
ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

А.Н. Корлэтяну, А.В. Тросиненко, Е.А. Дудник

АППАРАТ ДЛЯ ЭЛЕКТРОЛИТИЧЕСКОГО РАЗРУШЕНИЯ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

*Молдавский государственный университет
ул. М. Когэлничану, 65а, Кишинев, MD–2009, Республика Молдова*

Введение

Исследования функций головного мозга являются сложнейшей научной проблемой, решение которой невозможно без применения ряда специальных методов [1–3]. Особое место среди них занимает стереотаксический, (стереотаксис, нейронавигация), представляющий не только эффективный методический подход изучения центральной нервной системы [4], но и научное направление новой [5], стремительно развивающейся науки нейробиологии [6, 7]. Применение стереотаксического метода в экспериментальной [8] и клинической [9] практике предусматривает использование электрического тока, который в зависимости от силы и длительности его воздействия может вызывать стимуляцию или термическое разрушение нервной ткани [10].

В физиологии разрушение исследуемой структуры головного мозга часто используют для изучения возможного участия нервных образований центральной нервной системы в регуляции соматических и вегетативных функций, а также организации поведения [11].

Теоретический анализ

Деструкция мозговых образований основывается на действии физических факторов различной природы и может осуществляться посредством: механического разрушения [12]; ультразвукового воздействия [13]; локальной криодеструкции [14]; локального радиоактивного облучения [15]; микроионофореза нейротоксинов [11]; электрического тока постоянного напряжения [16]; напряжения высокой частоты [17].

Несмотря на разнообразие методов, все они имеют следующие общие черты: применение предусматривает использование стереотаксического метода, обеспечивающего точный доступ к заранее выбранной мозговой структуре, сочетающегося с минимальной травматизацией соседних образований, кровеносных сосудов и костей черепа; конечной целью всех видов разрушения является получение локальной деструкции строго определенной области головного мозга.

Сравнение технической сложности и эффективности указанных методов показало, что в экспериментальной практике наиболее простым, доступным и надежным методом получения локальных повреждений мозга является электролитическое разрушение [11].

Его эффект основан на способности постоянного электрического тока, пропускаемого через имплантированный в головной мозг электрод, вызывать электролиз меж- и внутриклеточной жидкости нервных клеток и нагрев нервной ткани, контактирующей с электродом [18]. Известно, что необратимые морфофункциональные изменения обнаруживаются при повышении температуры выше 45°C [19, 20], что связано с коагуляцией белка [21].

Прохождение тока через определенную область нервной ткани головного мозга вызывает выделение тепла, которое пропорционально электрическому сопротивлению нервной ткани, контактирующей с электродом, квадрату плотности тока, проходящего через область контакта электрод–мозг, а тепловой эффект зависит и от времени действия [11, 18].

Однако в ходе электролиза происходит неконтролируемое изменение электрического сопротивления в области электрод–нервная ткань, обусловленное: физико-химической гетерогенностью нервной ткани [22], которая обуславливает различное сопротивление электрическому току, а значит, неравномерный повреждающий эффект в области электрод–нервная ткань; изменением состава элек-

тролита (тканевая и клеточная жидкости); выделением газа (кислорода в случае анодного электролиза); появлением окислов в активной части макроэлектрода.

Следствием этих причин является неуправляемое изменение силы электрического тока во время разрушающего воздействия, что приводит к образованию области электролитического разрушения нервной ткани непредсказуемой формы и трудно контролируемых размеров. Получаемая в таких условиях область деструкции может затрагивать не только выбранную часть мозга, но и прилегающие образования, что естественно скажется как на результате эксперимента, так и его воспроизводимости.

При электролитическом разрушении структур головного мозга используются промышленные источники постоянного тока со стабилизацией по напряжению, тогда как необходимо стабилизировать электрический ток. Стабилизация электрического тока необходима для того, чтобы заряд, перемещаемый за единицу времени через границу электрод–нервная ткань, вызывал определенную степень повреждения, зависящую от продолжительности действия и силы тока деструкции, заданные исследователем. Таким образом, с учетом явных методических недостатков лабораторных источников постоянного тока, их использование в экспериментальной практике в установках для электрокоагуляции нецелесообразно.

Материалы и методы

В связи с этим был разработан и испытан в экспериментах на белых лабораторных крысах прибор для электрокоагуляции, обладающий следующими техническими характеристиками: стабилизация тока деструкции в нескольких режимах (1, 2 и 3 мА); плавное возрастание (уменьшение) силы тока со скоростью 0,25 мА/с при включении (отключении) рабочего напряжения; возможность установки времени действия тока с помощью таймера, который позволяет выбирать продолжительность коагуляции с точностью до 0,01 с в диапазоне 0,01–999,99 с; индикация силы тока и времени его действия; напряжение питания 220 В (50 Гц); потребляемая мощность 10 В·А; масса 1,5 кг; размеры основного блока 195×105×65 мм и пульта управления 150×90×30 мм.

Блок-схема прибора для нейроэлектрокоагуляции представлена на рис. 1.



Рис. 1. Блок-схема нейроэлектрокоагулятора

При включении аппарата в сеть блок питания обеспечивает электрической энергией все компоненты прибора за исключением стабилизатора постоянного тока. Разрушающий электрод, соединенный с выходом стабилизатора постоянного тока, при помощи стереотаксического аппарата вводят в головной мозг. Переключателем режима стабилизатора постоянного тока устанавливают ток деструкции, зависящий от размеров разрушаемой структуры. На пульте управления выставляется продолжительность действия тока разрушения, отображаемая на цифровом индикаторе. После нажатия кнопки Пуск, расположенной на пульте управления, цифровой индикатор отображает обратный отсчет запрограммированного времени. Одновременно с этим управляющее напряжение поступает на блок коммутации, который осуществляет следующие функции: обеспечивает подведение электрического тока к стабилизатору постоянного тока, плавное изменение тока в начале и после периода разрушающего воздействия, отключение питания от стабилизатора постоянного тока по сигналу с пульта управления. Стабилизация электрического тока, проходящего через вживленный в мозг электрод, выполняется стабилизатором постоянного тока, который способен поддерживать заданный рабочий режим (сила тока 1, 2 и 3 мА) при изменении сопротивления нервной ткани от 0 до 18 кОм.

Эксперименты проведены на 16 крысах – самцах массой 200–250 г разводки питомника Академии медицинских наук России Рапполово. Животных до и после операции содержали в стандартных условиях вивария [23].

Операцию имплантации электродов проводили под нембуталовой анестезией (40 мг/кг, внутривенно) согласно рекомендациям [24, 25] с использованием стереотаксической установки СЭЖ-3 в нашей модификации [26]. Координаты исследуемых структур определяли по стереотаксическому атласу мозга белой крысы [27]. Принимая во внимание форму и размеры дорсальных према-

миллиарных ядер гипоталамуса (*Nucleus praemamillaris dorsalis*), определены следующие координаты, позволяющие расположить активный участок электрода приблизительно в центре структуры: $AP = -1,0$; $L = 0,5$; $H = 9,7$.

Разрушающий электрод изготавливали из платиновой проволоки диаметром 100 мкм, покрытой двойной лаковой изоляцией [18, 24]. Активную часть электрода освобождали от изоляции на расстоянии, соответствующем среднему вертикальному размеру ядра. Индифферентный электрод из нержавеющей стали во время операции фиксировали на левой задней конечности.

Для получения очагов разрушения электрокоагуляцию проводили посредством платинового электрода, соединенного с положительным полюсом аппарата (премамиллярное ядро гипоталамуса правого полушария) или источника постоянного тока (премамиллярное ядро гипоталамуса левого полушария).

Для определения локализации электролитических повреждений и оценки размеров и формы области деструкции осуществляли гистологический контроль. На 10–12-й день после проведения операции крысы декапитировали под глубокой нембуталовой анестезией. После декапитации мозг извлекали из черепа и фиксировали его в 10% формалине с содержанием 3% сахарозы. Через 48–72 часа на микротоме с замораживающим столиком изготавливали серийные фронтальные срезы головного мозга толщиной 100 мкм, которые сравнивали с картами стереотаксического атласа мозга крысы.

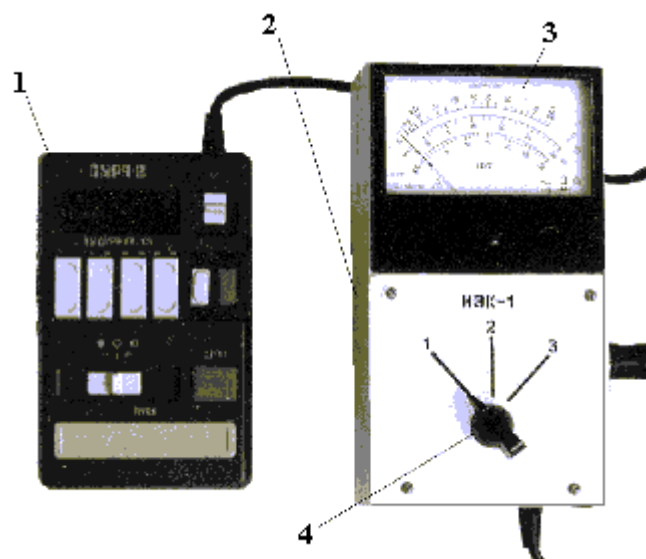


Рис. 2. Внешний вид электрокоагулятора: 1 – пульт управления; 2 – основной блок; 3 – индикатор тока деструкции; 4 – регулятор тока деструкции

Результаты и их обсуждение

Для проверки эффективности действия осуществлена серия операций электролитического разрушения подкорковых структур мозга белых крыс при помощи разработанного аппарата (рис. 2). Для сравнения результатов в этих же целях использовался источник постоянного тока Б5–50А.

Результаты разрушения показаны на рис. 3. Зона разрушения слева, произведенная разработанным аппаратом (сила тока 1 мА, продолжительность действия 20 с), обладала практически правильной формой, охватывающей область премамиллярного дорсального ядра гипоталамуса, тогда как область электрокоагуляции справа (произведена источником постоянного тока Б5–50А с такими же параметрами) представлена областью с неправильным контуром, охватывающей не только дорсальное премамиллярное ядро гипоталамуса левого полушария, но и частично заднее гипоталамическое ядро (*Nucleus posterior hipotalami*), вентральное премамиллярное ядро гипоталамуса (*Nucleus praemamillaris ventralis*), а также белое вещество гипоталамической области. Следовательно, исключение вариабельности суммарного количества электричества, доходящего до разрушаемой структуры за счет стабилизации тока независимого от неизбежного для процесса электролиза изменения сопротивления нервной ткани, позволило осуществить контролируемую деструкцию заранее выбранного образования мозга при минимальном повреждении соседних подкорковых структур.

Разрушение структур головного мозга током различной силы (1, 2 и 3 мА), но одинаковой длительности (20 с) выявило зависимость величины области разрушения нервной ткани от силы тока. Следует отметить, что использование аппарата обеспечивало правильную форму очага разрушения

независимо от силы тока. При осуществлении электрокоагуляции с использованием источника постоянного тока Б5–50А оказалось, что увеличение силы тока способствовало неконтролируемому увеличению области разрушения структур головного мозга.



Рис. 3. Фотография среза головного мозга белой крысы (слева – зона разрушения электрокоагулятором, справа – лабораторным источником питания Б5–50А)

Электрокоагулятор применялся для проведения электролитической деструкции различных гипоталамических структур [28].

Аппарат для проведения электрокоагуляции представлен на выставках, проводимых в рамках Научной студенческой конференции МолдГУ 2001 и 2002 гг., а также на выставке "Infoinvent-2001" MOLDEXPO в Кишиневе и "Infoinventica 2002" в Яссах. Кроме того, аппарат прошел сертификацию в Государственном агентстве по защите авторских прав Республики Молдова AGEPI и признан соответствующим промышленному образцу [29].

Выводы

Стабилизация тока деструкции в нескольких режимах (1, 2 и 3 мА) обуславливает возможность применения прибора в опытах на лабораторных животных не только мелких, но и крупных размеров, а значит, делает его универсальным. Прибор обеспечивает при включении плавное возрастание силы тока от 0 до заданной величины и обратный процесс при выключении со скоростью 0,25 мА/с, что предотвращает тетанические сокращения скелетных мышц животного, вызывающие смещение электрода. Выбор времени с помощью встроенного таймера позволяет устанавливать продолжительность разрушающего воздействия с высокой точностью. Индикация силы тока и времени его воздействия позволяет контролировать ход эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М., 1991.
2. Marshall L.H., Magoun H.W. Discoveries in the Human Brain. Totowa, 1998.
3. Finger S. Minds Behind the Brain: A History of the Pioneers and Their Discoveries. New York, 2000.
4. Меццерский Р.М. Стереотаксический метод. Применение в эксперименте и клинике. М., 1961.
5. Аничков А.Д., Полонский Ю.З., Камбарова Д.К. Стереотаксическое наведение: теория и опыт клинического применения ЭВМ-методики. Л., 1985.
6. Шеперд Г. Нейробиология. Т. 1. М., 1987. С. 21 – 34.
7. Виноградова О.С. Нейронаука конца второго тысячелетия: смена парадигм. Журнал высшей нервной деятельности. 2000 г. Т. 50. № 5. С. 743 – 774.
8. Абраков Л.В. Основы стереотаксической нейрохирургии. Л., 1975.
9. Лихтерман Б.П. Пути развития и центры российской нейрохирургии: от хирургической неврологии к неврологической хирургии // Нейрохирургия. 1999. № 1. С. 68 – 76.
10. Кандель Э.И. Функциональная и стереотаксическая нейрохирургия. М., 1981.
11. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л., Гнетов А.В. Исследование функций головного мозга: Некоторые современные методы. Л., 1987.
12. Muracami M., Tanaka K., Greer M.A., Mori M. Anterior pituitary type II thyroxine 5'deiodinase activity is not affected by lesions of the hypothalamic paraventricular nucleus which profoundly depress pituitary thyrotropin secretion. // Endocrinology. 1988. V. 123. № 3. P. 1676 – 1681.

13. Francis R.L. The Illustrated Almanac of Science Technology and Invention. New York: Plenum Press. P. 123 –145.
14. Беленков Н.Ю. Принцип целостности в деятельности мозга. М., 1980.
15. Линденбраден Л.Д., Лясс Ф.М. Медицинская радиология. М., С. 66 – 93.
16. Yamada M., Mori M. Alteration by thyroid hormone of TSH in the rat median eminence: role of the hypothalamic paraventricular nucleus // Exp. and Clin. Endocrinology. 1989. V. 93. № 1. P. 104 – 110.
17. Taylor T., Weintraub B.D. Altered thyrotropin (TSH) carbohydrate structures in hypothalamic hypothyroidism corrected in vivo TSH releasing hormone administration // Endocrinology. 1989. V. 125. № 4. P. 2198 – 2203.
18. Фролов А.А., Манянин И.И., Фомин Б.А. Оценка теплового действия тока на мозг при его раздражении вживленным электродом // Физиологический журнал СССР. 1976. Т. 62. № 11. С. 1602 – 1607.
19. Плонси Р., Барр Р. Биоэлектричество: Количественный подход. М., 1991.
20. Манянин И.И., Фомин Б.А., Фролов А.А. Параметры электрической стимуляции мозга, приводящие к минимальному тепловому повреждению его ткани // Физиологический журнал СССР. 1980. Т. 66. № 3. С. 430 – 432.
21. Кучеренко Н.Е., Бабенюк Ю.Д., Васильев А.Н. и др. Биохимия. Киев, 1988.
22. Ковбаса С.И. Количественная оценка термокоагуляционного эффекта при электростимуляции. // Физиологический журнал СССР. 1982. Т. 68. № 6. С. 826 – 829.
23. Лоскутова З.Ф. Виварий. М., 1980.
24. Кратин Ю.Г., Гусельников В.И. Техника и методики электроэнцефалографии. Л., 1971.
25. Черкес В.А., Олешко Н.Н., Ваколюк Н.И., Луханина Е.П. Физиология головного мозга. Киев, 1976.
26. Корлэтяну А.Н., Спиваченко Д.Л. Приспособление к головке стереотаксической установки СЭЖ-3 // Журнал высшей нервной деятельности. 1983. Т. 28. № 6. С. 421 – 423.
27. Pellegrino L.J., Pellegrino A.S., Cushman A.J. A Stereotaxic Atlas of The Rat Brain. New York, 1979.
28. Тросиненко А.В., Корлэтяну А.Н., Ткач М.Л. Усовершенствование некоторых методов изучения регуляции функции щитовидной железы // Conferința științifică studentească. Ediția a VI-a, dedicată Zilei USM. Chișinău, 2001.
29. Certificat de înregistrare a modelului de utilitate. CI.⁷: A 61 B 17/32. BOPI № 3/2003 Model de utilitate. № 69. P. 69.

Поступила 10.08.04

Summary

The article contains results of the device usage, which make it possible to destroy brain structures under experimenter's manage. Apparatus produced by us while anodic electrolysis is performed provides further: 1) slow growing of electric current's intensity (0.25 mA/s) until necessary value is reached; 2) electric current stabilization at all regimes (destruction current 1, 2 and 3 mA) independent of changeable resistance of nervous tissue in the range of 0 – 18 kOhm; 3) slow decreasing of electric current (0.25 mA/s) from set up value until zero when destruction is over.
