

**Аппаратно-программный комплекс для регистрации
мультинейронной активности и изучения ее временных
взаимосвязей с деятельностью сердца и внешним дыханием**

Белорусский Государственный медицинский университет

Описан электрофизиологический экспериментальный аппаратно-программный комплекс, позволяющий проводить синхронную регистрацию мультинейронной активности, электрокардиограммы и внешнего дыхания, а также изучать состояние нейронной активности и ее временные взаимосвязи с деятельностью сердца и внешним дыханием с помощью кардио-нейрональных и нейро-респираторных кросскоррелограмм.

Ключевые слова: популяции нейронов, сердце, дыхание, взаимосвязи.

Известно, что многие ядра продолговатого мозга играют важную роль в регуляции деятельности сердца. При этом нейроны некоторых из этих ядер, например, нейроны рострального вентролатерального ядра ретикулярной формации, латерального парагигантоклеточного ядра и др., сопрягают сердечно-сосудистую регуляцию с регуляцией дыхания и участием в ноци-антиноцицептивных системах [1].

Целью настоящей работы явилась разработка аппаратно-программного комплекса, позволяющего проводить синхронную регистрацию мультинейронной активности и изучать ее временные взаимосвязи с деятельностью сердца и внешним дыханием.

Материалы и методы

Опыты проводились на 4 беспородных крысах (самцы, масса 290-330 г, возраст 6-7 месяцев), анестезированных внутрибрюшинным введением уретана (1.0 С с помощью 0.5 ± 0.1 г/кг). Температура тела поддерживалась в пределах 37 портативного электрообогревателя и теплоизоляции животного. Эвтаназия

животных после опыта осуществлялась декапитацией под наркозом. Все хирургические и экспериментальные процедуры над животными проводились в соответствии с положением о защите экспериментальных животных принятым Всемирным обществом защиты животных и Европейской конвенцией по защите экспериментальных животных.

Координаты регистрируемых областей продолговатого мозга определялись по стереотаксическому атласу - 12.0 мм каудальнее от Брегма, 2.2 мм латеральнее сагитального шва и 7.7-8.2 мм от поверхности мозга, что соответствует расположению роstralной вентролатеральной ретикулярной формации продолговатого мозга [5]. Также регистрировалась нейронная активность в следующей области - 12.0 мм каудальнее от Брегма, 1.5 мм латеральнее сагитального шва и 5.7-6.1 мм от поверхности мозга, что соответствует расположению ядер солитарного тракта.

Схема установки, используемой для регистрации нейронной активности, электрокардиограммы и ритма дыхания, приведена на рисунке №1.

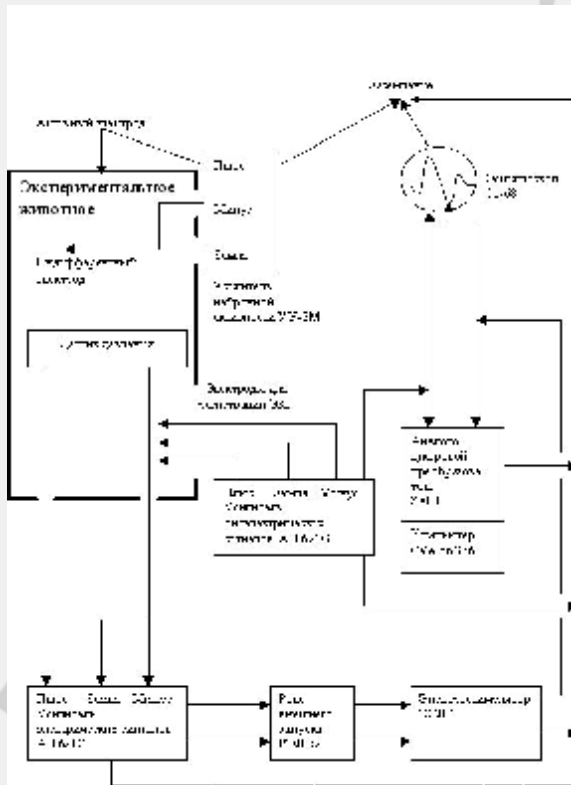


Рис. 1. Схема экспериментальной установки для синхронной регистрации нейронной активности, электрокардиограммы и внешнего дыхания

Мультинейронная активность записывалась с помощью остеклованных вольфрамовых микроэлектродов с сопротивлением 8-9 МОм. Активный электрод подводился к месту регистрации стереотаксическим аппаратом. Индифферентный электрод в виде стальной пункционной иглы вводился в мышцы головы животного.

Далее сигнал от микроэлектродов фильтровался (диапазон 200 - 10000 Гц), усиливался в 1000 раз усилителем нейронной активности (УУ-2М ЭПМ НИИЭМ, Ст. Петербург), контролировался на осциллооскопе (С 1-68), оцифровывался с частотой дискретизации 22050 Гц с помощью стандартной стерео-звуковой карты (S 801) и хранился на винчестере персонального компьютера (Celeron 366).

Автоматическая детекция и сортировка спайков осуществлялась авторской программой [2]. За спайк принималась его высокочастотная часть, как наименее подверженная искажениям. Далее находились следующие показатели каждого спайка: амплитуда восходящей и нисходящей части, длительность и время его появления.

Сортировка потенциалов проводилась по трем параметрам (амплитуда восходящей и нисходящей части, длительность), применяя алгоритмы кластеризации MATLAB 6.0 или вручную указывая центры группирования параметров и диапазоны их вариации (учитывая, что амплитуды потенциалов одного нейрона могут варьировать на 20-30%). Также задавались верхний и нижний пороги дискриминации параметров.

Параллельная запись электрокардиограммы осуществлялась во втором стандартном отведении с помощью игольчатых микроэлектродов, вводимых в мышцы конечностей животного. Сигнал от электродов фильтровался (диапазон 5-100 Гц), усиливался на усилителе биоэлектрических сигналов (AB 621G, Nihon Kohden), оцифровывался с частотой дискретизации 22050 Гц с помощью стандартной стерео-звуковой карты (S 801) и хранился на винчестере

персонального компьютера (Celeron 366). Последующая обработка сигнала включала его децимацию в 50 раз и определение времени появления зубцов R на электрокардиограмме.

Синхронная регистрация ритмов дыхания проводилась следующим образом: на грудную клетку животного крепился высокочувствительный датчик давления, сигнал от которого после усиления в 1000 раз (усилитель АВ 621G) подавался на вход реле (РЭЛ-52) и замыкал ключ внешнего запуска электростимулятора ЭСЛ-1. Полученный электрический импульс длительностью 0.16 мс и амплитудой 1 В подавался на тот же вход звуковой карты, через который производилась оцифровка сигнала от микроэлектрода. Это позволяло регистрировать по одному и тому же каналу звуковой карты как нейронную активность, так и моменты начала вдохов. На получаемых записях данные моменты отмечались отрицательно направленными высокоамплитудными и короткими импульсами. При цифровой обработке записей находилось время появления пика данных импульсов, которое принималось за момент начала вдоха.

Последующий анализ полученных данных включал:

- определение средних значений частоты нейронных разрядов и показателя variability длительности межспайковых интервалов, который рассчитывался как разница между двумя смежными межспайковыми интервалами;
- определение средних значений частоты сокращений и показателя variability кардиоинтервалов, который рассчитывался как разница между двумя смежными кардиоинтервалами [3];
- определение средних значений частоты дыхания и показателя variability респираторных интервалов, который рассчитывался как разница между двумя смежными респираторными интервалами;
- выявление кардио-нейрональных временных взаимосвязей с помощью кардио-нейрональных кросскоррелограмм (cardiac-cycle triggered correlograms, cardio-neuronal crosscorrelograms), данные кросскоррелограммы строились с временным интервалом 0.5с и шириной бина 0.01 с.
- выявление нейро-респираторных временных взаимосвязей с помощью нейро-

респираторных кросскоррелограмм (respiratory-cycle triggered histograms, neuro-respiratory crosscorrelograms), данные кросскоррелограммы строились с временным интервалом 2 с и шириной бина 0.05 с [4].

Результаты и обсуждение

В ходе опытов зарегистрирована активность 2 нейронных групп в роstralных вентро-латеральных отделах продолговатого мозга (2 и 3 нейрона в каждой группе, записи опытов o85p1n и o88p1n) и 2 нейронных групп в дорсальных отделах продолговатого мозга (2 и 3 нейрона в каждой группе, записи опытов o90p1n и o91p1n).

Образец мультинейронной записи с параллельной регистрацией ЭКГ и внешнего дыхания показан на рисунке № 2 А и 2 В.

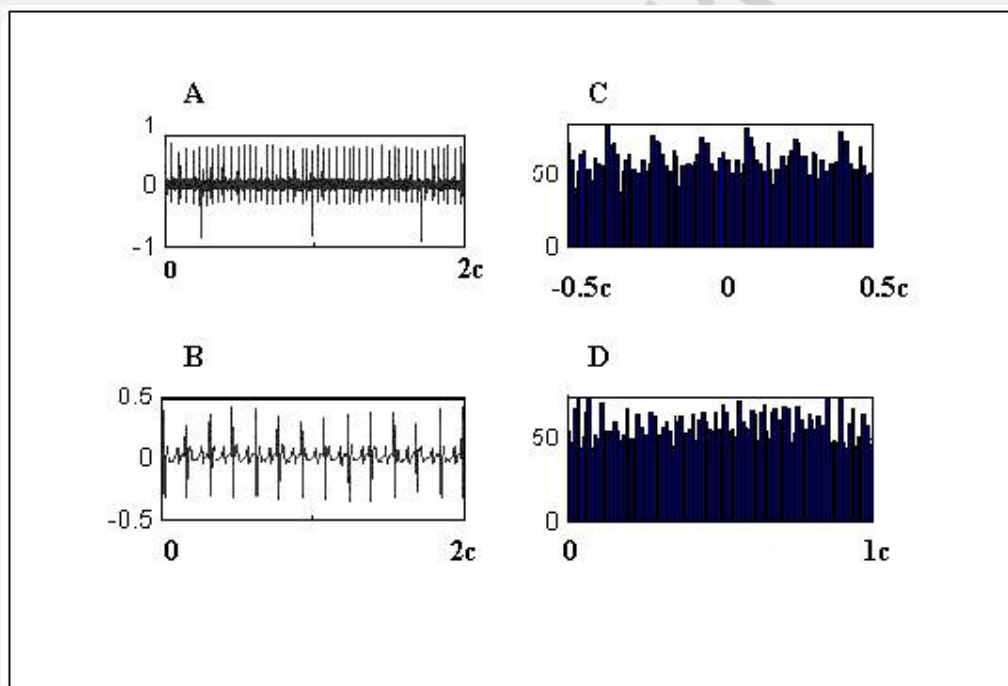


Рис. 2. Образец синхронной записи мультинейронной активности, электрокардиограммы и внешнего дыхания. Гистограммы для изучения временных взаимосвязей активности нейронов с деятельностью сердца и внешним дыханием 2А – мультинейронная активность с регистрацией моментов начала дыхательных циклов. Последние представлены отрицательно направленными штрихами. По оси абсцисс – время записи, 2 с.

2В – синхронная запись ЭКГ. По оси абсцисс – время записи, 2 с.

2С – образец кардио-нейрональной гистограммы. По оси абсцисс время, по оси ординат – число нейронных разрядов.

2D – образец нейро-респираторной гистограммы. По оси абсцисс время, по оси ординат – число нейронных разрядов.

0.48,± Средние частоты разрядов каждого нейрона составили 7.13 0.20,±0.36, 5.18±0.50, 3.0±0.66 и 19.0±1.83, 20.66±0.36, 17.17±0.39, 16.50±25.50 0.21 Гц.

Средние показатели вариабельности длительности±0.30, 6.84±3.95 0.01,±0.0002, 0.26±0.005, 0.008±межспайковых интервалов составили 0.1 0.46,±0.01 , 0.27±0.064, 0.16±0.0005, 0.6±0.003 и 0.016±0.001, 0.04±0.04 0.004 с.±0.08

Два из изучаемых нейронов увеличивали частоту своих разрядов после возникновения сердечных циклов, после разрядов этих нейронов уменьшалась вероятность появления очередных сердечных циклов, рисунок № 2С. Еще два нейрона увеличивали частоты своих разрядов практически сразу после появления зубцов R на ЭКГ.

Для двух нейронов были характерно ритмичное изменение частоты разрядов после начала дыхательных циклов, рисунок № 2D.

0.19,± Средняя частота сердечных сокращений в каждом опыте была 6.54 0.13 Гц. Средние показатели вариабельности±0.18, 4.05±0.21 и 4.34±7.09 0.0005,±0.0003 и 0.003±0.00005, 0.002±кардиоинтервалов составили 0.001 0.0003 с.±0.0025

0.28,±0.1 и 0.88±0.54, 1.61± Средние частоты дыхания составили 1.9 0.07 Гц. Средние показатели вариабельности респираторных интервалов±0.93 0.04 с. ±0.085, 0.3±0.01 и 0.36±0.015, 0.07±составили 0.08

Таким образом, разработан аппаратно-программный комплекс позволяющий:

1. осуществлять синхронную регистрацию электрокардиограммы, внешнего дыхания и мультинейронной активности;
2. проводить анализ частоты сокращений сердца и вариабельности его ритма, анализ частоты внешнего дыхания.
3. изучать нейронную активность и ее временные взаимосвязи с

деятельностью сердца и внешним дыханием и, следовательно, описывать функционально-гетерогенные подтипы нейронов по отношению к деятельности сердца и внешнему дыханию.

Литература

1. Кульчицкий, В. А. Функции вентральных отделов продолговатого мозга / В. А. Кульчицкий. Минск, 1993. 173 с.
2. Прудников, Г. А. Программный комплекс для регистрации активности нейронных ансамблей / Г. А. Прудников // Вестник РГМУ. 2004. Vol. 3, № 34. С. 179.
3. Прудников, Г. А. Пакет программ для анализа активности популяций нейронов: сб. ст. конф. «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» / Г. А. Прудников. Витебск, 2004. С. 22–23.
4. McAllen, R. M. Analysis of firing correlations between sympathetic premotor neuron pairs in anesthetized cats / R. M. McAllen, D. Trevaks, A. M. Allen // J. Neurophysiology. 2001. Vol. 85. P. 1697–1708.
5. Paxinos, G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. Paxinos, Ch. Watson. 1998. P. 474.