

Міністерство охорони здоров'я України
Вінницький національний медичний університет
імені М.І. Пирогова

РОКУНЕЦЬ ІГОР ЛЕОНІДОВИЧ

УДК 612.821.35+612.833.96

**РОЛЬ ГІПОКАМПУ В ПРОЦЕСАХ ОРГАНІЗАЦІЇ ТА ВІДТВОРЕННЯ
ПРОГРАМ АВТОМАТИЗОВАНИХ РУХІВ**

14.03.03 – нормальна фізіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Вінниця – 2013

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова МОЗ України

Науковий керівник: академік НАМН України, доктор медичних наук, професор **Мороз Василь Максимович**,
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, ректор, завідувач кафедри нормальної фізіології

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор **Фурман Юрій Миколайович**,
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова,
старший науковий співробітник науково-дослідного центру

доктор медичних наук, професор **Шандра Олексій Антонович**,
Одеський національний медичний університет,
завідувач кафедри фізіології

Захист відбудеться «28» травня 2013 р. об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.02 при Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Автореферат розісланий «26» квітня 2013 р.

**В. о. ученого секретаря
спеціалізованої вченої ради**

І.В. Сергета

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. За останні роки як в Україні, так і більшості країн світу спостерігається тенденція до збільшення числа захворювань ЦНС, котрі характеризуються розладами роботи опорно-рухової системи та цілеспрямованих рухів. Перебіг цих захворювань здебільшого відзначається важкістю протікання, тривалим періодом реабілітації, високою частотою інвалідизації та смертності (Одинак М. М., 2003, Дамулин И.В., 2007).

У клінічній практиці для діагностики порушень опорно-рухового апарату важливим є вивчення закономірностей формування, зберігання та реалізації моторних програм за участю кіркових та підкіркових структур.

Будь-який цілеспрямований рух є реалізацією моторної програми, яка формується за участю цілого ряду нервових структур. Формування моторної програми та її реалізація здійснюється за рахунок тонких складних інтегративних процесів у центральній нервовій системі. Подібне уявлення ще не є вирішенням проблеми організації моторних програм, але отримує все більшу підтримку. Через це проблема навчання, організації та реалізації моторних програм належить до числа найбільш інтенсивно досліджуваних. Вона цікавить широке коло дослідників різного профілю: молекулярних біологів, нейрофізіологів, неврологів та ін.

Загальна діяльність ЦНС, що забезпечує формування програми рухів та їх виконання, вивчена відносно повно. Набагато більш дискусійними залишаються питання, що стосуються формування ініціації до певного руху чи конкретної рухової програми. Так, в ряді робіт (Bullock D., 1988, Todorov E., 2004, Cenquizca L.A., 2007, Одинак М. М., 2003) відзначається, що при формуванні рухів, що самоініціюються, чітка активація спостерігається в додатковій моторній ділянці кори раніше, ніж в інших відділах мозку.

Проте за думкою інших авторів [Бернштейн Н.А., 1990, Ganz R.E., 1996] вважається, що ранні фази підготовки руху не вузько локалізовані в одній частині мозку, а є функцією багатьох ділянок мозкової системи. Припускається, що з процесами спонукання до дії, з яких починається довільний рух, виключно тісно й різносторонньо пов'язані ділянки гіпоталамуса та системи структур стовбура мозку.

З позиції системного підходу, архітектура цілеспрямованого поведінкового акту виступає як похідна безлічі субпідрядних вузлових механізмів, починаючи з аферентного синтезу й закінчуючи досягненням конкретної мети задуму руху та її оцінкою. У цілому загальна організація циклічно замкнутого контуру організації та відтворення моторної програми заперечень не викликає, проте принципи роботи механізмів, що їх ініціюють, особливо центрального рівня, – предмет суперечок та дискусій [Buzsaki G., 2003].

Розглядається питання про нейрональний генез закономірностей формування, зберігання та відтворення моторних програм за участю гіпокампу, зокрема представлення його в системі у вигляді своєрідного контролера, що фіксує на своїх елементах модель майбутніх моторних програм та результатів поведінкового акту [Nolan M.F., 2004].

Враховуючи те, що роль гіпокампу в процесах організації та реалізації моторних програм автоматизованих рухів не тільки в Україні, а й у світі спеціально не вивчається, доцільність подібного дослідження є однозначною.

Наше дослідження проводилось з метою встановлення саме динамічних компонентів включення гіпокампу в процес організації та реалізації програм автоматизованих рухів, які досі достовірно не встановлені.

Недостатньо вивчені функціональні взаємозв'язки різних ділянок гіпокампу з структурами, які мають пряме відношення до формування та реалізації центральних моторних програм та реалізації рухів.

Отже, вивчення причетності ділянок гіпокампу, у світлі функціональної системи, до організації та реалізації моторних програм є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом планової наукової роботи за темою: "Встановлення закономірностей взаємодії структур головного мозку при керуванні рухами", котра запланована і виконується у Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова (№ державної реєстрації 0108U008672).

Тема дисертації затверджена вченою радою медичних факультетів №1 та №2 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України (протокол № 4 від 8 лютого 2007 року) та проблемною комісією МОЗ і НАМН України «Фізіологія людини» (протокол № 4 від 8 жовтня 2008 року).

Мета дослідження: Встановити механізми формування задуму їждобувних рухів за участю гіпокампу (поле СА3) у щурів та роль означеної структури в ініціюванні та реалізації рухової програми.

Для реалізації поставленої мети необхідно вирішити наступні основні завдання:

1. Вивчити закономірності формування автоматизованих рухів у інтактних щурів та після електролітичного руйнування гіпокампу.
2. Провести аналіз впливу довготривалої перерви на параметри автоматизованих їждобувних рухів у навчених щурів та після електролітичного руйнування гіпокампу.
3. Вивчити особливості імпульсної активності нейронів гіпокампу під час пасивних рухів передніх кінцівок в інтактних і навчених щурів в умовах гострого експерименту.
4. Проаналізувати імпульсну активність нейронів гіпокампу під час реалізації автоматизованих їждобувних рухів в умовах хронічного експерименту.
5. Вивчити вплив електростимуляції гіпокампу на скорочення м'язів передніх кінцівок у інтактних та навчених щурів.

Об'єкт дослідження - центральні моторні програми автоматизованих рухів.

Предмет дослідження - особливості показників параметрів автоматизованих їждобувних рухів (ІДР) у інтактних щурів та після руйнування гіпокампу (СА3), а також після довготривалої перерви у навчених інтактних щурів та зі зруйнованим гіпокампом, закономірності функціонування нейронних мережевих механізмів

структур головного мозку при формуванні та реалізації рухів.

Методи дослідження: механографічні (фотореєстрація рухів робочої кінцівки щура у перебігу вироблення оперантного рефлексу); електрофізіологічні (електростимуляція ділянок мозку; реєстрація імпульсної активності нейронів у гострому і хронічному експерименті – для встановлення особливостей функціонування поля СА3 гіпокампу під час вироблення і реалізації рухової навички); гістологічні – для дослідження мозкових зрізів; методи математичної статистики з використанням програмних алгоритмів автоматизованих засобів обчислення – для обробки отриманих результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше отримано детальну характеристику експериментальної моделі інструментального рефлексу з мультипараметричною оцінкою швидких ІДР, зокрема їх часових та швидкісних характеристик у інтактних лабораторних тварин.

Встановлено стабільність та низьку пластичність часових параметрів успішних рухів та закономірні їх зміни в процесі навчання.

Вперше проведено детальне мультипараметричне оцінювання характеристик швидких їждобувних рухів, зокрема їх швидкісних характеристик після двобічного руйнування гіпокампу (поле СА3). Установлені зміни в характеристиках рухів свідчать як про причетність поля СА3 гіпокампу до запуску рухової програми (різке порушення структури їждобувної навички на рівні його ініціації після деструкції полів СА3 гіпокампу), так і до його ефективної реалізації (зміни параметрів рухів).

Вперше встановлено, що результатом навчання є вірогідне ($p < 0,01$) у порівнянні з контрольною групою збільшення відсотка реагуючих на пропріоцептивні стимули нейронів при здійсненні рухів іпсилатеральною кінцівкою. Цю закономірність забезпечують переважно нейрони, які реагують за збудливим типом (критерій Фішера $\phi > 3,95$; $p < 0,01$), також достовірним є збільшення кількості нейронів із гальмівним типом реакції (критерій Фішера $\phi < 5,89$; $p > 0,01$).

Вперше встановлено, що результатом навчання є вірогідне ($p < 0,01$) у порівнянні з першим днем навчання зростання кількості реагуючих нейронів на 6 та 11 - ту добу навчання при здійсненні ІДР іпсилатеральною кінцівкою в умовах вільної поведінки. На 6, 9 та 11 - ту добу навчання щурів виявлені нейрони, які проявили нові типи реакцій, що не спостерігались на більш ранніх етапах навчання. Реакції полягали як у тонічному збудженні під час окремих фаз рухового акту, так і супроводжувались процесами гальмування, що вказує на причетність ділянки СА3 гіпокампу до формування патерну рухового акту, зокрема ІДР.

Вперше досліджено імпульсну активність нейронів (ІАН) поля СА3 гіпокампу в щурів в умовах вільної поведінки телеметричним способом при здійсненні інструментального рефлексу діставання їжі з годівниці.

Встановлено, що у міру вироблення оперантного їждобувного рефлексу зростає кількість нейронів, які реагують при ІДР іпсилатеральної робочої кінцівки.

Високий рівень частоти розрядів нейронів гіпокампу, або гальмівний тип реакції після успішного захоплення харчової кульки вказує на причетність поля СА3

гіпокампу до організації контролю за успішністю ІДР та моменту початку наступних ІДР.

Дані електрофізіологічних досліджень дозволяють розглядати призначення поля СА3 гіпокампу відповідно до уявлень про його роль в якості мотиваційної зони, котра слугує джерелом для підвищення збудливості, а потім і забезпечення збудження мозкових структур, які є ланками системи керування ІДР. Встановлені факти слід розглядати також як показник ступеня залучення поля СА3 гіпокампу до системи, що забезпечує повноцінне формування патерну моторної програми та її завершення.

Вперше вивчено ефекти електричної стимуляції нейронів поля СА3 гіпокампу та встановлено, що процес навчання руховій навичці щурів супроводжується змінами їх властивостей (зменшення порогових величин струму електростимуляції та латентного періоду до початку скорочення м'язів передньої кінцівки). Так, у навчених щурів при електричній стимуляції іпсилатерального поля СА3 гіпокампу по відношенню до ведучої кінцівки вірогідно ($p < 0,01$) зменшується часовий інтервал від моменту пред'явлення електричного стимулу до початку електроміографічно підтвердженого скорочення м'язів ведучої кінцівки (СМВК). Означені зміни є результатом спрощення нейронних механізмів (зменшення кількості синаптичних перемикачів відтворення з пам'яті моторної програми вдосконаленої навички в процесі навчання та реалізації її механізмів).

У міру вироблення оперантного їждобувного рефлексу в навчених щурів при електричній стимуляції іпсилатерального поля СА3 гіпокампу по відношенню до ведучої кінцівки з'являється чітка латералізація скорочення її м'язів (скорочуються м'язи (*m. triceps brachii*) тільки ведучої кінцівки).

Практичне значення одержаних результатів. Робота відноситься до фундаментальних досліджень, оскільки вивчення механізмів формування задуму їждобувних рухів, їх ініціювання та контролю успішності реалізації рухової програми є головним питанням фізіології рухів.

Сформовано уявлення про взаємодію структур головного мозку, включаючи поле СА3 гіпокампу на ранніх етапах формування задуму дії та рухової програми моторного компонента їждобувного інструментального рефлексу у щурів. На підставі отриманих даних розширюється і вирішується ряд питань, пов'язаних з центральною організацією моторних програм.

Результати досліджень використовуються в навчальному процесі на кафедрах нормальної фізіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, Тернопільського ДМУ імені І.Я. Горбачевського, Одеського національного медичного університету, Донецького національного медичного університету імені М. Горького та можуть бути включені в лекційні курси з нейрофізіології у ВНЗ медикобіологічного профілю. Усі матеріали роботи опубліковано.

Відпрацьована і вдосконалена модель інструментального рефлексу діставання їжі щурами з годівниці та примінено мультипараметричний аналіз їждобувних

рухів. Аргументовано практичне застосування телеметричної системи збору та аналізу даних як в гострому, так і в хронічному експерименті з метою вивчення електричної активності поля СА3 гіпокампу.

Отримані результати та вдосконалена телеметрична технологія можуть мати значення в неврологічній практиці лікування та реабілітації рухових порушень.

Особистий внесок здобувача. Автором у співробітництві з керівником сформульовано основні теоретичні й практичні положення дисертаційного дослідження.

Автором отримано основну частину фактичного матеріалу, самостійно проведено його систематизацію та статистичну обробку, аналіз та узагальнення результатів дослідження.

В опублікованих у співавторстві з науковим керівником та колегами наукових роботах автору належать основні ідеї та розробки стосовно мультипараметричного аналізу їждобувних рухів у змінних умовах експерименту, дослідження взаємозв'язку електричної активності поля СА3 гіпокампу з аферентними сенсорними стимулами як в умовах гострого, так і хронічного експерименту та застосування електроміографічного контролю еферентних впливів поля СА3 гіпокампу під час їх електричної стимуляції. Також особистий внесок автора полягає у визначенні мети і завдань роботи.

В опублікованих у співавторстві з науковим керівником та колегами публікаціях автору належать основні ідеї та розробки стосовно визначення ролі гіпокампу в процесах організації та відтворення програм автоматизованих рухів.

Особистим внеском автора є вдосконалення існуючої методики автоматизованої подачі корму до годівниці та реалізація макетної моделі мультипараметричного оцінювання часових інтервалів їждобувних рухів, а також вдосконалення технології телеметричної реєстрації електричної активності нейронів в умовах хронічного експерименту.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень, що включені до дисертації, оприлюднено на: XVI з'їзді Українського фізіологічного товариства (Вінниця, 2002), конференції Українського товариства нейронаук (Донецьк, 2005), I з'їзді фізіологів країн СНД (Сочі, 2005), Joint Meeting of the Federat. Europ. Physiolog. Societies (Мюнхен, 2006), XVII з'їзді Українського фізіологічного товариства (Чернівці, 2006), II з'їзді фізіологів країн СНД (Кишинів, 2008), 4th East European and Mediterranean conference "Cerebral palsy and developmental medicine" (Israel, 2008), XVIII з'їзді Українського фізіологічного товариства (Одеса, 2010), «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (Санкт-Петербург, 2010).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових робіт (16 у співавторстві), з яких 5 статей опубліковано в рекомендованих МОН України наукових фахових виданнях, 3 деклараційних патенти, 12 тез у збірниках матеріалів з'їздів та конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на

205 сторінках машинописного тексту і складається з переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, загальної методики та основних методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел, з яких 48 викладені кирилицею та 193 – латиницею. Роботу ілюстровано 59 рисунками та 14 таблицями. Список використаних джерел, ілюстрації і таблиці займають 75 сторінок рукопису.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Відповідно до мети та завдань дослідження на базі науково-дослідної лабораторії експериментальної нейрофізіології Вінницького національного медичного університету (свідоцтво про атестацію № 000681 від 11.01.2008 р.) в рамках загальноуніверситетської наукової тематики проведено комплексне дослідження функціональної ролі поля СА3 гіпокампу в організації та реалізації програм автоматизованих рухів. Комісією з біоетики Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (протокол № 15 від 11 листопада 2010 року) встановлено, що проведені дослідження не заперечують основним біотичним нормам Гельсінської декларації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977), відповідним положенням ВООЗ та законам України.

У роботі використано наступне обладнання: 1) плексигласова камера у власній модифікації як інструмент для вироблення стереотипних їждобувних рухів; 2) блок автоматичного годування; 3) система фотореєстрації харчової кульки та їждобувних рухів „Фотон-3”; 4) пристрій накопичення, оцифровування та передачі інформації на магнітні носії „ІХН-500-1” із наступним зберіганням, обробкою та аналізом; 5) персональні комп’ютери типу ІВМ РС як засоби збереження, обробки та аналізу інформації.

З метою вироблення інструментального їждобувного рефлексу у підготовчий період голодну тварину (лабораторного щура) розміщували в експериментальній камері близько від отвору годівниці, куди вносили харчові кульки масою 50 мг, котрі щур легко діставав лапою.

Далі проводили навчання діставанню кульок, що розташовані на платформі у заглибині, з відстанню 2,5 см.

Мультипараметричне дослідження рухів виконано з використанням комплексу для реєстрації параметрів переміщення лапи щура в процесі руху. Подача корму здійснювалась автоматично за допомогою горизонтальної касети з електронним керуванням позиціонування наступної харчової кульки.

Комплекс забезпечував автоматичне вимірювання і реєстрацію часових параметрів рухів лапи щура в процесі автоматизованого годування (Рис. 1).

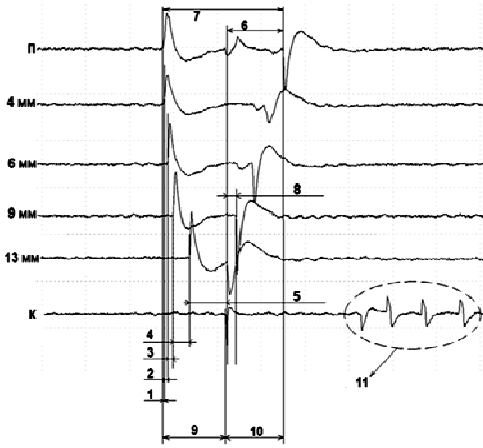


Рис. 1. Схема зареєстрованих сигналів при мультипараметричному аналізі часових інтервалів їждобувних рухів у щурів.

1 – часовий інтервал проходження кінцівки від моменту пересічення першого (ближнього датчика П) до моменту початку пересічення 2 датчика (4 мм); 2 - часовий інтервал проходження кінцівки від моменту пересічення 2 датчика (4 мм) до моменту початку пересічення 3 датчика (6 мм); 3 - часовий інтервал проходження кінцівки від моменту пересічення 3 датчика (6 мм) до моменту початку пересічення 4 датчика (9 мм);

4 - часовий інтервал проходження кінцівки від моменту пересічення 4 датчика (9 мм) до моменту початку пересічення 5 датчика (13 мм); 5 – час захоплення харчової кульки; 6 – час від моменту захоплення харчової кульки до виведення кінцівки за межі першого фотодатчика (ближнього П); 7 – загальний час перебування кінцівки в годівниці; 8 – час від моменту виведення кінцівки за межі 5 датчика (13 мм) до моменту виведення кінцівки за межі 4 датчика (9 мм); 9 – час від початку введення кінцівки до захоплення харчової кульки; 10 – час від моменту захоплення харчової кульки до виведення кінцівки з годівниці; 11 – службовий сигнал успішного захоплення харчової кульки; К – службовий канал оцінки моменту захоплення харчової кульки.

Сигнали від фотодатчиків реєструвались на магнітну стрічку 7-канального магнітографа Н067 та за допомогою програмно-апаратного комплексу ІНХ500-1, їх було оцифровано та опрацьовано з використанням оригінальних програм.

Закономірності становлення показників їждобувних рухів вивчено в 28 інтактних щурів.

Після вироблення чіткої їждобувної реакції та реєстрації параметрів рухів виконували електролітичне руйнування структур головного мозку згідно з координатами стереотаксичного атласа [Paxinos, Watson, 1997]. Сила струму складала 0,5 мА, тривалість 15 – 20 с.

Всі операційні втручання виконували з використанням кетамінового наркозу (200 мг/кг, в/м, в/о) з додатковим місцевим знеболенням.

Реєстрацію імпульсної активності нейронів головного мозку у щурів в умовах гострого експерименту під час пасивних рухів проведено на 20 щурах-самцях масою 250 – 320 г лінії Вістар. Протягом 30 тренувальних днів формувалася моторний навик (швидкий їждобувний рух), а система фотореєстрації створювала базу даних про кількість захоплених харчових кульок, кількість рухів для захоплення кульки, швидкість фаз руху та їх часові параметри.

Виконували підготовчу операцію для дослідження поля (СА3) гіпокампу. В стереотаксичному апараті СЕЖ-4 голову тварини фіксували та згідно з координатами стереотаксичного атласу виконували трепанацію черепа стоматологічним портативним апаратом, бором діаметром 1,5-2 мм над гіпокампом (АР 4,2 мм; L 3,6 мм).

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

Програмно-апаратний комплекс власного виробництва [Мороз та ін., 2010, Чечель та ін. 2010] забезпечував восьмиканальну реєстрацію біопотенціалів, їх підсилення, аналогово-цифрове перетворення, запис на магнітні та оптичні носії інформації, виділення корисного сигналу, сортування потенціалів дії за принципом належності до окремих нервових клітин та побудову перистимульних та постстимульних гістограм.

Дослідження ролі гіпокампу (поле СА3) у формуванні задуму руху та його реалізації в умовах вільної поведінки проведено на 20 щурах-самцях масою 250 – 320 г лінії Вістар.

Протягом 30 тренувальних днів формувалася моторний навик. Виконували підготовчу операцію для дослідження іпсилатерального поля (СА3) гіпокампу відповідно до ведучої кінцівки. В стереотаксичному апараті СЕЖ-4 згідно з координатами стереотаксичного атласу виконували трепанацію з боку ведучої кінцівки.

Реєстрацію ІАН здійснювали багатоканальним металевим електродом, фіксованим на поверхні черепа в складі портативного мобільного мікроманіпулятора.

Вплив електричної стимуляції поля СА3 гіпокампу на скорочення м'язів передніх кінцівок у інтактних та навчених щурів було вивчено на 18 щурах-самцях масою 250 – 320 г лінії Вістар. Протягом 20 тренувальних днів формувалася моторний навик. Контрольну групу склали 8 інтактних щурів. Виконували підготовчу операцію для електростимуляції.

Конструктивно електрод для електростимуляції був виготовлений із вольфрамової проволочки діаметром 40 мкм.

Для позиціонування мікроелектрода використано стереотаксичну установку СЕЖ – 4. В якості джерела струму був задіяний електростимулятор ЭС-50-1 з гальванічною розв'язкою від біооб'єкта.

З метою подразнення вказаної структури підводили прямокутні імпульси струму тривалістю 0,1 – 0,4 мс в режимі частоті стимуляції (5 – 100 Гц) зі струмом від 50 мкА до 550 мкА. Електроміограму та синхроімпульс реєстрували з використанням 16-канального АЦП (аналого-цифровий перетворювач) та програмно-апаратного комплексу власного виробництва [Мороз та ін., 2010, Чечель та ін. 2010].

Для відведення електричної активності від м'язів були використані металеві мікроелектроди з композитною ізоляцією, сигнал від яких подавали на вхід підсилювача телеметричного передавача.

Конструктивно електрод був виготовлений із вольфрамової проволочки, покритої тонким шаром золота загальним діаметром 12 мкм.

Після закінчення експерименту проводили електрокоагуляцію точок

подразнення для подальшого гістологічного контролю.

Після дослідів для евтаназії внутрішньоочеревинно вводили ті ж наркотичні речовини з перевищенням дози в 3 рази.

Статистична обробка отриманих результатів проведена в пакеті “STATISTICA 5,5” (належить ЦНІТ ВНМУ ім. М.І. Пирогова, ліцензійний № AXXR910A374605FA) з використанням дисперсійного аналізу (ANOVA) для оцінки приналежності виборок до однієї генеральної сукупності, критерій Фішера для встановлення вірогідності відмінностей між відсотковими долями реагуючих нейронів двох виборок [Сидоренко, 2003], критерію Манна - Уїтні для множинних порівнянь і встановлення вірогідних відмінностей [Реброва, 2002], непараметричних методів оцінювання згідно з статистикою Уїлкокса.

Результати дослідження та їх аналіз. Аналіз наукової літератури показав, що інформація про залучення гіпокампу (поле СА3) до організації та відтворення програм автоматизованих рухів (ПАР) дуже обмежена (Никифоров А.С., 2004, Казенников О. В., 2009). З цією метою було вивчено закономірності становлення показників $\dot{I}P$ в 28 інтактних щурів.

Враховуючи особливості конструкції годівниці, були вивчені зміни загальної кількості рухів, що були результативними протягом 30 діб тренування при разовій тривалості експерименту 10 хв. Загальна кількість рухів з правильною траєкторією має рівномірно розподілений характер та складає $39,11 \pm 14,7$ рухів. Кількість успішних рухів стабілізувалась з 11 – 12 дня навчання з наступним плато та стабілізацією їх кількості і в середньому склала $11,16 \pm 4,62$ рухи. Подібний ефект пояснюється складністю дістання харчової кульки. Середнє значення хибних рухів протягом 30 діб тренування склало 56,8 %.

З метою оцінки впливу поля СА3 гіпокампу на організацію та відтворення ПАР було виконано двостороннє електролітичне руйнування поля СА3 у попередньо навчених лабораторних щурів.

При їх тренуванні кількість результативних рухів з правильною траєкторією збільшилась до $17,57 \pm 3,3$ проти $11,16 \pm 4,62$ рухів. Подібний ефект пояснюється суттєвим збільшенням загальної кількості $\dot{I}P$ $51,79 \pm 13,11$ проти $39,11 \pm 14,7$ рухів у інтактних лабораторних щурів ($p < 0,05$). Відсоток помилкових рухів збільшився до 84, 5 % проти 56,8 % ($p < 0,05$) у інтактних лабораторних щурів.

Тривалість рухів (час перебування кінцівки в годівниці) у процесі вироблення $\dot{I}P$ у інтактних щурів також підлягала закономірним змінам. Час перебування кінцівки в годівниці склав $143,24 \pm 3,29$ мс. Початок стабілізації параметра настав з 5 дня з наступною лінійною характеристикою. Такі зміни можуть бути зумовлені зростанням частки захоплень за один рух.

Оцінюючи тривалість перебування кінцівки в годівниці у інтактних щурів та у навчених зі зруйнованим гіпокампом статистично вірогідних відмінностей між означеними параметрами не встановлено (у інтактних щурів $143,24 \pm 3,29$ мс проти $143,93 \pm 24,8$ мс у щурів зі зруйнованим гіпокампом).

Незважаючи на стереотипність та велику швидкість $\dot{I}P$, слід врахувати

можливість модифікації часових параметрів та траєкторії руху за рахунок петлі зворотнього зв'язку.

Для більш тонкої оцінки параметрів ІР у інтактних щурів була використана модель мультипараметричного аналізу фазової структури руху з оцінкою наступних параметрів: часу проходження кінцівки від датчика початку годівниці до датчика 4 мм ($5,1 \pm 0,28$ мс, стабілізація на 11 – 12 добу навчання); 4 мм від початку годівниці - 6 мм ($7,4 \pm 0,12$ мс); 6 мм від початку годівниці - 9 мм ($8,59 \pm 1,46$ мс); 9 мм від початку годівниці – 13 мм; ($4,1 \pm 0,78$ мс зі стабілізацією на 9 – 10 добу навчання).

Особливої уваги заслуговує кінцева фаза траєкторії введення кінцівки в годівницю, а саме - захоплення харчової кульки. Означений показник оцінювався часовим інтервалом прямого та зворотнього пересічення максимально наближеного датчика до харчової кульки на відстані 13 мм, тривалість цієї фази складала $76,88 \pm 0,51$ мс. Стабілізація цього показника відбувалась, починаючи з 13 доби, після чого він мав жорсткий лінійний характер з мінімальним коливанням значень.

З метою максимально об'єктивної оцінки параметрів їждобувних рухів визначали час від моменту захоплення харчової кульки до виведення кінцівки за межі першого фотодатчика (ближнього П) ($38,69 \pm 0,95$ мс зі стабілізацією на 6 – 7 добу), а також час від початку введення кінцівки до захоплення харчової кульки ($102,08 \pm 2,91$ мс, стабілізація настала з 11 доби навчання) та час від моменту захоплення харчової кульки до виведення кінцівки з годівниці ($55,52 \pm 1,5$ мс, стабілізація на 5 – 6 добу навчання).

Порівняльна характеристика параметрів рухів у інтактних щурів та навчених зі зруйнованим гіпокампом вказує на часові зміни компонентів їждобувних рухів у останніх, зокрема: збільшення на 4,07 мс часу від моменту введення кінцівки в годівницю до захоплення харчової кульки, збільшення на 3,87 мс часу проходження ближнього фотодатчика та датчика 4 мм, збільшення на 0,73 мс часу проходження кінцівкою датчиків 4 мм – 9 мм та збільшення на 2,64 мс часу проходження датчиків 9 мм - 13 мм. Означені відмінності в часових параметрах їждобувних рухів слід розглядати як доказ інтегративної функції гіпокампу (поле СА3) у створенні моторної програми, особливо на етапі формування та менше у її реалізації.

Порівняльна характеристика параметрів рухів між інтактними щурами та навченими зі зруйнованим гіпокампом після тривалої перерви в 30 діб мала подібні закономірності. При тренуванні попередньо навчених щурів зі зруйнованим гіпокампом після тривалої перерви кількість результативних рухів збільшилась до $11,56 \pm 4,98$ проти $11,16 \pm 4,62$ рухів. Такий результат пояснюється збільшенням загальної кількості ІР до $69,48 \pm 10,43$ проти $39,11 \pm 14,7$ рухів у інтактних лабораторних щурів ($p < 0,05$). Відсоток помилкових рухів збільшився до 85,72 % проти 56,8 % ($p < 0,05$) у інтактних лабораторних щурів.

Моторна програма є досить жорстким алгоритмом реалізації рухової навички, тому у керуванні довільними рухами передбачаються різні, у тому числі й прямо не доведені інформаційні операції, які в рамках нейрофізіології неможливо чітко

пов'язати з певними структурами ЦНС. Більша частина всіх цих операцій здійснюється поза свідомим контролем та за участі ділянок пам'яті, необхідних для ініціації запуску моторної програми.

При аналізі параметрів компонентів рухів у інтактних щурів після тривалої перерви, яка склала 30 діб в порівнянні з попередньо оціненими показниками статистично вірогідних відмінностей не встановлено. Це свідчить про жорсткий алгоритм відтворення патерну автоматизованих рухів, що розглядається як доказ залучення ділянок пам'яті до ініціювання запуску реалізації моторної програми.

Слід зауважити, що у попередньо навчених лабораторних щурів зі зруйнованим гіпокампом (поле СА3) після тривалої перерви параметри стали більш нестабільними, втратили характерну для інтактних тварин закономірність у вигляді зменшення кількості спроб та характеризуються зростанням тривалості перебування кінцівки в годівниці.

Встановлені зміни в характеристиці рухів свідчать про залучення гіпокампу (поле СА3) до ініціації запуску рухової програми.

Для перевірки означеної гіпотези було виконано порівняння показників електричної активності нейронів гіпокампу (поле СА3) в процесі реагування на сенсорні стимули під час пасивного переміщення передніх кінцівок у незалежних експериментальних виборках інтактних та тренуваних щурів.

З метою вивчення впливу зворотної пропріоцептивної аферентації на поле СА3 гіпокампу під час навчання була запропонована і використана оригінальна модель здійснення пасивних рухів передніми кінцівками щура в умовах гострого експерименту. Для цього здійснювали пасивне переміщення передньої кінцівки вперед – назад на 5 см зі швидкістю 0,125 м/с, що відтворює фазу екстензії та флексії кінцівки тривалістю 400 ± 20 мс кожна.

При здійсненні пасивних рухів іпсилатеральною кінцівкою було зареєстровано активність 96 нейронів гіпокампу в інтактній групі тварин та 284 в групі тренуваних щурів. В контрольній групі реагувало 32 нейрони, а в тренуваних тварин - 160 нейронів.

Встановлено стійку тенденцію до збільшення кількості реагуючих нейронів у тварин після тренування. Так, для контрольної групи під час руху іпсилатеральною передньою кінцівкою цей показник склав 33,3 % від загальної кількості зареєстрованих нейронів, а у тренуваних щурів – 56,3 % нейронів.

При дослідженні ІАН гіпокампу під час здійснення пасивних рухів контралатеральною кінцівкою було зареєстровано ІАН 70 нейронів в інтактній групі тварин та 258 у групі тренуваних щурів. А при здійсненні пасивних рухів обома кінцівками (білатерально) зареєстровано ІАН 72 нейронів в інтактній групі і 268 у групі тренуваних щурів.

Контралатеральне та білатеральне виконання пасивних рухів проявилось меншою кількістю реагуючих нейронів, зокрема у контрольній групі тварин під час руху контралатеральною кінцівкою показник склав 51,5 % від загальної кількості зареєстрованих нейронів, а у тренуваних щурів – 39,5 %. Відсоток у контрольній

групі тварин під час білатерального руху передніми кінцівками склав 36,1 % від загальної кількості зареєстрованих нейронів, а у тренуваних щурів – 34 % нейронів.

Аналізуючи показники наступних експериментальних груп було показано, що між контрольною та тренуваною групами при виконанні пасивних рухів контралатеральною кінцівкою та білатерально вірогідних відмінностей не встановлено.

Порівняння показника реагуючих нейронів між контрольною групою та тренуваною при здійсненні пасивних рухів іпсилатеральною передньою кінцівкою свідчить про наявність вірогідних відмінностей (критерій Фішера $\phi = 3,95$, що більше за ϕ_2 , $p < 0,01$).

Для вивчення більш тонких механізмів міжнейронної взаємодії проведено аналіз окремих типів реакції нейронів.

Електрична активність нейронів тренуваних щурів характеризувалась тими ж типами, що і у інтактних тварин, але із певними особливостями в якісній характеристиці.

По-перше, частка нейронів із різними типами реакцій змінювалась у залежності від залученої до руху кінцівки. Крім цього, у тренуваних щурів з'явилися нейрони з гальмівним типом реакції (0% - у нетренованих; 11,6 % - у тренуваних при здійсненні рухів іпсилатеральною кінцівкою; 1,4% - у нетренованих, 7 % - у тренуваних при здійсненні рухів контралатеральною кінцівкою; 0% - у нетренованих, 4,1 % - у тренуваних при білатеральному здійсненні рухів кінцівками). Але достовірних відмінностей між часткою нейронів з гальмівною реакцією у контрольній групі та тренуваною групою при здійсненні рухів контралатеральною передньою кінцівкою та білатерально не встановлено.

Реакції збудливого типу в міру набуття рухової навички мали тенденцію до більшої частки серед зареєстрованих нейронів (33,3 % - у нетренованих; 44,7 % у тренуваних при виконанні рухів іпсилатеральною передньою кінцівкою).

На відміну від нейронів у контрольній групі тварин, де тонічна реакція тривала протягом всього часу пасивного руху, у тренуваних тварин відбувається своєрідна „спеціалізація” властивостей, і реакції тривали або під час фази екстензії кінцівки, або під час екстензії та флексії (Рис. 2).

У тренуваних тварин виявлено групу нейронів, що реагувала тонічним збільшенням імпульсної активності ізольовано у фазу екстензії та флексії кінцівки (Рис. 3).

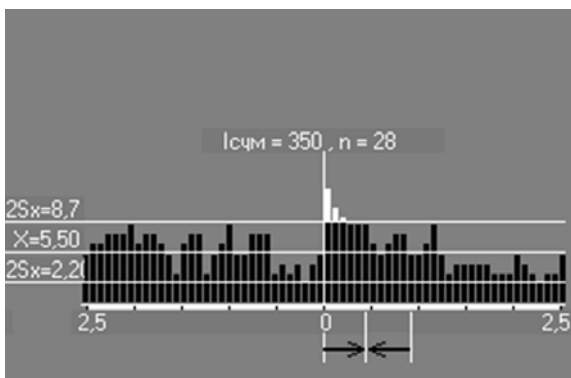


Рис. 2. Постстимульна гістограма нейрона ($h = 2680$ мкм) гіпокампу (поле СА3) у відповідь на пасивний рух іпсилатеральної передньої кінцівки.

Збудливий тонічний тип реакції у фазу екстензії та флексії кінцівки.

Епоха аналізу – 5 с, бін –78,12 мс. Накопичення 350 потенціалів дії протягом 28 реалізацій. Стрілка праворуч-фаза екстензії, стрілка ліворуч-фаза флексії.

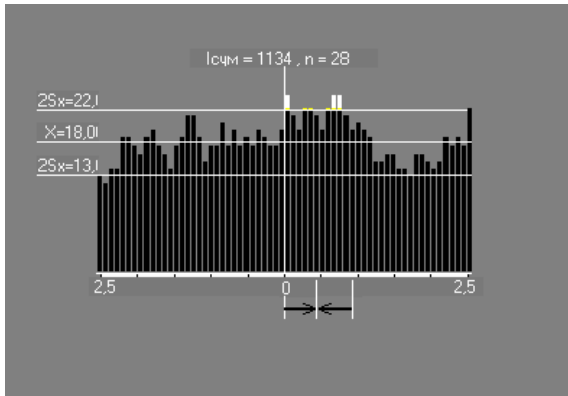


Рис. 3. Постстимульна гістограма нейрона ($h = 2680$ мкм) гіпокампу (поле СА3) у відповідь на пасивний рух іпсилатеральної передньої кінцівки.

Збудливий тонічний тип реакції у фазу екстензії та флексії кінцівки.

Епоха аналізу – 5 с, бін –78,12 мс. Накопичення 1134 потенціалів дії протягом 28 реалізацій. Стрілка праворуч-фаза екстензії, стрілка ліворуч-фаза флексії.

Подібні реакції виявлялись лише після тренування (набуття навички), що вказує на залучення поля (СА3) гіпокампу до процесу навчання та розглядаються як включення нейронів гіпокампу до організації контролю рухової активності.

Встановлені закономірності свідчать про збільшення ступеня залучення поля СА3 гіпокампу під впливом аферентного сенсорного притоку в процесі формування моторної навички, на що опосередковано вказується в дослідженнях взаємодії нейронів фронтальної кори та гіпокампу в котів [Долбакян Э. Е., 2006, Павлова, И.В., 2006], та узгоджується з припущеннями про те, що оперантними рухами кисті, зокрема її пальців, керують не просторово-дискретні групи нейронів, а високо розподілена нейронна мережа з дискретними одиницями керування в різних відділах нервової системи, зокрема в гіпокампі [Schieber et al., 2004].

На залучення багатьох мозкових структур для виконання руху, зокрема гіпокампу, у вирішенні просторових завдань показано в ряді досліджень [Купцов П.А. та ін., 2005, Зайченко, М. И., 2006, J.T. Francis, 2005, Зосимовский, В. А., 2007].

Таким чином, встановлено наступні особливості: 1) процес навчання супроводжується зростанням кількості нейронів, які реагують на сенсорні аферентні стимули від іпсилатеральної робочої кінцівки; 2) у групі тренуваних щурів виявлені нейрони, які проявили нові типи реакції, які не спостерігались у контрольній групі тварин у вигляді тонічних збуджень під час окремих фаз пасивного руху кінцівки: одна з реакцій відбувалась під час фази екстензії кінцівки, друга – під час фази екстензії та фази флексії відповідно; 3) у групі тренуваних щурів виявлені нейрони з реакціями гальмівного типу (РГТ), яких не спостерігалось у контрольній групі тварин; 4) встановлено, що результатом навчання є вірогідне ($p < 0,01$), у порівнянні з контрольною групою, збільшення відсотка реагуючих нейронів на пропріоцептивні стимули від іпсилатеральної кінцівки. Цю закономірність забезпечують переважно нейрони, які реагують за збудливим типом ($p < 0,01$). Достовірним є збільшення кількості нейронів із РГТ при рухах іпсилатеральною кінцівкою ($p > 0,01$).

Для перевірки гіпотези про залучення гіпокампу до формування нових рухових навичок оцінювали рівень змін НА поля СА3 гіпокампу в щурів в умовах хронічного експерименту під час тренувань.

Аналіз ІАН поля СА3 гіпокампу показав, що частина нейронів активувались під час здійснення ІР ведучою кінцівкою, та стійку тенденцію до більшої кількості реагуючих нейронів у тварин впродовж тренування.

Було зареєстровано 85 нейронів на 1 день тренувань, 97 на 2 день, 75 на третій та 78 після 11 дня тренувань. Кількість реагуючих нейронів склала відповідно 32, 53, 41 та 52 нейрони.

Кількість реагуючих нейронів у відсотковому значенні для першого дня тренувань в умовах вільної поведінки становила 37,6 % від загальної кількості зареєстрованих нейронів, в тому числі фоновоактивних, після шостого дня тренування – 54,6 %, після дев'ятого дня – 54,7 %, після 11 дня – 66,7 %.

Встановлено, що НА першого дня та після шостого дня має вірогідні відмінності ($p < 0,01$) у частці реагуючих нейронів. Між показниками НА першого дня та після 11 дня тренувань також встановлено вірогідні відмінності ($p < 0,01$) у частці реагуючих нейронів. Слід відмітити, що в міру набуття рухової навички, відбулося збільшення кількості зареєстрованих нейронів з реакціями гальмівного типу: відсутність у перший день тренування; 23,8 % - після шостого дня тренування (Рис. 4); 6,7 % - після дев'ятого дня; 48,7 % - після одинадцятого дня (наявність вірогідних відмінностей ($p < 0,01$) у частці реагуючих нейронів).

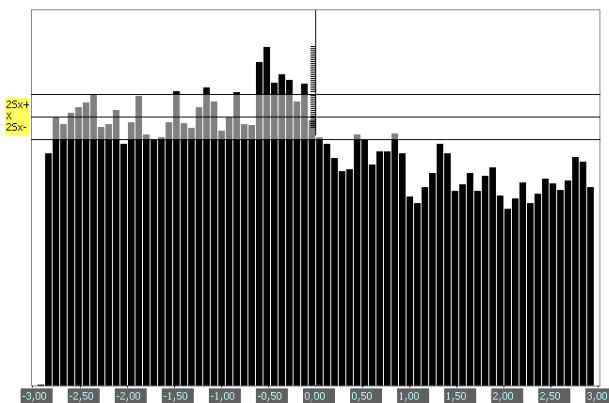


Рис. 4. Перистимульна гістограма нейрона ($h = 2820$ мкм) гіпокампу (поле СА3) при здійсненні їждобувних рухів іпсилатеральною передньою кінцівкою на 14 день тренувань. Гальмівний тип реакції у фазу екстензії та флексії. Епоха аналізу – 6 с, бін – 74 мс. Накопичення 1580 потенціалів дії протягом 23 реалізацій.

Узагальнюючи аналіз ІАН в процесі формування оперантного їждобувного рефлексу (ОІР), слід зауважити, що перехід інформації про миттєво отриману успішну реалізацію моторної навички в стаціонарний алгоритм поведінкового акту здійснюється за участю гіпокампу, а при його пошкодженні успішна реалізація моторної навички має переважно випадковий характер у змінних умовах середовища [Bast T., 2009]. Також у процесі набуття нового навичку рівень електричної активності СА3 гіпокампу постійно залишається високим [Lang S., 2009]

Таким чином, при аналізі ІАН у процесі формування ОІР встановлено наступні особливості: 1) процес навчання супроводжується змінами рівня нейронної активності поля СА3 гіпокампу - зростає кількість нейронів, які реагують при здійсненні ІР іпсилатеральною ведучою кінцівкою; 2) виявлені нейрони, які проявили нові типи реакцій, що не спостерігались на більш ранніх етапах навчання, вони полягали як у тонічному збудженні під час окремих фаз рухового акту, так і супроводжувались процесами гальмування; 3) починаючи з 6-7 доби навчання

виявлені нейрони, які проявили гальмівний тип реакції, що не спостерігались на більш ранніх етапах навчання; 4) встановлено, що результатом навчання є вірогідне ($p < 0,01$) у порівнянні з першим днем навчання зростання кількості реагуючих нейронів на 6 та 11 добу навчання при здійсненні ІР іпсилатеральною кінцівкою. Цю закономірність забезпечують переважно нейрони, які реагують за гальмівним типом ($p < 0,01$).

З метою встановлення рівня залучення поля СА3 гіпокампу до організації та реалізації програм автоматизованих рухів на рівні ініціюючої ланки запуску нейронних мереж було використано методику моторного навчання, електростимуляції та електроміографії. Застосування електростимуляції структур гіпокампу є досить поширеною методикою [Арутюнян Р.С., 2012, Ego-Stengel V., 2010].

При аналізі отриманих даних встановлено зменшення порогової величини струму електростимуляції (СЕ) у попередньо навчених лабораторних щурів по відношенню до контрольної групи (інтактні тварини). Так, для навчених щурів при електричній стимуляції іпсилатерального поля (ІП) СА3 гіпокампу ця величина склала $328,65 \pm 48,47$ мкА, а для контрольної групи - $483,89 \pm 39,78$ мкА ($p < 0,01$).

Електростимуляція контралатерального поля (КП) СА3 вимагала більших СЕ та викликала скорочення м'язів двох передніх кінцівок як у навчених щурів, так і в інтактній групі.

Статистично вірогідних відмінностей при порівнянні СЕ КП СА3 гіпокампу у навчених щурів по відношенню до контрольної групи не встановлено.

Скорочення м'язів двох передніх лапок було переважаючим в контрольній групі при електростимуляції правого або лівого поля СА3 гіпокампу. Навпаки, у навчених щурів спостерігалась латералізація скорочення м'язів передніх кінцівок.

При порівнянні часових інтервалів від початку дії СЕ (ІП СА3 гіпокампу по відношенню до ведучої кінцівки) до початку скорочення м'язів ведучої кінцівки (СМПК), було отримано наступні результати: спостерігається вірогідне ($p < 0,01$) зменшення величини часового інтервалу в попередньо навчених лабораторних щурів ($74,54 \pm 8,98$ мс) по відношенню до контрольної групи ($205,35 \pm 21,14$ мс).

Таким чином, при аналізі впливів електростимуляції поля СА3 гіпокампу встановлено наступні особливості: 1) у навчених щурів при електричній стимуляції ІП СА3 гіпокампу по відношенню до ведучої кінцівки вірогідно ($p < 0,01$) зменшується величина струму електростимуляції з $483,89 \pm 39,78$ мкА до $328,65 \pm 48,47$ мкА; 2) в міру вироблення ОІР у навчених щурів при електричній стимуляції ІП СА3 гіпокампу по відношенню до ведучої кінцівки вірогідно ($p < 0,01$) зменшується часовий інтервал від моменту пред'явлення електричного стимулу до початку СМПК з $205,35 \pm 21,14$ мс до $74,54 \pm 8,98$ мс; 3) в міру вироблення ОІР в навчених щурів при ЕС ІП СА3 гіпокампу по відношенню до ведучої кінцівки з'являється чітка латералізація СМПК.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення

наукового завдання, що полягає у встановленні ролі гіпокампу в процесах організації та відтворення програм автоматизованих рухів на прикладі структурно-функціонального залучення поля САЗ.

1. Їждобувні рухи у щурів є високостереотипною інструментальною реакцією і складаються з наступних основних фаз – екстензії кінцівки, флексії пальців та ретракції кінцівки. Перша фаза представляє собою балістичний компонент, параметри якого у інтактних тварин не змінюються протягом всього тренування. На це вказують стабільність часових показників екстензії та вузький діапазон коливань числових значень часових показників її складових протягом всього тренування.

Білатеральне електролітичне виключення поля САЗ гіпокампу призводить до вірогідного збільшення відсотка помилкових рухів (85,72 % ($p < 0,05$) проти 56,8 % у інтактних лабораторних щурів), а також зростання загальної кількості їждобувних рухів ($69,48 \pm 10,43$ проти $39,11 \pm 14,7$ у інтактних лабораторних щурів за одне тренування).

При оцінюванні параметрів рухів у тварин з білатерально електролітично зруйнованим полем САЗ гіпокампу спостерігаються вірогідні зміни параметрів рухів (часових показників екстензії та флексії), зокрема вірогідне збільшення часу від початку введення кінцівки до захоплення харчової кульки (екстензія) на 4,07 мс ($p < 0,05$) та вірогідні зміни часових показників її структури.

2. У навчених інтактних тварин після тривалої перерви вірогідних змін параметрів рухів (часових показників екстензії, флексії та ретракції) не спостерігалось.

При оцінюванні параметрів рухів у тварин з білатерально електролітично зруйнованим полем САЗ гіпокампу після тривалої перерви спостерігаються вірогідні зміни їх величин (часових показників екстензії, флексії та ретракції), зокрема збільшився на 6,13 мс ($p < 0,05$) загальний час перебування кінцівки в годівниці, на 4,9 мс ($p < 0,05$) збільшився час від початку введення кінцівки до захоплення харчової кульки (екстензія) та вірогідно змінилась її часова структура, а також на 2,07 мс ($p < 0,05$) збільшився час захоплення харчової кульки.

3. Процес навчання руховій навичці щурів супроводжується значними змінами електричної активності нейронів поля САЗ гіпокампу.

Встановлено, що в міру вироблення оперантного їждобувного рефлексу вірогідно ($p < 0,01$), у порівнянні з контрольною групою (56,3 % проти 33,3 %) збільшується відсоток реагуючих на пропріоцептивні стимули нейронів при здійсненні пасивних рухів іпсилатеральною кінцівкою. Одна частина нейронів (31,3 %, з 44,7 %, критерій Фішера $\phi > 3,95$, $p < 0,01$) реагувала тонічним збудженням тільки під час екстензії, друга - під час екстензії та флексії (13,4 %, з 44,7 %, критерій Фішера $\phi > 3,95$, $p < 0,01$). Крім того, виявлені нейрони з гальмівним типом реакції (11,6 %, з 56,3 % реагуючих, критерій Фішера $\phi < 5,89$, $p < 0,01$), що не спостерігалось у контрольній групі.

4. Встановлено, що результатом навчання є вірогідне ($p < 0,01$) зростання кількості реагуючих нейронів на 6 та 11 добу навчання при здійсненні їждобувних рухів іпсилатеральною кінцівкою у порівнянні з першим днем навчання.

Так, кількість реагуючих нейронів у відсотковому значенні для першого дня тренувань в умовах вільної поведінки становила 37,6 % від загальної кількості зареєстрованих нейронів, після шостого дня – 54,6 %, після дев'ятого дня – 54,7 %, після 11 дня – 66,7 %.

Було встановлено, що нейронна активність (НА) першого та шостого дня тренувань має вірогідні відмінності ($p < 0,01$) у частці реагуючих нейронів (критерій Фішера шостого дня $\phi = 2,30$). Між показниками нейронної активності першого та 11 днів тренувань також встановлено вірогідні відмінності ($P < 0,01$) у частці реагуючих нейронів (критерій Фішера шостого дня $\phi = 3,75$).

Слід відмітити, що в міру набуття рухової навички, відбулося збільшення кількості зареєстрованих нейронів з реакціями гальмівного типу: відсутність у перший день тренування; 23,8 % - після шостого дня тренування; 6,7 % - після дев'ятого дня; 48,7 % - після одинадцятого дня (наявність вірогідних відмінностей ($p < 0,01$) у частці реагуючих нейронів (критерій Фішера шостого дня $\phi = 5,3$, критерій Фішера дев'ятого дня $\phi = 3,2$, критерій Фішера одинадцятого дня $\phi = 8,4$).

5. При електричній стимуляції іпсилатерального поля СА3 гіпокампу по відношенню до ведучої кінцівки у навчених лабораторних щурів встановлена чітка латералізація електроміографічно підтвердженого скорочення м'язів передньої кінцівки, якій тварина надавала перевагу при здійсненні їждобувних рухів та вірогідно ($p < 0,01$) зменшувалась величина порогу електростимуляції з $483,89 \pm 39,78$ мкА до $328,65 \pm 48,47$ мкА.

6. При електричній стимуляції іпсилатерального поля СА3 гіпокампу по відношенню до ведучої кінцівки в навчених щурів вірогідно ($p < 0,01$) зменшувався часовий інтервал від моменту пред'явлення електричного стимулу до початку електроміографічно підтвердженого скорочення м'язів з $205,35 \pm 21,14$ мс до $74,54 \pm 8,98$ мс. Означені зміни вказують на спрощення нейронних механізмів (зменшення кількості синаптичних перемикачів) відтворення з пам'яті моторної програми вдосконаленої навички в процесі навчання та реалізації її механізмів.

7. Встановлені закономірності електричної активності нейронів поля СА3 гіпокампу в умовах гострого та хронічного експерименту вказують на причетність поля СА3 гіпокампу щурів до формування задуму швидкого їждобувного руху та у певній мірі до запуску та контролю його виконання. Підтвердженням є збільшення відсотка реагуючих на пропріоцептивні стимули нейронів при здійсненні пасивних рухів іпсилатеральною кінцівкою, поява нових типів реакцій, зокрема гальмівного типу, що не спостерігались на більш ранніх етапах навчання в умовах гострого і хронічного експериментів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Особливості формування параметрів їждобувних рухів щурів в умовах вільної поведінки / Вісник Вінницького національного медичного університету // В. М., Мороз М. В. Йолтухівський, О. В. Власенко, І. Л. Рокунець, М.М. Йолтухівський - 2010. – 14, №1, С.1-14. *(Здобувач брав участь у створенні технічного комплексу, виконував експериментальну частину роботи, виконував статистичну обробку матеріалу)*
2. Власенко О.В. Телеметрична восьмиканальна система передачі фізіологічних параметрів лабораторних тварин / О.В. Власенко, І.Л. Рокунець, В.В. Чечель // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2010. – 10, №1. – С. 9-14. *(Здобувач брав участь у створенні технічного комплексу, виконував експериментальну частину, створив ілюстрації)*
3. Рокунець І.Л. Вплив електричної стимуляції поля СА3 гіпокампу на скорочення м'язів передніх кінцівок у інтактних та навчених щурів / І. Л. Рокунець // Український морфологічний альманах. – 2012. –Том 10, №4. – С. 93-97.
4. Рокунець І.Л. Імпульсна активність нейронів гіпокампу (ділянка СА3) у інтактних та тренуваних щурів під час пасивних рухів передніх кінцівок / І.Л. Рокунець // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2012. –Том 16, №2. – С. 346-353.
5. Рокунець І.Л. Роль гіпокампу (СА3) у формуванні задуму руху та його реалізації / І. Л. Рокунець // Biomedical and biosocial anthropology.- 2012.- №19.- С. 126-132.
6. Пат. 15653 UA, МПК А61В 5/04. Пристрій для телеметричної передачі імпульсної активності нейронів / В.М. Мороз, В.В. Чечель, О.В. Власенко, І.Л. Рокунець, М.В. Йолтухівський (UA); Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (UA). - № u2005 12762; Заяв. 29.12.2005; Опубл. 17.07.2006, Бюл. № 7. *(Здобувач брав участь у створенні технічного комплексу, виконував експериментальну частину роботи)*
7. Пат. 15851 UA, МПК А61В 5/04. Спосіб позаклітинної реєстрації потенціалу дії різних ділянок нейрону / В.М. Мороз, В.В. Чечель, О.В. Власенко, І.Л. Рокунець, М.В. Йолтухівський (UA); Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (UA). - № u2006 00989; Заяв. 03.02.2006; Опубл. 17.07.2006, Бюл. № 7. *(Здобувач брав участь у створенні технічного комплексу, виконував експериментальну частину, створив ілюстрації)*
8. Пат. 55671 UA, МПК А61В 5/04. Багатоканальний пристрій для телеметричної передачі потенціалів дії нейронів головного та спинного мозку / В.В. Чечель, О.В. Власенко, І.Л. Рокунець (UA); Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (UA). - № u 2010 05836; Заяв. 14.05.2010; Опубл. 27.12.2010, Бюл. № 24. *(Здобувач брав участь у створенні технічного комплексу, виконував експериментальну частину, створив ілюстрації)*

9. Механізми програмування інструментальних їждобувних рухів у щурів / В.М. Мороз, Н.В. Братусь, О.В. Власенко, П.Т. Дацишин, М.В. Йолтухівський, О.Д. Омельченко, І.Л. Рокунець, К.В. Супрунов // Фізіологічний журнал. - Матер. XVI з'їзду Українськ. фізіологіч. товариства. – 2002. – Т. 48, №2, – С. 56. *(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи, підготовлено ілюстрації до доповіді)*

10. Рокунець І.Л. Активність нейронів гіпокампу при пасивних рухах у щурів в стані наркозу / І.Л. Рокунець // Нейронауки: теорет. та клін. аспекти. - матер. конф. Українськ. тов. нейронаук. – 2005. – Т. 1, №1, Дод. – С. 102.

11. Роль кори головного мозку в механізмах програмування оперантних їждобувних рухів у щурів / В.М. Мороз, М.В. Йолтухівський, О.В. Власенко, І.Л. Рокунець, О.Д. Омельченко, В.В. Чечель, О.В. Довгань, К.В. Супрунов // Нейронауки: теорет. та клін. аспекти. - Матер. конф. Українськ. тов. нейронаук. – 2005. – Т. 1, №1, Дод. – С. 78-79. *(Здобувач виконував експериментальну частину роботи та виконав статистичну обробку матеріалу)*

12. Реакции нейронов префронтальной, моторной коры, латерального гипоталамуса и гиппокампа крысы при стереотипных пищедобывательных движениях / В.М. Мороз, М.В. Йолтуховский, О.В. Власенко, И.Л. Рокунец, В.В. Чечель // Науч. труды I съезда физиологов СНГ. – Москва: Медицина-Здоровье, 2005.- Т. 1. – С. 40. *(Здобувач проводив експериментальну частину, виконав технічне забезпечення експерименту та статистичну обробку матеріалу)*

13. Activity of cerebrum structures neurons during organization and realization of stereotypic movements / V.M. Moroz, M.V. Yoltukhivskyy, O.V. Vlasenko, I.L. Rokunets, V.V. Chechel, O.D. Omelchenko, O.V. Dovgan // Acta Physiologica. – Abstr. of Joint Meeting of the Federat. Europ. Physiolog. Societies. – 2006. – Vol. 186, Suppl. 1, – P. 246. *(Здобувач виконував експериментальну частину та проводив технічне забезпечення експерименту)*

14. Активність нейронів кори та підкіркових структур мозку при підготовці та виконанні рухів / О.В. Власенко, В.М. Мороз, М.В. Йолтухівський, І.Л. Рокунець, В.В. Чечель, О.Д. Омельченко, О.В. Довгань // Фізіологічний журнал. - Матер. XVII з'їзду Українськ. фізіологіч. товариства. – 2006. – Т. 52, №2, – С. 27. *(Здобувач виконував експериментальну частину та статистичну обробку отриманих даних)*

15. Мороз В.М. Дослідження експресії гену c-FOS в гіпокампі щурів в умовах голоду і реалізації їждобувних рухів / В.М. Мороз, І.Л. Рокунець // Нейронауки: теорет. та клін. аспекти. - матер. IV конф. Українськ. тов. нейронаук. – 2008. – Т. 4, №1, Дод. – С. 45. *(Здобувачу належить ідея роботи, виконання експериментальної частини роботи та статистична обробка з написанням тексту)*

16. Закономерности взаимодействия структур головного мозга при управлении произвольными движениями / В.М. Мороз, М.В. Йолтуховский, О.В. Власенко, А.В. Довгань, М.М. Йолтуховский, Я.В. Кузьминский, И.Л. Рокунец, В.В. Чечель // Науч. труды II съезда физиологов СНГ. – Москва: Медицина-Здоровье, 2008.- С. 175. *(Здобувач виконував експериментальну частину)*

17. New neurotechnologies appeared to be a modern way of patients treatment / V.M. Moroz, M.V. Yoltukhivskyy, O.V. Vlasenko, V.V. Pogorilyi, I.L. Rokunets // Abstr. of 4th East European and Mediterranean conference “Cerebral palsy and developmental medicine”. – Eilat, Israel, 28-31 may 2008. – 2008. – P. 140. (Здобувач виконував експериментальну частину)

18. Телеметрический программно-аппаратный комплекс для изучения нейронной активности в эксперименте / В.М. Мороз, О.В. Власенко, М.В. Йолтуховский, И.Л. Рокунец, В.В. Чечель // Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в медицине и физиологии : всероссийск. науч.-практ. конф. 23 – 26.11.2010 : сб. трудов, Т.2 - С-Пб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2010. – С. 195-196. (Здобувач виконував експериментальну частину та проводив технічне забезпечення експерименту)

19. 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 – ХХІ століття. Запоріжжя. – 2010. - №3. – Режим доступу до журн. :

<http://nauka.zinet.info/8/vlasenko.php> (Здобувач виконував експериментальну частину,проводив аналіз результатів та їх статистичну обробку)

20. Роль гіпокампу (ділянка СА3) у формуванні задуму руху та його реалізації / В.М. Мороз, М.В. Йолтухівський, І.Л. Рокунець // Матер. І Українсько-Йорданського медичного конгресу та днів йорданської культури в Вінниці. – 2011. – С. 21-22. (Здобувач виконував експериментальну частину,проводив технічне забезпечення експерименту та написання тексту)

АНОТАЦІЯ

Рокунець І.Л. Роль гіпокампу в процесах організації та відтворення програм автоматизованих рухів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.03 – нормальна фізіологія. – Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова МОЗ України. – Вінниця, 2013.

Дисертація присвячена встановленню механізмів формування їждобувних рухів за участю гіпокампу (поле СА3) у щурів та ролі означеної структури в ініціюванні та реалізації рухової програми. Результати дослідження дозволили вирішити наукове завдання, що полягає у встановленні ролі гіпокампу в процесах організації та відтворення програм автоматизованих рухів на прикладі структурно-функціонального залучення поля СА3 гіпокампу. Зокрема досліджено, що параметри рухів у навчених щурів та навчених зі зруйнованим гіпокампом мають вірогідні відмінності часових значень балістичних компонентів руху. При тренуванні попередньо навчених щурів зі зруйнованим гіпокампом після тривалої перерви спостерігається збільшення загальної кількості їждобувних рухів та відсоток помилок. У міру вироблення навички зростає кількість нейронів, які реагують на сенсорні стимули від іпсилатеральної робочої кінцівки та з'являються

нейрони з новими типами реакцій. Встановлено, що результатом навчання є збільшення відсотка реагуючих на пропріоцептивні стимули нейронів при здійсненні пасивних рухів іпсилатеральною кінцівкою, починаючи з 6-7 доби навчання виявлені нейрони з гальмівним типом реакції. Встановлено, що результатом навчання є вірогідне ($p < 0,01$) у порівнянні з першим днем навчання зростання кількості реагуючих нейронів на 6 та 11 добу навчання при здійсненні їждобувних рухів іпсилатеральною кінцівкою. Встановлено, що в навчених щурів при електричній стимуляції іпсилатерального поля СА3 гіпокампу з'являється чітка латералізація скорочення м'язів передньої кінцівки, якій тварина надавала перевагу при здійсненні їждобувних рухів, та вірогідно ($p < 0,01$) зменшується величина струму електростимуляції до появи еферентної відповіді у вигляді скорочення м'язів передніх кінцівок.

Ключові слова: гіпокамп, моторна програма, щури, імпульсна активність нейронів, їждобувні рухи, електростимуляція, електроміограма.

АННОТАЦІЯ

Рокунец И.Л. Роль гиппокампа в процессах организации и реализации программ автоматизированных движений. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – нормальная физиология. – Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова МОЗ Украины. – Винница, 2013.

С целью формирования инструментального пищедобывательного рефлекса проводили обучение доставанию пищевых шариков, которые расположены на платформе в углублении. Мультипараметрический анализ движения производили с использованием комплекса для регистрации параметров перемещения лапы крысы в процессе движения. Подача корма осуществлялась автоматически. Сигналы от фотодатчиков регистрировались и обрабатывали с использованием оригинальных программ.

Закономерности становления показателей пищедобывательных движений изучены в 28 интактных крыс.

Электролитическое разрушение поля СА3 выполняли после формирования четкой пищедобывательной реакции и регистрации параметров движений, сила тока составляла 0,5 мА, продолжительность 15 – 20 с. Регистрацию импульсной активности нейронов в условиях острого эксперимента во время моделирования пищедобывательных движений провели на 20 крысах после формирования моторного навыка.

Исследование в условиях свободного поведения проведено на 20 крысах на протяжении формирования моторного навыка. Влияние электрической стимуляции поля СА3 гиппокампа на сокращение мышц передних конечностей у интактных и обученных крыс изучено на 18 крысах. Контрольную группу составили 8 интактных крыс. Для раздражения подводили прямоугольные импульсы тока продолжительностью 0,1 – 0,4 мс в режиме частой стимуляции (5 – 100 Гц) с током от 50 мкА до 550 мкА. Электромиограмму и синхроимпульс регистрировали с

использованием 16-канального аналого-цифрового преобразователя. Для отвода электрической активности от мышц использованы металлические микроэлектроды. Статистическая обработка полученных результатов проведена в пакете "STATISTICA 5,5" с использованием непараметрических методов оценивания.

Доказано, что параметры движений у интактных обученных крыс и обученных с разрушенным гиппокампом имеют достоверные отличия временных значений: увеличение на 4,07 мс времени от момента введения конечности в кормушку к моменту захвата пищевого шарика, на 3,87 мс для времени пересечения ближнего фотодатчика - 4 мм, и на 2,64 мс для времени прохождения конечности от датчика 9 мм - 13 мм.

При сравнительной характеристике параметров движений между интактными обученными крысами и предварительно обученными (после обучения разрушали поле СА3 гиппокампа) после продолжительного перерыва установлено, что количество результативных движений составило $11,56 \pm 4,98$ против $11,16 \pm 4,62$ движений у интактных крыс. Это объясняется увеличением общего количества пищедобывательных движений $69,48 \pm 10,43$ против $39,11 \pm 14,7$ движений у интактных крыс. Процент ошибочных движений увеличился до 85,72 % против 56,8 % ($p < 0,05$) у интактных крыс.

Показано, что процесс обучения двигательному навыку сопровождается изменениями электрической активности поля СА3 гиппокампа: возрастает количество нейронов, реагирующих на сенсорные стимулы от ипсилатеральной ведущей конечности, появляются новые типы реакций, в частности тонические возбуждательные во время отдельных фаз пассивного движения конечности, а также выявлены нейроны, которые проявили тормозной тип реакций, чего не наблюдалось в контрольной группе животных.

Установлено, что в результате обучения наблюдается достоверное ($p < 0,01$) в сравнении с контрольной группой увеличение процента реагирующих по возбудимому типу на проприоцептивные стимулы нейронов при осуществлении движений ипсилатеральной передней конечностью ($p < 0,01$), также достоверно увеличивается количество нейронов с тормозным типом реакции ($p > 0,01$).

В процессе обучения начиная с 6-7 суток выявлены нейроны с тормозным типом реакции, чего не наблюдалось на более ранних этапах обучения. При обучении достоверно ($p < 0,01$) в сравнении с первым днем увеличивается количество реагирующих нейронов на 6 и 11 сутки обучения при осуществлении пищедобывательных движений ипсилатеральной конечностью. Эту закономерность обеспечивают нейроны, реагирующие за тормозным типом ($p < 0,01$).

Установлено, что у обученных крыс при электрической стимуляции ипсилатерального поля СА3 гиппокампа по отношению к ведущей конечности появляется латерализация сокращения мышц передней конечности, которой животное отдавало предпочтение при осуществлении пищедобывательных движений и достоверно ($p < 0,01$) уменьшается значение тока электростимуляции с $483,89 \pm 39,78$ мкА до $328,65 \pm 48,47$ мкА. У обученных крыс при электрической

стимуляции ипсилатерального поля СА3 гиппокампа достоверно ($p < 0,01$) уменьшается время от момента предъявления электрического стимула к началу сокращения мышц ведущей конечности с $205,35 \pm 21,14$ мс до $74,54 \pm 8,98$ мс, что указывает на упрощение нейронных механизмов (уменьшение количества синаптических переключений) воспроизведения из памяти моторной программы усовершенствованного навыка в процессе обучения и реализации ее механизмов.

Ключевые слова: гиппокамп, моторная программа, крысы, импульсная активность нейронов, пищедобывательные движения, электростимуляция, электромиограмма.

SUMMARY

Rokunets I. L. Role of the hippocampus in the processes of organization and reproduction of the automatic movements programs. – Submitted as manuscript.

Dissertation for the Candidate of Medical Sciences Degree in the Speciality 14.03.03 – Normal Physiology. – Vinnytsya National Pirogov Memorial Medical University of the Health Ministry of Ukraine. – Vinnytsya, 2013.

The dissertation is dedicated to the establishment of the mechanisms of the food-getting movements intention formation with participation of the hippocampus (CA3 area) in rats and the role of the marked structure in the initiation and realization of the motor program. The research results let reveal the hippocampus role in the processes of organization and reproduction of the automatic movements programs on the example of the structural-functional involvement of the hippocampus CA3 area. In particular it is shown that the movements parameters in the trained rats and trained rats with the damaged hippocampus have significant differences in the temporal values of the movements components. During training the pretrained rats with the damaged hippocampus after a prolonged break an increase of the food-getting movements total number and the percentage of errors are observed. As the skill is forming the amount of neurons reacting on the sensory stimuli from the ipsilateral working extremity during the passive movements increases and neurons with new types of reactions appear. It is set, the training result is increasing the percentage of neurons reacting on the proprioceptive stimuli during the ipsilateral extremity movements realization. Beginning with the 6th – 7th days of the training neurons with the inhibitory reaction type are found out. It is revealed that during the food-getting movements realization by the ipsilateral extremity the training result is a significant increase ($p < 0,01$) in the number of the reacting neurons in the 6th and 11th day of the training in comparison with the 1st day of the training. In the trained rats at the electrical stimulation of the ipsilateral hippocampus CA3 area the distinct lateralization in the muscles contractions of the preferred fore limb appears and the electrostimulation current magnitude decreases significantly ($p < 0,01$) till the efferent response (the fore limbs muscles contractions) appearance.

Key words: hippocampus, motor program, rats, impulse activity of neurons, , food-getting movements, electrostimulation, electromyogram.

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

КП – контралатеральне поле

НА – нейронна активність

ОЇР – оперантний їжодобувний рефлекс

ПАР – програма автоматизованих рухів

РГТ – реакції гальмівного типу

СЕ – струм електростимуляції

СМВК – скорочення м'язів ведучої кінцівки

ЕС – електрична стимуляція

ІАН – імпульсна активність нейронів

ІП – іпсилатеральне поле

ЇР – їжодобувні рухи

Підписано до друку 11.04.2013 р. Замовл. № 151.
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 0,9. Друк офсетний.
Тираж 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І.Пирогова, вул. Пирогова, 56.