

- варіаційної пульсометрії з метою оцінки стану вегетативної регуляції / С.П. Московко, В.М. Йолтухівський, Г.С. Московко, М.П. Костенко // Вісник Вінницького державного медичного університету. - 2000. - № 1. - С. 238-239.
- Фролов А.В. Вариабельность и устойчивость, важнейшие свойства сердечно-сосудистой системы / А.В. Фролов // Клиническая информатика и телемедицина. - 2005. - № 2. - С. 32-36.
- Яблучанский Н.И. Вариабельность сердечного ритма в современной кли-
- нике / Н.И. Яблучанский, Б.Я. Кантор, Ю.В. Щербатых // Психологический журнал. - 2002. - № 1. - С. 118-122.
- Carter J.L. Somatotyping - development and applications / J.L. Carter, B.H. Heath. - Cambridge University Press, 1990. - 504 p.
- Corino V.D. Analysis of heart rate variability to predict patient age in a healthy population / V.D. Corino, M. Matteucci, L.T. Mainardi // Methods Int. Med. - 2007. - Vol.46, №2. - P. 191-195.
- Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use / Task Force of the European Society of Cardiology and North American Society of Pacing and Electrophysiology // Circulation. - 1996. - Vol. 93, № 5. - P. 1043-1065.
- Heymsfield S.B. Anthropometric measurement of muscle mass: revised equations for calculating bone-free arm muscle area / S.B. Heymsfield // Am. J. Clin. Nutr. - 1982. - Vol. 36 (4). - P. 680-690.
- Matiegka J. The testing of physical efficiency / J. Matiegka // Amer. J. Phys. Anthropol. - 1921. - Vol. 2, № 3. - P. 25-38.

Черепакха О.Л.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ НОРМАТИВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАРДИОИНТЕРВАЛОГРАФИИ У ЖЕНЩИН 21-25 ЛЕТ С ЭУКИНЕТИЧЕСКИМ ТИПОМ ГЕМОДИНАМИКИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИХ И СОМАТОТИПОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ТЕЛА

Резюме. Используя метод регрессионного анализа, на основании особенностей антропометрических и соматотипологических показателей у здоровых городских женщин Подолья 21-25 лет с эукинетическим типом гемодинамики построены модели параметров кардиоинтервалографии (КИГ), наиболее часто используемые в клинике. У женщин с эукинетическим типом гемодинамики из 9 возможных, построено 4 статистически значимых модели показателей КИГ, имеющих практическое значение для медицины (коэффициент детерминации равняется от 0,537 до 0,670). В этих моделях, у женщин с эукинетическим типом гемодинамики, наиболее часто встречаются обхватные размеры тела, продольные размеры тела и крианиометрические параметры.

Ключевые слова: кардиоинтервалография, здоровые женщины, эукинетический тип гемодинамики, антропометрические и соматотипологические показатели, математическое моделирование.

Cherapakha O.L.

MATHEMATICAL MODELING OF CARDIOINTERVALOGRAPHY NORMATIVE INDICES OF THE 21-25 YEAR-OLD FEMALES WITH EUKINETIC TYPE OF HEMODYNAMIC ACCORDING TO THE ANTHROPOMETRIC AND SOMATOTYPOLGICAL PARAMETERS OF THE BODY

Summary. Models of cardiointervalography (CIG) parameters which are the most often used in clinic were built in the healthy urban 21-25 year-old females with eukinetic type of hemodynamic based on peculiarities of their anthropometrical and somatotypological indices using the regression analysis. In females with eukinetic type of hemodynamic from 9 possible models were built 4 statistically significant ones with CIG indices. These models have practical importance for medicine and their coefficients of determination are from 0,537 to 0,670. Most often in these models are occurred circumference body sizes, longitudinal body sizes and cephalometric sizes.

Key words: cardiointervalography, healthy females, eukinetic type of hemodynamic, anthropometric and somatotypological parameters, mathematical modeling.

Стаття надійшла до редакції 9.04.2014 р.

Черепакха Олена Леонідівна - к.мед.н, асистент кафедри гістології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; +38 098 953-67-29

© Рокунець І.Л.

УДК: 1.612.822:599.323.4:591.451.1

Рокунець І.Л.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

СПОЛУЧЕНА ІМПУЛЬСНА АКТИВНІСТЬ НЕЙРОНІВ ПОЛЯ САЗ ГІПОКАМПА ЩУРА В УМОВАХ ВІЛЬНОЇ ПОВЕДІНКИ

Резюме. За допомогою восьмиканального металевого мікроелектрода (діаметр окремого каналу 12 мкм) було зареєстровано позаклітинні відведення фонові імпульсної активності 250 окремих нейронів або їх малих груп (функціональних пар) поля САЗ гіпокампа щурів, наркотизованих кетаміном та в умовах вільної поведінки. У 51 випадку (20,4 %) потенціали дії (ПД) двох окремих нейронів генерувалися паралельно і знаходилися у функціональному поєднанні, на що вказували фіксовані часові інтервали між ними. Подібний ефект було зафіксовано як у наркотизованих, так і щурів в умовах вільної поведінки. Це розцінено як результат збудження двох сусідніх функціонально пов'язаних (сполучених) клітин. Такі пари ПД реєструвалися або по одному, або по двох сусідніх каналах мікроелектрода. Інші ПД у парі виникали тільки за умови генерації попереднього ПД іншим нейроном, тоді як ПД останнього в деяких випадках могли виникати ізольовано. Отже, у подібних нейронних парах могли бути ідентифіковані "провідний" і "супроводжувачий" нейрони. Коефіцієнт зчеплення генерації ПД супроводжувачим нейроном щодо ПД, генерованих провідною клітиною, наближався до 100 % незалежно від частоти роз-

рядів останньої. Інтервали між ПД двох нейронів у їх різних сполучених парах варіювали від 2,7 до 6,5 мс. У разі мінімальних значень таких інтервалів, ПД генеровані нейронами пари, накладались один на одний, тому в класичних алгоритмах аналізу імпульсної активності нейронів розцінювались як одна сигнальна одиниця. Це призводило до формування імпульсів, котрі виглядали як "складні ПД", але в деяких проміжках часу між імпульсними інтервалами збільшувались, і такі ПД зазнавали декомпозиції. Описані дані розглядаються як отримане в експерименті *in vivo* електрофізіологічне підтвердження наявності тісного функціонального сполучення між значною частиною нейронів поля СА3 гіпокампа, зокрема просторово розташованих близько один до одного (тобто таких, що входять до складу мікропопуляції).

Ключові слова: багатоканальне мікроелектродне відведення, поле СА3 гіпокампа щурів, мікропопуляції нейронів, сполучена імпульсна активність.

Вступ

Відомо, що в багатьох структурах ЦНС близькорозташовані нейрони формують мікропопуляції. Для них характерні не просто близька просторова локалізація, але й наявність тісних функціональних синаптичних зв'язків між клітинами, що входять до таких популяцій. Іншими словами, близьке розташування нейронів є важливим фактором, який відіграє істотну роль у можливості об'єднання функціонального конгломерату нейронів в мікросистему. Така мікросистема часто є елементарним функціональним модулем тієї чи іншої структури ЦНС. Широко відомий, зокрема, феномен об'єднання кортикальних нейронів у так звані колонки [Panzeri et al., 2003] або функціонально подібні угруповання (CA1, CA3 гіпокампа та ін.) [Wyble et al., 2000; Isomura et al., 2006; Stark et al., 2014]. Проте до теперішнього часу основними ознаками для ідентифікації сполучення нейронів у мікросистему все ж таки залишаються структурні (цитоархітектонічні) критерії, які визначаються на базі застосування тих чи інших морфологічних методик. Функціональні взаємовідносини структурних одиниць у таких мікропопуляціях, зокрема на рівні поля СА3 гіпокампа, вивчені значно менш докладно. Фактично такі функціональні сполучення між близько розташованими нейронами відносно широко досліджувалися лише в нервовій системі безхребетних (звичайно молюсків) [Staras et al., 1998]. Також подібні дослідження поєднаної електричної активності нейронів та їх спільної синхронізації сторонніми ритмами були проведені на гіпокампі (поле СА3, CA1 щура) [Csicsvari et al., 1999].

Навіть застосування сучасних складних методичних підходів у вивченні функціональних взаємовідносин гіпокампальних нейронів, котре дозволило б значно деталізувати функціональне призначення нейронів поля СА1 та СА3, дало в цілому обмежені результати з низкою гіпотетичних припущень [Wang et al., 2008].

Проблема правильного диференціювання потенціалів дії від різних ділянок нейрона і таких, що є окремими від двох суміжних взаємодіючих нейронів, була детально розглянута в роботі з екстра - та інтрацелюлярним мікроелектродним відведенням потенціалів дії (ПД) нейронів поля СА1 гіпокампа [Henze et al., 2000].

У експерименті безпосередні докази існування синаптичних зв'язків між двома нейронами можуть бути отримані на базі паралельного мікроелектродного відведення від цих одиниць. У даному аспекті слід згадати роботи з такими відведеннями від двох нейронів спинного мозку (мотонейрона та проміжного нейрона, зок-

рема гальмівного інтернейрона системи прямого гальмування) [Кожанов, Шаповалов, 1977; Jankowska, Roberts, 1972; Jankowska, 1975]. Подібні спостереження поки що залишаються унікальними; до того ж, згадані спінальні нейрони досить істотно "рознесені" просторово, і тому їх можна відносити до певної мікропопуляції лише з певними застереженнями.

Відведення від нейронів поля СА3 гіпокампа за допомогою декількох мікроелектродів, зібраних у вигляді пучка в умовах, коли зони ефективного відведення ПД знаходяться на помітній відстані одна від одної, також звичайно не дають підстав чітко кваліфікувати виявлені нейрони як такі, що входять до мікропопуляції. Певні можливості для ідентифікації функціональних зв'язків між нейронами мікропопуляції з'явилися після введення в практику багатоканальних мікроелектродів (чотириканальних, (так званих тетродів, і політетродів)) [Harris et al., 2000; Hutzler et al., 2006]. Незважаючи на це, прямі електрофізіологічні дані щодо особливостей взаємодії близько розташованих нейронів, які були отримані в експериментах *in vivo*, поки що залишаються істотно обмеженими.

У своїх дослідках ми використали оригінальну розробку восьмиканального металевого мікроелектрода для позаклітинного відведення електричної активності нейронів поля СА3 гіпокампа щура. Контактні зони каналів означеного мікроелектрода знаходяться на невеликих відстанях одна від одної. Тому при успішному відведенні активності двох нейронів по одному каналу або активності декількох нейронів по різних каналах вірогідність того, що ці одиниці входять до мікропопуляції, може вважатися досить високою. За допомогою вказаного способу відведення нам вдалось у багатьох випадках виявити ознаки досить жорсткого сполучення імпульсної активності, генерованої двома близько розташованими гіпокампальними нейронами. Деякі аспекти методики дослідження та такого функціонального сполучення нейронів й описуються в даному повідомленні.

Мета дослідження - вивчити особливості функціонування нейронів в мікропопуляції поля СА3 гіпокампа щура в умовах вільної поведінки.

Матеріали та методи

Робота виконана на 20 щурах-самцях масою 250 - 320 г лінії Вістар селекції віварію Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України з дотриманням правил біоетики. Тварину в стані голоду поміщали у

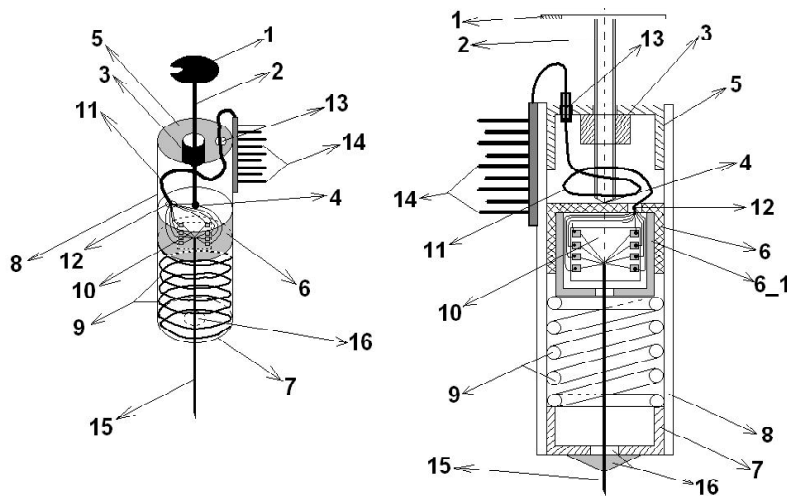


Рис. 1. 1- металевий диск з вирізкою для обертання шток-гвинта; 2- шток-гвинт з різьбою; 3- пластикова різьбова втулка; 4- упорна площадка поршня, з якою контактує конус шток-гвинта; 5- верхня циліндрична кришка мікроманіпулятора; 6- поршень мікроманіпулятора; 6_1- внутрішній герметизуючий циліндр поршня; 7- нижня циліндрична кришка поршня; 8- циліндричний корпус мікроманіпулятора; 9- пружина повернення поршня у вихідне положення; 10- сеталова контактна площадка мікроелектрода; 11- з'єднувальний гнучкий багатожильний провід (для з'єднання восьмиканального мікроелектрода з конектором); 12- герметизований отвір в поршні для контактних провідників; 13- герметизований отвір в верхній циліндричній кришці для виведення контактних провідників; 14- конектор мікроманіпулятора для з'єднання з портативним багатоканальним телеметричним підсилювачем-передавачем; 15- восьмиканальний металевий мікроелектрод; 16- силіконова герметизація вихідного отвору мікроманіпулятора для мікроелектрода.

спеціальну камеру з годівницею, де за щілиною у передній стінці розташовували харчові кульки (детальніше методику описано у нашій роботі [Мороз та ін., 2010]). Протягом 30 тренувальних днів формувався моторний навик (швидкий їждобувний рух), а система фотореєстрації створювала базу даних про кількість захоплених харчових кульок, кількість рухів для захоп-

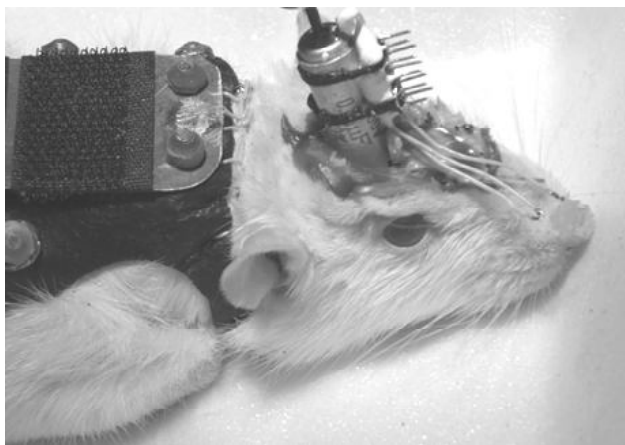


Рис. 2. Фотографія лабораторного щура на етапі імплантації мікроманіпулятора циліндричної конструкції з попередньо зафіксованим рюкзачком.

лення кульки, швидкість фаз руху та інші. Із 20 щурів експериментальної групи 17 успішно виробили їждобувний рух.

Підготовчу операцію для дослідження нейронної активності гіпокампу (поле СА3) проводили під кетаміновим наркозом (200 мг/кг, в/м) з додатковим місцевим знеболенням.

В стереотаксичному апараті СЕЖ-4 голову тварини фіксували. Згідно координат атласа [Paxinos, Watson, 1997] виконували трепанацію черепа стоматологічним портативним апаратом, бором діаметром 1,5-2 мм над гіпокампом (AP 4,2 мм; L 3,6 мм) з боку ведучої кінцівки.

Реєстрацію імпульсної активності нейронів (ІАН) здійснювали багатоканальним металевим електродом (політродом) власного виробництва, фіксованим на поверхні черепа в складі портативного мобільного мікроманіпулятора (рис. 1).

Конструктивно електрод був виготовлений із вольфрамової проволочки, покритої тонким шаром золота загальним діаметром 12 мкм. Зовні проволочку покривали шаром електроізоляційного лаку ПЛ-65, каналні ізольовані провідники збирали в пучок (як правило, із восьми стержнів), склеювали лаком, кінчик заточували на алмазному крузі під кутом 45°- 60° [Мороз та ін., 2006; Власенко та ін., 2010]. Програмно-апаратний комплекс власного виробництва [Мороз та ін., 2006; Чечель та ін., 2010] забезпечував восьми-

канальну реєстрацію біопотенціалів, їх підсилення, аналогово-цифрове перетворення, запис на магнітні та оптичні носії інформації, виділення корисного сигналу, сортування потенціалів дії за принципом приналежності до окремих нервових клітин (рис. 3).

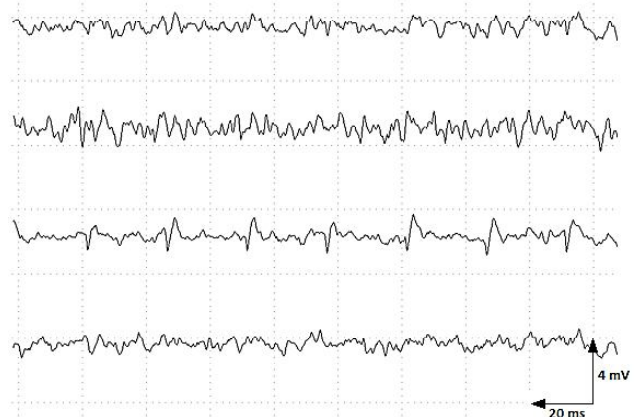


Рис. 3. Приклад типової нейронограми від різних нервових клітин поля СА3 гіпокампа.

Статистичну обробку матеріалу проводили методами варіаційної статистики з використанням дисперсійного аналізу (ANOVA) для оцінки приналежності вибірок до однієї генеральної сукупності, критерій Ст'юдента з поправкою Бонферроні для множинних порівнянь і встановлення вірогідних відмінностей [Гланц, 1998], коефіцієнт кореляції для оцінки сили зв'язку, критерію Фішера для встановлення вірогідності відмінностей між відсотковими долями реагуючих нейронів двох вибірок [Сидоренко, 2003].

Результати. Обговорення

У перебігу експериментів нами було зареєстровано позаклітинні відведення фонові імпульсної активності від 335 окремих нейронів. Ці нейрони були розташовані у полі СА3 гіпокампа на глибинах від 3600 до 3800 мкм від поверхні кори головного мозку. Тривалість успішної реєстрації активності нейронів у різних дослідках складала від декількох годин до декількох днів зі стандартним позиціонуванням (електрод не потребував переміщення в мікроманіпуляторі). За успішні реєстрації ми вважали випадки, коли протягом усієї їх тривалості якість відведення забезпечувала безперервну легку візуальну дискримінацію потенціалів дії (ПД) відносно шумових завад та артефактів рухової активності.

Нейронограма, на якій показана одночасна реєстрація імпульсної активності від багатьох нейронів показана на рис. 4.

Потенціали (рис. 4) 3, 4, 5, 6, 7 відповідають вірогідному відведенню імпульсної активності нейронів (ІАН) від одних і тих же нейронів по різних каналах. Потенціали 1, 2, 8 відведені від інших нервових клітин.

Серед кількох видів ПД, що позаклітинно відводилися від поодиноких нейронів поля СА3 гіпокампа, найбільш характерними за своєю формою були потенціали, відведені по А, С і D каналах (рис. 4). Вони являли собою монофазні (або багатофазні) коливання, перша фаза яких найчастіше виглядала як досить коротка (1,0-2,0 мс) електронегативність. Друга частина таких ПД була значно тривалішою (2-8 мс) електропозитивністю, більшою або меншою за амплітудою (рис. 4, канали В і С 4, 5 потенціали). Значно рідше ПД поодинокого нейрона мали зворотну послідовність фаз (прикладом може бути перший ПД, відведений по каналу А, на рис. 4 (потенціал 4)). Описані ПД за амплітудою, формою, а також тривалістю та полярністю фаз у цілому були подібні аналогічним потенціалам, відведеним позаклітинно за допомогою мікроелектродів іншої конструкції. Вважають, що такий патерн ПД відповідає умовам достатньо близького розташування активної зони мікроелектрода від соми нейрона [Stark et al., 2014].

В умовах багатоканальної реєстрації ПД окремого нейрона поля СА3 гіпокампа найчастіше відводилися лише по одному з восьми каналів мікроелектрода (рис. 5, канал А, нейрон 1).

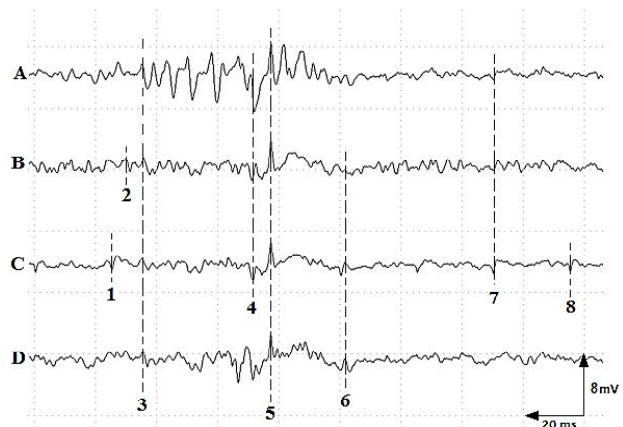


Рис. 4. Приклад одночасного паралельного відведення фонові імпульсної активності декількох нейронів поля СА3 гіпокампа щура по 4 каналах.



Рис. 5. Приклад одночасної реєстрації фонові імпульсної (зокрема пари нейронів 3, 4) активності декількох нейронів поля СА3 гіпокампа щура по 4 каналах.

Іноді ПД одного і того самого поодинокого нейрона відводилися одночасно по декількох сусідніх каналах (рис. 5, канали А, В, С, D, нейрон 2). Генерація таких ПД була абсолютно синхронною, спрямованість їх фаз - звичайно однаковою, і такі імпульси відрізнялися лише за своєю амплітудою. У деякій частині одночасних відведенень реєструвалися ПД двох сусідніх нейронів по трьох каналах. Спрямованість фаз у таких імпульсів по одному каналу (рис. 5, канал А, 3, 4 потенціали) була однаковою, а по інших каналах для потенціалу 4 рис. 5 мала протилежний напрямок (канали В і С в зоні 5 рис. 5) при повній синхронності відповідних ПД. Це переконливо свідчить про те, що ці імпульси генеруються різними клітинами.

Найбільш цікавими виглядали такі паралельні відведення фонові активності декількох гіпокампальних (СА3) клітин, коли імпульсація, генерована даними одиницями, була причинно пов'язана та явно сполучена в часі. У подібних випадках ПД двох нейронів в основному легко дискримінувалися візуально, а генерація ПД

Таблиця 1. Кількість зареєстрованих нейронів поля СА3 гіпокампа протягом навчання їждобувному навичку щурів.

| Етап дослідження | Кількість зареєстрованих нейронів | Реагуючих | Тип реакції: збудливий багатофазний |
|---|-----------------------------------|------------|-------------------------------------|
| після 6 дня формування рухової навички | 97; 100 % | 53; 54,6% | 16; 16,4 % |
| після 9 дня формування рухової навички | 75; 100 % | 41; 54,7 % | 25; 33,3 % |
| після 11 дня формування рухової навички | 78; 100 % | 52; 66,7 % | 10; 12,9 % |

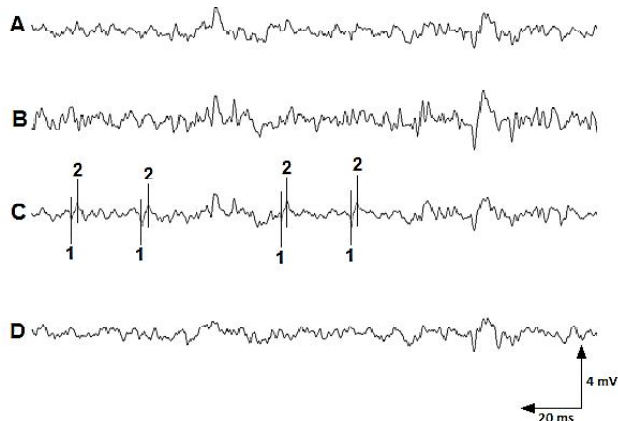


Рис. 6. Нейрограма фонові імпульсної (зокрема пара нейронів по каналу С: 1 позитивної полярності та 2 негативної полярності) активності нейронів поля СА3 гіпокампа щура по 4 каналах восьми каналного мікроелектрода.

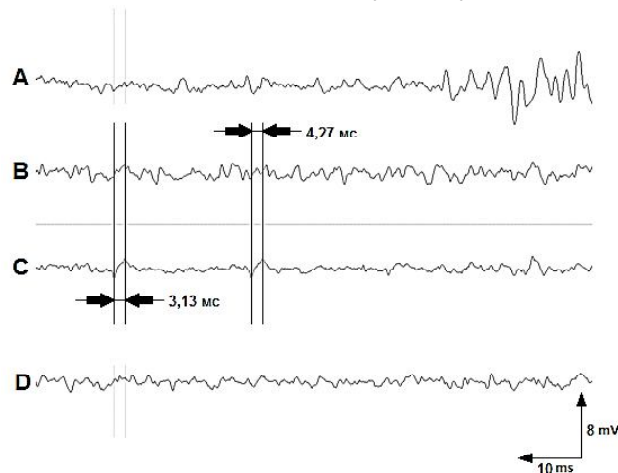


Рис. 7. Нейрограма фонові імпульсної (зокрема пара нейронів по каналу С: спостерігається зміна між імпульсно-го інтервалу в межах 3,13 мс до 4,27 мс) активності нейронів поля СА3 гіпокампа щура по 4 каналах.

одним із нейронів була ймовірно детермінована генерацією ПД іншим нейроном у парі. В умовах використання нашого багатоканального металевого мікроелектрода були можливими декілька варіантів таких паралельних відведень, описані нижче. Реалізація того або іншого варіанта, очевидно, залежала від взаємного

розташування досліджуваних гіпокампальних клітин відносно контактних зон відповідних каналів відведення. Паралельна реєстрація згаданої сполученої імпульсної активності пар нейронів спостерігалася в наших експериментах у 51 випадку (20,4 % від загальної кількості зареєстрованих нейронів поля СА3 гіпокампа (табл.1)).

Найчастіше подібна активність нейронної пари відводилася по одному і тому ж самому каналу (рис. 6, канал С). Через деякий часовий інтервал після ПД з описаними вище характеристиками в таких випадках генерувалися другі ПД, які легко диференціювалися візуально. Як правило, полярність фаз таких других ПД була протилежною щодо такої перших ПД у парі, тобто сполучені ПД були дискордантні (протилежні у різних відведеннях) за полярністю.

Майже завжди другі ПД у парі мали меншу амплітуду, хоча зустрічались і протилежні співвідношення (див. нижче). Вірогідність генерації другого ПД у парі після першого в усіх без виключення випадках була дуже високою: звичайно вона перевищувала 90 % і могла досягати 99-99,5 %. Випадки, коли перший ПД у парі генерувався ізольовано і не супроводжувався другим ПД, відмінним за своєю конфігурацією та амплітудою, хоча й були відносно рідкими, але все ж таки зустрічались.

У той же час ПД, за формою та амплітудою ідентичні до других ПД у парі, ніколи не виникали ізольовано. Отже, у випадках реєстрації сполученої імпульсної активності пари нейронів гіпокампа завжди можна було досить чітко ідентифікувати провідний та супроводжувачий нейрони.

Здатність другої клітини в парі генерувати імпульс після генерації ПД першим (провідним) нейроном у літературі визначається як коефіцієнт зчеплення [Galarreta, Hestrin, 2005]. Таким чином, у випадках реєстрації сполученої імпульсації нейронних пар в умовах наших експериментів вказаний коефіцієнт практично в усіх випадках дорівнював 100 % - не було зафіксовано ситуацій, коли ПД супроводжувачого нейрона спостерігалися ізольовано, без появи ПД першого, провідного, нейрона.

Міжімпульсні інтервали (МІ) між ПД провідного і супроводжувачого нейронів найчастіше складали від 2,7 до 6,5 мс і звичайно демонстрували досить помітні флуктуації (рис. 7); в окремих випадках тривалість МІ в парі досягала 7-8,5 мс. Деяким виключенням були відносно нечисленні відведення з дуже короткими МІ, котрі будуть докладніше описані нижче.

У разі, коли в перебігу флуктуацій МІ відбувалось їх істотне скорочення, ПД супроводжувачого нейрона накладалися на другу фазу ПД провідної клітини і тоді результуючі коливання потенціалу набували форми, подібної до патерну так званих складних, або комплексних, ПД, що відводяться позаклітинно в низці різних структур ЦНС, зокрема в гіпокампі (СА3) (рис. 8).

Типовою ситуацією було відведення імпульсної активності пари гіпокампальних нейронів по одному з каналів мікроелектрода (рис. 6, 7 канал С). Розряди та-

ких пар досить легко дискримінувалися візуально (за різною амплітудою та, частково, формою).

Специфічною рисою даної реєстрації, відсутньою в переважній більшості інших відведень, була вища амплітуда ПД, генерованих провідним нейроном, порівняно з такою імпульсів супроводжувального нейрона.

Ще складніший випадок відведення сполученої активності гіпокампальних нейронів (поле CA3) представлений на рис. 4. Видно, що по каналу А виникає спалах активності у вигляді пакетного розряду, а по каналу С реєструвалася імпульсація сполученої пари нейронів з МІ менше 10 мс. Проте одночасно по каналу D відводилися ПД ще одного нейрона, котрі з вірогідністю, близькою до 100 %, передували розрядам вказаної сполученої пари. Отже, нейрон, активність котрого відводилася по каналу D, очевидно, відіграв роль провідного щодо супроводжувачої пари клітин, ПД яких відводилися по каналу С.

Особливими ситуаціями були випадки відведення по одному каналу імпульсації, котра звичайно виглядала як генерована поодиноким нейроном (рис. 8 А, негативна хвиля а плавно переходить в хвилю b); єдиною особливістю при цьому була відносно висока амплітуда другої фази таких ПД (рис. 8 А, позитивна хвиля b). Проте в межах деяких відрізків часу такі потенціали зазнавали декомпозиції, і тоді ставало очевидним, що це також сполучена імпульсна активність пари нейронів (рис. 8 В, С, зміна форми хвилі b та відокремлення від провідної хвилі в окремий ПД). Після таких коротких періодів декомпозиції патерн генерації повертався до вихідного, і потенціали знову починали виглядати як генеровані одним нейроном. Отже, в описаних випадках ПД супроводжувального нейрона звичайно генерувалися з такими короткими МІ, що вони цілком накладалися на ПД провідного нейрона, і візуально диференціювати другі імпульси не було можливим.

Беручи до уваги конфігурацію ПД супроводжувальних нейронів у подібних парах, виявлену в межах природних періодів декомпозиції, ми намагалися провести штучну комп'ютерну графічну декомпозицію зареєстрованих імпульсів на тих відрізках, де вони виглядали нероздільними. Це дозволило оцінити величину МІ між ПД провідного і супроводжувального нейронів. Виявилося, що затримка між ПД у таких умовах складала лише від 1,2 до 1,7 мс.

У перебігу наших експериментів було отримано численні позаклітинні відведення фонові імпульсної активності нейронів гіпокампа (поле CA3) у щурів як

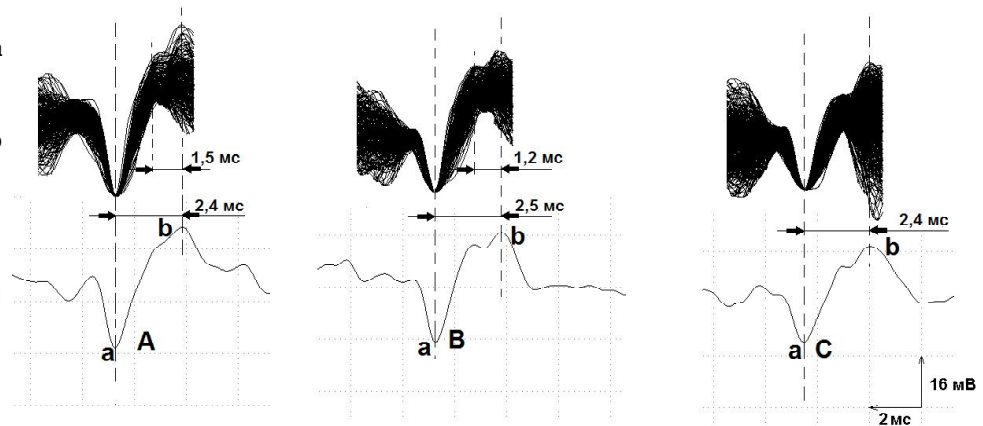


Рис. 8. Суперпозиція потенціалів дії нейронної активності поля CA3 гіпокампа щура.

наркотизованих кет аміном так і в умовах вільної поведінки. Для цього було використано багатоканальний мікроелектрод, складений із восьми відносно товстих (площа зрізу 160-220 мкм²) металевих мікроелектродів. Можуть виникнути певні сумніви у доцільності детального викладення подібних результатів, оскільки аналогічні дані були отримані раніше численними дослідниками з використанням більш-менш близьких методичних прийомів і детально описані. Все ж ми вважаємо, що певні аспекти нашого фактичного матеріалу заслуговують на спеціальне обговорення.

У використаних нами багатоканальних електродах активні зони окремих каналів були досить близько розташовані одна від одної. Отже, вірогідність приналежності до однієї мікропопуляції декількох нейронів, імпульсація яких, одночасно відводиться таким електродом, має бути досить високою. При цьому амплітуда позаклітинно відведених ПД була значною (звичайно від 0,5 до 1,2 мВ); дана обставина, а також форма і часові характеристики імпульсів свідчили про близьку відстань тіл виявлених нейронів щодо точок відведення по відповідних каналах. Таким чином, результати нашої роботи, очевидно, слід розглядати як отриманий в умовах *in vivo* прямий доказ наявності сполученої імпульсної активності у значної частини клітин гіпокампальних мікропопуляцій та, відповідно, існування високоефективних синаптичних зв'язків між такими нейронами. Фактично в більшій кількості реєстрації збудливих реакцій (20,4 % від загальної кількості зареєстрованих нейронів поля CA3 гіпокампа) ми спостерігали активність не окремих нейронів, а їх сполучених пар; у цих ситуаціях генерація ПД супроводжувальними нейронами була жорстко детермінована попередньою генерацією імпульсів провідним нейроном. Коефіцієнт зчеплення між ПД супроводжувального і провідного нейронів у абсолютній більшості випадків складав 100 %.

Значення МІ між ПД провідного і супроводжувального гіпокампальних нейронів, що належали до різних пар, істотно варіювали. Найменші величини таких МІ переконливо свідчили про наявність моносинаптичних

зв'язків між відповідними одиницями, тоді як найбільші значення (понад 8,5 мс) вказували на полісинаптичний характер ланцюгів, зв'язуючих провідний та супроводжуючий нейрони. При цьому ефективність таких проєкцій в усіх випадках була дуже високою - генерація поодинокого ПД провідним нейроном викликала гарантоване збудження супроводжуючої клітини, тобто вага синаптичного входу від провідного нейрона до супроводжуючого завжди була значною. У той же час була очевидною можливість істотної флуктуації ефективності синаптичної передачі по таких проєкціях (навіть моносинаптичних) у більшості випадків, що призводило до помітних поточних варіацій тривалості спостережуваних MI.

Про наявність сполучених нейронних пар, у котрих збудження однієї клітини призводить до коротколатентної активації другого нейрона, повідомлялося в роботах з парним паралельним внутрішньоклітинним відведенням (під візуальним контролем) в експериментах на переживаючих зрізах мозку [Galarreta, Hestrin, 2001; Galarreta, Hestrin, 1999]. У той же час наведені в літературі дані щодо таких пар, котрі були отримані в умовах цілісного головного мозку, поки що вкрай обмежені.

Дуже короткі MI при відведенні від деякої частини сполучених пар нейронів примушують розглядати вірогідність існування між такими клітинами не тільки хімічних, але й електричних синапсів. Можливість існування прямих "низькоомних, високо провідних" тісних контактів між близькорозташованими нейронами була показана в низці структур головного мозку ссавців - корі, таламусі, стріатумі, мозочку [Mann-Metzer, 1999; Koos, 1999]. Як вважається, передача через електричні синапси є фундаментальною властивістю місцевих гальмієвих ланцюгів, що включають в себе ГАМК-ергічні інтернейрони, що є типовим для гіпокампу [Stark et al., 2014].

Оцінюючи високий ступінь електричної залежності близько розташованих нейронів ми вже згадували дуже високі значення коефіцієнта зчеплення в реєстраціях нейронних пар, (близький до 100 %) до того ж цей коефіцієнт не зменшувався зі збільшенням частоти генерації ПД. Відмінною рисою також є можливість істотних флуктуацій MI навіть при найменших значеннях останніх; це може призводити до вказаного вище феномена декомпозиції суперпозованих ПД, генерованих нейронними парами та розділених мінімальними MI.

Терміни "пари нейронів", "нейрони-близнюки", "сполучені", "імпульснопов'язані", "суміжні" нейрони, "нейрони з резонансними розрядами" ("pairs of neurons", "twin neurons", "coupled", "pulse coupled") широко використовують у великій кількості наукових публікацій і застосовують при математичному та електронному моделюванні і реконструкції елементарних нейронних ланцюгів та мереж [Кулагина, 2009; Мороз та ін., 2010; Kon'no et al., 2005; Gutkin et al., 2008]. Зрозуміло, що ці терміни можуть бути використані для порівняння з нашими експериментальними даними лише з певними застереженнями. У роботах, присвячених аналізу динаміки нейронних

відповідей [Ventura et al., 2005] або просторово-часовій синхронізації нервових процесів [Bogaard et al., 2009; Buzsaki, 2010; Sullivan et al., 2014], знайшли широке застосування статистичні методи аналізу імпульсної активності, включаючи непараметричні підходи. Демонстрація випадків практично стовідсоткової детермінованості розрядів одного нейрона імпульсацією іншого в наших експериментах робить статистичне обґрунтування подібної ситуації в певному сенсі зайвим. У той же час досить цікавим виглядає статистичний аналіз MI між ПД, генерованими нейронами, котрі входять до сполученої пари.

Дискордантність форм ПД провідного та супроводжуючого нейронів у сполученій парі спостерігалась у переважній більшості випадків. Цей факт свідчить про те, що розповсюдження збудження в таких нейронах у перебігу генерації ПД відбувалось у протилежних напрямках. Іншими словами, соматоаксонні вісі нейронів сполученої пари звичайно мають протилежну орієнтацію [Buzsaki et al., 2012; Royer et al., 2012].

Слід відмітити зростання кількості зареєстрованих нейронних пар на 9 добу навчання моторній навичці зі зниженням флуктуації MI, що може бути розцінено як елемент навчання на рівні мікропопуляції нейронів.

Спостережувана нами можливість декомпозиції суперпозованих ПД пари нейронів, розділених найкоротшими MI, є аспектом, котрий, очевидно, треба брати до уваги під час програмного аналізу нейронограм та дискримінації ПД різних одиниць згідно з їх патерном. Такі "складні" ПД, які представлені на рис. 4, у перебігу подібного аналізу, зрозуміло, будуть, скоріш за все, прийняті за розряди поодинокого нейрона. Випадки ж їх декомпозиції внаслідок збільшення MI будуть вилучені з аналізу. Це, безумовно, може призвести до істотних спотворень результатів такого аналізу.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Наші експериментальні спостереження є переконливим свідченням того, що в структурних мікропопуляціях нейронів гіпокампа (поле CA3) ссавців фонова імпульсна активність, зареєстрована багатоканальним методом має досить багатогранний характер, зокрема у вигляді сполученої нейронної активності. Феномен сполучення чітко проявляється в широкому діапазоні частот генерації такої активності гіпокампальними (CA3) нейронами. Сполучення, очевидно, визначається наявністю високоефективних синаптичних проєкцій змішаного характеру (поєднання хімічних та електричних синапсів) від провідних нейронів пар до супроводжуючих клітин; подібні проєкції забезпечують гарантоване надпорогове збудження супроводжуючої одиниці і при цьому можуть бути як моно-, так і полісинаптичними. На нашу думку це підвищує ступінь надійності та швидкості обробки інформаційних потоків під час функціонування мозкових структур, зокрема гіпокампа на рівні поля CA3 у процесі навчання.

Список літератури

- Власенко О. В. Конусний багатоканальний мікроелектрод як основа нейрональної триангуляції [Електронний ресурс] / О. В. Власенко, І. Л. Рокунець, В. В. Чечель // Інноваційний потенціал української науки - XXI століття. - Запоріжжя. - 2010. - № 3. - Режим доступу до журн.: <http://nauka.zinet.info/8/vlasenko.php>
- Гланц С. Медико-біологіческая статистика / С. Гланц. - пер. с англ. - М.: Практика. - 1998. - 459 с.
- Деклараційний патент України № 15653, Спосіб позаклітинної реєстрації потенціалу дії різних дільнок нейрона. - Мороз В. М., Чечель В. В., Власенко О. В. [та ін.]. - Київ. - 2006.
- Деклараційний патент України № 15851, Пристрій для телеметричної передачі імпульсної активності нейронів. - Мороз В. М., Чечель В. В., Власенко О. В. [та ін.]. - Київ. - 2006.
- Кожанов В. Синаптические эффекты, вызываемые в мотонейронах раздражением одиночных проприоспинальных нейронов / В. М. Кожанов, А. И. Шаповалов // Нейрофизиология. - 1977. - Т. 9, № 3. - С. 300-306.
- Кулагина И.Б. Влияние структурных характеристик реконструированных мотонейронов на их возбудимость (модельное исследование) / И.Б. Кулагина // Нейрофизиология/Neurophysiology - 2009. - Т. 41. - С. 137-143.
- Мороз В.М. Інтегративна функція мозочка, базальних гангліїв і моторної кори в програмуванні та регуляції рухів / В.М. Мороз, М.В. Йолтухівський, О.В. Власенко. - Вінниця-Київ. - 2010. - 210 с.
- Пат. 55671 UA, МПК А61В 5/04. Багатоканальний пристрій для телеметричної передачі потенціалів дії нейронів головного та спинного мозку / Чечель В.В., Власенко О.В., Рокунець І.Л. (UA); Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (UA). - № у 2010 05836; Заяв. 13.05.2010; Опубл. 27.12.2010, Бюл. № 24.
- Сидоренко Е.В. Методы математической обработки в психологии / Е.В. Сидоренко. - М.: Речь. - 2003. - 348 с.
- Сполучена імпульсна активність у мікропопуляціях нейронів моторної кори щура / Мороз В.М., Власенко О.В., Рокунець І.Л. [та ін.] // J. Neurophysiology (Нейрофизиология). - 2010. - Т. 42 (2). - С. 132-139.
- Accuracy of Tetrode Spike Separation as Determined by Simultaneous Intracellular and Extracellular Measurements / Harris K., D. Henze, J. Csicsvari [et al.] // J. Neurophysiol. - 2000. - Vol. 84. - P. 401-414.
- Buzsaki G. Neural Syntax: Cell Assemblies, Synapse ensembles, and Readers / G. Buzsaki // J. Neuron. - 2010. - Vol. 68, № 4. - P. 362-385.
- Buzsaki G. The origin of extracellular fields and currents - EEG, ECoG, LFP and spikes / Buzsaki G., Costas A., Koch C. // J. Neuroscience. - 2012. - Vol. 13. - P. 407-420.
- Comparison of Sleep Spindles and Theta Oscillations in the Hippocampus / [Sullivan D., Mizuseki K., Sorgi A., Buzsaki G.] // J. Neuroscience. - 2014. - Vol. 34, 2. - P. 662-674
- Pyramidal Cell-Interneuron Interactions Underlie Hippocampal Ripple Oscillations / Stark E., Roux L., Eichler R. [et al.] // J. Neuron. - 2014. - Vol. 83. - P. 467-480.
- Control of timing, rate and bursts of hippocampal place cells by dendritic and somatic inhibition Nature neuroscience / Royer S., Zemelman B., Losonczy A. [et al.]. - 2012. - Vol. 15, № 5. - P. 769-779.
- Decoding neuronal population activity in rat somatosensory cortex: role of columnar organization / [Panzeri S., Petroni F., Petersen R., Diamond M.] // Cerebr. Cortex. - 2003. - Vol. 13. - P. 45-52.
- Galarreta M. A network of fast-spicing cells in the neocortex connects by electrical synapses / M. Galarreta, S. Hestrin // Nature. - 1999. - Vol. 402. - P. 72-75.
- Galarreta M. Electrical synapses between GABA-releasing interneurons / M. Galarreta, S. Hestrin // Nature Rev. Neurosci. - 2001. - Vol. 2. - P. 425-433.
- Gutkin B. Random perturbations of spiking activity in a pair of coupled neurons / B. Gutkin, J. Jost, H. Tuckwell // Theory Biosci. - 2008. - Vol. 127. - P. 135-139.
- High-Resolution Multitransistor Array Recording of Electrical Field Potentials in Cultured Brain Slices / Hutzler M., Lambacher A., Eversmann B. [et al.] // J. Neurophysiol. - 2006. - Vol. 96. - P. 1638-1645.
- Integration and Segregation of Activity in Entorhinal-Hippocampal Subregions by Neocortical Slow Oscillations / Isomura Y., Sirota A., Ozen S. [et al.] // Neuron. - 2006. - Vol. 52. - P. 871-882.
- Interaction of cellular and network mechanisms in spatiotemporal pattern formation in neuronal networks / [Bogaard A., Pareny J., Zochowski M., Buth V.] // J. Neurosci. - 2009. - Vol. 29. - P. 1677-1687.
- Intracellular Features Predicted by Extracellular Recordings in the Hippocampus In Vivo / Henze, A. Darrell, Z. Borhegyi [et al.] // J. Neurophysiol. - 2000. - Vol. 84. - P. 390-400.
- Jankowska E. Identification of interneurons interposed in different spinal reflex pathways / E. Jankowska // in: Material of the Golgi Centennial Symposium, D. Purpura and M. Santini (Eds.), Raven Press, New York. - 1975. - P. 235-246.
- Jankowska E. Synaptic actions of single interneurons mediating reciprocal inhibition of motoneurons / E. Jankowska, W.J. Roberts // J. Physiol. - 1972. - Vol. 222. - P. 623-642.
- Kon'no Y. Rich dynamics of pulse-coupled spicing neurons with a triangular base signal / Y. Kon'no, T. Saito, Torikai // Neural Networks. - 2005. - Vol. 18. - P. 523-531.
- Koos T. Inhibitory control of neocortical projection neurons by GABAergic interneurons / T. Koos, Tepper // Nature Neurosci. - 1999. - Vol. № 2. - P. 467-472.
- Mann-Metzer P. Electrotonic coupling interacts with intrinsic properties to generate synchronized activity in cerebellar networks of inhibitory interneurons / P. Mann-Metzer, Yarom // J. Neurosci. - 1999. - Vol. 19. - P. 3298-3306.
- Oscillatory Coupling of Hippocampal Pyramidal Cells and Interneurons in the Behaving Rat / Csicsvari J., H. Hirase A. Czurko [et al.] // J. Neurosci. - 1999. - Vol. 19, № 1. - P. 274-287.
- Paxinos G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. Paxinos, C. Watson. - San Diego: Acad. Press. - 1997. - 245 p.
- Staras K. Pattern-generating role for motoneurons in a rhythmically active neuronal network / K. Staras, G. Kemenes, P. Benjamin // J. Neurosci. - 1998. - Vol. 18. - P. 3669-3688.
- Ventura V. Statistical assessment of time-varying dependency between two neurons / V. Ventura, C. Cai, R. Kass // J. Neurophysiol. - 2005. - Vol. 94. - P. 2940-2947.
- Wang J. From network heterogeneities to familiarity detection and hippocampal memory management / J. Wang, G. Poe, M. Zochowski // Phys. Rev. - 2008. - Vol. 78. P. 1-20.
- Wyble B. Size of CA1-Evoked Synaptic Potentials Is Related to Theta Rhythm Phase in Rat Hippocampus / B. Wyble, C. Linster, M. Hasselmo // J. Neurophysiol. - 2000. - Vol. 8. - P. 2138-2144.

Рокунец І. Л.

СОЕДИНЕННАЯ ИМПУЛЬСНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ ПОЛЯ СА3 ГИППОКАМПА КРЫС В УСЛОВИЯХ СВОБОДНОГО ПОВЕДЕНИЯ

Резюме. С помощью восьмиканального металлического микроэлектрода (диаметр отдельного канала 12 мкм) были зарегистрированы внеклеточные отведения фоновой импульсной активности 250 отдельных нейронов или их малых групп (функциональных пар) поля СА3 гиппокампа крыс, наркотизированных кетаминем и находящихся в условиях свободного поведения. В 51 случае (20,4 %) потенциалы действия (ПД) двух отдельных нейронов генерировались параллельно и находились в функциональном объединении, на что указывали фиксированные временные интервалы между ними. Подобный эффект был зафиксирован как в наркотизированных так и крыс в условиях свободного поведения. Это расценено как результат возбуждения двух соседних функционально связанных (соединенных) клеток. Такие пары ПД регистрировались или по одному, или по двум соседним каналам микроэлектрода. Другие ПД в паре возникали только при условии генерации предыдущего ПД другим нейроном, тогда как ПД последнего в некоторых случаях могли возникать изолированно. Поэтому, в подобных нейронных парах могли быть идентифицированы "ведущий" и "сопровождающий" нейроны. Коэффициент сцепления генерации ПД сопровождающим нейроном относительно ПД, генерированных ведущей клеткой, приближался к 100 % независимо от частоты разрядов последней. Интервалы между ПД двух нейронов в разных соединенных парах варьировали от 2,7-6,5 мс. В случае минимальных значений таких интервалов ПД, генерированные нейронами пары, накладывались одна на другую, поэтому в классических алгоритмах анализа импульсной активности нейронов расценивались как одна сигнальная единица. Это приводило к формированию импульсов, которые выглядели как "сложные ПД", но в некоторых промежутках времени межимпульсные интервалы увеличивались, и такие ПД испытывали декомпозицию. Описанные данные рассматриваются как полученное в эксперименте *in vivo* электрофизиологическое подтверждение наличия тесной функциональной связи между значительной частью нейронов поля СА3 гиппокампа, в частности пространственно расположенных близко один возле другого (то есть таких, что входят в состав микропопуляции).

Ключевые слова: многоканальное микроэлектродное отведение, поле СА3 гиппокампа крыс, микропопуляции нейронов, соединенная импульсная активность.

Rokunets I.L.

THE UNITED IMPULSIVE ACTIVITY OF THE NEURONS OF THE HIPPOCAMPUS CA3 AREA IN RATS UNDER FREE BEHAVIOR

Resume. By means of eight-channel metal microelectrode (the single channel diameter was 12 mcm) the extracellular background impulsive activity of the 250 separate neurons and their small groups (functional pairs) in the hippocampus CA3 area of the narcotized by ketamine rats and rats under free behavior were registered. In 51 cases (20.4 %) the action potentials (AP) of two separate neurons were generated in parallel and were in functional combination, that were indicated by the fixed temporal intervals between them. The same effect was fixed both in narcotized rats and rats under free behavior. It was considered as a result of excitation of two nearby functionally united cells. Such pairs of AP were registered either by one or two nearby channels of the microelectrode. Other pair AP appeared under the generation of previous AP by the other neuron only while AP of the last sometimes could appeared being isolated. Thus, "leading" and "accompanying" neurons could be identified in the given neuron pairs. Coefficient of coupling of AP generation by the "accompanying" neuron relative to AP generating by the "leading" cell reached to 100 % irrespective of burst frequency of the last. Intervals between AP of two neurons in their different united pairs varied from 2,7 to 6,5 ms. In case of minimum values of such intervals of AP the generated neurons pairs superimposed one to one and that is why according to the classical algorithms of the neurons impulsive activity analysis they were considered as one signal unit. It resulted in formation of impulses that looked as "complicated AP", but in some intervals the pulse separations increased, and such AP underwent decomposition. The described data are considered as got *in vivo* electrophysiological confirmation of the close functional connection between considerable part of neurons of the hippocampus CA3 area, in particular spatially located close to each other (it est those that are incorporated into micropopulation).

Key words: multichannel microelectrode lead, hippocampus CA3 area in rats, micropopulation of neurons, impulsive activity.

Стаття надійшла до редакції 9.04.2014 р.

Рокунець Ігор Леонідович - старший викладач кафедри нормальної анатомії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 0432 66-12-10, +38 0432 67-01-94; rokunets@vsmu.vinnica.ua

© Борисенко А.В., Шінкарук-Диковицька М.М.

УДК: 616.31-085:008.12

Борисенко А.В., *Шінкарук-Диковицька М.М.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (бульвар Т.Шевченка, 13, м. Київ, Україна, 01601), *Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

ЧАСТОТА УРАЖЕННЯ КАРІЄСОМ МОЛЯРІВ У СОМАТИЧНО ЗДОРОВИХ ЧОЛОВІКІВ ІЗ РІЗНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ ЗА ДАНИМИ СТОМАТОЛОГІЧНОГО ОБСТЕЖЕННЯ ТА КОНУСНО-ПРОМЕНЕВОЇ КОМП'ЮТЕРНОЇ ТОМОГРАФІЇ

Резюме. Встановлено, що у соматично здорових чоловіків із різних регіонів України частота ураження молярів поверхневим карієсом на нижній щелепі має вищі значення, ніж на верхній щелепі, а частота ураження молярів середнім карієсом,