то они в равной степени носили как характер кратковременного увеличения, так и подавления 0-ритма и регистрировались в первые 45 мин. после инъекции. Для гипоталамической области характерна разнонаправленность изменений, регистрируемых через 3 и 5 час. после введения АС.

В левом гиппокампе четко выражен «эффект введения» АС в виде падения 0-ритма (кроме одного эксперимента, где был противоположный эффект). Следующие за этим феноменом изменения и.э.а. и 0-ритма в равной мере характеризовались как увеличением, так и падением регулярности доминирующей активности. В контрольных опытах наблюдалась сходная картина (рис. 1, Б, I, II). Δ -Ритм во всех описанных экспериментах не менялся.

Динамика изменений и.э.а. и выделенных ритмов в правом гиппокампе наиболее важна для оценки «органотипического» биоэлектрического эффекта. Прежде всего, в суперпонированных графиках отсутствует «эффект введения», весьма выраженный в противоположном отделе мозга (рис. 1, Б, I, II). Довольно четко влияние АС сказывается в увеличении регулярности и амплитуды 0-ритма, возникающего обычно к концу второго часа и сохраняющегося до конца эксперимента (рис. 1, Б) с

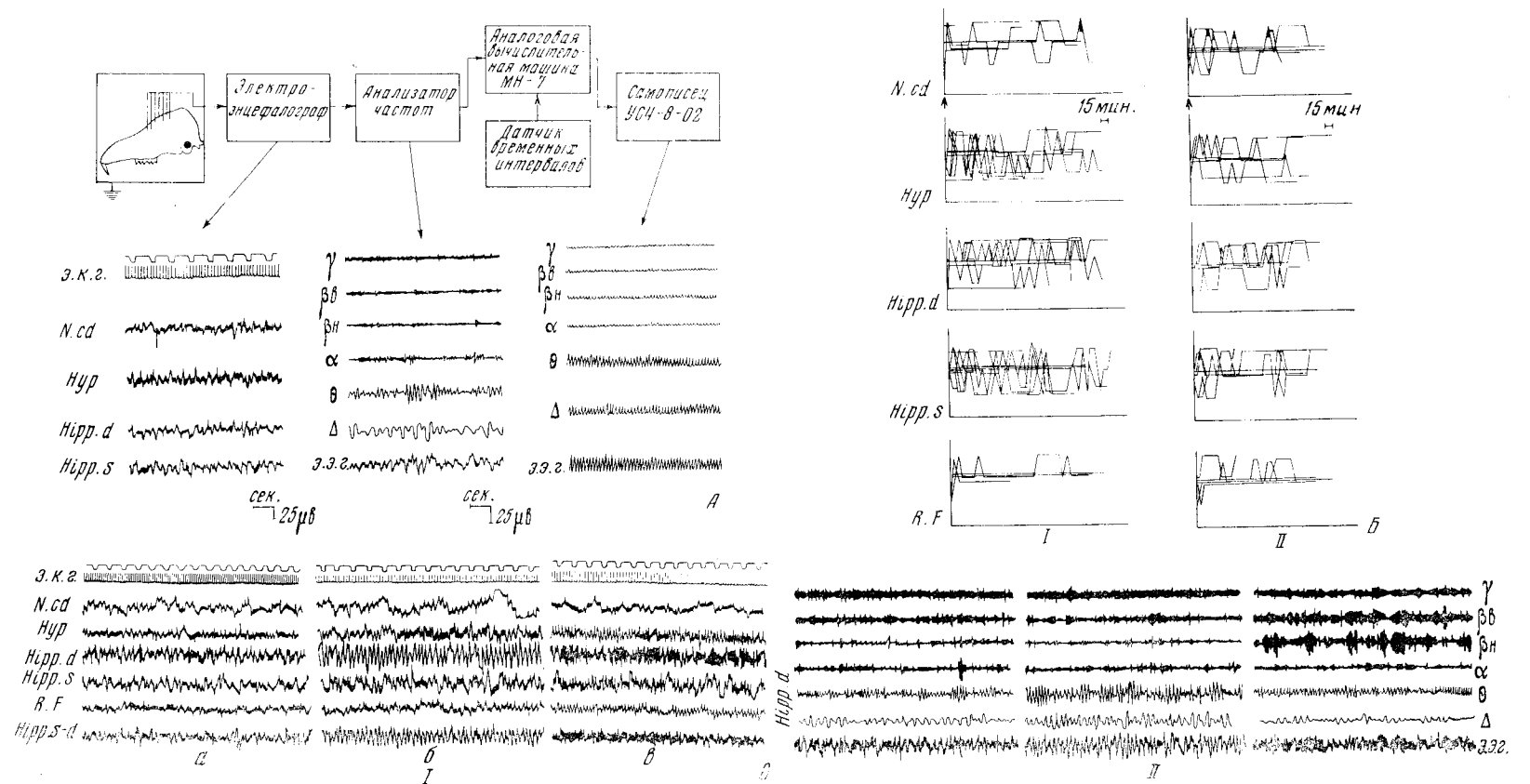


Рис. 1. А — блок-схема установки для частотно-амплитудного анализа и интегрирования электрической активности мозга крыс и образцы записи самописцев. Слева направо: э.э.г., выделенные ритмы, отметки интегрирования. Обозначения: э.э.г. — электрокардиограмма, *N.cd* — хвостатое ядро, *Нур* — гипоталамус, *Hipp.d.*, *s* — гиппокамп правый и левый, *R.F.* — ретикулярная формация, γ , θ , δ , β , Δ — ритмы э.э.г. *В* — динамика θ -ритма в различных ядерных образованиях мозга крысы. *I* — с введением сыворотки против гиппокампа, *II* — контроль, не иммунный γ -глобулин. Стрелка — момент введения АС или контрольного раствора. Пояснения в тексте. *В* — *I. а* — фон, *б* — через 2 часа, *в* — через 5 час. после введения АС; *II* — анализ выделенных ритмов в правом гиппокампе (соответственно *а*, *б* и *в*). Калибровка та же, что и на *А*.

некоторыми изменениями в последующем; они сводятся к повторному увеличению описанных характеристик и потому позволяют нам говорить о наличии двуфазного эффекта АС в правом гиппокампе. В контрольных опытах описанные выше изменения отсутствовали.

Какие заключения следуют из представленного материала? Можно сказать, что АС оказывают четкое влияние на и.э.а. и динамику θ -ритма крыс в условиях острого эксперимента. По степени выраженности и однонаправленности этих изменений отделы мозга могут быть распределены в следующей последовательности: правый гиппокамп — левый гиппокамп — гипоталамус и затем остальные исследуемые образования.

Если согласиться с таким заключением, то необходимо будет признать наличие в наших экспериментах «органоспецифического» биоэлектрического эффекта в связи с интрацеребральным введением АС к гиппокампу: наиболее определенные изменения электрогенеза прослеживаются в правом гиппокампе, образовании, характеризующемся большим сродством к АС и, к тому же, расположенном на максимальном расстоянии от места введения сывороток по сравнению со всеми остальными исследованными структурами.

Следует подчеркнуть предварительность наших заключений. Эта осторожность диктуется несколькими обстоятельствами, первое из которых — отсутствие в наших экспериментах специфических АС, свободных от сходных антител в отношении к другим подкорковым образованиям мозга и коре больших полушарий. Это делает затруднительным, как и в (¹⁰, ¹²), заключение о специфичности изменений и.э.а., несмотря на то, что основания в пользу подобного вывода у нас есть. Мы имеем в виду характер биоэлектрической реакции правого гиппокампа на введение АС. Второе связано с особенностями острого эксперимента и относится к травматизации ядер электродами. Этот факт отсутствовал бы в хронических исследованиях, где введение АС и контрольных растворов приводится через несколько дней после имплантации электродов и канюль. Однако нужно подчеркнуть, что в этом отношении все исследуемые структуры находились в равных условиях.

Описанные в правом гиппокампе изменения и.э.а. и θ -ритма обычно наблюдались между 90—120 мин. после введения АС, а затем повторялись (сохраняя первоначальные тенденции) между 4 и 6 часами исследования. Как следует из работ, приведенных на целом животном (¹⁰, ¹²), а также на препарате окологлоточного ганглия моллюсков и в культуре нервной ткани (³, ¹⁵), изменения электрических характеристик нейронов и ультраструктуры клеток развиваются обычно к концу второго часа, а завершаются, чаще всего, после 4—6 час., что делает сравнимыми временные характеристики описанного нами биоэлектрического эффекта.

Новосибирский медицинский институт
Институт автоматики и электрометрии
Сибирского отделения Академии наук СССР

Поступило
20 IV 1971

Новосибирск

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. И. Гусельников, А. Я. Супин, Ритмическая активность головного мозга, М., 1969. ² М. Б. Штарк, Н. Г. Юргелайтис, Е. Н. Фок, Физиол. журн. УРСР, 10, 4, 550 (1968). ³ M. B. Bornstain, S. M. Crain, Science, 148, 1244 (1965). ⁴ J. Bures, P. Petran, J. Zachar, Electrophysiol. Methods in Biological Research, Prague, 1967. ⁵ J. A. Corfi, G. Carels, Science, 152, 1066 (1965). ⁶ R. C. Heath, M. Krupp, Am. J. Psychiatry, 123, 1499 (1967). ⁷ F. Huneus-Cox, H. L. Fernandez, B. H. Smith, Biophys. J., 6, 675 (1966). ⁸ B. D. Janković, Lj. Rakić et al., Nature, 218, 20, 270 (1968). ⁹ B. D. Janković, Lj. Rakić, M. Sestović, Experientia, 25/10, 1050 (1969). ¹⁰ Lj. Mihailović, B. D. Janković, Nature, 192, 665 (1961). ¹¹ Lj. Mihailović, B. D. Janković et al., Nature, 206, 904 (1965). ¹² Lj. Mihailović, J. Divač et al., Exp. Neurol., 24, 325 (1969). ¹³ E. de Robertis, E. Lapetina et al., Life Sci., 5, 1979 (1966). ¹⁴ E. de Robertis, E. Alberice et al., Life Sci., 5, 577 (1966). ¹⁵ E. de Robertis, E. Lapetina, F. Wald, Exp. Neurol., 21, 322 (1968). ¹⁶ M. T. Sabatini, H. de Pellegrino et al., Exp. Neurol., 12, 370 (1965). ¹⁷ F. Wald, A. Masuchelli et al., Exp. Neurol., 21, 336 (1968).