

Zmiany hipokampalnego rytmu theta po inaktywacji brzusznego pola nakrywkowego (VTA) u szczura w narkozie uretanowej

Jolanta Orzeł-Gryglewska, Edyta Jurkowlaniec, Weronika Trojnar

Katedra Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Gdańskiego

Streszczenie

Wstęp. Brzuszne pole nakrywkowe śródmózgowia (VTA), kluczowa struktura układu mezolimbicznego jest anatomicznie powiązana z formacją hipokampa. Stwierdzono również zaangażowanie tej okolicy w regulację korowej i hipokampalnej aktywności EEG u czuwających szczurów podczas takich zachowań (np. eksploracyjne węszenie), które są z łatwością wywoływane przez stymulację VTA i zwykle towarzyszy im rytm theta. Obecne doświadczenia miały na celu poznanie przypuszczalnej roli VTA w kontroli tego rytmu. **Materiał i metody.** Doświadczenia przeprowadzono na uretanizowanych szczurach, u których rytm theta wywoływano poprzez ucisk nasady ogona. Badano efekty jednostronnej lezji elektrolitycznej (1 mA, 10 s) lub mikroiniekcji prokainy (20% roztwór/0,5 µl) do VTA. Analizowano 60-sekundowe zapisy wykonane przed i podczas stymulowanego sensorycznie rytmu theta. Określano maksimum mocy i odpowiadającą mu częstotliwość osobno dla pasm o częstotliwości theta (3-6, 6-9 i 9-12 Hz) i dla pasma delta (1-3 Hz). **Wyniki.** Jednostronna, czasowa inaktywacja VTA po mikroiniekcji prokainy spowodowała dwustronny zanik hipokampalnego rytmu theta, co przejawiało się osłabieniem synchronicznej czynności hipokampalnego EEG i odpowiednią redukcją mocy w paśmie 3-6 Hz. Trwałe uszkodzenie VTA poprzez jednostronną lezję elektrolityczną wywołało długotrwałe, głównie ipsilateralne zmniejszenie mocy rytmu theta, z pewnymi zmianami jego częstotliwości w paśmie 6-9 Hz. Jednocześnie wystąpił wzrost mocy w wyższych pasmach częstotliwościowych, co wskazuje na zmniejszenie synchroniczności hipokampalnej aktywności EEG. **Wnioski.** VTA należy do systemu struktur pnia mózgu włączonych w synchronizację aktywności polowej hipokampa.

Wstęp

Hipokampalna aktywność polowa (EEG) jest kontrolowana poprzez wielosynaptyczny system obejmujący struktury pnia mózgu, śródmózgowia i międzymózgowia [2, 17]. Rytm theta, który jest wysoce synchroniczną aktywnością elektryczną hipokampa o częstotliwości 3-12 Hz u swobodnie poruszających się gryzoni, zależy od integralności dróg wstępujących, które rozpoczynają się w układzie siatkowatym pnia mózgu (jądro siatkowate przednie mostu, RPO [11, 18] i jądro konarowo-mostowe, PPN [10, 18]), biegną następnie przez tylne podwzgórze, PH [2, 6, 19], przyśrodkowe i boczne ciała suteczkowate [7], jądro nadsuteczkowate, SuM [5, 6, 13], grzbietowoprzyśrodkowe podwzgórze [19], a także przez boczne podwzgórze [4] do przyśrodkowej przegrody i z tej okolicy docierają do formacji hipokampa. Ostatnio stwierdziliśmy [3], że brzuszne pole nakrywkowe śródmózgowia (VTA) jest zaangażowane w regulację korowej i hipokampalnej aktywności EEG u czuwających szczurów podczas takich zachowań (np. eksploracyjne węszenie) które są z łatwością wywoływane przez stymulację VTA i zwykle towarzyszy im rytm theta. Obecne badania miały na celu dokładniejsze określenie przypuszczalnej roli VTA w regulacji elektrycznej aktywności hipokampa, szczególnie w zakresie częstotliwości theta. Do badań użyto standardowego modelu doświadczalnego, w którym rytm theta rejestrowany z grzbietowego hipokampa jest wywoływany sensorycznie u szczura w narkozie uretanowej. W takiej narkozie pozostaje tylko atropinooporny (cholinergiczny) tzw. theta 2, który u szczura występuje podczas snu paradoksalnego [15, 16] oraz w czuwaniu w bezruchu ze wzmożoną uwagą [8, 16]. Ten powszechnie przyjęty model umożliwia analizę zdolności synchronizacyjnych hipokampa w ściśle kontrolowanych warunkach, które są trudne do otrzymania u czuwającego, swobodnie chodzącego zwierzęcia u którego rytm theta jest często przemieszany z innymi typami fal EEG. Wiele doniesień [1, 6, 9, 10, 12] świadczy, że jest to odpowiedni model do demonstrowania wpływu różnych okolic mózgu na regulację theta.

W obecnych badaniach analizowano sensorycznie wywoływany rytm theta pochodzący z hipokampalnego EEG przed i po jednostronnej iniekcji prokainy do VTA lub przed i po uszkodzeniu tkanki VTA poprzez elektrokoagulację.

Material i metody

Doświadczenia przeprowadzono w narkozie uretanowej (1,5 g/kg, i.p.) na 13 szczurach szczepu Wistar o początkowej masie ciała 270-450 g, podzielonych na dwie grupy:

I - grupa PRO, n=5, otrzymała jednostronną mikroiniekcję prokainy (20% roztwór/0,5 μ l) do okolicy VTA, poprzedzoną kontrolną iniekcją rozpuszczalnika (woda destylowana);

II - grupa ELE, n=8, poddana została jednostronnej lezji elektrolitycznej (1 mA, 10 s) VTA, której efekty badano w 1. godzinie po uszkodzeniu oraz na 5. dzień po lezji.

Implantacja elektrod

Po umieszczeniu w aparacie stereotaktycznym, każdemu szczurowi implantowano dwustronnie elektrody rejestrujące EEG z okolicy grzbietowego hipokampa, a także elektrodę uziemiającą i elektrodę odniesienia umieszczone nad opuszką węchową. Jednobiegunowe elektrody hipokampalne wykonane były z drutu stalowego o średnicy 0,2 mm izolowanego na całej długości lakierem epoksydowym za wyjątkiem płasko ściętego końca. Elektrodę uziemiającą i elektrodę odniesienia stanowiły śrubki jubilerskie wkręcone w kości czaszki. Wszystkie elektrody, uprzednio przylutowane do połączonych złączy, mocowano na powierzchni czaszki za pomocą durakrylu. Nad VTA wykonywano otwór w kości dla wprowadzenia kaniuli iniekcyjnej lub elektrody do lezji. Przyjęto następujące koordynaty stereotaktyczne VTA: 4,8-5,1 mm do tyłu od bregmy, 0,9-1,0 mm na boki od linii pośrodkowej i 7,8-8,1 mm poniżej powierzchni czaszki [14]. Do iniekcji użyto igły (o średnicy 0,4 mm i płasko ściętym końcu) strzykawki Hamiltona umieszczonej w manipulatorze stereotaktycznym z pompą infuzyjną. Elektrody lezyjne wykonane były z drutu stalowego o średnicy 0,3 mm izolowanego na całej długości lakierem epoksydowym za wyjątkiem płasko ściętego końca.

Procedura doświadczalna

Rytm theta u szczurów w narkozie uretanowej wywoływano stymulacją sensoryczną przez silny ucisk nasady ogona za pomocą klamerki (1-min. stymulacje oddzielone 10-min. odstępami):

- I. w grupie PRO: kilka razy przed i 6 razy (w ciągu 1. godziny) po iniekcji domózgowej
- II. w grupie ELE: 5-6 razy przed i 6 razy bezpośrednio po lezji VTA oraz 5-7 razy podczas drugiej sesji doświadczalnej na 5. dzień po lezji

Iniekcja prokainy

Po wykonaniu rejestracji kontrolnych do VTA wprowadzano kaniulę iniekcyjną, przez którą podawano wodę destylowaną, a po 10 min. odstępnie i kontrolnej stymulacji sensorycznej (w celu oceny wpływu iniekcji i rozpuszczalnika na rytm theta) dokonywano iniekcji roztworu prokainy. Objętość każdej iniekcji wynosiła 0,5 μ l, a czas jej trwania około 3 minut.

Lezja elektrolityczna

Po jednogodzinnej kontrolnej rejestracji EEG (zawierającej 6-7 epizodów sensorycznie stymulowanego rytmu theta) wykonywano elektrokoagulację okolicy VTA (1 mA, 10 s) przez uprzednio implantowane elektrody. Bezpośrednio po lezji następowała druga sesja rejestracyjna, przeprowadzona analogicznie do sesji kontrolnej. Po zakończeniu rejestracji każde zwierzę umieszczano osobno w klatce z dostępem do pokarmu (peletki) i wody. Trzecia sesja rejestracyjna przeprowadzona była 5. dnia po lezji w warunkach narkozy uretanowej, według uprzednio stosowanej procedury.

Analiza danych

EEG rejestrowano na dysku komputerowym, przy użyciu programu EEG Digi Track (ELMIKO). Spektralną analizę hipokampalnego EEG przeprowadzono obliczając za pomocą algorytmu Chirp-Z (przedział częstotliwości 1 - 30 Hz, próbkowany co 0,01 Hz) dyskretną transformatę Fouriera (DFT) z 5-sekundowych odcinków, na które został podzielony 60-sekundowy zapis rytmu theta (typ II, IRSA) wywoływany stymulacją sensoryczną jak również 60-s zapis EEG z okresu tuż przed rozpoczęciem stymulacji. Określono maksimum mocy P_{max} (w μV^2) i odpowiadającą mu częstotliwość F_{max} osobno dla pasm o częstotliwości theta (3.00 - 5.99 Hz, 6.00 - 8.99 Hz i 9.00 - 11.99 Hz) oraz dodatkowo dla pasma delta (1.00 - 2.99 Hz). Aby wyeliminować zmienność międzysobniczą P_{max} normalizowano w obrębie każdego pasma częstotliwościowego w stosunku do zapisu po kontrolnej iniekcji wody (grupa PRO) lub do uśrednionych wartości P_{max} z okresu zapisu kontrolnego przed lezją VTA (grupa ELE). Częstotliwość była normalizowana do 4,0 Hz, ponieważ wstępne analizy maksimum amplitudy w zakresie pasma theta u wszystkich szczurów wykazały, że w warunkach kontrolnych średnia częstotliwość odpowiadająca P_{max} wynosiła $4,0 \pm 0,07$ Hz i miała rozkład normalny. Miary te poddano analizie statystycznej (testy: One Way Anowa i Scheffe'a). Po zakończeniu doświadczeń przeprowadzono weryfikację miejsc iniekcji i lezji za pomocą standardowych metod histologicznych.

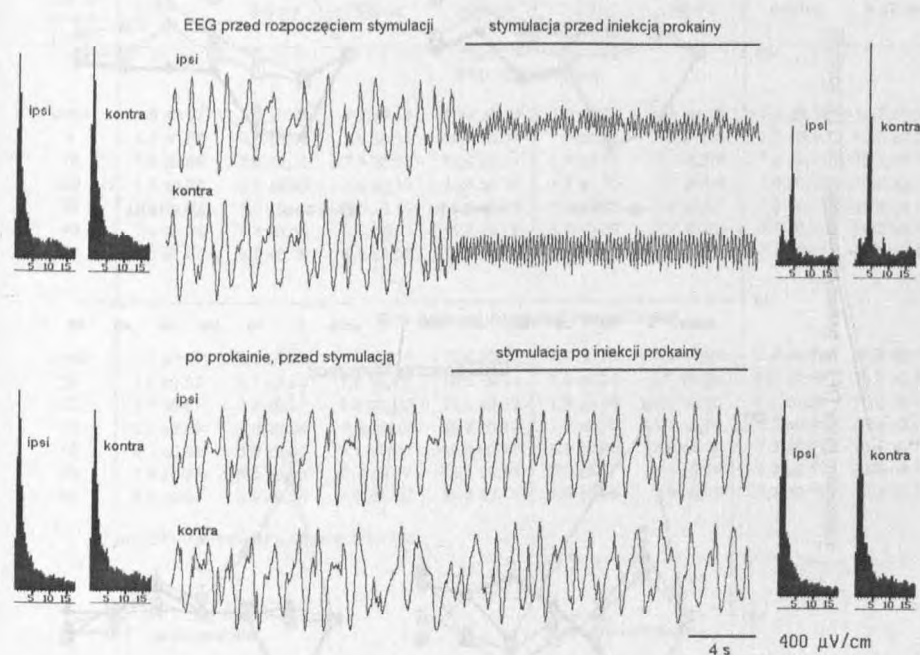
Wyniki

W warunkach kontrolnych spoczynkowe hipokampalne EEG charakteryzowało się wysokoamplitudową, nieregularną aktywnością (LIA) o dominującej częstotliwości w zakresie pasma delta. Sensoryczna stymulacja (ucisk ogona) zmieniała ten wzorzec aktywności na regularne wysokoamplitudowe wyładowania o częstotliwości pasma theta.

Prokaina

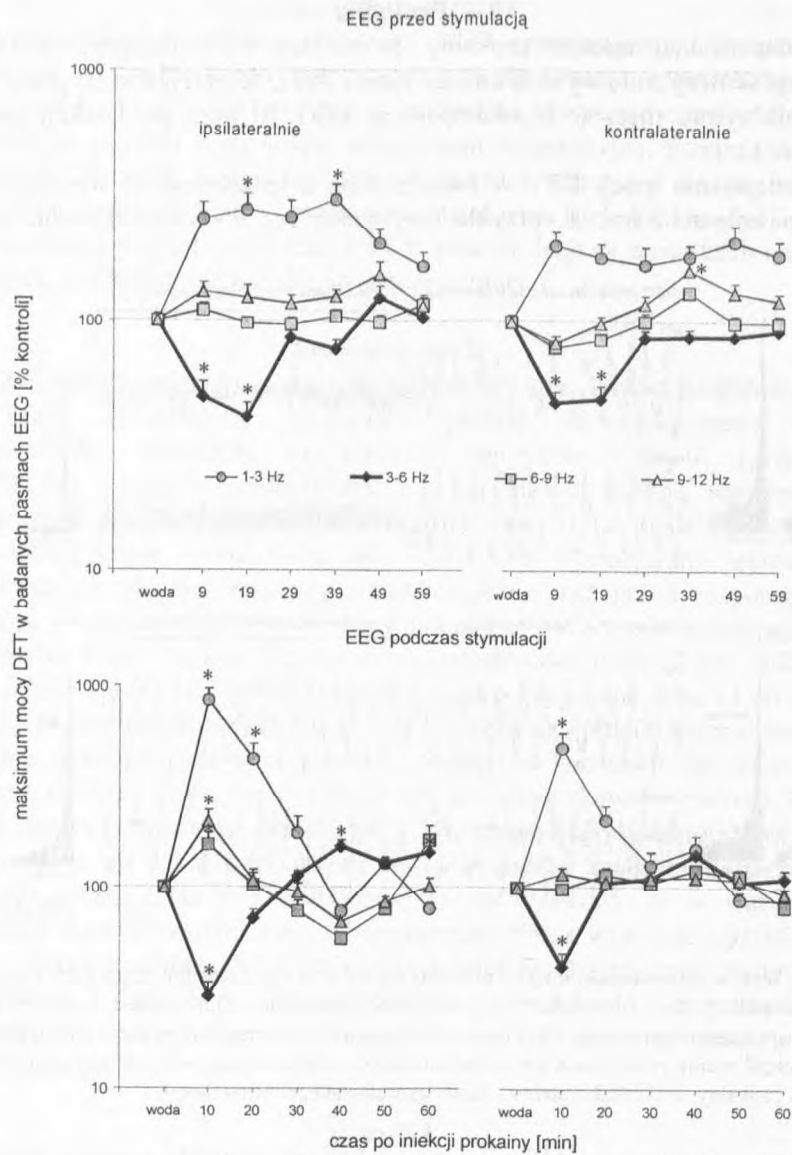
Po jednostronnej iniekcji prokainy do okolicy VTA następuje obustronna supresja sensorycznie wywołanego rytmu theta, co przejawia się jako:

- zanik rytmu theta w hipokampalnym EEG 10 min. po iniekcji prokainy (ryc. 1)
- zmniejszenie mocy DFT w paśmie theta z jednoczesnym wzrostem mocy w paśmie delta (ryc. 1 - przykładowy szczyr, ryc. 2 - wartości średnie, n=5)



Ryc. 1. Wpływ jednostronnej iniekcji prokainy do VTA na hipokampalny zapis EEG i jego widmo mocy w półkuli ipsi- i kontralateralnej do iniekcji (przykład). Górna część ryciny przedstawia próbkę spontanicznego zapisu EEG oraz wywołanego sensorycznie rytmu theta i ich widma mocy. Dolna część ryciny przedstawia zapis hipokampalny i odpowiadające mu widma mocy 10 min. po iniekcji prokainy (efekt maksymalny - zanik stymulowanego rytmu theta).

- istotne zmniejszenie (10 min. po prokainie) średnich wartości maksimum mocy (P_{max}) w paśmie 3-6 Hz podczas stymulacji do $29 \pm 5\%$ ($p < 0,001$) ipsilateralnie i do $41 \pm 7\%$ ($p < 0,05$) kontralateralnie do strony iniekcji oraz istotne zmniejszenie (9 min. po iniekcji) P_{max} w paśmie 3-6 Hz w warunkach spoczynkowych przed stymulacją do $50 \pm 7\%$ ($p < 0,001$) ipsilateralnie i do $47 \pm 5\%$ ($p < 0,05$) kontralateralnie do strony iniekcji (ryc. 2)



Ryc. 2. Wpływ jednostronnej iniekcji prokainy do VTA na maksimum mocy DFT hipokampalnego sygnału EEG przed i podczas sensorycznej stymulacji. Zmiany mocy przedstawiono w odniesieniu do kontrolnej iniekcji wody. Sygnał EEG analizowano osobno w paśmie 1-3 Hz, oraz w 3 pasmach składających się na zakres rytmu theta (RSA): 3-6 Hz, 6-9 Hz i 9-12 Hz. Przedstawiono wartości średnie \pm S.E.; * - $p < 0.05$ (test Scheffe'a).

- jednoczesny wzrost Pmax w paśmie delta zarówno podczas stymulacji (do $853 \pm 124\%$, ($p < 0,001$) ipsi- i do $499 \pm 90\%$, ($p < 0,05$) kontralateralnie) jak i przed stymulacją (do $257 \pm 40\%$, ($p < 0,001$) ipsi- i do $200 \pm 27\%$, (NS) kontralateralnie) (ryc. 2)

A. PROKAINA

czas po iniekcji [min]	ipsilateralnie				kontralateralnie			
	pasmo				pasmo			
	1-3 Hz	3-6 Hz	6-9 Hz	9-12 Hz	1-3 Hz	3-6 Hz	6-9 Hz	9-12 Hz
EEG spontaniczny								
woda	1,8 ± 0,07	3,9 ± 0,08	7,2 ± 0,11	10,2 ± 0,10	1,6 ± 0,06	3,8 ± 0,06	7,2 ± 0,12	10,2 ± 0,11
9	1,6 ± 0,07	3,8 ± 0,09	7,0 ± 0,11	10,2 ± 0,11	1,6 ± 0,06	3,6 ± 0,08	7,2 ± 0,10	10,3 ± 0,10
19	1,5 ± 0,06	3,8 ± 0,10	7,1 ± 0,10	10,4 ± 0,11	1,5 ± 0,06	3,8 ± 0,09	7,2 ± 0,11	10,2 ± 0,10
29	1,7 ± 0,06	3,7 ± 0,05	7,3 ± 0,12	10,4 ± 0,12	1,5 ± 0,05	3,7 ± 0,06	7,4 ± 0,10	10,2 ± 0,12
39	1,6 ± 0,07	3,7 ± 0,06	7,0 ± 0,10	10,2 ± 0,12	1,5 ± 0,05	3,8 ± 0,07	7,2 ± 0,11	10,4 ± 0,11
49	1,8 ± 0,08	3,7 ± 0,06	6,8 ± 0,11	10,5 ± 0,15	1,5 ± 0,06	3,7 ± 0,05	7,1 ± 0,12	10,3 ± 0,12
59	1,8 ± 0,07	3,7 ± 0,06	6,9 ± 0,08	10,3 ± 0,12	1,7 ± 0,07	3,7 ± 0,06	7,2 ± 0,11	10,3 ± 0,12
EEG podczas stymulacji sensorycznej								
woda	1,9 ± 0,07	4,0 ± 0,03	7,6 ± 0,12	10,4 ± 0,13	1,7 ± 0,06	4,0 ± 0,03	7,6 ± 0,12	10,3 ± 0,11
10	1,6 ± 0,07	3,7 ± 0,09	7,0 ± 0,12*	10,3 ± 0,14	1,6 ± 0,06	3,6 ± 0,06*	7,0 ± 0,10*	10,1 ± 0,10
20	1,7 ± 0,07	3,7 ± 0,07	7,0 ± 0,10*	10,5 ± 0,13	1,9 ± 0,08	3,7 ± 0,05	7,1 ± 0,09*	10,2 ± 0,12
30	2,1 ± 0,09	3,8 ± 0,04	7,3 ± 0,12	10,3 ± 0,12	1,9 ± 0,08	3,7 ± 0,04	7,2 ± 0,11	10,3 ± 0,12
40	2,1 ± 0,09	3,9 ± 0,03	7,1 ± 0,11*	10,5 ± 0,12	1,9 ± 0,08	3,8 ± 0,05	7,2 ± 0,11	10,4 ± 0,11
50	1,9 ± 0,07	3,9 ± 0,03	7,4 ± 0,12	10,2 ± 0,13	2,0 ± 0,07	3,8 ± 0,04	7,2 ± 0,11	10,5 ± 0,13
60	2,0 ± 0,07	3,9 ± 0,04	7,0 ± 0,12*	10,3 ± 0,11	1,8 ± 0,06	3,9 ± 0,05	7,3 ± 0,11	10,2 ± 0,11

* $p < 0,05$ - test Scheffe'a, zmiany $\geq 0,4$ Hz

B. LEZJA

czas po lezji	ipsilateralnie				kontralateralnie			
	pasmo				pasmo			
	1-3 Hz	3-6 Hz	6-9 Hz	9-12 Hz	1-3 Hz	3-6 Hz	6-9 Hz	9-12 Hz
EEG spontaniczny								
kontrola	1,48 ± 0,02	3,68 ± 0,03	7,10 ± 0,04	10,22 ± 0,04	1,49 ± 0,02	3,72 ± 0,03	7,10 ± 0,04	10,27 ± 0,04
lezja	1,65 ± 0,02	3,88 ± 0,03	7,01 ± 0,04	10,11 ± 0,04	1,69 ± 0,02	4,01 ± 0,02	7,35 ± 0,05	9,97 ± 0,04
5. dnia	1,45 ± 0,02	3,77 ± 0,03	7,02 ± 0,04	10,30 ± 0,04	1,48 ± 0,02	3,80 ± 0,03	7,12 ± 0,04	10,14 ± 0,04
EEG podczas stymulacji sensorycznej								
kontrola	1,73 ± 0,02	4,09 ± 0,01	7,58 ± 0,04	10,32 ± 0,04	1,81 ± 0,02	4,08 ± 0,01	7,50 ± 0,04	10,25 ± 0,04
lezja	1,77 ± 0,02	4,20 ± 0,02	7,11 ± 0,04*	9,97 ± 0,04	1,84 ± 0,02	4,22 ± 0,01	7,45 ± 0,05	9,98 ± 0,04
5. dnia	1,70 ± 0,02	3,99 ± 0,02	7,26 ± 0,05	10,23 ± 0,05	1,75 ± 0,02	4,00 ± 0,02	7,29 ± 0,05	10,15 ± 0,04

* $p < 0,05$ - test Scheffe'a, zmiany $\geq 0,4$ Hz

Tab. 1. Częstotliwość odpowiadająca maksimum mocy hipokampalnego EEG przed i podczas stymulacji sensorycznej po iniekcji prokainy (A) i lezji elektrolitycznej (B) VTA.

- istotne zmniejszenie, jedynie podczas stymulacji, średnich wartości częstotliwości odpowiadających maksimum mocy (F_{max}) w paśmie 3-6 Hz z $4,00 \pm 0,03$ do $3,6 \pm 0,06$ Hz ($p < 0,05$, 10 min. po prokainie) kontralateralnie do strony iniekcji oraz w paśmie 6-9 Hz ipsilateralnie z $7,6 \pm 0,12$ do $7,0 \pm 0,12$ Hz ($p < 0,05$, 10 min. po prokainie) i kontralateralnie z $7,6 \pm 0,12$ do $7,0 \pm 0,10$ Hz ($p < 0,05$, 10 min. po iniekcji) (tab. 1A).

Lezja elektrolityczna

Po jednostronnej elektrolizie VTA następuje supresja sensorycznie wywołwanego rytmu theta, co przejawia się podczas sensorycznej stymulacji:

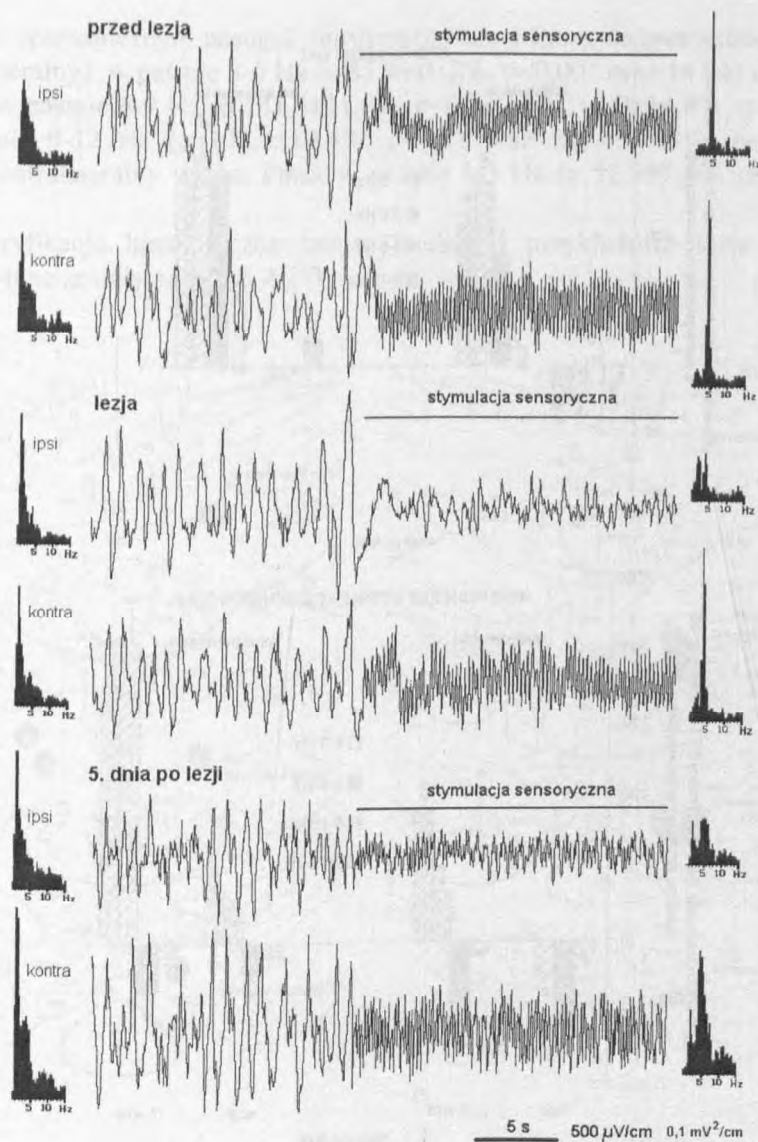
A/ bezpośrednio (10-60 min.) po lezji:

- ipsilateralną desynchronizacją hipokampalnego EEG i zmniejszeniem mocy DFT w paśmie theta (ryc. 3 - przykładowy szczur i ryc. 4 - wartości średnie, $n=6$)
- istotnym zmniejszeniem średnich wartości P_{max} w paśmie theta 3-6 Hz: ipsilateralnie o $59 \pm 2\%$ ($p < 0,001$) i kontralateralnie o $21 \pm 4\%$ ($p < 0,001$) (ryc. 4)
- istotnym ipsilateralnym zmniejszeniem średnich wartości P_{max} w paśmie 6-9 Hz o $24 \pm 4\%$ ($p < 0,001$) i kontralateralnym ich zwiększeniem o $24 \pm 6\%$ (NS) (ryc. 4)
- istotnym zwiększeniem średnich wartości P_{max} w paśmie theta 9-12 Hz: kontralateralnie o $38 \pm 5\%$ ($p < 0,001$) (ryc. 4)
- istotnym ipsilateralnym zmniejszeniem F_{max} w paśmie 6-9 Hz z $7,58 \pm 0,04$ Hz do $7,11 \pm 0,04$ Hz ($p < 0,01$) (tab. 1B)

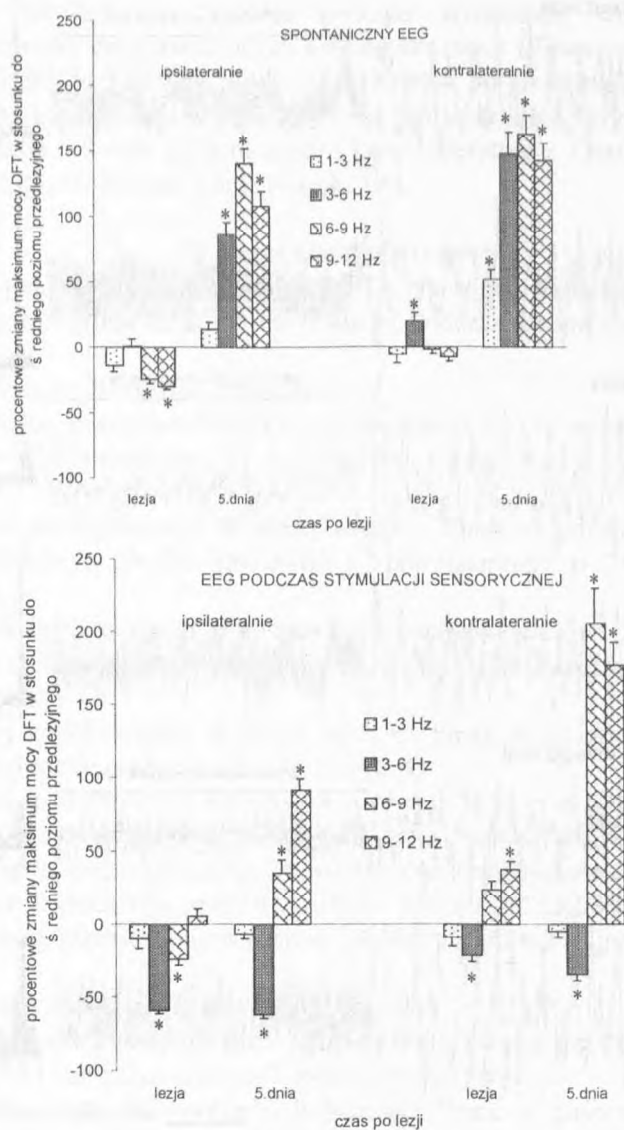
W zapisie spontanicznym nastąpiło ipsilateralne zmniejszenie P_{max} w pasmach 6-9 Hz (o $23,9 \pm 3,4\%$, $p < 0,01$) i 9-12 Hz (o $29,8 \pm 2,8\%$, $p < 0,01$) oraz kontralateralny wzrost P_{max} w paśmie 3-6 Hz (o $20,4 \pm 6,3\%$, $p < 0,01$) (ryc. 4).

B/ na 5. dzień po lezji:

- istotnym zmniejszeniem P_{max} w paśmie theta 3-6 Hz: ipsilateralnie o $62 \pm 2\%$ ($p < 0,001$) i kontralateralnie o $34 \pm 4\%$ ($p < 0,001$) (ryc. 4)
- istotnym zwiększeniem średnich wartości P_{max} w paśmie theta 6-9 Hz: ipsilateralnie o $35 \pm 9\%$ ($p < 0,001$) i kontralateralnie o $205 \pm 25\%$ ($p < 0,001$) (ryc. 4)
- istotnym zwiększeniem średnich wartości P_{max} w paśmie theta 9-12 Hz: ipsilateralnie o $92 \pm 8\%$ ($p < 0,001$) i kontralateralnie o $178 \pm 15\%$ ($p < 0,001$) (ryc. 4)



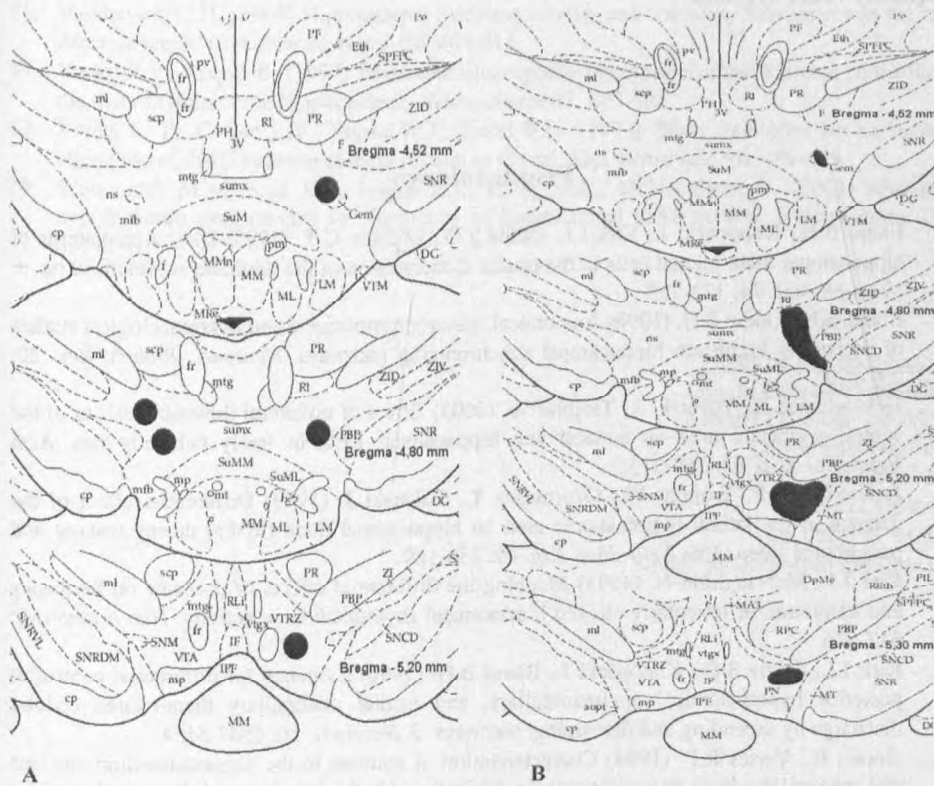
Ryc. 3. Wpływ jednostronnej lezji VTA na hipokampalny zapis EEG i jego widmo mocy w półkuli ipsi- i kontralateralnej do lezji (przykład). Górna część ryciny przedstawia próbkę spontanicznego sygnału EEG i wywołanego sensorycznie rytmu theta oraz ich widma mocy w warunkach kontrolnych. Środkowa część ryciny przedstawia EEG i jego widmo mocy przed i podczas stymulacji sensorycznej po lezji VTA. Dolna część ryciny przedstawia analogiczne fragmenty zapisu i ich widma mocy otrzymane 5. dnia po lezji.



Ryc. 4. Wpływ jednostronnej lezji VTA na maksimum mocy DFT hipokampalnego sygnału EEG w półkuli ipsi- i kontralateralnej do lezji przed i podczas sensorycznej stymulacji. Wartości Pmax otrzymane podczas 1-godzinnych rejestracji: przed leżją, bezpośrednio po leżji i 5. dnia po leżji uśredniono w 3 grupach danych. Zmiany mocy przedstawiono w odniesieniu do średniego poziomu przedleżyjnego. Sygnał EEG analizowano osobno w paśmie 1-3 Hz, oraz w 3 pasmach składających się na zakres rytmu theta (RSA): 3-6 Hz, 6-9 Hz i 9-12 Hz. Przedstawiono wartości średnie \pm S.E.; * - $p < 0.05$ (test Scheffe'a).

W zapisie spontanicznym nastąpił obustronny wzrost Pmax (odpowiednio ipsi- i kontralateralny): w paśmie 3-6 Hz ($o 85,9 \pm 10,2\%$, $p < 0,001$ oraz $147,4 \pm 17,1\%$, $p < 0,01$), w paśmie 6-9 Hz ($o 141,0 \pm 11,6\%$, $p < 0,01$ oraz $162,9 \pm 14,8\%$, $p < 0,05$) i w paśmie 9-12 Hz ($o 108,4 \pm 10,6\%$, $p < 0,01$ oraz $142,6 \pm 13,4\%$, $p < 0,01$), a także kontralateralny wzrost Pmax w paśmie 1-3 Hz ($o 51,5 \pm 7,4\%$, $p < 0,05$) (ryc. 4).

Weryfikacja histologiczna miejsc iniekcji i przykładowa lezja VTA przedstawione zostały na ryc. 5 A i B.



Ryc. 5. Lokalizacja zakończeń kaniul iniekcyjnych (A) i przykładowa lezja elektrolityczna VTA (B).

Podsumowanie i wnioski

Wyniki otrzymane w niniejszej pracy można podsumować następująco:
1/ zarówno po przejściowej inaktywacji jak i po definitywnym uszkodzeniu okolicy VTA obserwowane są zaburzenia w generacji hipokampalnego rytmu

theta, 2/ zaburzenia te polegają na zmniejszeniu maksimum mocy w zakresie pasma theta i zmianie częstotliwości, przy której występuje to maksimum mocy, 3/ pomimo jednostronnej ingerencji zmiany mają charakter dwustronny, choć po uszkodzeniu (szczególnie we wczesnym okresie po lezji) wyrażone są silniej po stronie ipsilateralnej.

Otrzymane wyniki sugerują, że VTA: 1/ należy do systemu ośrodków pnia mózgu włączonych w synchronizację rytmu theta, 2/ wywiera wpływ na aktywność hipokampa poprzez modulację amplitudy i synchronizację częstotliwości sygnału.

Piśmiennictwo

1. Bland B.H., Konopacki J., Kirk I.J., Oddie S.D., Dickson C.T. (1995) Discharge patterns of hippocampal theta-related cells in the caudal diencephalon of the urethane anesthetized rat. *J. Neurophysiol.* 74: 322-333.
2. Bland B.H., Oddie S.D. (1998) Anatomical, electrophysiological and pharmacological studies of ascending brainstem hippocampal synchronizing pathways. *Neurosci. Biobeh. Rev.* 22: 259-273.
3. Jurkowlaniec E., Tokarski J., Trojnar W. (2003) Effect of unilateral ibotenate lesions of the ventral tegmental area on cortical and hippocampal EEG in freely behaving rats. *Acta Neurobiol. Exp.* 63: 369-375.
4. Jurkowlaniec E., Trojnar W., Ozorowska T., Tokarski J. (1989) Differential effect of the damage to the lateral hypothalamic area on hippocampal theta rhythm during waking and paradoxical sleep. *Acta Neurobiol. Exp.* 49: 153-169.
5. Kirk I.J., McNaughton N. (1993) Mapping the differential effects of procaine on frequency and amplitude of reticularly elicited hippocampal rhythmical slow activity. *Hippocampus* 3: 517-526.
6. Kirk I.J., Oddie S.D., Konopacki J., Bland B.H. (1996) Evidence for differential control of posterior hypothalamic, supramammillary, and medial mammillary theta-related cellular discharge by ascending and descending pathways. *J. Neurosci.* 16: 5547-5554.
7. Kocsis B., Vertes R.P. (1994) Characterization of neurons in the supramammillary nucleus and mammillary body that discharge rhythmically with the hippocampal theta rhythm in the rat. *J. Neurosci.* 14: 7040-7052.
8. Kramis R., Vanderwolf C.H., Bland B.H. (1975) Two types of hippocampal rhythmical slow activity in both the rabbit and the rat: relations to behavior and effects of atropine, diethyl ether, urethane and pentobarbital. *Exp. Neurol.* 49: 58-85.
9. McNaughton N., Logan B., Panickar K.S., Kirk I.J., Pan W.X., Brown N.T., Heenan A. (1995) Contribution of synapses in the medial supramammillary nucleus to the frequency of hippocampal theta rhythm in freely moving rats. *Hippocampus* 5: 534-545.
10. Nowacka A., Jurkowlaniec E., Trojnar W. Microinjection of procaine into the pedunculopontine tegmental nucleus suppresses hippocampal theta rhythm in urethane-anesthetized rats. *Brain Res. Bull.* 58: 377-384.

11. Nunez A., de Andreas I., Garcia-Austt E. (1991) Relationship of nucleus reticularis pontis oralis neuronal discharge with sensory and carbachol evoked hippocampal theta rhythm. *Exp. Brain Res.* 87: 303-308.
12. Oades R.D., Halliday G.M. (1987) Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Res.* 434: 117-65.
13. Pan W.X., McNaughton N. (2002) The role of the medial supramammillary nucleus in the control of hippocampal theta activity and behaviour in rats. *Eur. J. Neurosci.* 16: 1797-1809.
14. Paxinos G., Watson C. (wyd.) (1986) *The rat brain in stereotaxic coordinates, 2nd edition.* Academic Press, San Diego.
15. Sano K., Iwahara S., Semba S., Sano A., Yamazaki S. (1973) Eye movements and hippocampal theta activity in rats. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 35: 621-625.
16. Vanderwolf C.H. (1969) Hippocampal electrical activity and voluntary movements in the rat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 26: 407-415.
17. Vertes R.P., Kocsis B. (1997) Brainstem-diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. *Neuroscience* 81: 893-926.
18. Vertes R. P., Colom L.V., Fortin W.J., Bland B.H. (1993) Brain stem sites for carbachol elicitation of the hippocampal theta rhythm in the rat, *Exp. Brain Res.* 96: 419-429.
19. Woodnorth M.A., Kyd R.J., Logan B.J., Long M.A., McNaughton N. (2003) Multiple hypothalamic sites control the frequency of hippocampal theta rhythm. *Hippocampus* 13: 361-374.

Adres do korespondencji:
Jolanta Orzel-Gryglewska
Katedra Fizjologii Zwierząt
Uniwersytet Gdański
ul. Kładki 24
80-822 Gdańsk
tel. 058-301-94-34
e-mail: jola@biotech.univ.gda.pl