

## НАУКОВІ ОГЛЯДИ

В.Н. Казаков, И.Э. Кузнецов<sup>1</sup>, Л.В. Натрус, Е.В. Гайдарова, А.А. Вислый,  
О.Н. Гончаренко, Е.В. Филюшина

**НОВАЯ КОНЦЕПЦИЯ РЕГУЛЯЦИИ ОСМОТИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА  
(некоторые итоги двадцатилетнего опыта изучения водно-солевого баланса организма)**

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького, Украина  
Харьковский национальный фармацевтический университет, Украина<sup>1</sup>

**Реферат.** Работа посвящена выявлению закономерностей структурных и функциональных перестроек нейронной сети преоптического/переднего гипоталамуса (РО/АН), которая обеспечивает поддержание водно-электролитного баланса при физиологических сдвигах  $Na^+$ /осмотического гомеостаза. Исследованы реакции нейронов РО/АН, которые были идентифицированы по функциональному признаку (осмосенситивные элементы). Реакции регистрировали в контроле и в условиях разнонаправленных функциональных нагрузок на  $Na^+$ /осморегулирующую систему. Для создания функциональных нагрузок была использована оригинальная модель индукции длительных сдвигов в системе поддержки  $Na^+$ /осмотического гомеостаза. Определена степень адекватности такой модели и временные рамки ее применения. Дифференциальный морфометрический анализ клеточных элементов РО/АН позволил определить, что состояния экспериментальной гипер- и гипонатриемии приводят к специфическим гистологическим изменениям характеристик нейронов РО/АН. Описана временная структура фоновой импульсной активности (ИА) осмосенситивных нейронов РО/АН; показано, что сдвиг  $Na^+$ /осмотического гомеостаза приводит к специфическим преобразованиям спектра средних частот ИА – трансформации их непрерывного спектра в ограниченный набор фиксированных характеристических частот. Как наиболее общие показатели, характеризующие функциональную динамику (пластичность) нейронной сети РО/АН, учитывались два интегральных индекса: общая реактивность и отношение количества нейронов с первично тормозными и активационными реакциями. На основании этих критериев были выделены два основных типа реакций – активизирующий и ограничительный. Оказалось, что ограничительный тип реакций в условиях разнонаправленных сдвигов водно-солевого баланса явно превалирует. Проанализированы возможные механизмы развития указанных типов реакций, выделены ключевые звенья нейронной сети РО/АН и обозначены возможные базовые процессы, лежащие в основе модификации нейронных реакций при изменении условий функционирования данной сети. Специальное внимание уделено модификациям исходной активности нейронной сети РО/АН. Высказана оригинальная трактовка реакций нейронов РО/АН на изменение  $Na^+$ /осмотического гомеостаза. В реакции на изменение водно-солевого баланса включаются структуры циркусвентрикулярных органов (афферентная часть управления), медиальная преоптическая область, главным образом, ее медианное ядро (интегративный отдел системы управления) и структуры переднего гипоталамуса – супраоптическое и паравентрикулярное ядра (эффекторный отдел системы).

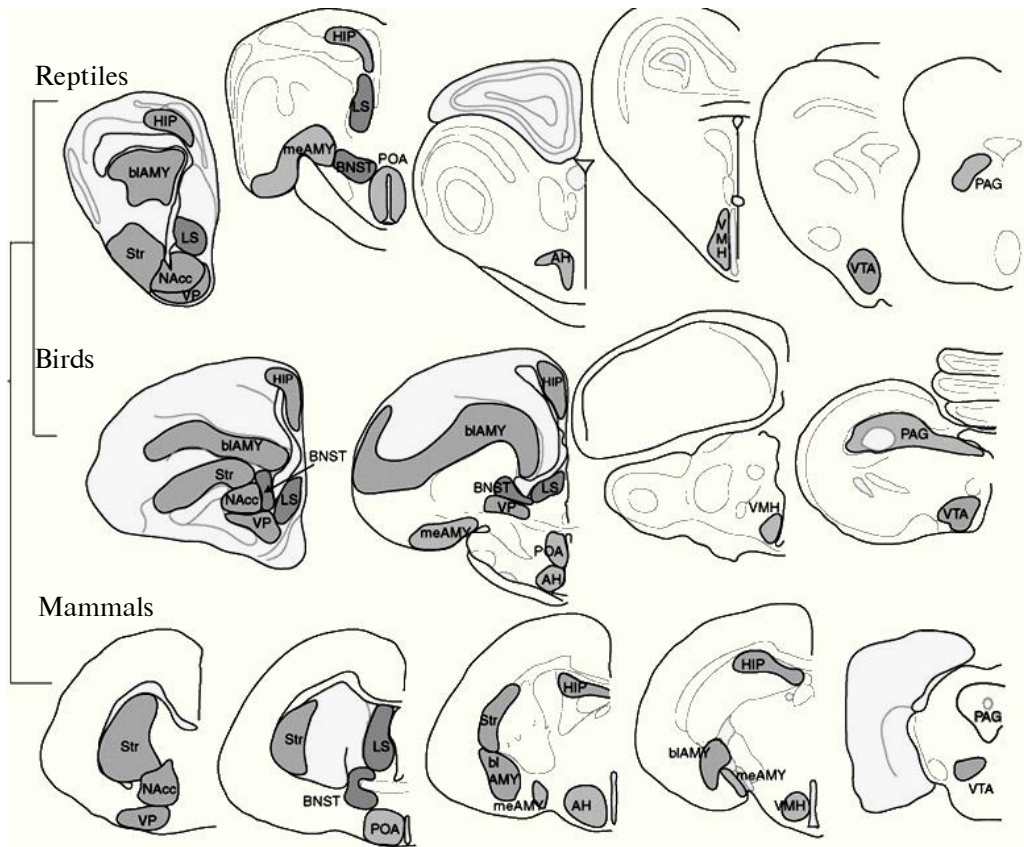
**Ключевые слова:** водно-солевой гомеостаз, интернейронная сеть, преоптическая область и передний гипоталамус, осмосенситивные нейроны, экспериментальный анализ гипер- и гипонатриемия, морфометрический анализ

Термин «гомеостаз» был предложен в 1929 году профессором Гарвардского университета Уолтером Кенноном [49]. Следует, однако, заметить, что еще за 50 лет до него, в 1878 году

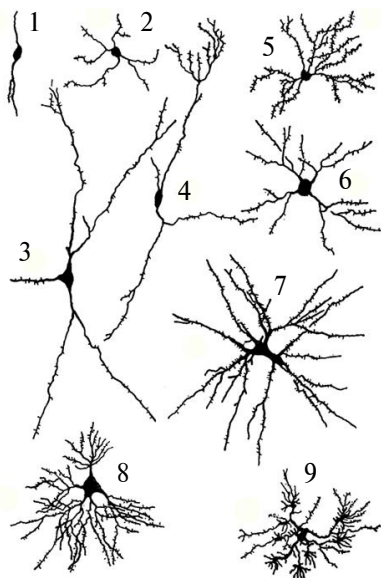
знаменитый французский естествоиспытатель Клод Бернар [46] сформулировал идею о постоянстве внутренней среды организма. Он писал, что «...все жизненные процессы имеют только одну цель – поддержание постоянства условий жизни во внутренней среде организма – залога нашей свободной и независимой жизни». За прошедшие 135 лет идеология гомеостаза претерпела существенную трансформацию, однако и сегодня относительное динамическое постоянство во внутренней среде организма, как основа его жизнедеятельности, является ареной множества дискуссий и споров [5, 9]. Это касается, главным образом, механизмов управления постоянством во внутренней среде организма, а также взаимодействия отдельных регуляторных механизмов, которые, в конечном счете, приводят к установлению в организме подвижного физиологического фона или баланса, что мы, собственно, и называем гомеостазом [4, 5].

На протяжении 20-и лет в нашей лаборатории изучаются центральные механизмы, обеспечивающие поддержание констант гомеостаза [4-10, 14-16, 19-21, 23-27, 29-37, 63, 65-67, 70-74, 101]. Как оказалось, одним из главных дирижеров в обеспечении динамического постоянства во внутренней среде организма является такая структура переднего мозга, как гипоталамус, но особенно его преоптическая область. Несколько слов о том, что собою представляют ядра гипоталамуса.

**Преоптическая область и передний гипоталамус.** Является симметричной структурой, которая располагается в медиобазальной части переднего мозга, ростральнее гипоталамуса. Нейрофизиологи-эволюционисты как, например, А.И.Карамян [22], считают преоптическую область самым старым подразделением гипоталамуса, в связи с чем в термин «проталамус» включают преоптическую область и передний гипоталамус. Следует отметить, что преоптическая область, прилежащая рострально к гипоталамусу, существенно не эволюционирует, по сравнению с тем, как это происходит с молодыми структурами среднего и заднего гипоталамуса (рис.1). Характерно, что у низших млекопитающих (грызуны) трудно провести границу между преоптической областью и передним гипоталамусом, тогда как уже у хищных (фелиды) мы видим четкое разделение и дифференцировку ядер в пределах преоптической области и гипоталамуса. Именно



**Рис. 1.** Эволюция преоптической области (POA) и переднего гипоталамуса (АН) у рептилий, птиц и млекопитающих (По: O'Connell L.F., Hofmann H.F. Evolution of a Vertebrate Social Decision – Marking Network // *Science*. – 2012. – Vol.366, No. 3. – P.1154–1157).



А



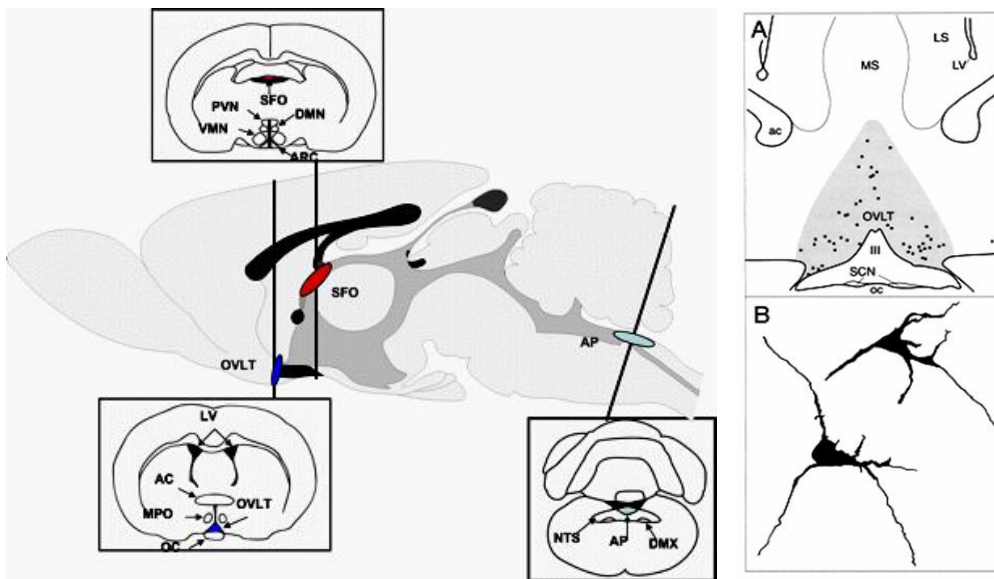
Б

**Рис. 2.** Нейронное строение структур переднего мозга млекопитающих. А – различные виды нейронов подкорковых центров переднего мозга собаки (По: Леонтович Т.А. *Нейронная организация подкорковых образований переднего мозга*. М.: Медицина, 1978, 383 с.). 1-3 – редковетвистые нейроны: нейробластоформный (1), короткодендритный (2), ретикулярный (3); 4-9 – густоветвистые нейроны: штамбовый (4), древовидные: густо-шиповидный (5) и редкошиповидный (6), мультиполярный гигантский (7), кустовидный (8) и кисточковый (9). Б – нейроны преоптической области. Справа сверху – схема расположения преоптической области и структур гипоталамуса на сагитальном разрезе мозга.

передний гипоталамус определяется как единая структура и обозначается как РО/АН. Мы в этой работе будем придерживаться этого положения, поскольку в переднем гипоталамусе располагаются два ядра – супраоптическое (SON) и паравентрикулярное (PVN), имеющие, как будет указано ниже, непосредственное отношение к управлению водно-солевым гомеостазом.

Медиоростральную часть преоптической области занимает медиальная преоптическая зона (МРА). Центральное место принадлежит медиальному (МРО) и латеральному (LPO) преоптическим ядрам, последнее из которых переходит в латеральный гипоталамус (HL). Самую латеральную часть рострального отдела преоптической области занимает крупноклеточное преоптическое ядро (РОмс).

Дорсальная часть перивентрикулярной зоны медиальной преоптической области занята ядром, именуемым *nucleus*



**Рис.3.** Слева — в центре рисунка показано схематически представление всех трех сенсорных циркумвентрикулярных органов в мозге (По: Fry M., Houde T.D., Ferguson A.V. *Exp. Biol. Med.* — 2007. — Vol.232, № 1. — P.14-26). Три фронтальных среза мозга произведены в области *organum vasculosum laminae terminalis* (OVLT), в области субфорникального органа (SFO) в проекции гипоталамуса и *area postrema* (AP) продолговатого мозга. Из других структур обозначены: PVN, *paraventricular nucleus of the hypothalamus*; VMN, *ventromedial nucleus*; DMN, *dorso-medial nucleus*; ARC, *arcuate nucleus of the hypothalamus*; MPO, *nucleus preopticus*; AC, *commissura anterior*; OC, *chiasma opticum*; NTS, *nucleus of the solitary tract*; DMX: *dorsal motor nucleus of the vagus*. Справа — расположение нейронов, иммунореактивных к гонадотропин-релизинг фактору (*GnRF*). А — в ростральном отделе преоптической области и OVLT и В — их микроскопическая структура (По: Kim S.-Ji, Foster D.L., Wood R.I. *Biol.Reprod.* — 1999. — Vol.61, No. 3. — P.599-605).

*medianus*, или медианным преоптическим ядром (MnPO), которое тянется вдоль средней линии между колоннами свода и по отношению к *commissura anterior* состоит из вентрального и дорсального отделов.

Передний гипоталамус (АН) у крыс и кошек содержит SON, PVN. Кроме того, у кошек в нем выделяется дорсальное гипоталамическое ядро переднего гипоталамуса (aHd),

Представляет существенный интерес морфологическая структура преоптической области, которая имеет сексуальный диморфизм — в виде специального мужского полового ядра.

На рисунке 2 представленном в монографии Т.А. Леонтович «Нейронная организация подкорковых образований переднего мозга», изданной в 1978 году [28], видно, что клетки здесь относительно редко расположены, и это придает морфологически ядрам этой области характерный монотонный вид. В этой области переднего мозга, представлены редковетвистые нейроны ретикулярного типа.

Такая исключительная морфологическая однородность с отсутствием скоплений нейронов, характерных для ядерных структур мозга, вызывает недоумение, поскольку участие подразделений преоптической области в регуляции множества самых разных функций хорошо известно. Следовательно, в структуре преоптических ядер можно было ожидать наличие отделов, имеющих какие-либо морфологические различия. Но, как мы видим, здесь нет четкой нейронной дифференциации, и поэтому выделение ядер скорее связано не с различиями в нейронной структуре

или со степенью концентрации однородных элементов, а с нейрохимическими свойствами нейронов или началом либо окончанием нейронных путей.

**Циркумвентрикулярные органы.** Они тесно связаны с рядом преоптических ядер. Поскольку все эти структуры расположены по периферии желудочковой системы, было предложено называть их органами циркумвентрикулярной системы. Наиболее подробно она изучена у млекопитающих, где выделено несколько групп таких органов (рис.3).

Наиболее важными из них являются субфорникальный орган (SFO), *organum vasculosum laminae terminalis* (OVLT) переднего рога III желудочка и *area postrema* (AP) продолговатого мозга. Эти органы являются уникальными образованиями мозга ввиду отсутствия у них гематоэнцефалического барьера [9, 50, 61, 92, 97]. SFO и OVLT имеют самые тесные связи с перивентрикулярным отделом медиальной преоптической области и медианным преоптическим ядром, и это обстоятельство играет огромную роль в обеспечении гомеостатической регуляции [45, 50, 91-93].

Три ядра — SFO, OVLT и AP — именуются сенсорными органами циркумвентрикулярной системы. Эти структуры представлены такими участками стенок мозговых желудочков, где эпендимная выстилка полностью или частично замещается на нервные или нейросекреторные клетки и в них имеется необычная система капилляров. Накоплено значительное количество данных о том, что «негерметичные» участки OVLT могут служить границей раздела между кровью и мозгом при воспалении [5, 9]. В частности, известна роль OVLT при лихорадке, индуцированной различными цитокинами или воспалительными стимулами. Поэтому OVLT был предложен как возможный «путь» влияния интерлейкинов на нейронную активность. К этим же органам относится преоптический вырост (RPO), где в просвет желудочков выходят отростки специализированных нейросекреторных клеток медиального преоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса. Ликвор-контактирующие нейроны этих образований сек-



ретируют в спинномозговую жидкость биологически активные вещества – нейрого르몬ы, медиаторы, нейропептиды, которые затем через систему мозговых оболочек попадают в кровь.

О важности SFO говорит тот факт, что у низших позвоночных он отсутствует и появляется впервые только у рептилий. Появление в ходе эволюции SFO у этих позвоночных связывают с наземным образом жизни. Полагают, что SFO, как и OVLT, принимает участие в регуляции водно-солевого обмена. У млекопитающих SFO сложно дифференцирован и включает в свой состав несколько типов нейронов, контактирующих со спинномозговой жидкостью и периваскулярным пространством капилляров.

*Area postrema* (AP) – это крупный орган циркумвентрикулярной системы, лежащий на дорсальной поверхности стенки мозгового желудочка (IV), в каудальной части продолговатого мозга. AP – это позднее приобретение филогенеза, и традиционно она рассматривается как область, присутствующая только в мозге млекопитающих и птиц. AP представляет собой участок специализированного гематоэнцефалического барьера, элементы которого выполняют нейро-секреторную функцию, выделяя физиологически активные субстанции типа ангиотензина II, серотонина, энкефалина или холецистокинина, которые контролируют обмен  $\text{Na}^+$ , регулируют кровообращение, дыхание, осморегуляцию, выделение и энергетический обмен [76]. Эпендимные клетки AP лишены ресничек и связаны друг с другом плотными контактами. В паренхиме органа присутствуют группы глиальных клеток, нейронов и аксонных терминалей разного типа. Капилляры имеют многочисленные поры и окружены широким периваскулярным пространством, которое ограничено плотной оболочкой из тел и отростков глиальных клеток.

Циркумвентрикулярные органы содержат капилляры с большей проницаемостью, чем остальная часть центральной нервной системы и плотность капилляров в этих областях является необычайно высокой. В циркумвентрикулярных органах переносимые кровью вещества относительно свободно покидают просвет капилляров и доходят до наружной границы желудочков мозга, где их задерживают плотные контакты, которыми соединены клетки эпендимы выстилающей желудочки. Эту особую организацию барьера в циркумвентрикулярных органах часто ошибочно принимают за «дефекты» в барьере. В действительности, барьер в этих областях не менее эффективен, только разделительную функцию выполняет не эндотелий капилляров, а эпендима желудочков мозга. Таким образом, барьер здесь просто отнесен чуть далее вглубь мозговой ткани и носит название гематоликворного барьера. Площадь этого барьера составляет только 0.02 % общей площади гематоэнцефалического барьера.

**Центральные механизмы управления гомеостазом.** При рассмотрении центральных механизмов управления постоянством внутренней среды организма мы непременно сталкиваемся с динамическими процессами, то есть таким свойством,

как изменения гомеостаза в определенном диапазоне колебаний. Другими словами, гомеостаз – это не застывшее (ригидное) свойство организма, а пластичная функция, темпы модификации которой определяют уровень приспособления к среде обитания.

Таким образом, пластичность – это фундаментальное свойство нервных систем позвоночных и некоторых беспозвоночных животных, которая связана с модификацией нейронных сетей взрослых особей под воздействием сигналов, обрабатываемых в этих сетях при изменении внешних условий [3, 57, 80]. Изучение феномена пластичности *in vivo* традиционно связано с высшими функциями мозга: образованием условных рефлексов, памятью, обучением и другими видами деятельности [98].

В настоящее время анализ изменений синаптической эффективности, как правило, проводится *in vitro*, то есть, фактически, на модельных системах, с использованием синхронной стимуляции какого-нибудь компактного нервного пути и регистрации постсинаптических феноменов в нейронах исследуемой сети. Подобный подход имеет определенное преимущество, учитывая возможность прямого анализа результатов контролируемых воздействий (обычно, фармакологических) в компонентах сети, в том числе на мембранном и на молекулярном уровнях. Однако существенно ограниченный характер объекта исследований и потеря большинства афферентных проекций в процессе подготовки подобных препаратов существенно лимитируют использование результатов экспериментов *in vitro* для объяснения механизмов системной деятельности мозга.

При исследовании синаптической пластичности изменения свойств нейронных сетей, как *in vivo*, так и *in vitro*, вызывались применением дискретных высокоинтенсивных стимулов в амплитудном, частотном и/или временном аспектах. В последнее время, однако, выяснилось, что длительные изменения тех или других параметров гомеостаза (то есть низкоинтенсивные недискретные воздействия, например, сдвиги водно-солевого баланса), способны существенно модифицировать свойства соответствующих нейронных сетей, привлеченных к регуляции этих параметров [56, 86, 91, 92]. Это явление, которое впервые было исследовано в гипоталамусе, получило название функционально обусловленной пластичности, или функциональной динамики [81, 83, 95, 96, 98]. Появился даже термин – гомеостатическая пластичность [98].

Введение данного термина, то есть – *функциональной динамики*, оказалось в некоторой степени парадоксальной в двух отношениях. Прежде всего, данный феномен был обнаружен в структуре, которая представляет собой высший центр гомеостатической вегетативной (в широком понимании этого термина) регуляции. Подкорковым структурам, вообще, и гипоталамусу, в частности, при исследовании пластичности ранее не уделялось значительное внимание, возможно, по той причине, что регуляция висцеральной

сферы *a priori* воспринималась как совокупность автоматических, но относительно ригидных процессов [98].

Нами в серии работ производилось выявление закономерностей структурных и функциональных перестроек нейронной сети преоптической области и переднего гипоталамуса (РО/АН), причастной к поддержанию водно-электролитного баланса, которые возникают при физиологических сдвигах  $\text{Na}^+$ /осмотического гомеостаза.

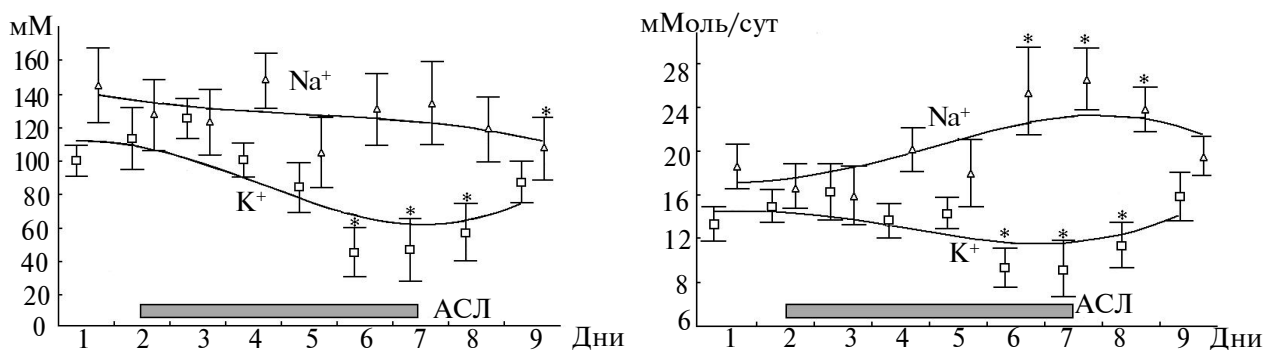
Характерной особенностью исследования был системный подход, то есть анализ функциональной динамики исследуемой нейронной сети в целом на основе оценки электрофизиологических и морфологических свойств популяций осмосенситивных нейронов РО/АН. Выбор данной нейронной сети связан с тем обстоятельством, что осмосенситивные нейроны РО/АН являются наименее изученной частью распределенной церебральной системы, которая контролирует водно-электролитный гомеостаз [4, 5, 9, 14, 23, 26, 27, 72-74]. До последнего времени в центре внимания находились только сенсорные и эфферентные/эффекторные звенья этой системы: хемосенситивные нейроны циркумвентрикулярных органов антеро-вентральной стенки III-го желудочка и нейросекреторные нейроны супраоптического (SON) и паравентрикулярного (PVN) ядер гипоталамуса [4, 5, 9, 88, 90]. Нейрофизиологическими же свойствами интегративного интернейронного звена центральной системы осморегуляции, существенной частью которой (как будет показано ниже) являются нейроны RPO, до этого времени не уделялось должного внимания. В то же время разрушение перивентрикулярной зоны RPO вызывает адипсию, снижение диуреза, угнетение питьевого поведения, которые возникают в ответ на гиперосмию и значительное уменьшение дипсогенной реакции, вызываемой ангиотензином II. Другими словами, локальное разрушение RPO приводит к резким нарушениям водно-электролитного баланса организма и соответствующих компонентов поведения [4, 5, 43, 51, 97].

Среди нейронов РО/АН определенная часть представляет собой истинные осмосенситивные элементы, что было показано как *in vivo*, так и *in*

*vitro* [2, 4, 5, 9, 24, 27, 47, 72, 82]. В то же время существуют основания полагать, что существенной особенностью нейронов данной структуры является полимодальный характер их входов [4, 5, 9]. Считалось вполне вероятным, что клетки РО/АН организованы в довольно сложную сеть, которая содержит в себе как релейные единицы, так и тормозные нейроны [2, 4, 5, 24, 27, 72]. Аксоны нейронов этой сети направлены, главным образом, к дендритам нейронов SON и PVN, где образуют около половины тормозных и более четверти возбуждающих входов на нейросекреторных клетках этих ядер, которые представляют собой эфферентные/эффекторные единицы гипоталамической системы осморегуляции.

Принципиальными особенностями проведенных исследований было комплексное описание морфологических и электрофизиологических свойств популяций нейронов, идентифицированных по функциональному признаку в экспериментах *in vivo*, а также *in vitro* на полосках мозговой ткани (*slice*) в области РО/АН. Особое внимание было обращено на интегративные функции исследуемой сети в отношении афферентных воздействий различной модальности и выяснения характера модификации свойств данной сети в условиях действия адекватных функциональных нагрузок (гипер- или гипонатриемии), что не выходит за физиологические пределы.

Общий принцип проведения экспериментов был таким: во-первых, эксперименты проводились на животных (кошки и крысы) в условиях *in vivo* и *in vitro*, то есть на целом мозге и для анализа — на слайсах (полосках ткани мозга в области РО/АН); во-вторых, создавались физиологические условия трех стандартных типов: контрольные и связанные с разнонаправленными функциональными нагрузками на  $\text{Na}^+$ /осморегулирующую систему (условия гипер- и гипонатриемии); в-третьих, данные биохимических исследований крови и мочи служили показателем степени изменения физиологических условий; в-четвертых, оценивался также неспецифический, связанный с действием экспериментальных воздействий, стрессорный компонент, что давало возможность судить об адекватности использованной модели; в-пятых, описывались в морфо-



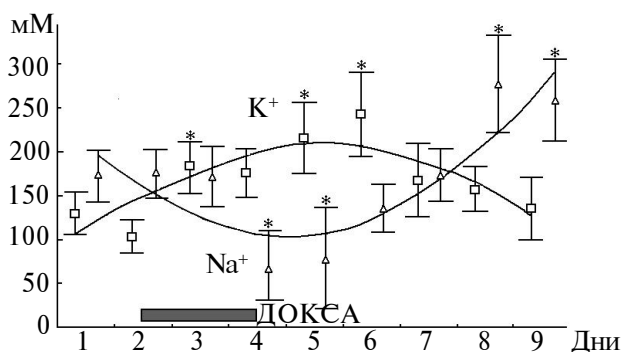
**Рис.4.** Динамика изменений концентраций  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в моче (слева) и экскреции  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  с мочой (справа) у кошек при введении АСЛ. Данные представлены как  $\bar{x} \pm Sx$ . Аппроксимация кривых проведена методом наименьших квадратов ( $stiffnes=0,5$ ). \* - отличия достоверны ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходным уровнем параметра. (По: Казаков В.Н., Кузнецов И.Э., Транковский А.М., Гайдарова Е.В. *Арх. клин. exper. мед.* — 2000. — Т.9, № 3. — С. 365-371.

логическом и электрофизиологическом аспектах свойства популяции осмосенситивных нейронов РО/АН, которые наблюдались в тех или иных условиях. В экспериментах контролировалась (согласно биохимическим и морфологическим показателям) возвратность наблюдаемых изменений. Основная часть данной работы посвящена анализу электрофизиологических проявлений функциональной динамики сети осмосенситивных нейронов РО/АН. При этом биохимические и морфологические данные могли расцениваться в определенной степени как вспомогательные.

Таким образом, нами было проведено несколько серий экспериментов, имеющих различные методы исследования, как по цели, так и по содержанию.

**Модель создания функциональной нагрузки на систему  $\text{Na}^+$ /осморегуляции.** Нами была предложена оригинальная модель создания длительных противоположных и обратимых изменений водно-солевого баланса у экспериментальных животных с использованием фармакоиндуцированных сдвигов в системе  $\text{Na}^+$ /осмотического гомеостаза.

Эксперименты проведены на взрослых беспородных кошках обоих полов весом 2,5-3,2 кг. Отбирались здоровые животные, которых размещали в виварии в условиях стандартного температурного режима и фотопериодичности. Стандартизированный корм и дистиллированная вода были доступны *ad libitum*. Через трое суток первичной адаптации животных с нормальным ритмом физиологических отправлений размещали в стандартных метаболических клетках полузакрытого типа.



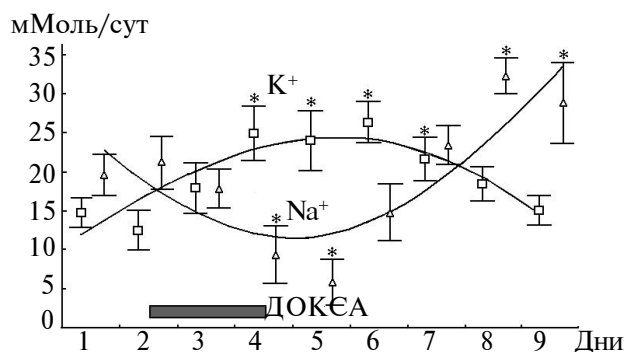
наборов фирмы «Immuno Tech» (Франция) и счетчика гамма-импульсов «Gamma» (Венгрия). При этом погрешность проборов не превышала 3%.

Животные были разделены на три группы: контрольную группу и две экспериментальные, которым вводили дезоксикортикостерона ацетат (ДОКСА) или 7 $\beta$ -ацетилспиронолактон (АСЛ). Инъекцию ДОКСА выполняли подкожно (0,05 % масляный раствор) в дозе 50 мкг/кг ежедневно в течение трех дней. АСЛ вводили перорально через зонд (0,5 мл раствора) в дозе 1 мг/кг.

Животные контрольной группы получали подкожные инъекции 0,1 мл растворителя (масла) или подвергались пероральному введению (0,5 мл 0,9 % раствора NaCl. Взятие крови у животных и все вышеуказанные манипуляции осуществлялись в интервале между 8 и 9 ч утра.

Каковы же результаты, полученные в условиях модели? Введение АСЛ в дозе 1 мг/кг вызвало достоверное увеличение диуреза и интенсивности экскреции  $\text{Na}^+$ , а также уменьшение экскреции  $\text{K}^+$  в результате снижения его концентрации в моче (рис. 4). Эффект введения АСЛ развивался относительно медленно, и изменения исследуемых показателей становились достоверными лишь на 4-5 сутки. Среднее значение диуреза в данный момент превышало исходную величину на 36 %. Концентрация  $\text{K}^+$  ( $[\text{K}^+]$ ) в моче снижалась по сравнению с исходным значением в среднем на 60 %, тогда как концентрация  $\text{Na}^+$  ( $[\text{Na}^+]$ ) снижалась меньше (на 16 %). В результате интенсивность экскреции  $\text{K}^+$  снижалась в среднем на 31 %, а  $\text{Na}^+$  — увеличивалась на 57 %.

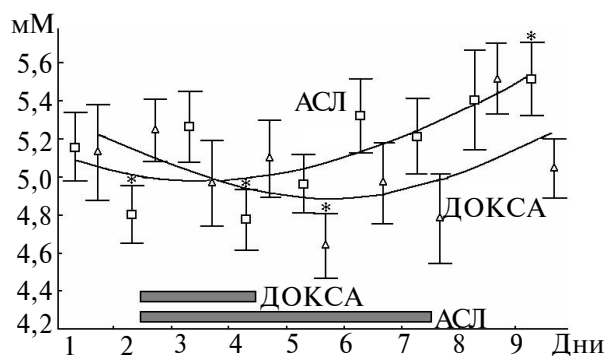
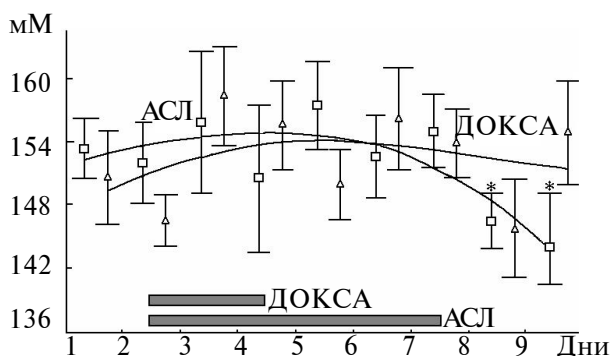
Изменения  $[\text{Na}^+]$  и  $[\text{K}^+]$  в плазме крови имели противоположный характер и сходную динамику.



**Рис.5.** Динамика изменений концентраций  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в моче (слева) и экскреции  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  с мочой (справа) у кошек при введении ДОКСА. Данные представлены как  $\bar{x} \pm Sx$ . Аппроксимация кривых проведена методом наименьших квадратов ( $stiffnes=0,5$ ). \* - отличия достоверны ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходным уровнем. (По: Казаков В.Н., Кузнецов И.Э., Транковский А.М., Гайдарова Е.В. *Арх. клин. эксперим. мед.* — 2000. — Т.9, № 3. — С. 365-371).

Определяли суточное потребление воды и пищи, объем мочи, которую выделяли животные, концентрации  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и кортизола в плазме крови и мочи. Рассчитывали суточную экскрецию определенных ионов и глюкокортикоидов. Концентрации  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  измеряли с помощью пламенной фотометрии (анализатор жидкостей ПАЖ-1, «Аналитприбор», Украина), концентрацию кортизола определяли радиоиммунологическим методом с использованием коммерческих

ку. Эти сдвиги достигали максимума на 6-7 день после начала введения препарата. В этот момент снижение  $[\text{Na}^+]$  в плазме (в среднем на 6 %) становилось достоверным ( $p < 0,05$ ). Прирост  $[\text{K}^+]$  на 6-й день достигал также 6 % ( $p < 0,05$ ). Экскреция кортизола по сравнению с исходными значениями росла в среднем на 23 %; максимальный прирост концентрации этого глюкокортикоида в плазме крови составлял 48 %.



**Рис. 6.** Динамика изменений концентрации  $K^+$  (квадраты) и  $Na^+$  (треугольники) в плазме крови кошек (слева) и экскреции этих ионов с мочой (справа) при совместном введении АСЛ и ДОКСА. Данные представлены как  $x \pm Sx$ . (По: Казаков В.Н., Кузнецов И.Э., Транковский А.М., Гайдарова Е.В. *Арх. клин. exper. мед.* — 2000. — Т.9, № 3. — С.365-371).

Введение ДОКСА не приводило к достоверным изменениям диуреза, однако концентрация электролитов в моче и их экскреция существенно менялись (рис. 5). Концентрация  $K^+$  и его экскреция росли, а концентрация  $Na^+$  и экскреция этого иона с мочой снижались, причем изменения этих параметров становились достоверными с 3-го дня введения ДОКСА.

На максимуме изменений средние значения  $[K^+]$  в моче и величина экскреции этого иона превышали исходные значения на 46 % и 44 % соответственно, а негативные сдвиги концентрации и экскреции  $Na^+$  составляли 61% и 69 % соответственно.

Характерно, что  $[Na^+]$  в плазме крови кошек, которые получали ДОКСА, увеличивалась (в максимуме реакции на 4 % выше среднего исходного значения), но эти изменения не достигали уровня достоверности ( $p > 0,05$ ) из-за существенной вариабельности индивидуальных значений.  $[K^+]$  в плазме крови менялась значительно — достоверное снижение развивалось с 3-х суток введения ДОКСА и составляло в среднем 9 %. Следует, однако, отметить, что этот эффект был недолгим.

Учитывая то, что осмолярность плазмы на 95 % определяется  $[NaCl]$ , особое внимание было уделено изменениям  $[Na^+]$ , средние значения которой в контрольной группе составили 153 (+) 6 мМ. На максимуме реакции в ДОКСА-группе соответствующие величины составляли 158(+)-11 мМ, а в АСЛ-группе — 144 (–) 12 мМ. Абсолютные сдвиги  $[Na^+]$  составили, таким образом, в группе ДОКСА (+) 6 мМ (4 %) и в группе АСЛ (–) 8,5 мМ (6 %), что позволяет говорить об умеренной гипернатриемии в ДОКСА- и гипонатриемии в АСЛ-группах. Кроме того, изменения  $[Na^+]$  были вполне обратимыми (к 5-6-му дню в ДОКСА-группе и к 8-9-му — в АСЛ-группе).

В отдельной серии экспериментов было проведено одновременное введение ДОКСА и АСЛ (рис. 6). Здесь выявилась одна парадоксальная ситуация, состоящая в том, что независимо от препарата (АСЛ или ДОКСА) направления сдвигов  $[Na^+]$  и  $[K^+]$  в крови были одинаковыми и состояли в том, что оба препарата повышали

концентрацию  $Na^+$ , а  $K^+$  — снижали. При прекращении введения АСЛ и ДОКСА показатели легко возвращались к исходному уровню.

Полученные данные свидетельствуют о том, что разработанная в нашей лаборатории модель создания функциональных нагрузок на систему регуляции водно-солевого гомеостаза может считаться достаточно адекватной в течение 3-4-х суток после начала введения ДОКСА и 5-6-х суток после начала введения АСЛ.

В данные моменты экскреторная функция почек в отношении  $Na^+$ ,  $K^+$  и воды существенно изменяется, и  $[Na^+]$  и  $[K^+]$  в плазме крови в течение некоторого времени заметно отличаются от исходных уровней. Вместе с тем, как позитивные, так и негативные сдвиги  $[Na^+]$  и  $[K^+]$ , как правило, не превышают 10 % исходных значений этих параметров.

Поскольку сдвиги  $[Na^+]$  и  $[K^+]$  в обеих экспериментальных группах были разнонаправленными, а содержание воды в плазме меняется максимально на несколько процентов, можно сделать заключение, что сдвиги осмолярности плазмы у животных обеих групп не достигают патологических значений, то есть находятся в пределах физиологических колебаний, которые могут наблюдаться при дегидратации во время жары или поступлении солей с пищей.

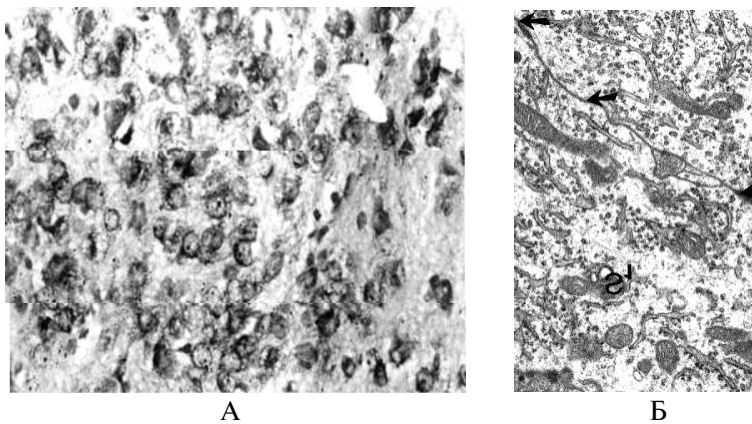
При сравнении влияния введения АСЛ и ДОКСА оказалось, что они по продолжительности соответствуют двум описанным выше экспериментальным группам.

Существенной характеристикой адекватности экспериментальных моделей, подобных нашей, является степень их связи со стрессом. Оценка стрессогенности по уровню глюкокортикоидов (кортизола) в плазме крови показала, что значение данного показателя в ДОКСА- и АСЛ-группах росло в среднем примерно в 1,3-1,5 раза. Это вполне естественно, поскольку стресс и, соответственно, прирост секреции кортизола и его уровня в крови сопровождает любые манипуляции с животными. Согласно общепризнанным взглядам, выраженный стресс сопровождается 5-10-кратным повышением концентрации глюкокортикоидов в плазме.



Таким образом, в условиях нашей модели сдвиги  $[Na^+]$  и  $[K^+]$  в плазме крови возникали на фоне стрессовых реакций слабой или средней степени. Это позволяет считать, что сдвиги функциональной активности исследуемых нейронных сетей, вовлеченных в регуляцию водно-солевого обмена, являются достаточно специфическими.

**Морфологические исследования.** Использовалась стандартная процедура подготовки животных. Обследовано 5 экспериментальных групп, каждая из которых содержала по 5 животных: контрольная, группы с введением ДОКСА, АСЛ, с ДОКСА/восстановлением и с АСЛ/восстановлением. По завершению подготовки животных выводили из эксперимента летальной дозой нембутала, изымали головной мозг, выделяли участки РО/АН и фиксировали ее по Шабдашу в



**Рис. 7.** Микрофотография МРО крысы (А). Видны «светлые» и отдельные «темные» элементы. Окраска по Ниссляу  $\times 200$ . Электронная микроскопия в дорсальном отделе МРО (Б). Видна сома нейрона, к которому в правом верхнем углу примыкает дендрит (граница показана стрелкой) и элементы глии (По: Казаков В.Н., Гайдарова Е.В., Кузнецов И.Э., Натрус Л.В. *Арх. клин. эксперим. мед.* – 1999. – Т.8, № 2. – С. 143-148).

течение 24 ч. Согласно общегистологическим методам, осуществляли дегидратацию, просветление и заливку материала в парафин. Из парафиновых блоков готовили гистологические срезы толщиной  $5^{-1}$  мкм, которые красили толуидиновым синим по Ниссляу. На серийных гистологических препаратах определяли топографию соответствующих 5-ти зон РО/АН, в каждой из которых подсчитывали относительное количество разных типов нервных и глиальных клеток. Дифференциацию различных типов глиоцитов выполняли в соответствии с рекомендациями А. Хэма и Д. Кормака [41]. С помощью оптического микроскопа (*Olympus BX-40*), оснащенного цифровой фотокамерой, с использованием соответствующих компьютерных программ (*Olympus DP-Soft*) определяли площади поперечных сечений нейронов, присутствующих на препаратах (учитывались только перикариональные сечения), и рассчитывали условные диаметры этих клеток, то есть диаметры кругов, равновеликих площадям их сечений [1]. Рассчитывали также нейро-глиальное отношение – среднее значение отношения количества нейронов к количеству

глиоцитов в 10-ти полях зрения в каждой зоне на серийных препаратах. Обработку полученных числовых данных проводили с помощью пакета прикладных компьютерных программ статистического анализа *Statistica 5.0 (StatSoft, США)*.

Изучение морфологии различных зон РО/АН показало, что как в группе контроля, так и в группах с экспериментальной гипер- и гипонатриемией нейроны исследуемой структуры характеризуются выраженным полиморфизмом [6, 27, 101].

Среди нейроцитов во всех трех группах наблюдались клетки с различными уровнями базофильности ядра – «светлые» и «темные» нейроны [6, 101].

В этих двух группах, в свою очередь, мог быть выделен ряд подгрупп в зависимости от относительного объема цитоплазмы, равномерного или неравномерного характера распределения в ней хроматофильной субстанции, объема, интенсивности окраски и текстуры ядра (рис.7).

Известно, что особенности окраски по Ниссляу коррелируют с различными функциональными особенностями нервных клеток. Поскольку данный метод обнаруживает специфическую органеллу нейрона – хроматофильную субстанцию, то характер ее окраски является морфологическим отражением функционального состояния нейронов.

Установлено, что длительная активация приводит к снижению содержания и изменению тинкториальных свойств тигроида, количество которого восстанавливается в состоянии покоя.

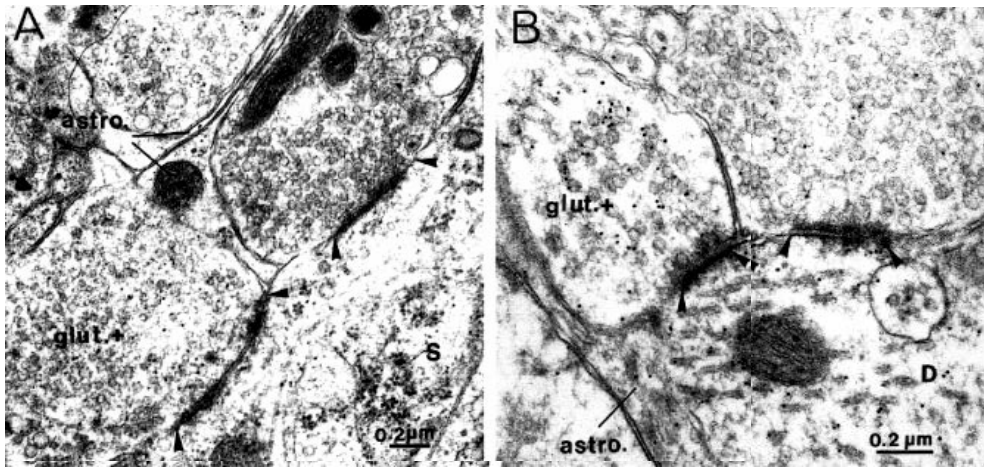
Распространенным является мнение о том, что «темные» клетки являются неактивными, или резервными единицами, а «светлые» – активно функционирующими элементами [6, 27, 28].

Определенная часть «темных» нейроцитов с признаками карио- и цитопикноза, возможно, является нейронами, в которых начались апоптотические изменения.

При этом клетки с полярно дифференцированной цитоплазмой (за счет неравномерного реагирования хроматофильной субстанции) считаются активно функционирующими, а уменьшение относительного объема цитоплазмы может свидетельствовать о вступлении клеток в фазу затухания.

Результаты наших экспериментов показали, что сдвиги в состоянии систем осморегуляции приводят к заметным изменениям относительного количества нейронов с различными типами окраски по Ниссляу (рис. 7). Наиболее общим феноменом оказалось то, что состояния и гипер-, и гипонатриемии, конечно, коррелировали с заметным увеличением относительного числа «светлых» нейронов в РО/АН [6]. Изменения в разных зонах РО/АН характеризовались определенной спецификой.





**Рис. 8.** Электронная микроскопия обогащенных глутаматергических иммунореактивных структур в переднем гипоталамусе (aHd), показанных как *glut+*. Эти структуры видны в зоне синаптического контакта (стрелки) на соме (S; A) и дендритах (D; B). Предполагаемые ГАМК-ергические симметричные синапсы (A) и (B) располагаются смежно с тонкой структурой астроцитов, показанных, как *astro.* (По: El Majdoubi M., Poulain D.A., Theodosis D.T. *Neuroscience*. — 1997. — Vol. 80, No. 6. — P. 1137-1147).

Это позволяет предположить, что глобальным эффектом сдвигов  $\text{Na}^+$ /осмотического гомеостаза в отношении нейронов РО/АН является увеличение количества нервных элементов с повышенным уровнем метаболизма, причем независимо от направления гомеостатических сдвигов [27].

Другим морфологическим феноменом, который сопровождал экспериментальные сдвиги  $\text{Na}^+$ /осмотического гомеостаза, является изменение размеров нейронов РО/АН [6]. И в этом случае характер изменений данного параметра ненамного зависел от направления изменений осмолярно-

сти плазмы.

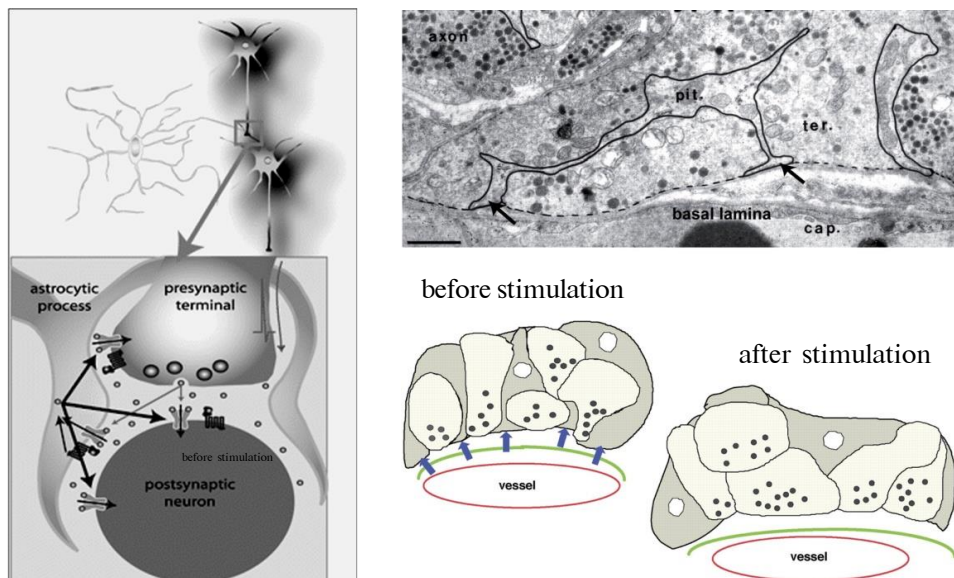
Фактически единственной разницей было то, что состояние гипернатриемии сопровождалось неспецифическим ростом условного диаметра нейроцитов во всех зонах РО/АН. В то же время, при гипонатриемии подобные изменения ограничивались лишь латеральными отделами данной структуры.

Наши измерения показали наличие в латеральных участках РО/АН двух разных по размерам популяций нейро-

нов — мелких и крупных. Увеличение размеров нейронов в условиях сдвигов  $\text{Na}^+$ /осмотического гомеостаза в значительно большей степени касалось мелких нейронов.

В данных условиях популяция таких клеток уменьшалась или даже вообще исчезала, и бимодальные в условиях контроля распределения трансформировались в унимодальные или приближались к ним

Нам пока трудно предложить какие-либо обоснованные функциональные интерпретации описанной выше морфологической феноменологии. Вероятно, это является отражением уже



**Рис. 9.** Нейроглиальные взаимоотношения. Слева показана схема взаимодействия транссмиттеров в трехстороннем синапсе: выброс глутамата из пресинаптической терминали (тонкая стрелка) стимулирует ионотропные и метаботропные рецепторы в астроцитах. Это активирует выброс транссмиттеров из элементов глии (толстые стрелки) к рецепторам постсинаптического нейрона (показан темным). Справа — на электроннограмме видно, что в питуицитах нейрогипофиза секреторные терминали аксонов контактируют с 60 % перивезикулярной плоскости, а 40 % окружают нейросекреторные терминали. Эта пропорция изменяется при активном их состоянии и восстанавливается затем с помощью ретракции питуицитов. (По: Theodosis D.T., Poulain D.A., Oliet S.H.R. *Physiol. Rev.* — 2008. — Vol. 88, No. 5. — P. 983-1008).

упомянутой выше активации внутриклеточных метаболических процессов в условиях измененного (в любую сторону!)  $\text{Na}^+$ /осмотического гомеостаза.

В двух специальных сериях морфологических исследований отбор морфологического материала производился не по завершению цикла введения ДОКСА или АСЛ, а через четыре дня после окончания опыта

Было установлено, что большинство морфологических характеристик клеточных элементов практически возвращались к контрольным значениям, или они проявляли к этому определенную тенденцию. Указанные обстоятельства подтверждают наше утверждение, что используемая модель создания разнонаправленных сдвигов ионных соотношений и осмотического давления электролитов плазмы является вполне адекватной. Сдвиги, которые моделировались, были реактивными, вполне обратимыми и не вызвали развития каких-либо долгосрочных патологических изменений в тканях головного мозга.

**Нейроглиальные отношения.** Известен факт изменения характера нейроглиальных взаимоотношений, который напрямую касался структурных перестроек [6, 54, 59, 75], а вывод о функциональных изменениях синаптической передачи в нейронных сетях гипоталамуса делался лишь опосредованно [56]. В связи с этим нами были проанализированы изменения нейроглиальных отношений в структурах РО/АН [6, 27]. В группе контроля нейроглиальные отношения во всех исследуемых зонах имели одинаковый порядок и колебались в пределах от 0,5 до 0,75, то есть элементов глии было в 1,5-2,0 раза больше, чем нейроцитов. В то же время, гипернатриемия приводила к существенному повышению (на 24,5-43,5 %) нейроглиальных отношений в медиальном и дорсальном отделах РО/АН. В центральной части РО/АН данный параметр немного уменьшался (на 11 %), а в зоне SON и PVN оставался практически без существенных изменений. Следует отметить, что в условиях гипонатриемии изменения нейроглиального отношения во всех зонах РО/АН были инвариантными: этот параметр уменьшался (особенно заметно в латеральных и вентральных участках, на - 36,5-62,0 %) и мало менялся в других отделах (РО/АН) (рис. 8 и 9).

**Электрофизиологические исследования.** Эксперименты проведены на взрослых беспородных кошках обоих полов весом 2,5-3,2 кг, а также взрослых крысах весом 150-250 г. В качестве наркоза было использовано общее обезболивание. Использовался смешанный наркоз (кетамин, 25 мг/кг веса и ингаляции  $\text{N}_2\text{O}$ , 75 об. %). Животные составили три группы: контрольную и две экспериментальные группы – с гипер- и гипонатриемией (гипер[ $\text{Na}^+$ ]- и гипо[ $\text{Na}^+$ ]- группы, соответственно).

Оперативная подготовка включала венесекцию и катетеризацию *v. femoralis*, введение Т-образного тройника в *a. carotis dextra*, трахеостомию, дренирование большой затылочной цистерны путем рассечения *membrana atlantooccipitalis posterior*, трепанацию черепа, обнажение коры

головного мозга и частичную аспирацию ткани левого полушария до дна латерального желудочка.

Введение микроэлектродов для внеклеточного отведения активности нейронов РО/АН выполнялось под углом  $72^\circ$  по отношению к горизонтальной стереотаксической плоскости через контролатеральное полушарие мозга. Для защиты кончика микроэлектрода использовался протектор – пипетка большего диаметра с независимым от движения микроэлектрода перемещением, через которую подавался регистрирующий микроэлектрод.

В качестве микроэлектродов использовали стеклянные микропипетки, заполненные 2.5 М раствором NaCl (сопротивление 10-20 МОм).

Краткосрочные сдвиги осмолярности плазмы крови во внутримозговом кровотоке вызывались путем инфузий в ипсилатеральную *a. carotis* 0,1-0,4 мл 3.0 % или 0,1-0,5 мл 0,2 % раствора NaCl (гипер- и гипоосмотические влияния, соответственно). Темп инфузий составлял 50 мкл/с. Контроль волюм-эффекта осуществлялся путем введения таких же объемов 0,9% раствора NaCl. Интервал между инфузиями составлял не менее 4 мин (обычно 8-10 мин). Суммарный объем растворов, что вводились в одном эксперименте, не превышал 15 мл. Для проведения исследований был использован оригинальный компьютеризированный аппаратный комплекс, разработанный в нашей лаборатории [27, 39, 72, 74].

Процедура регистрации реакций нейрона на осмотическую стимуляцию запускалась в том случае, если его фоновая активность имела стационарный характер; программа регистрации содержала в себе четыре фазы: 30 с – фон, 3-5 с – стимуляция, 30 с – период последствий, 30 с – восстановления.

В ряде экспериментов производилась также локальная или общая температурная стимуляция животного, изменение системного кровяного давления (АД) введением в *v. femoralis* 0,002 % раствора фенилэфрина (0,33-1,30 мкг/кг), либо создание гипергликемии введением во внутреннюю сонную артерию 0,1-0,4 мл 5.5 % раствора глюкозы, детально описанные нами ранее [10, 14, 27, 39].

Раздражение ножки гипофиза для антидромной идентификации нейронов SON, (нейросекреторных эфферентных/эффекторных единиц гипоталамуса) которые образуют проекции в нейрогипофиз, выполняли электрическим током силой около 100 мкА через биполярные нихромовые электроды (диаметр 100 мкм, межэлектродное расстояние составляло 1,0 мм). Применялись одиночные, парные и пачечные (3-5 стимулов) раздражения прямоугольными импульсами длительностью 50 мкс. Электрическая стимуляция кортикальных участков осуществлялась похожими стимулами посредством биполярных вольфрамовых электродов (межэлектродное расстояние 0,8 мм), которые располагали в дорсальном гиппокампе (участок СА3), периамигдаллярной коре, передней цингулярной коре (поле 24) и префронтальной коре (поле 8) [68]. Стандартная интенсивность стимуляции каждого кортикального участка отвечала двум порогам возникновения вызванного потенциала в данной зоне.

Исследования *in vitro* проводились на переживающих срезах мозга молодых крыс, возрастом 3-4 недели. Для приготовления срезов крыс глубоко наркотизировали уретаном и быстро декапитировали. Мозг извлекали и на холоду проводили выделение мозгового блока, содержащего РО/АН. Для этого мозг располагался под углом  $10^\circ$  к сагиттальной оси. Выделение мозгового блока и приготовление срезов проводились в ледяной безкальциевой искусственной спинномозговой жидкости (ИСМЖ), содержащей NaCl, KCl,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{NaHCO}_3$ , D-глюкозу. Приготовленные срезы мозга инкубировались при температуре  $30-32^\circ\text{C}$  не менее 60 мин в стандартной ИСМЖ, содержащей  $\text{CaCl}_2$ . Во время нарезания и инкубирования срезов проводилась аэрация (93-95 %  $\text{O}_2$  и 5-7 %  $\text{CO}_2$ ). После инкубации срезы мозга помещали в камеру для последующей регистрации нейронной активности. Перфузия камеры проводилась ИСМЖ при температуре  $30-32^\circ\text{C}$ . Скорость перфузии составляла 2 мл/мин, так что полный обмен ИСМЖ в камере происходил за 1 мин.

Внеклеточную регистрацию импульсной активности нейронов проводили при условии ста-

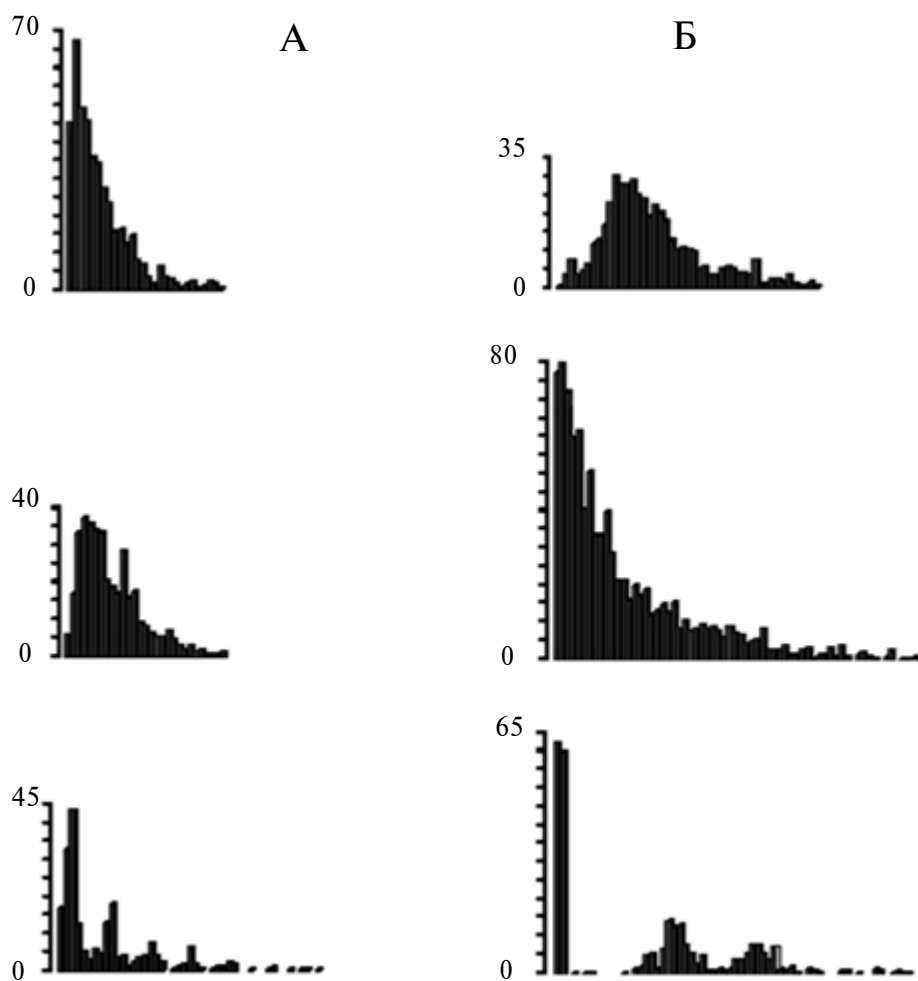
бильной активности, длящейся не менее 3 мин. Регистрацию импульсной активности проводили в трех периодах: фоновом, стимуляционном и периоде последствия. Каждый период длился 60 сек. Для стимуляции во втором периоде перфузию среза проводили гипертонической ИСМЖ осмолярностью 300-305 мосм/л. Повышенная осмолярность создавалась добавлением в ИСМЖ 25% раствора маннита.

Статистический анализ импульсной активности (ИА) нейронов состоял из построения частотограмм (гистограмм средней частоты в 1-секундных бинах), гистограмм распределения длительностей межимпульсных интервалов (МИИ) и аутокорреллограмм МИИ [12, 13]. Достоверность различий средних значений частот ИА нейронов, которые рассчитывали до, во время стимуляции и в период последствия, определялась с помощью критерия U (Вилкоксона-Манна-Уитни). Различия считались значимыми при  $P < 0,05$ . Использовали пакет прикладных программ *Statistica 5.0* (StatSoft, США). Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

Анализ временной структуры ИА нейронов проводился с использованием оригинального статистического метода, разработанного в нашей лаборатории и детально описанного ранее [18, 30, 33, 35], он же был защищен патентом [38]. Метод позволял сравнивать временную структуру ИА нейронов после стимуляции с исходной ИА и достоверно подтверждать перестройку временной структуры активности нейронов.

Локализацию раздражающих и регистрирующего электродов определяли на серийных фронтальных срезах головного мозга. Срезы толщиной 90-100 мкм изготавливали с помощью замораживающего микронома из замороженных блоков исследуемых участков мозга, которые фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, фотографировали и накладывали на карту соответствующего фронтального разреза из атласов мозга кошек или крыс [60, 85, 87].

Отведение и анализ импульсной активнос-



**Рис. 10.** Типы распределения длительности межимпульсных интервалов нейронов RPO. А (верхний ряд) — асимметричное (11%); Б (верхний ряд) — симметричное (42%); А,Б (средний ряд) — мультимодальное (22%); А,Б (нижний ряд) — экспоненциальное (25%). По ординате — N, деление — 5 имп/с. Бин — 10 мс. (По: Казаков В.Н. *Нейронауки: теор. клин. аспекты.* — 2005. — Т. 1, № 1. — С. 58-69).



ти нейронов РО/АН производились лишь в случае стабильной регистрации на протяжении не менее 10 минут. В общей сложности было подвергнуто анализу 485 нейронов РО/АН (у кошек 350 нейронов и у крыс — 135). На самом деле было зарегистрировано значительно большее число нейронов, но часть из них была исключена из анализа из-за, во-первых, нестационарного характера их фоновой активности (ФА); во-вторых, из-за их особенно низкой частоты ( $< 0,2 \text{ с}^{-1}$ ); в-третьих, из-за нестабильности отведения во время стимуляции или в период последствия. Для анализа отбирались только те нейроны, у которых в ходе эксперимента удалось предъявить оба разнонаправленных осмотических стимула.

Частота ИА этих нейронов составляла  $0,1-25,1 \text{ с}^{-1}$ , хотя в большинстве клеток (64 %), частота активности не превышала  $5,0 \text{ с}^{-1}$ . По полной программе, включающей все воздействия, изменяющие осмотический гомеостаз, были проанализированы реакции 340 нейронов РО/АН (в гипер[Na<sup>+</sup>]-группе, в гипо[Na<sup>+</sup>]-группе и в контрольной группе). При анализе ИА нейронов РО/АН обнаружился широкий спектр различных видов распределения импульсной активности [4, 17], что свидетельствовало о сложности организации и функций этой области мозга (рис. 10, табл.1).

По гистограмме средней частоты (частотограмме) выделены три типа ИА. Первый тип — *n* (нерегулярный) — это непрерывная активность с монотонной гистограммой средней частоты и отсутствием какой-либо периодичности. Второго типа — *r* (регулярный) был представлен непрерывной периодической активностью. Фоновая активность третьего типа — *b* (бурстовый) была представлена периодически возникающими разрядами или пачками.

По гистограмме распределения межимпульсных интервалов (МИИ) выделено четыре типа распределений. Первый тип (*A*) — это асимметричное распределение, приближающееся к Пуассоновскому, с наличием мертвых (очень коротких интервалов). Второго типа распределения (*S*) представлен симметричным или близким к нему распределением. Третьего типа (*M*) — бимодальное (реже мультимодальное) распределение МИИ.

**Таблица 1.** Распределение (%) типов фоновой активности в зависимости от типа фоновой последовательности (*n, r, b*) и типа распределения (*A, S, M, E*) межимпульсных интервалов

Тип фоновой последовательности	Тип распределения межимпульсных интервалов				Всего
	A	S	M	E	
<i>n</i>	5	30	14	6	55
<i>r</i>	5	12	-	12	29
<i>b</i>	1	1	7	7	16
Всего	11	43	21	25	100

Тип *E* — особый вид мультимодального распределения был представлен несколькими модами, которые затухали экспоненциально по мере удлинения МИИ.

#### **Осмотическая чувствительность нейронов.**

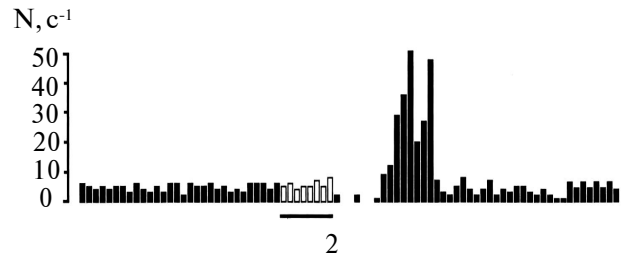
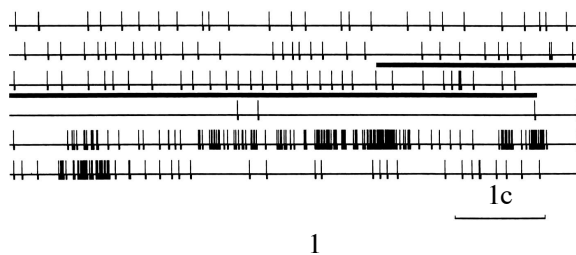
Принадлежность нейронов РО/АН к системе поддержки Na<sup>+</sup>/осмотического гомеостаза определялась по их реакциям, которые развивались в ответ на краткосрочное повышение или понижение осмотического давления в бассейне *a. carotis*. Пороговые интенсивности осмотических воздействий соответствуют объему инфузии 0,1-0,2 мл 0,2 % или 3,0% растворов NaCl. Критерием для идентификации нейронов РО/АН как осмосенситивных было изменение частоты разрядов их ИА как минимум на 35 %. Латентные периоды, выраженность и продолжительность реакций нейронов РО/АН, которые вызывались краткосрочными сдвигами осмотического гомеостаза, существенно варьировали (рис. 11). Нами были разделены реакции на два основных вида — монофазная реакция («чисто» активационная или тормозная) и дуплекс (активация, сменяющаяся торможением или, наоборот, активация, проявляющаяся после торможения). Соответственно, нами учитывались четыре типа реакций нейронов РО/АН на осмотическую стимуляцию (*A*-, *T*-, *AT*- и *TA*-типы).

В контрольной группе при гипоосмотической стимуляции существенные изменения частоты разрядов ( $>35 \%$ ) возникали у 62 % обследованных нейронов РО/АН, а при гиперосмотической стимуляции реакция наблюдалась у 73 % нейронов, то есть индексы общей реактивности при обоих воздействиях были достаточно близки, при некотором преобладании влияния гиперосмии.

Таким образом, повышение или понижение осмотического статуса плазмы крови вызывало разнонаправленные нейронные реакции, которые проявлялись изменением параметров ИА.

Сопоставление реакций нейронов РО/АН в ответ на интракаротидное введение гипер- и гипотонических растворов NaCl показало, что 23% нейронов реагировали изменением параметров ИА на одно осмотическое воздействие и не реагировали на другое. Встречалось небольшое количество таких нейронов во всех исследуемых областях. Из них 14 % клеток проявляли осмосенситивность при введении гипертонического раствора NaCl и не отвечали на введение гипотонического раствора и 9% нейронов, наоборот, реагировали изменением параметров ИА в условиях гипоосмии и не реагировали на гиперосмию.

Логично было бы предполагать, что на гипоосмию и гиперосмию должна всегда проявляться реципрокность реакций, что является устойчивой точкой зрения [54]. Однако необходимо подчеркнуть, что реципрокность реакций нейронов РО/АН в виде торможения или активации средней частоты импульсации или перестройки ИА в ответ на инфузии гипер- и гипотонических растворов NaCl была установлена нами только в 15 % случаев. Локализовались единичные нейроны с таким типом реакции, главным образом, в ядрах переднего гипоталамуса (*SON* и *PVN*).



**Рис. 11.** Конфигурация ответной реакции нейрона МРО на интракаротидное введение 0,8 мл 3 % раствора NaCl. 1 – Обращает на себя внимание реакция типа Т/А. Во время активации видно четыре последовательных волны усиления импульсной активности. 2 – На частотограмме: ордината - имп/с, бин – 1 с (По: Казаков В.Н. *Нейронауки: теор. клин. аспекты.* – 2005. – Т. 1, № 1. – С. 58-69).

Вместе с тем, вместо реципрокности реакций нейронов в ответ на гипо- и гиперосмичность часто наблюдались однонаправленные изменения активности, пусть не сходные по форме и характеру паттернов – но все же однонаправленные [33]. Пример подобных реакций приведен на рисунке 12. Как видно из нейронораммы нейрона МРО, понижение осмолярности плазмы вызывает у нейрона активацию средней частоты ИА в период стимуляции более, чем на 40%, которая в некоторой степени продолжалась и в последствии. Повышение осмолярности плазмы вызвало у данного нейрона такую же активацию средней частоты, но в последствии наблюдалась продолжительная и выраженная активации более, чем на 60% по сравнению с фоновой активностью.

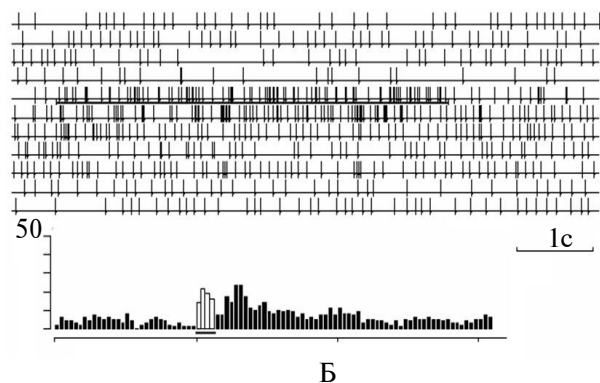
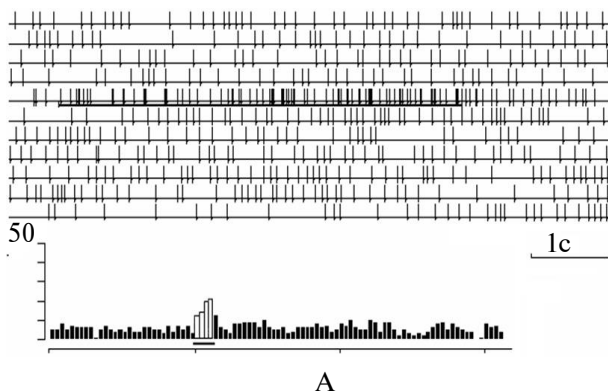
Соотношение реакций на гипо- и гиперосмию склоняется в сторону гиперосмии. В условиях гиперосмии у 37% нейронов наблюдалось достоверное изменение средней частоты, остальные 63% нейронов не реагировали на введение гипертонического раствора в контрлатеральную сонную артерию.

Введение гипертонического раствора в сон-

МРО и LPO. Тормозные реакции были выявлены у нейронов LPO и aNd.

В серии исследований нами были сопоставлены реакции нейронов МРО с реакциями нейронов переднего гипоталамуса (SON и PVN). Нейроны переднего гипоталамуса чаще всего реагировали на гипо- или гиперосмическое воздействие интенсивной монофазной реакцией активации [14]. Причем реакции на гиперосмическое воздействие наблюдались в 2 раза чаще, нежели на гипоосмическое.

На рисунке 13 показаны реакции нейрона SON на введение пороговых объемов гипоосмического (А) и гиперосмического (Б) растворов NaCl (верхние фрагменты рисунка) и двойного порогового значения гипоосмического (А) и гиперосмического (Б) растворов NaCl (нижние фрагменты рисунка). Видно, как удвоение объема вводимого раствора вызывает яркую активацию. Не менее существенным обстоятельством является то, что и гипоосмический, и гиперосмический растворы вызывают сходную и ярко выраженную реакцию. Отличия состоят, пожалуй, только в разном рисунке ответа и разном латентном периоде наступления реакции. При

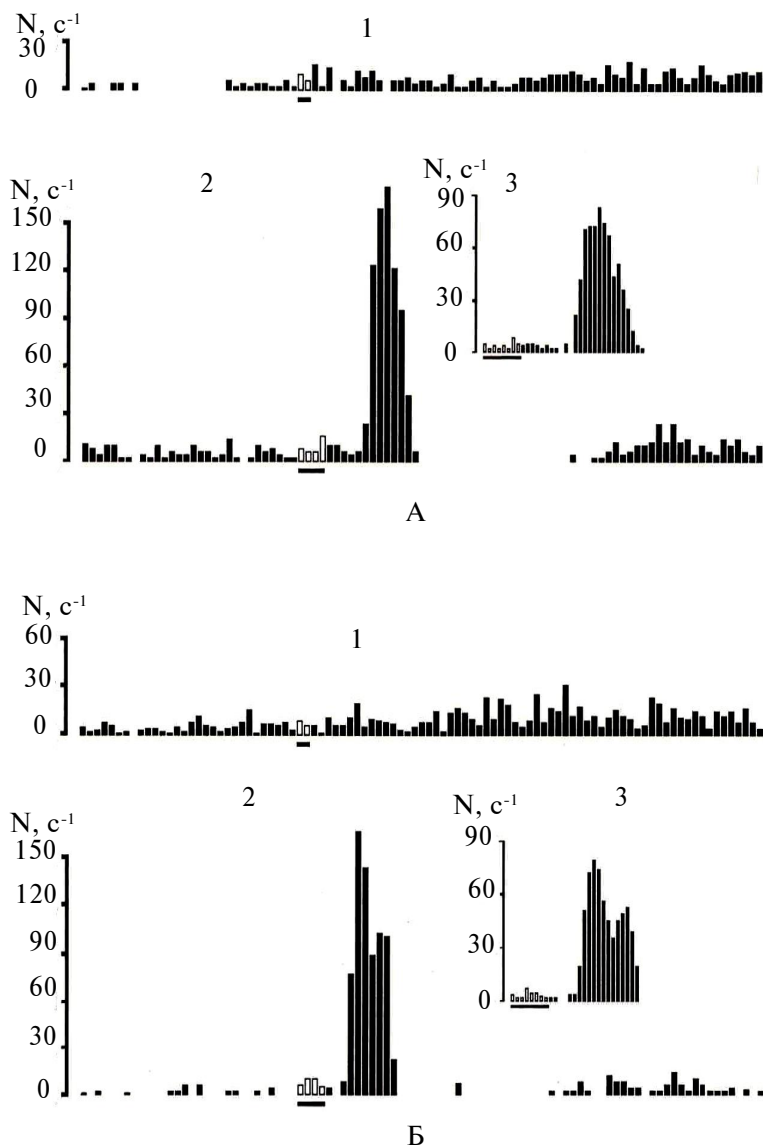


**Рис. 12.** Однонаправленные реакции нейрона МРО в ответ на изменения осмолярности плазмы крови животного. А – Реакция на введение 0,4 мл 0,2 % раствора NaCl. Б – Реакция нейрона на введение 0,4 мл 3,0 % раствора NaCl. На частотограммах по ординате: количество имп/с. Бин – 1 с. (По: Натрус Л.В. *Нейрофизиология.* – 2006. – Т.38, № 1. – С. 40-46).

ную артерию животного вызывало кратковременное изменение средней частоты ИА во время стимуляции у 58 % нейронов РО/АН. При этом активационных ответов было в 3 раза больше, чем тормозных. Локализовались нейроны, отвечающие активационными реакциями первого типа, в

гипоосмическом воздействии реакция наступает на 10 с, а при гиперосмическом воздействии она короче, и ее латентный период составляет 7 с.

Важно отметить, что изменение средней частоты ИА в последствии в ответ на повышение осмолярности плазмы наблюдалось у 42% осмо-



**Рис.13.** Реакции нейрона SON на введение во внутреннюю сонную артерию гипо- (А) и гиперосмотического (Б) растворов. На А – 0.1 мл 0.2 % (1) и 0.2 мл 0.2 % (2) раствора NaCl. На Б – 0.1 мл 3.0 % (1) и 0.2 мл 3.0 % (2) раствора NaCl. По ординате – число имп/с, бин 1 с. Врезанные фрагменты (3) – частотограмма фрагментов (2) при бине 0.5 с. (По: Казаков В.Н., Кравцов П.Я., Кузнецов И.Э., Терещенко А.В. *Арх. клин.экспер.мед.* – 2001. – Т.10, № 1. – С. 3-12).

сенситивных нейронов. У некоторых нейронов, расположенных в aNd, наблюдалась трансформация реакции по типу on-off-реакции из тормозной в активационную. Характерно, что тормозных реакций в последствии было больше, чем активационных (26 % и 16 %, соответственно). Еще одно обстоятельство заслуживает упоминания – это перестройка ИА, состоящая в том, что в ходе введения гипер- или гипоосмотических растворов наблюдалось изменение структуры ИА. При этом достоверного колебания средней частоты импульсации могло и не наблюдаться.

Проведенный статистический анализ временной структуры исследованных нейронов показал, что интракаротидная инфузия гипертонического раствора NaCl у 16 % осмосенситивных нейронов РО/АН вызывает достоверную перестройку ИА. Такие нейроны были обнаружены в МРО, aNd и

SON. У такого же количества нейронов (16 %) тип импульсации не изменялся. Локализовались нейроны со стабильным характером импульсации в МРО, SON и PVN.

В условиях гипоосмии было зарегистрировано 31% нейронов, которые изменяли тип ИА, что достоверно подтверждалось статистическими данными. Локализовались эти нейроны в МРО, LPO, и в области aNd.

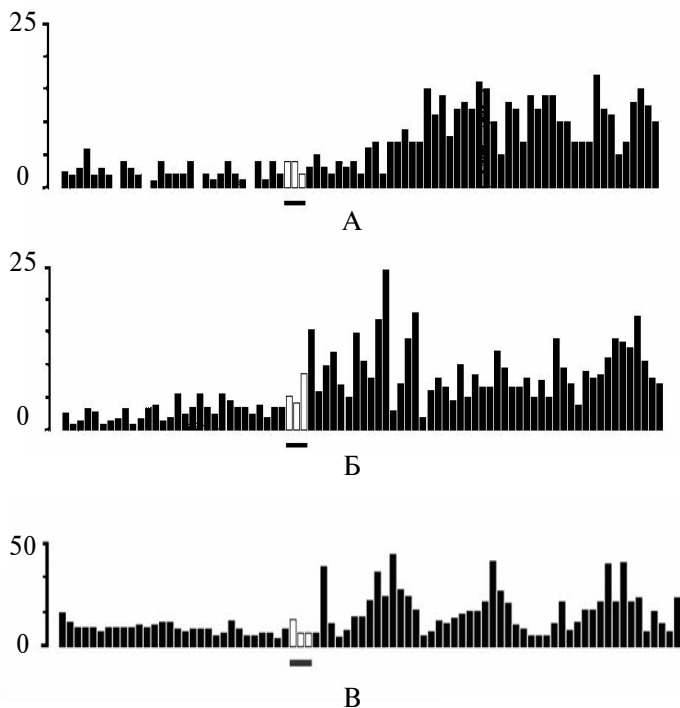
Как было отмечено ранее, функциональная деятельность клетки отражается на особенностях ее импульсации, то есть параметрах ИА. Данные проведенных исследований показали, что изменения осмолярности плазмы крови вызывают перестройку деятельности нейронов тех мозговых структур, которые обеспечивают регуляцию гомеостаза, а изменения параметров ИА в ответ на указанный сдвиг гомеостатической константы отражают участие данной клетки в механизмах центральной осморегуляции.

На рисунке 14 представлено сравнение паттерна реакций нейрона МРО на гипоосмотическое, гиперосмотическое и гипергликоземическое воздействия. Видна медленно развивающаяся реакция на гипоосмотическое воздействие (латентный период ее составляет 11 с) и упорядоченная активационная реакция на гиперосмотическое воздействие (латентный период ее составляет 2 с), которая состоит из шести последовательных усилений активности, длящихся 20 с.

Не менее упорядоченной реакцией характеризуется ответ на гипергликемическое воздействие. В данном случае реакция состоит из трех сходных «волн» активации, длящихся 45 с. Наиболее характерным является то обстоятельство, насколько различается рисунок паттернов активности при этих разных воздействиях. К сожалению, мы пока не научились «читать», какого содержания команды посылает нейрон своим акцепторам в сети и почему эти команды, будучи сходными, дублируются по несколько раз.

Для более тонкого анализа подобных изменений, как уже упоминалось, нами использован новый методический подход к оценке реакций исследуемых гипоталамических нейронов при различных влияниях на организм животного [16, 18, 21, 35, 38]. Есть основания полагать, что особенности реакции нейрона в ответ на нанесенный стимул (различная длительность, последова-





**Рис.14.** Реакции одного нейрона МРО кошки на введение: А – 0.3 мл 0.2% раствора NaCl, Б – 0.3 мл 3 % раствора NaCl, В – 0.3 мл 5.5 % раствора глюкозы (нижний фрагмент). Бин частотограмм – 1 с, N – имп/с. Белые столбики и полоска под частотограммой – момент введения растворов (По: Казаков В.Н. *Нейронауки: теор. клин. аспекты.* – 2005. – Т. 1, № 1. – С. 58-69).

тельность возникновения во времени относительно момента стимуляции, а также способность клетки изменять направление реакции) отражают различия в организации афферентных и эфферентных связей, в которых участвует данный нейрон.

Таким образом, введение в сонную артерию растворов, отличающихся по осмолярности от плазмы крови, вызывает смещение водно-солевого баланса в бассейне сонной артерии и в церебральных сосудах. На такие сдвиги, прежде всего, реагируют осморорецепторы, расположенные на периферии и непосредственно на мембране центральных нейронов. Наличие в РО/АН клеток, обладающих подобными рецепторами, в настоящее время убедительно доказано [12, 14, 25, 27]. Весьма коротколатентные, то есть экстренные, в пределах нескольких секунд, изменения частоты ИА гипоталамических нейронов, видимо, связаны именно с прямой реакцией этих клеток, реализуемой посредством мембранных осморорецепторов данных нейронов, а также в связи с поступлением афферентной импульсации от периферических осморорецепторов. Более поздние изменения параметров ИА, развивающиеся через 10-30 с после инфузии тест-растворов, являются более сложными системными эффектами, которые формируются на основе дальнейшей обработки афферентной информации о смещении водно-солевого баланса.

На наш взгляд, вполне объяснимо преобладание краткосрочных и «быстрых» реакций иссле-

дованных нейронов при повышении осмотического давления, поскольку гиперосмия плазмы крови является довольно весомым сигналом для мгновенного включения механизмов регуляции. Превалирование активационных реакций таких нейронов над тормозными свидетельствует о том, что угроза дегидратации приводит к созданию в переднем гипоталамусе достаточно мощного очага активации. Это является основой формирования соответствующих мотиваций и (в дальнейшем) инициации адекватных поведенческих актов [24, 40, 58, 94]. Однако у тех нейронов, ИА которых изменялась в период последствия, реакции иногда начинались с фазы торможения. Вероятно, компенсация гиперосмии механизмами более длительными (тоническими) требует иного системного эффекта, в реализации которого несколько более выражены тормозные процессы, определяемые активацией локальных тормозных интернейронов данной рефлекторной дуги.

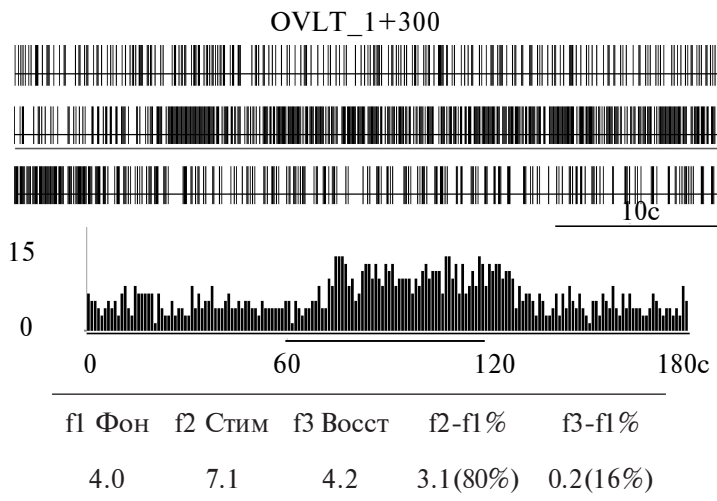
То обстоятельство, что при снижении осмолярности плазмы мы зарегистрировали практически равное количество нейронов с коротколатентными ответами и ответами в период последствия, показывает, что два упомянутых принципа формирования реакций нейронов переднего гипоталамуса на данное смещение осмотического статуса примерно равны по эффективности и физиологической значимости. Таким образом, существенная часть нейронов РО/АН (более 2/3) является осмосенситивными единицами, которые с большой вероятностью могут рассматриваться в качестве элементов распределенной нейронной сети, которая вовлечена в регуляцию водно-солевого баланса.

**Исследование осмолярности нейронов РО/АН и OVLT *in vitro*.** Функция осмосенситивных нейронов широко изучается *in vitro* [47, 48, 55, 59, 82, 84]. Известно, что около 55 % нейронов РО/АН отвечали на смену осмолярности в суперфузате при пороговых значениях порядка 15 мосм/л [82, 84]. Ранее сообщалось также, что до 60 % термосенситивных нейронов переднего гипоталамуса отвечали в условиях *in vivo* на смену осмолярности плазмы крови в гепатопортальной части сосудистого русла с примерно таким же порогом реакций [69].

Важно отметить, что в экспериментах *in vitro* можно было очень точно определять локализацию нейронов, которые подвергались исследованию. Прежде всего, в экспериментах *in vitro* мы исследовали реакции элементов OVLT в ответ на гиперосмию и сравнили их с реакциями нейронов МРО.

Было установлено, что нейроны OVLT реагируют на гиперосмию как повышением ИА, так и ее снижением. При гиперосмии в суперфузате и та, и другая реакция возникала на 6-10 с после начала гиперосмии (рис.15, 16).

В наших исследованиях было установлено, что гиперосмия *in vivo* в циркумвентрикулярных органах вызывает чаще тормозные реакции, чем активационные (табл. 2). Поэтому можно полагать, что



**Рис. 15.** Реакция нейрона OVLТ крысы, отведенная в условиях *in vitro* (полоска ткани) в ответ на колебания осмолярности суперфузата (стимуляция проводилась гипертонической ИСМЖ осмолярностью 300 мосм/л, добавлением в нее 25% раствора маннита). Верхний фрагмент – нейрограмма. Пунктиром обозначена перфузия. Нижний фрагмент – частотограмма этой же записи. По ординате – число имп/сек, бин – 1 с. Цифры под частотограммой – протокол статистического анализа: где f1 – средняя частота ФИА; f2 – средняя частота ИА во время изменения осмолярности; f3 – то же после окончания стимуляции в период. Каждый из периодов длится по 60 с; f1, f2, f3, f2-f1 f3-f1 – абсолютное и относительное (%) значение разности указанных величин (По: Казаков В.М., Натрус Л.В., Гайдарова О.В. *Фізіологічний журнал.* – 2004. – Т. 50, № 4. – С. 100–107).

классическое представление о том, что гиперосмия вызывает только активационные реакции нейронов циркумвентрикулярных органов (OVLТ) нам представляется не очень точной. В этих структурах существуют две группы элементов, которые реагируют на гиперосмию противоположным образом. Какое это имеет общебиологическое значение, предстоит еще разобраться. Кроме этого положения, нами было также установлено, что нейроны МРО *in vitro* реагируют на гиперосмию чаще активационными реакциями, чем элементы OVLТ (рис.16, табл. 2). Во всех случаях изменение осмолярности в суперфузате вызывало существенное изменение структуры ИА.

Можно полагать, что все нейроны исследованных групп являются компонентами афферентного интегративного звена системы осморегуляции. Возникновение гипоосмии плазмы не настолько драматично для организма, как гиперосмия, и требует включения периферических механизмов борьбы с гипергидратацией [40, 94]. В связи с этим процесс активации гипоталамических ней-

**Таблица 2.** Частота типов реакций нейронов на введение гиперосмического раствора в суперфузат в различных структурах гипоталамуса

Структуры	Типы реакций, %					Всего
	А	Т	А/Т	Т/А	н/р	
OVLТ	25.5	46.2	7.2	-	21.1	100
МРО	51.4	18.6	3.7	1.2	25.1	100

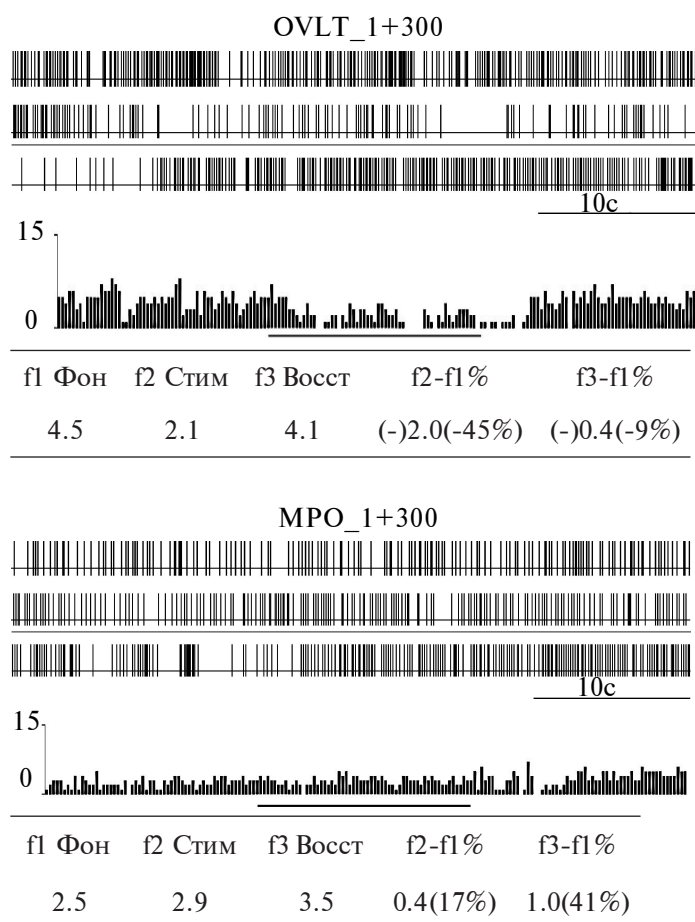
ронных систем, развивающийся в ответ на снижение осмолярности плазмы, может быть основой формирования эфферентных сигналов и нейрогуморальных сдвигов, адресованных органам выделения воды (почкам, коже, легким) и обеспечивающим экстренную ликвидацию данного смещения водно-солевого баланса. Не менее интересен, на наш взгляд, анализ временной структуры ИА, поскольку паттерн импульсации является менее лабильным параметром ИА, чем его частота, и отражает принципиальную перестройку деятельности клетки в силу каких-либо причин [16, 21, 23, 30, 33, 73]. Подобный тип реагирования гипоталамических нейронов уже упоминался ранее в литературе, но ему не уделялось должного внимания. Например, нейроны, находящиеся в принципиально различных функциональных состояниях, преобразовывают структуру следования импульсов [79].

Исследование частоты разрядов корковых нейронов у животных в состоянии голода и насыщения показало, что при голодании в активности клеток наблюдается преимущественно пачечный и групповой виды спайковой активности. Насыщение животных сопровождалось спонтанной импульсацией с преимущественным единичным типом генерации биопотенциалов [40]. При регистрации реакций термочувствительных нейронов заднего гипоталамуса кроликов в условиях хронического эксперимента оказалось, что в 50 % случаев заметные изменения временной структуры ИА нейронов не сопровождались значимыми изменениями ее средней частоты [42]. Этот факт дает основание предполагать, что средняя частота не является единственным информационно значимым параметром ИА нейронов центра терморегуляции.

В связи с этим нами было высказано предположение, что преобразование паттерна ИА в ответ на стимуляцию при сохранении средней частоты разряда может являться одним из путей кодирования информации, необходимой для запуска тех или иных эфферентных реакций, контролируемых гипоталамусом [4, 29, 33, 73].

Таким образом, полученные нами результаты показывают, что создание в условиях эксперимента минимальных гипер- и гипоосмических сдвигов в кровеносном русле вызывает существенные изменения параметров ИА нейронов РО/АН. А это именно те события на нейронном уровне, которые могут служить заведомо значимой основой для формирования эфферентных сигналов в нейронных сетях переднего гипоталамуса, вовлеченных в поддержание водно-солевого баланса организма.

Различия, которые мы выявили при анализе изменений ИА нейронов РО/АН в ответ на колебания осмолярности плазмы, свидетельствуют о том, что регуляторные механизмы компенсации состояний гипер- и гипоосмии



**Рис. 16.** Реакции нейронов OVLT (верхний фрагмент) и MPO (нижний фрагмент) крысы, отведенные в условиях *in vitro* (полоска ткани) в ответ на колебания осмолярности суперфузата (ИСМЖ). Верхние записи – нейронограммы. Линей под нейронограммой обозначена перфузия. Нижний фрагмент рисунка – частотограмма этих же записей. По ординате – число имп/сек, бин – 1 с.

несколько различаются и не являются реципрокными. Возможно, что осмосенситивность ряда нейронов данных областей связана не столько с осмотическим гомеостазом, сколько с обеспечением питьевого поведения, как компонента пищевого поведения. Поскольку показано, что на уровне РО/АН наблюдается взаимодействие или сопряжение механизмов, которые удерживают различные функции на определенном уровне, как, например, температурный и водно-электролитный баланс при выделении пота и появление жажды в условиях гипертермии или кардиоваскулярный и водно-электролитный статус в условиях дегидратации при кровопотере. В любом случае, подобные исследования, несомненно, имеют большое значение для понимания механизмов взаимодействия центральных регуляторных систем в поддержании констант гомеостаза при их сдвигах в зависимости от тех или иных условий.

**Заключение.** При рассмотрении общебиологических параллелей изучаемых нами явлений мы должны, прежде всего обратить внимание на общие и частные закономерности.

*Эволюция регуляторных механизмов водно-солевого гомеостаза.* Согласно логике обсуждаемых процессов, в первую очередь, следует остано-

виться на общебиологических закономерностях. Согласно эволюционному принципу развития живого, мы знаем, что биологическая эволюция шла под непрерывным воздействием изменений неживой природы. Это в полной мере касается системы водно-солевого гомеостаза. Уже на самых ранних этапах эволюции произошла адаптация клеток организма к определенному соотношению ионов во внутренней среде, которые постепенно, но неуклонно следовали за их трансформацией, происходящей во внешней среде [5, 9]. Для одних существ эта трансформация заключалась в перестройке клеточных процессов, следующих за изменением солевого состава водной среды. У других же, давших прогрессивно развивающуюся ветвь животного мира, появились специальные физиологические механизмы, позволяющие сохранять постоянство состава межклеточной жидкости и плазмы крови (так называемой внутренней среды организма). Это давало возможность обеспечивать в изменяющейся внешней среде оптимальные условия для функционирования всех клеток организма. Поскольку клетка отделена от внеклеточной жидкости мембраной, которую пронизывают белковые структуры – поры, легко проницаемые для воды, но не для большинства других компонентов, то при наличии разницы концентраций веществ вода по законам осмоса переходит в сектор с более высокой концентрацией раствора [9]. Любое изменение объема клетки (разбухание при поступлении воды или сморщивание при ее потере) будет сопровождаться нарушением внутриклеточных химических процессов. Поэтому осмотический статус плазмы крови является так же, как и ионный состав, одним из строго контролируемых показателей гомеостаза.

Водно-солевой баланс зависит, с одной стороны, от эффективности механизма жажды, который при неизбежных потерях воды может в какой-то мере обеспечить их компенсацию посредством питья, а с другой стороны, определяется точно регулируемой экскрецией воды [43, 48, 51, 52, 81, 88, 100]. Жажда – это одно из наиболее ярко эмоционально окрашенных состояний, побуждающее животных и человека к поиску питьевой воды [43, 44, 48, 51]. Физиологическими стимулами жажды являются уменьшение жидкостных пространств организма при потере воды (абсолютная дегидратация, обезвоживание) или при увеличенном поступлении  $\text{Na}^+$  без потери воды (относительная дегидратация). В обоих случаях происходит повышение концентрации  $\text{Na}^+$  и увеличение осмотического давления во внутренней среде. Детекторами такого состояния являются специфические волюморцепторы сосудистого русла или осморцепторы заднего или промежуточного мозга. Импульсы от этих рецепторов поступают в так называемый интегративный центр жажды – совокупность ряда нейронных скоплений в различных зонах гипоталамуса, объединенных друг с другом сложными



межнейронными связями [48, 52, 81, 86, 91]. Импульсы от рецепторов интегрируются, и в специфических зонах мозга формируется мотивация жажды, стимуляция питьевого поведения. Одновременно с этим стимулируется ограничение экскреции воды почками благодаря выделению в кровь нейрогипофизарного антидиуретического гормона (вазопрессина).

Поддержание нормальной концентрации  $\text{Na}^+$  во внеклеточной жидкости может осуществляться не только путем контроля экскреции этого иона почками, но частично и благодаря контролю его потребления [43, 44, 48]. Хорошо известно, что животные, обитающие в ареалах, удаленных от морских источников соли, активно ищут солончаки и лизут соль. Не менее хорошо известно страстное желание соленой пищи у людей, которые вынуждены ограничивать потребление соли. Стимулом для возбуждения нейронов является снижение концентрации  $\text{Na}^+$  в цереброспинальной жидкости вследствие недостаточного поступления этого иона в организм.

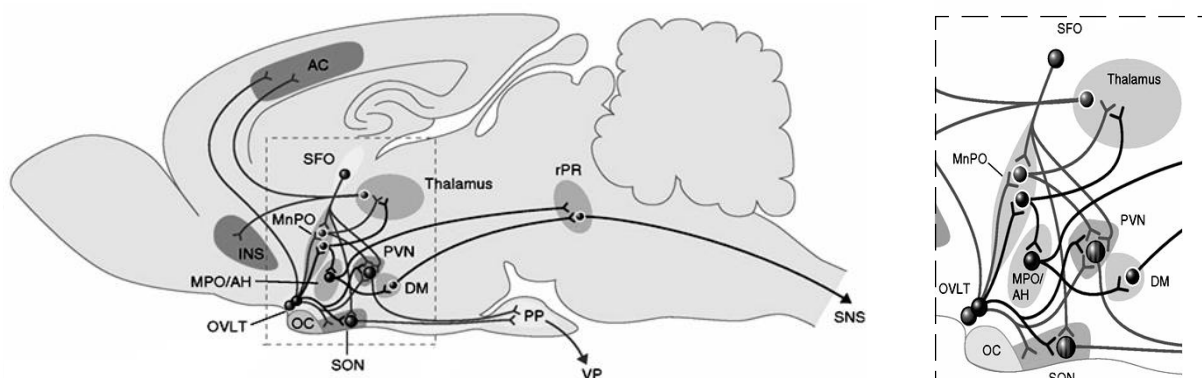
Такова общая схема физиологических процессов, лежащих в основе водно-солевого баланса. Однако главными вопросами, которые поддерживали наш многолетний интерес к водно-солевому гомеостазу, были механизмы, которые управляли этими процессами. На них мы и сосредоточим наше внимание.

**Центральный аппарат управления водно-солевым гомеостазом.** Если говорить о нервных механизмах, определяющих водно-солевой гомеостаз, то все начинается с изменения содержания воды и солей в плазме крови – в виде гиперосмии или гипоосмии. Существуют убедительные доказательства роли ангиотензина II и релаксина в физиологических механизмах жажды и последующей компенсации нарушения водно-солевого баланса [51, 97].

Каким образом регулирующая система узнает о том, что произошел сдвиг показателя? Оказывается, что в системе осмотического гомеостаза существует тройная система сигнализации о его сдвигах [45, 52, 81, 90]. **Первый канал** представлен барорецепторами сосудов и висцеральными осморорецепторами, сигналы от которых направляются в *nucleus tractus solitarius*.

**Второй канал** представлен ангиотензиновыми рецепторами, которые расположены в циркумвентрикулярных органах (AP, SFO и OVLT) продолговатого и промежуточного мозга [81, 92, 93, 102]. Важную роль в активации элементов циркумвентрикулярной системы имеет пептидный гормон релаксин, сходный по строению с инсулином [81]. Этот гормон, который вырабатывается плацентой во время беременности, имеется также и в крови у особей обоего пола в обычных условиях [81]. Именно он стимулирует элементы SFO, OVLT и MnPO. Наиболее чувствительными к нему являются нейроны SFO, поскольку при повышении его содержания в этой области возникает интенсивная жажда и включаются механизмы стабилизации водно-солевого баланса. Сигнализация об изменении осмотического гомеостаза идет от элементов AP и *nucleus tractus solitarius* посредством серотонина и направляется напрямую в латеральное парабрахиальное ядро, а затем – в медиальную преоптическую область [76, 81]. Сигналы от SFO точно так направляются в медиальную преоптическую область к MnPO.

**Третий канал** проходит от OVLT, часть элементов которого, являясь ГАМК-эргическими элементами [99], активируются непосредственным изменением осмолярности крови. Причем нейроны OVLT не чувствительны к ангиотензину II [51]. При повышении осмолярности в тканях, расположенных вокруг OVLT, происходят существенные изменения ИА его нейронов



**Рис. 17.** Осморегуляторный эффекторный круг. Слева – мозг крысы в сагитальном разрезе, в котором представлены центры регуляции осмотического гомеостаза и их связи. Справа – увеличенный бокс из фрагмента А (обозначен пунктиром). В OVLT и SFO содержатся осмо- и термочувствительные нейроны, которые проецируются в MnPO, SON, PVN, таламус и поясную кору. MnPO – интегративный центр, имеющий входы из OVLT и SFO. Центр переключает сигналы от периферических осмо-, термо- и барорецепторов к таламусу. Затем они проецируются в MPO/AH, SON, PVN и таламус. В SON и PVN магнотеллюлярными нейронами вырабатываются VP (вазопрессин) и OT (окситоцин), которые переправляются в заднюю долю гипофиза. Таламус, *insula*, и передняя поясная кора являются компонентами нервного круга мотивации поведения, связанного с жаждой и солевым аппетитом. Обозначения: AC – передняя поясная кора; DM – дорсомедиальное ядро; INS – *insula*; MnPO – *nucleus medianus*; MPO/AH – медиальное преоптическое ядро и передний гипоталамус; OC – зрительный перекрест; OVLT – *organum vasculosum lamina terminalis*; PP – задняя доля гипофиза; PVN – паравентрикулярное ядро; SON – супраоптическое ядро; SFO – субфорникальный орган; SNS – симпатическая нервная система; Thalamus – таламус; VP и OT – вазопрессин и окситоцин. (Модифицировано из: Sladek C.D., Johnson A.K. *Am. J. Physiol. – Regul. In-tegr. Comp. Physiol.* – 2013. – Vol. 305, No. 4. – P. 669-678).

[45, 90]. Следовательно, циркумвентрикулярные органы (AP, SFO и OVLT) являются *афферентным звеном* центрального механизма управления водно-солевым гомеостазом.

Элементы всех циркумвентрикулярных органов — AP, SFO и OVLT, а также *nucleus tractus solitarius*, воспринимающие гуморальные или нервные влияния, которые сигнализируют об изменениях водно-солевого баланса организма, в конечном итоге замыкаются в МРО, главным образом, на нейронах его медианного отдела — MnPO [43, 48, 81, 86, 91]. Именно элементы этой структуры являются *интегративным центром* центрального механизма управления водно-солевым гомеостазом. Полученные нами данные дают возможность считать внутреннюю нейронную сеть РО/АН, как интернейронное интегративное звено распределенной системы осморегуляции. Значительная часть нейронов данной сети является осмосенситивными единицами, но в то же время они способны реагировать на неосмотические воздействия и нисходящие влияния от неорхипалеокортикальных структур коры больших полушарий [4, 8, 23, 26, 34, 65, 67, 70, 73].

С точки зрения локализации, следует отметить, что нейроны, которые реагируют на изменение осмолярности крови, располагаются, главным образом, в МРО. Здесь есть элементы, которые активируются гиперосмией, тормозятся гипоосмией или перестраивают паттерн ИА в ответ на изменение осмотического давления крови. Общая схема этих процессов выглядит так. Локализация осмосенситивных нейронов характеризуется заметной спецификой: нейроны, которые реагируют на гиперосмические воздействия, практически отсутствовали в латеральных участках РО/АН, где локализовалась основная часть нейронов, отвечающих на гипоосмические воздействия [8, 14, 23, 24, 26, 27, 32, 33, 70, 72, 74]. Нейроны с монофазными активационными реакциями на инфузии гипоосмического раствора отсутствовали в медиальном (паравентрикулярном) отделе РО/АН. Кроме того, в зоне SON отмечалось значительное скопление элементов, отвечающих монофазными активационными реакциями на введение гипо- и гиперосмических растворов. Характерно, что гиперосмическая стимуляция, как правило, усиливала ИА осмосенситивных нейронов, а гипоосмическая стимуляция вызывала в ряде случаев тормозные реакции. У более, чем половины исследованных (60 %) осмосенситивных нейронов регистрировались противоположные реакции на интракаротидные инфузии 0,2% и 3,0% растворов NaCl. Эти данные в целом согласуются с результатами других исследователей [59, 69, 82].

В связи с этим может возникнуть удобная, но упрощенная схема реакций нейронов МРО (MnPO) на изменение осмотического статуса — в виде активации нейронов этой области на гиперосмию и торможение активности в ответ на гипоосмию [59]. Более того, может создаться впечатление, что МРО воспринимает только гиперосмические воздействия, а LPO — гипоосмические.

В действительности дело обстоит намного сложнее. Однако было бы неверным полностью отбрасывать представление о раздельной локализации нейронов, ответственных за восприятие гипо- и гиперосмии. Согласно нашим данным, гиперосмия может в некоторых случаях вызывать тормозные реакции нейронов МРО, не только *in vivo*, но и *in vitro* [2, 8, 14, 23, 26, 32, 33, 70, 72, 74]. Что касается нейронов LPO, то они в небольшом количестве реагируют не только на гипоосмию, но и на гиперосмию [2, 14, 27, 33, 72, 74].

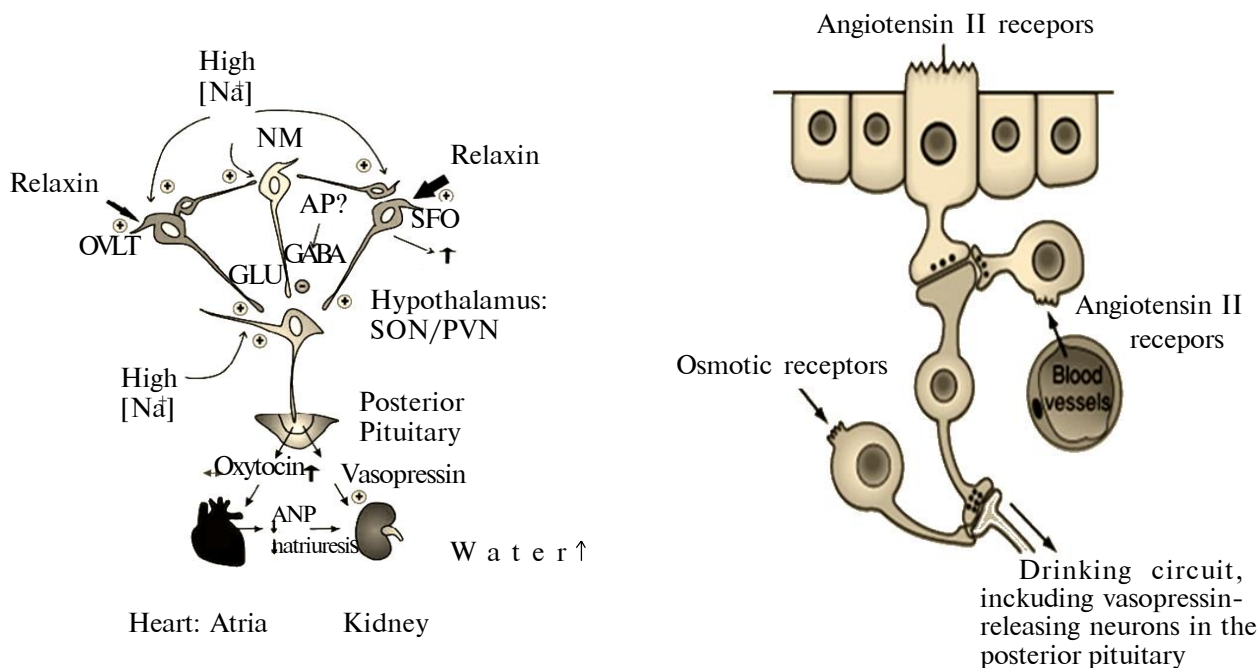
Возникает вопрос, с чем связано такое несоответствие во взглядах? Мы считаем, что наиболее общими показателями, которые характеризуют нейронную сеть осмосенситивных нейронов РО/АН в условиях разнонаправленных функциональных нагрузок на систему осморегуляции, очевидно, следует считать два интегральных индекса.

*Первый* — это общая реактивность и второй — индекс торможения (соотношение тормозных и активационных реакций). С учетом первого показателя описанные выше варианты реакций стоит разделить на два основных типа — активирующий и ограничительный, поскольку они в определенных условиях связаны с увеличением и ограничением общей реактивности. В условиях разнонаправленных функциональных нагрузок на систему осморегуляции нейронная сеть РО/АН в отношении как гиперосмической, так и гипоосмической стимуляции является в основном ограничительной, что проявляется в снижении общей реактивности нейронов сети и увеличении индекса торможения [27, 74]. В противном случае она теряет адекватность реагирования, поскольку разнонаправленность влияний может носить стрессогенный характер [9]. Интегральная схема центрального аппарата регуляции водно-солевого гомеостаза представлена на рисунке 17.

*Эффекторная часть* центральной регуляции водно-солевого гомеостаза представлена гигантоклеточными нейросекреторными элементами двух ядер переднего гипоталамуса — SON и PVN. Нейросекреторные клетки этих ядер вырабатывают гипофизарные нейрогормоны: клетки SON вырабатывают преимущественно антидиуретический гормон (вазопрессин), а клетки PVN — окситоцин (рис. 18). Например, введение в боковой желудочек искусственной гиперосмолярной спинномозговой жидкости вызывает увеличение содержания плазменного аргинин-вазопрессина [78].

Эффекторный механизм регуляции запускается интегративными структурами МРО. Снижение содержания  $\text{Na}^+$  в организме находится под непосредственным контролем МРО (MnPO). Это ядро не только контролирует его уровень, но и включает механизмы, посредством которых происходит восстановление уровня  $\text{Na}^+$  [4, 24, 62, 65, 70, 72, 86]. Механизмы контроля состоят в преимущественно тормозном влиянии MnPO на элементы SON и PVN (рис. 18).

Помимо МРО, существуют и менее выраженные, но непосредственные связи, идущие от SFO и OVLT к нейронам SON и PVN [61]. Причем от SFO волокна направляются преимущественно к PVN, а от OVLT — к SON. Характерно, что



**Рис. 18.** Нейрохимические механизмы управления  $\text{Na}^+$ /осмотическим гомеостазом. Слева — высокое содержание  $\text{Na}^+$  может напрямую активировать магноцеллюлярные нейроны SON и PVN, продуцирующие окситоцин и вазопрессин, а также осморцептивные нейроны OVL, SFO и MnPO. Влияния из OVL к магноцеллюлярным нейронам SON и PVN обеспечиваются глутаматом (возбуждающие влияния) и ГАМК (тормозящие влияния). Влияния из SFO передаются к ним с помощью ангиотензина II и, возможно, посредством атриального натрийуретического пептида (ANP). Влияния со стороны MnPO на элементы SON и PVN передаются посредством ГАМК (тормозящее влияние). Под их влиянием происходит в задней доле гипофиза выделение вазопрессина и окситоцина. (По: Brunton P.J., Arunachalam S., Russell J.A. *J. Physiol. Pharmacol.* — 2008. — Vol. 59, (Suppl.) 8. — P. 27-45). Справа — деятельность структур, обеспечивающих регуляцию потребления воды. Нервная цепь, воспринимающая ангиотензин II, осмолярность крови и ее объем. (По: Коерпен В.М.,

влияния от SFO на магноцеллюлярные элементы PVN реализуются посредством ангиотензина II, а от OVL на клетки SON — посредством глутамата [55, 58, 61, 79, 81]. Что касается влияния нейронов MnPO на элементы SON и PVN, то они осуществляются посредством ГАМК [81, 99].

Аксоны магноцеллюлярных клеток SON и PVN образуют гипоталамо-гипофизарный тракт, по которому аргинин-вазопрессин и окситоцин направляются в заднюю долю гипофиза. Согласно морфометрическим подсчетам, гипоталамо-гипофизарный тракт состоит на 80-90 % из волокон от SON и только на 10-20 % из волокон от PVN.

Аргинин-вазопрессин и окситоцин накапливаются в клетках задней доли гипофиза — в питуицитах. Однако питуициты нейрогипофиза не пассивные депо гормонов: в этих клетках гормоны превращаются в активную форму. Вазопрессин, помимо вазоконстрикторного эффекта, оказывает антидиуретическое действие, которое связано с его способностью усиливать обратное всасывание в кровь воды из канальцев почек. Окситоцин избирательно действует на гладкую мускулатуру матки, усиливая ее сокращение.

Следует отметить, что важную модулирующую роль во взаимоотношениях структур гипоталамо-гипофизарной системы оказывает оксид азота — NO. Известно, что основное место приложения NO — это сексуальная сфера. NO повышает выработку дофамина и тем самым усиливает половую активность. Однако NO оказывает существенное влияние на осморегулиру-

ющую систему [7, 11, 25, 53, 64]. Регуляции водно-электролитного гомеостаза происходит посредством уровня содержания NO, который в этих образованиях оказывает длительное воздействие на всех этапах — от циркумвентрикулярных органов до задней доли гипофиза.

Причем эффект NO — это не прямое влияние на осморцепторные нейроны PO/АН, например, в виде их активации или торможения. Здесь имеет место, скорее, модулирующий эффект, но все же с ограничительным преобладанием [53, 64]. Ингибирующее влияние NO на нейроны PO/АН осуществляется за счет снижения выработки аргинин-вазопрессина.

**Двойственная организация управления водно-солевым гомеостазом.** Завершая рассмотрение принципов управления водно-солевым балансом, мы бы хотели высказать следующую концепцию о строении и механизмах работы центрального аппарата управления. Нам представляется, что в системе управления водно-солевым балансом четко определяются *две составляющих*.

*Первая* представлена группой структур, начинающихся в AP и *nucleus tractus solitarius* (афферентное ядро IX и X пар черепных нервов). При сдвигах Na/осмотического статуса крови эти структуры активируются посредством ангиотензина II и сигналами от барорецепторов сердца и сосудов, а также висцеральных осморцепторов. От AP и *nucleus tractus solitarius* сигналы направляются в SFO, откуда они через MPO (MnPO) или непосредственно направляются к переднему гипоталамусу — к магноцеллюлярным нейронам



PVN, которые продуцируют, главным образом, окситоцин и в небольшом количестве аргинин-вазопрессин. Эта система, которая на всех этапах обслуживается ангиотензином II, принимает участие, помимо повышения тонуса мышц эндометрия, также в стрессовых реакциях. Ее можно считать гуморальным звеном управления водно-солевым гомеостазом.

*Вторая составляющая* представлена элементами OVLT, которые активируются при непосредственном воздействии гиперосмии. От элементов OVLT сигналы идут через MPO (MnPO) или непосредственно к магноцеллюлярным элементам SON, которые продуцируют аргинин-вазопрессин и, тем самым, обеспечивают восстановление  $\text{Na}^+$ /осмотического гомеостаза. Передачу влияний от ГАМК-эргических входов OVLT к элементам MnPO модулирует норадреналин [99]. Эту составляющую можно считать нервным каналом управления водно-солевым балансом организма.

*Нервные механизмы ощущения жажды и солевого аппетита.* Несколько в стороне от обсуждаемых механизмов лежат вопросы поведенческих реакций, которые обусловлены сдвигами водно-солевого гомеостаза. Как уже указывалось, MnPO и SFO получают сигналы об уменьшении объема циркулирующей крови и об увеличении ее осмолярной концентрации. Отсюда сигналы направляются в кортикальные структуры, ответственные за ощущение жажды. Субъективными пусковыми стимулами поведенческих реакций, которые возникают при изменении осмотического гомеостаза, являются жажда и солевой аппетит. Жажда, как переживание недостатка воды, или солевой аппетит, определяют деятельность многих структур мозга. К настоящему времени сведений о механизмах солевого аппетита значительно меньше, чем о механизмах жажды. Тем не менее, для выявления области мозга, которая вовлекается в индукцию солевого аппетита и жажды, была использована методика локального орошения отдельных участков мозга. Оказалось, что в гипоталамусе локализован не только центр жажды, но и центр солевого аппетита, причем зоны двух центров не перекрываются [43, 48, 52]. Кортикальные структуры, которые получают сигналы от парабрахияльного ядра и OVLT, включают поясную извилину и островок. Есть еще один канал поступления сигналов в поясную извилину и островок – это путь, идущий от MnPO через передние таламические ядра – AV, AD и AM. Именно эти области неокортекса ответственны за переживание жажды и солевого аппетита [43, 44, 48]. Кроме того, были установлены и обратные кортико-фугальные влияния от различных в эволюционном отношении неорхи-палеокортикальных структур к ядрам PO/AH [11, 53, 64, 68]. Вместе с тем истинные механизмы жажды пока не вполне ясны. В конце концов, о роли неокортекса в этих процессах говорит тот факт, что конечный результат поведения по отношению к приему воды для пополнения организма жидкостью может контролироваться сознательно. Это в некоторой степени объясняет возможность

ограничения поступления в организм жидкости при добровольном отказе от питья во время жажды.

В завершении обсуждения механизмов, обеспечивающих центральную регуляцию водно-солевого гомеостаза, следует подчеркнуть, что эти механизмы организованы достаточно тонко, но при этом и достаточно жестко. Именно поэтому на систему регуляции не оказывает существенного влияния функциональное состояние и реактивность структур мозга [78], возраст, пол, беременность и другие состояния [58, 76, 77, 93]. Может быть, с этим связана высокая степень стабильности этой важнейшей константы организма.

V.N. Kazakov, I.E. Kuznetsov, L.V. Natrus,  
E.V. Gaydarova, A.A. Vyslyy, O.N. Goncharenko,  
K.V. Filushina

### **New concept of regulation of osmotic homeostasis (twenty-year experience of studying the body of water-osmotic balance)**

The study is devoted to elucidation of structural and functional remodelling of the neuronal network of the preoptic/anterior hypothalamus (PO/AH) involved in the maintenance of the water-salt equilibrium, which developed due to physiological shifts in  $\text{Na}^+$ /osmotic homeostasis. Responses of functionally identified (osmosensitive) PO/AH neurons to a wide range of adequate test influences, both osmotic, nonosmotic (thermal, glucosal and blood pressure elevation), and corticofugal (stimulation of the prefrontal, cingulate, periamygdaloid cortices and hippocampus) recorded under control conditions were compared with corresponding neuronal responses under conditions of opposite functional loadings on the  $\text{Na}^+$ /osmoregulatory system. An original pharmacological model of induction of the state of hyper- and hyponatremia was used for this purpose (preliminary we have checked the adequacy and appropriate time limits of the model). Histological and morphometric analysis of cellular elements in different PO/AH zones demonstrated that experimental hyper- and hyponatremia evoke specific modifications of the structural characteristics of neurons and glions, as well as of the neuron-to-glia ratio, that correlates with certain functional states of the cells. Specific changes in the spectrum of firing activity frequencies of osmosensitive PO/AH neurons were found to develop under conditions of hyper- and hyponatremia; this was transformation of a continuous spectrum of the FA mean frequencies (typical of control conditions) toward a restricted set of certain fixed (characteristic) frequencies. Two integral parameters characterising the functional dynamics of PO/AH neuronal network were taken into account: general reactivity (relative number of the responsive neurons) and inhibition index (ratio between the numbers of neurons with primary inhibitory and excitatory responses). Two basic types of functional dynamics were distinguished basing on the comparison of these criteria in the control and in the experimental groups: a restrictive and an activatory type of functional dynamics. The restrictive type of functional dynamics substantially prevailed. Possible mechanisms of the development of the above-mentioned functional dynamics types were analysed, key links of the PO/AH neuronal networks were determined, and basic processes related to modifications of the neuronal responses due to changes in conditions of functioning of the network

under study were designed. Special attention is paid to modifications of the output activity of the PO/AN neuronal network. Original interpretation of reactions of neurons of PO/AN on  $\text{Na}^+$  / an osmotic homeostasis change was offered. In reactions to change of water-salt balance are involved structures of the circumventricular bodies (afferent part of regulation), medial preoptical area, mainly, its medial nuclei (integrative department of regulation) and structures of anterior hypothalamus - the supraoptic and paraventricular nuclei (effector department of regulatory system). (Arch. Clin. Exp. Med. – 2014. – Vol. 23, No. 1. – P. 74-97)

**Key words:** interneuronal network, preoptic/anterior hypothalamus, osmosensitive neurons, experimental hyper- and hyponatremia, functional dynamics, nonosmotic afferents, corticofugal projections, morphometric analysis.

V.M. Kazakov, I.E. Kuznetsov, L.V. Natrus,  
O.V. Gaydarova, A.A. Vasily, O.M. Goncharenko,  
K.V. Filyushina  
**Нова концепція регуляції осмотичного  
гомеостазу (двадцятирічний досвід  
вивчення водно-електролітного балансу  
організму)**

Робота присвячена виявленню закономірностей структурних і функціональних перебудов нейронної мережі преоптичного/переднього гіпоталамуса (РО/АН), що причетна до підтримки водно-електролітного балансу за умов фізіологічних зрушень  $\text{Na}^+$ /осмотичного гомеостазу. Досліджено реакції нейронів РО/АН, які були ідентифіковані за функціональною ознакою (осмосенситивні), на набір адекватних тест-впливів як осмотичних, так і неосмотичних (температурних, пресорних, глюкозних) і кортико-фугальних (стимуляція префронтальної, цингулярної, периамігдаллярної областей кори і гіпокампа). Реакції реєстрували у контролі й за умов різноспрямованих функціональних навантажень на  $\text{Na}^+$ /осморегулюючу систему. Для створення функціональних навантажень була використана оригінальна модель індукції тривалих зрушень у системі підтримки  $\text{Na}^+$ /осмотичного гомеостазу. Визначено ступінь адекватності такої моделі і часові рамки її застосування. Диференційний морфометричний аналіз клітинних елементів РО/АН дозволив визначити, що стани експериментальної гіпер- і гіпонатріємії призводять до специфічних змін гістологічних характеристик нейронів РО/АН. Описано часову структуру імпульсної активності осмосенситивних нейронів РО/АН; показано, що зрушення  $\text{Na}^+$ /осмотичного гомеостазу призводять до специфічних перетворень спектру середніх частот ІА – трансформації їх неперервного спектру в обмежений набір фіксованих характеристичних частот. Як найбільш загальні показники, що характеризують функціональну динаміку нейронної мережі РО/АН, враховувалися два інтегральні індекси: загальна реактивність і індекс гальмування (відношення кількості нейронів з первинно гальмівними й активаційними реакціями). На підставі цих критеріїв були виділені два основних типи функціональної динаміки – активуючий й обмежувальний. Виявилося, що обмежувальний тип функціональної динаміки за умов різноспрямованих зрушень водно-сольового балансу явно превалює. Проаналізовано можливі механізми розвитку зазначених типів функціональної динаміки, виділено ключові ланки нейронної мережі РО/АН і позначені можливі базові

процеси, що лежать в основі модифікації нейронних реакцій при зміні умов функціонування даної мережі. Спеціальна увага приділена модифікаціям вихідної активності нейронної мережі РО/АН. Висловлене оригінальне трактування реакцій нейронів РО/АН на зміну  $\text{Na}^+$ /осмотичного гомеостазу. В реакції на зміни водно-сольового балансу включаються структури циркумвентрикулярних органів (аферентна частина управління), медіальна преоптична область, головним чином, її медіальне ядро (інтегративний відділ системи управління) і структури переднього гіпоталамуса - супраоптичне і паравентрикулярне ядро (ефекторний відділ системи). (Арх. клін. експ. мед. – 2014. – Т. 23, № 1. – С. 74-97)

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Василенко Д.А., Костюк П.Г. Межсегментарные нейронные системы спинного мозга // Киев: Наукова думка. – 1983. – 208с.
2. Вислий А.А., Натрус Л.В. Сопоставление нейронных и вегетативных реакций в ответ на кратковременную гипергликемию // Нейронауки: теор. клин. аспекты. – 2012. – Т.5, №1-2. – С.43-46.
3. Воронин Л.Л. Анализ пластических свойств центральной нервной системы. – Тбилиси: Мецниереба. – 1982. – 301 с.
4. Казаков В.Н. Сопряжение констант, как форма управления гомеостатическими функциями преоптической областью. // Нейронауки: теор. клин. аспекты. – 2005. – Т.1, № 1. – С. 58-69.
5. Казаков В.Н. Руководство по физиологии (вопросы фундаментальной и клинической физиологии), Т.6. Эндокринные функции. Системы управления. – Донецк: Изд-во ДонНМУ. – 2012. 373с.
6. Казаков В.Н., Гайдарова Е.В., Кузнецов И.Э., Натрус Л.В. Морфо-функциональные изменения нейронов преоптической области и медиобазального гипоталамуса при гипертермии // Арх. клин. экспер. мед. – 1999. – Т.8, № 2. – С. 143-148.
7. Казаков В.Н., Гайдарова Е.В., Натрус Л.В. Влияние оксида азота на фоновую импульсную активность нейронов гипоталамуса // Пурины и монооксида азота: Юбилейная конференция, посвященная 50-летию Института физиологии Национальной академии наук Беларуси. – Минск, 2003. – С. 58-61.
8. Казаков В.М., Гайдарова О.В., Кузнецов Е. Реакция осмосенситивных нейронов гипоталамуса на температурный стимул при осмотическом навантаженні // Історія та сучасні досягнення фізіології в Україні: Зб.наук. пр. – Київ, 2001. – С. 66-67.
9. Казаков В.Н., Івнев Б.Б. Руководство по физиологии (вопросы фундаментальной и клинической физиологии), Т.2. Общие черты организации и функций нервной системы. – Донецк: Изд-во ДонНМУ. – 2012, 393с.
10. Казаков В.Н., Кравцов П.Я., Кузнецов И.Э. Реакция нейронов преоптической области на повышение системного артериального давления // Нейрофизиология. – 1994. – Т. 26, № 2. – С. 132-144.
11. Казаков В.Н., Кузнецов И.Э. Влияние оксида азота на фоновую импульсную активность нейронов рострального гипоталамуса и их реакции на стимуляцию некоторых зон церебральной коры // Биол. Вестник. – 1999. – Т.3, № 1-2. – С. 17-21.
12. Казаков В.Н., Кузнецов И.Э., Герасимов И.Г. Анализ стационарности фоновой активности нейронов рострального гипоталамуса с применением кумулятивной частоты // Экспер. клин. медицина. – 2000. – № 1. – С. 42-44.
13. Казаков В.Н., Кузнецов И.Э., Герасимов И.Г., Игнатов Д.И. Информационный подход к анализу низкочастотной импульсной активности нейронов рострального гипоталамуса // Нейрофизиология. – 2001. – Т.33, № 4. – С. 272-278.
14. Казаков В.Н., Кравцов П.Я., Кузнецов И.Э., Терещенко А.В. Функционально обусловленные изменения осмотической чувствительности нейронов переднего гипоталамуса // Арх. клин. экспер. мед. – 2001. – Т.10, № 1. – С. 3-12.
15. Казаков В.Н., Кузнецов И.Э., Транковский А.М., Гайда-

- рова Е.В. Оценка адекватности экспериментальной модели создания обратимых изменений и функциональной активности нейронных сетей, причастных к регуляции водно-солевого гомеостаза // *Арх. клин. экспер. мед.* – 2000. – Т.9, № 3. – С. 365-371.
16. *Казаков В.Н., Натрус Л.В.* Модуляция импульсной активности нейронов переднего гипоталамуса как функциональная основа гипоталамических механизмов регуляции // *Нейрофизиология.* – 2005. – Т.37, № 5/6. – С. 463-475.
  17. *Казаков В.Н., Натрус Л.В.* Фоновая импульсная активность нейрона // *Универ. клиника.* – 2006. – Т.2, № 1-2. – С. 45-50.
  18. *Казаков В.М., Натрус Л.В., Гайдарова О.В.* Новый метод дослідження імпульсної активності гіпоталамічних нейронів // *Фізіологічний журнал.* – 2004. – Т. 50, № 4. – С. 100-107.
  19. *Казаков В.Н., Натрус Л.В., Гайдарова Е.В., Терещенко А.В.* Механизмы взаимоотношений неоархипалеокортекса с нейронами гипоталамуса как основа мотивационно-эмоционального поведения // *Фундаментальные и клинические аспекты интегративной деятельности мозга: Международные чтения, посвященные 100-летию со дня рождения академика Э.А.Асратяна.* Москва, 2003. – М.: МаксПресс. – 2003. – С. 110-112.
  20. *Казаков В.М., Натрус Л.В., Прокоф'єва Н.В.* Кортикофугальні впливи на центральну регуляцію гомеостазу: дослідження патерну імпульсної активності нейронів переднього гіпоталамуса // *XV з'їзд Українського фізіологічного товариства.* Чернівці, 2006. – *Фізіологічний журнал.* – 2006. – Т.52, № 2. – С. 37.
  21. *Казаков В.Н., Натрус Л.В., Кравцов П.Я., Вислый А.А.* Исследование факторов, вызывающих перестройку импульсной активности нейронов переднего гипоталамуса кошек // *Нейронаука для медицины и психологии: III Міжнародний міждисциплінарний конгрес.* – М.: Макс Пресс, 2007. – С. 112-113.
  22. *Карамян А.И.* Функциональная эволюция мозга позвоночных. – Л.: Наука. – 1970. – 304 с.
  23. *Кузнецов И.Э.* Ритмическое последствие в импульсной активности термосенситивных нейронов преоптического отдела, индуцированное осмотической стимуляцией // *Нейрофизиология.* – 1998. – Т.30, № 6. – С. 460-465.
  24. *Кузнецов И.Э.* Осмотический статус организма и нейрофизиологические механизмы его стабилизации // *Арх. клин. экспер. мед.* – 1999. – Т.8, № 2, (Прил.) – С. 72-79.
  25. *Кузнецов Е., Гайдарова О.В., Натрус Л.В., Терещенко О.В.* Модулюющий вплив оксиду азоту на реакції нейронів переднього відділу гіпоталамусу, що викликаються стимуляцією еволюційно гетерогенних зон кори // *Нейрофизиология.* – 1999. – Т. 31, № 5. – С. 422-425.
  26. *Кузнецов И.Э., Казаков В.Н.* Изменение конвергентных свойств осмосенситивных нейронов преоптического/переднего гипоталамуса при хронических сдвигах электролитного баланса организма // *Арх. клин. экспер. мед.* – 2001. – Т.10, № 4. – С. 429-449.
  27. *Кузнецов И.Э., Казаков В.Н.* Функциональная динамика центральной системы регуляции  $\text{Na}^+$ /осмотического гомеостаза // *Нейрофизиология.* – 2001. – Т.33, № 6. – С. 447-468.
  28. *Леонтович Т.А.* Нейронная организация подкорковых образований переднего мозга. М.: Медицина. – 1978, 383 с.
  29. *Натрус Л.В.* Изменение структуры импульсной активности нейронов преоптической области гипоталамуса при температурном воздействии на организм // *Укр. мед. альманах.* – 2004. – Т.7, № 5. – С.111-114.
  30. *Натрус Л.В.* Изменение параметров фоновой импульсной активности нейронов преоптической области и переднего гипоталамуса при повышении артериального давления // *Архив клин. экспер. мед.* – 2006. – Т.15, № 2. – С. 130-135.
  31. *Натрус Л.В.* Зміни реакції нейронів гіпоталамуса у відповідь на фізіологічно-гічні коливання констант гомеостазу // *Фізіологічний журнал.* – 2006. – Т.52, № 3. – С. 57-63.
  32. *Натрус Л.В.* Исследование механизмов регуляции водно-солевого гомеостаза на основе анализа импульсной активности нейронов переднего гипоталамуса в условиях изменения осмолярности плазмы крови // *Нейронауки: теор. клин. аспекты.* – 2006. – Т.2, № 1-2. – С. 56-62.
  33. *Натрус Л.В.* Модуляция импульсной активности нейронов переднего гипоталамуса кошки при экспериментальных сдвигах осмолярности плазмы крови // *Нейрофизиология.* – 2006. – Т.38, № 1. – С. 40-46.
  34. *Натрус Л.В.* Перетворення характеру імпульсації нейронів переднього відділу гіпоталамуса у відповідь на фізіологічні зрушення констант гомеостазу // *Фізіологічний журнал.* – 2006. – Т.52, № 2. – С. 52-59.
  35. *Натрус Л.В., Вислый А.А.* Оригинальный метод исследования структуры фоновой импульсной активности нейронов мозга // *Проблемы нейрокибернетики: XIV международная конференция по нейрокибернетике.* – Ростов-на-Дону, 2005. – Том 1. – С. 7-10.
  36. *Натрус Л.В., Казаков В.Н.* Изучение механизмов гипоталамической регуляции функций на основе анализа фоновой импульсной активности нейронов переднего гипоталамуса // *I съезд физиологов СНГ.* Дагомыс, Сочи, 2005. – Москва, 2005. – С. 72.
  37. *Натрус Л.В., Казаков В.Н., Вислый А.А.* Вегетативні реакції організму, що спрямовані на підтримку різних констант гомеостазу // *Универ.клиника.* – 2012. – Т.8, № 2. – С.154-158.
  38. Пат. 3092 UA, МКИ 7 А 61В 5/0484. Спосіб дослідження структури імпульсної активності нейронів // В.М. Казаков, Л.В. Натрус, О.В. Гайдарова, В.Г. Гур'янов, О.В. Терещенко, А.А. Вислий; Донецький державний медичний університет ім. М.Горького. – № 2004010376; Заявл. 17.01.04; Опубл. 15.10.2004, Бюл. № 10. – С.1-4.
  39. Пат. 68719 А UA, МКИ 7 А 61 М 16/12. Пристрій для штучної вентиляції легень дрібних лабораторних тварин у електрофізіологічному експерименті // В.М. Казаков, Л.В. Натрус, О.В. Гайдарова, О.В. Терещенко, В.І. Дегтярьов; Донецький державний медичний університет ім. М.Горького. – № 2003109030; Заявл. 06.10.03; Опубл. 16.08.2004, Бюл. № 8. – С. 1-6.
  40. *Судаков К.В.* Системные механизмы мотивации // *М.: Медицина.* – 1979. – 200с.
  41. *Хэм А., Кормак Д.* Гистология (пер. с англ.). – М.: Мир. – 1983. – Т. 2. – 254 с.
  42. *Чернова Н.Д., Дымникова Л.П.* Определение реакций нейронов центра терморегуляции в заднем гипоталамусе кролика на термическое воздействие // *Нейрофизиология.* – 1998. – Т.20, № 3. – С. 291-301.
  43. *Andersson B.* Regulation of water intake // *Physiol. Rev.* – 1978. – Vol. – 58, № 3. – P.582-603.
  44. *Bealer S.L.* Anteroventral third ventricle periventricular tissue contributes to cardiac baroreflex responses // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2000. – Vol.27, № 5-6. – P.460-464.
  45. *Bealer S.L., Armstrong W.E., Cromley W.R.* Oxytocin release in magnocellular nuclei: neurochemical mediators and functional significance during gestation // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2010. – Vol. 299, № 2. – P. 452-458.
  46. *Bernard C.* Les phenomenes de la vie. Paris. – 1878. – 337 p.
  47. *Bolant J.A., Silva N.L.* Interaction of reproduction steroids, osmotic pressure, and glucose on thermosensitive neurons in preoptic tissue slices // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1987. – Vol.65, № 6. – P. 1267-1273.
  48. *Bourque C.W.* Central mechanisms of osmosensation and systemic osmoregulation. *Nat. Rev. Neuroscience.* – 2008. – Vol. 9, № 5. – P.519-531
  49. *Cannon W.B.* Bodily changes in pain, fear, hunger and rage. Boston: Harvard Univ. Press. – 1929. – 392 p.
  50. *Dellman H.D., Simpson J.B.* The subformal organ // *Int. Rev. Cytol.* – 1976. – Vol.58, № 2. – P.333-421.
  51. *Fitts D.A.* Angiotensin II receptors in SFO but not in OVLT mediate isoproterenol-induced thirst // *Am. J. Physiol.* 1994. – Vol. 267(1 Pt 2):R7-15.
  52. *Fitzsimons J.T.* Angiotensin, thirst and sodium appetite. *Physiol. Rev.* – 1998. – Vol.78, № 4. – P. 583-686.
  53. *Gaidarova E.V., Natrus L.V., Kuznetsov I.E.* Nitric oxide action on firing activity of preoptic neurons and their responses to stimulation of some areas of the cerebral cortex // *Експерим. клін. фізіол. біохім.* – 2001. – № 2 (14). – С. 26-32.
  54. *Garcia-Segura L.M.* Hormones and brain plasticity // Oxford-New York: Oxford University Press. – 2009. – 482 p.
  55. *Han Z.S., Ju G.* Responses of neurons in the rat anterior hypothalamic peri-ventricular zone to osmotic stimulation and angiotensin II in vitro // *Neurosci. Lett.* – 1992. – Vol.148, № 1-2. – P.190-194.
  56. *Hatton G.I.* Dynamic neuronal-glia interactions: an overview 20 years later // *Peptides.* – 2004. – Vol. 25, № 3. – P. 403-411.
  57. *Hebb D.O.* The Organization of Behavior. A Neuropsychological Theory. – Wiley, New York. – 1949. – 335 p.



58. *Honda K.* Japanese Society for Animal Reproduction: award for outstanding research. Mechanisms controlling neurohypophysial hormone release in the rat // *J.Reprod.Dev.* – 2002. – Vol.49, № 1. – P.1-11.
59. *Hussy N., Deleuze Ch., Desarmenien M.G., Moos F.C.* Osmotic regulation of neuronal activity: a new role for taurine and glial cells in a hypothalamic neuroendocrine structure. // *Prog. Neurobiol.* – 2000. – Vol. 62, № 1. – P.113-134
60. *Jasper H., Ajmone-Marsan C.* A stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat. – Ottawa, 1954. – 324 p.
61. *Kawano H., Masuko S.* Region-specific projections from the subfornical organ to the paraventricular hypothalamic nucleus in the rat // *Neuroscience.* – 2010. – Vol.169, № 5. – P.1227-1234.
62. *Kazakov V.N.* Results of morphological and electrophysiological analysis of projections from the evolutionary distinct cortical areas to preoptic neurons // Abstract XXXIII Intern. Congr. Physiol. Sci. – St.Petersburg, 1997. – P080.02.
63. *Kazakov V.N., Gaidarova E.V., Kravtsov P.Ya.* Morphofunctional changes of the neuroendocrinal system in hyperthermia // *Acta Physiol. Hungarica.* – 2002. – Vol.89, № 1-3. – P.313.
64. *Kazakov V.N., Gaydrova E.V., Natrus L.V., Tereschenco A.V.* Modification of interaction between structures of limbic system and neurons of hypothalamus under influence of nitric oxide // *Chin. J. Pathophysiology.* – 2006. – V.22, № 13 (Suppl). – P. 525-526.
65. *Kazakov V.N., Kuznetsov I.E.* Convergent properties of the viscerosensitive neurons in the preoptic area // Abstract, First FEPS Congress / *Eur. J. Physiol.* – 1995. – Vol. 430, № 4. – P. R16/31.
66. *Kazakov V.N., Kuznetsov I.E.* Thermal and glucose convergent afferent inputs to the preoptic area neurons // Abstract, Second FEPS Congress / *Physiol. Res.* – 1999. – V. 48, Suppl. 1. – P. LA 2.
67. *Kazakov V.N., Kuznetsov I.E., Andreeva V.F., Prokofieva N.V.* Comparison of preoptic neuron responses to thermal and non-thermal visceral stimulations // Abstract XXXIII Intern. Congr. Physiol. Sci. – St.Petersburg, 1997. – P070.03.
68. *Kazakov V.N., Kravtsov P., Kuznetsov I., Tereschenco A.* Influences from different areas of the cerebral cortex on preoptic neurons. Morphological and electrophysiological data // *Neuroscience.* – 1992. – Vol.51, № 4. – P.961-972.
69. *Koga H., Hori T., Inoue T., Kiyohara T., Nakashima T.* Convergence of hepatportal osmotic and cardiovascular signals on preoptic thermosensitive neurons // *Brain Res.* – 1987. – Vol. 19, № 1. – 109-113.
70. *Kuznetsov I.E.* Participation of the preoptic/anterior hypothalamic neurons in integrated control of thermal and osmotic homeostasis // *Збірник наукових праць Луганського аграрного університету.* – 2000. – № 6(18). – P.103-108.
71. *Kuznetsov I.E., Kazakov V.N.* Osmotic stimulation exerted rhythmical aftereffect in discharge activity of thermosensitive neurons in the preoptic region // Abstract, Second FEPS Congress / *Physiol. Rev.* – 1999. – V. 48, Suppl. 1. – P. LA.1.
72. *Kuznetsov I.E., Kazakov V.N.* Integration of thermal and osmotic afferent signals in the preoptic/anterior hypothalamic neurons // *Neuroscience.* – 2000. – Vol. 99, № 2. – P. 363-371.
73. *Kuznetsov I.E., Kazakov V.N.* Osmotically-induced phasic firing in thermo-sensitive neurons of the preoptic/anterior hypothalamus. // In: *Basic and Applied Thermophysiology.* Ed. V.N. Gourin. Minsk: Polibig, 2000. – P. 62-68.
74. *Kuznetsov I.E., Kazakov V.N.* Functional dynamics of the central system of regulation of  $\text{Na}^+$ /osmotic homeostasis // *Neurophysiology.* – 2001 – Vol. 33, № 6 – P. 393-412.
75. *Laming P.R., Kimelberg H., Robinson S.* Neuronal-glia interactions and behaviour // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2000. – Vol.24. № 3. – P. 295-340
76. *Lavezzi A. M., Mecchia D., Matturri L.* Neuropathology of the Area Postrema in Sudden Intrauterine and Infant Death Syndromes Related to Tobacco Smoke Exposure // *Autonom. Neuroscience – Basic and Clinical.* – 2012. – Vol. 166, № 1-2. – P. 29-34.
77. *Lee D.A., Blackshaw S.* Functional implications of hypothalamic neurogenesis in the adult mammalian brain // *Int.J.Dev.Neurosci.* – 2012. – Vol.55, № 3. – P.271-282
78. *Lippi M., Martelli D., Amici R.* Hypothalamic osmoregulation is maintained across the wake-sleep cycle in the rat // *J. Sleep Research.* – 2010 – Vol. 19, № 3. – P.394-399.
79. *Matsumura K., Nakayama T., Tamaki Y.* Effects of preoptic and hypothalamic thermal stimulation on electrical activity of neurosecretory cells in the supraoptic nucleus // *Brain Res.* – 1985. – Vol.346, № 2. – P.327-332.
80. *Malenka R.C., Nicoll R.A.* Long-term potentiation – decade of progress? // *Neurosci.* – 1999. – Vol. 258, № 9. – P.1870-1974.
81. *McKinley M.J., Johnson A.K.* The physiological regulation of thirst and fluidintake. *News Physiol. Sci.*, 2004. – Vol.19, N 1. – P. 1-6.
82. *Natrus L.V., Kazakov V.N., Gaidarova E.V., Tereshchko A.V.* A new view about the central mechanism of homeostatic regulation // Abstract 6<sup>th</sup> Forum of European Neuroscience. – Geneva. – 2008. – P. 224.
83. *Oliet S.H.R., Piet R., Poulain D.A., Theodosis D.T.* Glial modulation of synaptic transmission: insights from the supraoptic nucleus of the hypothalamus // *Glia.* – 2004. – Vol. 47, № 3. – P.258-267.
84. *Osaka T., Ueta Y., Yamashita H.* Osmosensitive hypothalamic neurons and their responses to cardiovascular receptor activation // *Brain Res.Bull.* – 1995. – Vol. 36, № 4. – P.371-379.
85. *Pellegrino L.J., Pellegrino A.S., Cushman A.J.* A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain. New York: Plenum. – 1979. – 288 p.
86. *Ployngam T., Katz S.A., Collister J.P.* Role of the median preoptic nucleus in arterial pressure regulation and sodium and water homeostasis during high dietary salt intake // *Neurophysiology.* – 2012. – Vol.44, Issue 5. – P. 363-375.
87. *Reinoso-Suarez F.* Topographischer Hirnatlas der Katze fur experimental phy-siologische Untersuchungen. – Darmstadt: 1961. – 24 p.
88. *Rowland L.P., Pedley T.A.* Merritt's Neurology. – Lippincott Williams & Wilkins. – 2009. – 1216p.
89. *Saad W.A., Camargo L.A.* Interaction between arginine vasopressin and angiotensin II receptors in the central regulation of sodium balance // *Regul.Pept.* – 2005. – Vol.132, № 1-3. – P.53-58.
90. *Saper C.B., Levisohn D.* Afferents connections of the median preoptic nucleus in the rat: anatomical evidence for a cardiovascular integrative mechanism in the anteroventral third ventricular (AV3V) region // *Brain Res.* – 1983. – Vol.288, № 1. – P.21-31.
91. *Sewards T.V., Sewards M.A.* Representations of motivational drives in mesial cortex, medial thalamus, hypothalamus and midbrain // *Brain Res.Bull.* – 2003. – Vol. 61, № 1. – P.25-49.
92. *Sladek C.D., Johnson A.R.* Integration of thermal and osmotic regulation of water homeostasis: the role of TRPV channels // *Am.J.Physiol.* – *Regul.Integr. Comp.Physiol.* – 2013. – Vol.305, N 7/ - P. 669-678.
93. *Somponpun S.J., Johnson A.K., Beltz T.* Estrogen receptor-alpha expression in osmosensitive elements of the lamina terminalis: regulation by hypertonicity // *Am.J.Physiol – Regul.Integr.Comp Physiol.* – 2004. – Vol. 287, № 3. – P.R661-R669.
94. *Swanson L.W.* Cerebral hemisphere regulation of motivated behavior // *Brain Res.* – 2000. – Vol. 886, № 1-2. – P.113-164.
95. *Theodosis D.T.* Oxytocin-secreting neurons: A physiological model of morphological neuronal and glial plasticity in the adult hypothalamus // *Front Neuroendocrinol.* – 2002. – Vol.23, № 1. – P.101-135.
96. *Theodosis D.T., Poulain D.A., Oliet S.H.R.* Activity?dependent structural and functional plasticity of astrocyte?neuron interactions // *Physiol.Rev.* – 2008. – Vol. 88, № 4. – P.983-1008.
97. *Thunhost R. L.* Local formation of angiotensin-II in the circumventricular organs of the rat brain // *Arch. Clin. Exp. Med.* – 1998. – Vol. 7, №1. – P.87-94.
98. *Turrigiano, G.G.* Homeostatic plasticity in neuronal networks: the more things change, the more they stay the same // *Trends Neurosci.* – 1999. – Vol.22, № 2. – P.221-227.
99. *Ushigome A., Nomura M., Tanaka J.* Modulation of noradrenaline release in the median preoptic area by GABAergic inputs from the organum vasculosum of the lamina terminalis in the rat // *Neurochem. Int.* – 2004. – Vol.44, № 1. – P.139-144.
100. *Voisin A.N., Mougnot D., Drolet G.* Multiple episodes of sodium depletion in the rat: a remodeling of the electrical properties of median preoptic nucleus neurons // *Eur.J.Neuroscience.* – 2013. – Vol.38, Issue 5. – P. 2730-2741.
101. *Vyslyy A.A., Vyslyy O.A.* Morphological changes in anterior hypothalamus level due to shifts in osmotic homeostasis // *Abstr. 13<sup>th</sup> European conference for promising biomedical scientists and future doctors.* – Berlin. – 2002. – P.172.
102. *White M.M., Samson W.K.* A possible relationship between brain-derived adrenomedullin and oxytocin in the regulation of sodium balance // *J.Endocrinol.* – 2009. – Vol.203, № 2. – P.253-262.

Надійшла до редакції: 22.01.2014