

## ВПЛИВ РУХОВОГО НАВИКА ЩУРІВ НА ПЛОЩУ МОТОРНОЇ КОРИ

Мороз В.М., Власенко О.В.

*Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова МОЗ України*

**Мороз В.М., Власенко О.В.** Вплив рухового навика щурів на площу моторної кори // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 74-77.

Методом мікростимуляції мозку вивчена динаміка змін площі моторної кори у п'яти експериментальних груп різної тренуваності. По мірі формування рухового навика загальна площа моторної кори у тварин різних груп суттєво не відрізнялась. У тренуваних щурів встановлено вірогідний перерозподіл загальної площі на користь субділянки, стимуляція якої викликає скорочення м'язів пальців і кисті робочої кінцівки.

**Ключові слова:** мікростимуляція, моторна кора, скорочення м'язів, руховий навик, щури.

**Мороз В.М., Власенко О.В.** Влияние двигательного навыка крыс на площадь моторной коры // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 74-77.

Методом микроэлектродной стимуляции мозга изучена динамика изменения площади моторной коры у пяти экспериментальных групп разной тренированности. По мере формирования двигательного навыка общая площадь моторной коры у животных разных групп существенно не отличалась. У тренированных крыс установлено достоверное перераспределение общей площади с увеличением поля, стимуляция которого вызывает сокращение мышц пальцев и кисти рабочей конечности.

**Ключевые слова:** микроэлектродная стимуляция, моторная кора, сокращение мышц, двигательный навык, крысы.

**Moroz V.V., Vlasenko O.V.** The influence of motor skill on the area of the motor cortex of rats // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 74-77.

Method of brain electrostimulation studied the dynamics of change in the area of the motor cortex in five experimental groups of varying fitness. With the formation of motor skill total area of the motor cortex in animals of different groups did not differ significantly. In trained rats found a significant redistribution of the total area of the field increases, the stimulation of which causes the muscles of fingers and hands working limb.

**Key words:** microelectrode stimulation, motor cortex, muscle contraction, motor skill learning, rats.

Наявність моторної ділянки в корі великих півкуль встановлена дослідженнями Фрітца і Гітціга (1870) у собак а також Пенфілдом (1950) у людей [8]. В останній час наукові пошуки відновились на новому методичному рівні з метою встановити залежність площі моторної кори від тренуваності та після порушень мозкового кровообігу [3, 5]. Гіпотеза про пластичність нервової системи передбачає наявність багатьох механізмів, які забезпечують такі властивості як пам'ять, навчання, постінсультна реабілітація.

Встановлено вірогідне збільшення площі представництва пальців, загіястка у відповідь на навчання досягальним рухам у щурів та мавп [4, 6]. Проте невивченим є питання динаміки зміни площі моторної кори у процесі набуття нового навика.

**Мета дослідження** – вивчення причинно-наслідкових зв'язків між успішністю вироблення швидких їжодобувних рухів у щурів та змінами у площі моторної кори представництва передньої робочої кінцівки методом мікростимуляції.

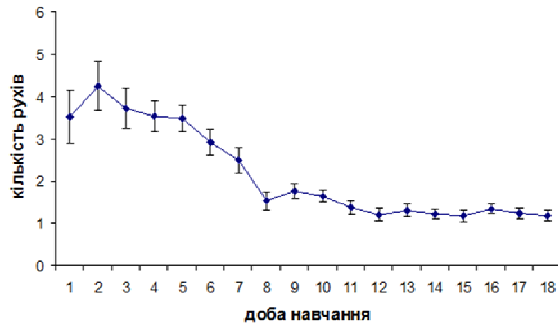
**Матеріали та методи.** Робота виконана на 56 щурах-самцях масою 250 – 320 г лінії Вістар селекції виварія Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України з дотриманням правил правил біоетики. Тварину в стані голоду поміщали у спеціальну камеру з годівницею, де за щільною розташовували корм (детальніше методика описано у роботі Мороз та ін. [2]). Протягом 18 тренувальних днів формувався швидкий їжодобувний рух, а система фотореєстрації створювала базу даних про кількість захоплення харчових кульок, кількість рухів для захоплення кульки, швидкість фаз руху та інші. Із 15 щурів першої експериментальної групи 10 успішно виробили їжодобувний рух і їх результати покладені в основу аналізу динаміки параметрів формування навика.

Другу експериментальну групу склали чотири підгрупи. В гострий електрофізіологічний експеримент брали щурів після першого дня тренувань, після п'ятого, восьмого, чотирнадцятого дня (по 6 тварин в кожній підгрупі). Контрольну групу склали 6 інтактних щурів. Дослідження площі моторної кори проводили під кетаміновим наркозом (200 мг/кг, в/м) з додатковим місцевим знеболенням. Волоссяний покрив передньої робочої кінцівки був обстрижений для візуальної фіксації рухів окремих частин або скорочення м'язів відповідної ділянки тіла. В стереотаксичному апараті СЕЖ-4 голову тварини фіксували згідно координат атласа [7]. Виконувалась трепанація черепа над моторною корою із протилежного боку від робочої кінцівки. Пенетрація вибраної зони (AP 0-5 мм; L 0,5-5,5 мм) проводили з кроком 0,33 мм, взявши за нуль точку брегма на черепі. Таким чином, одна точка на карті відповідала площі кори 0,11 мм<sup>2</sup>.

Стимулюючий електрод виготовлявся із вольфрамової проволочки діаметром 20 мкм, покритою ізоляцією за виключенням кінчика (опір 300 кОм, визначений на частоті 1 кГц). Індиферентний електрод розташовувався під шкірою в області хвоста. Пенетрація кори проводилась вертикально в стереотаксичному апараті за допомогою мікроманіпулятора ММ-3. Кінчик стимулюючого електрода опускали нижче м'якої оболонки мозку на глибину 1500 мкм, що відповідало V - VI парам кори. На активний електрод подавали імпульси катодичного струму загальною тривалістю 50 мс, в пачці імпульси слідували з частотою 300 Гц тривалість кожного - 300 мкс. Поріг стимуляції визначали шляхом подачі струму, починаючи від величини 5-10 мкА, збільшуючи на 10 мкА, закінчуючи стимуляцією точки

струмом у 60 мкА. Якщо при максимальних значеннях не отримували відповіді, така точка кори позначалась на карті кори як нереагуюча ділянка. Порогові величини використовувались як початковий рівень для стимуляції сусідньої точки.

Статистичну обробку матеріалу проводили методами варіаційної статистики з використанням дисперсійного аналізу (ANOVA) для оцінки приналежності виборок до однієї генеральної сукупності, критерій Ст'юдента з поправкою Бонферроні для множинних порівнянь і встановлення вірогідних відмінностей [1], коефіцієнт кореляції для оцінки сили зв'язку.



**Рис. 1.** Кількість ( $M \pm \sigma$ ) рухів, необхідних для успішного захоплення харчової кульки в залежності від дня тренування.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Процес навчання їжодобувному навичку в першій експериментальній групі аналізувався за такими показниками: кількість успішно захоплених харчових кульок, відсоток успішних спроб, кількість рухів, що здійснюють щурі для успішного захоплення однієї харчової кульки, загальний час перебування кінцівки в годівниці і окремі його складові: тривалість фази екстензії, фази захоплення, фази флексії. На основі часових характеристик і фіксованої відстані між ближнім і дальнім фото датчиком годівниці розраховані похідні величини у вигляді швидкості руху лапки в кінці фази екстензії та на початку фази флексії. Одним із найбільш інформативних та інтегративних показників є кількість їжодобувних рухів для захоплення однієї харчової кульки.

Динаміка цього показника протягом 18 днів по-

**Таблиця 1.** Величина успішності захоплення кульки в різні дні навчання

Доба навчання	1 доба	5 доба	8 доба	14 доба
Середня кількість рухів	3,52	3,48	1,54	1,23
Успішність захоплення	0,28	0,29	0,65	0,81

Звертає на себе увагу результат захоплення в перші 5 днів – на рівні від 10 до 20 кульок (середня величина  $18,5 \pm 5,3$ ), з позитивною динамікою, без статистично вірогідних відмінностей ( $P > 0,05$ ).

Цей період являє собою початкову стадію формування моторного навичку, коли відмічали найбільшу кількість помилок, а кількість рухів для успішного захоплення харчової кульки мала середні значення в межах від 3,5 до 4,2 рухів.

Починаючи з шостого дня тренування починається стадія удосконалення виробленого навичку, а кількість захоплених кульок досягає ( $48,9 \pm 6,3$ , що в 2,6 рази перевищує цей показник у попередній, п'ятий

дана на рис. 1.

Аналіз графіка залежності кількості рухів для успішного захоплення харчової кульки в залежності від доби навчання свідчить про типову динаміку процесу вироблення нового навичка.

Перша стадія вироблення, початкова, характеризується низькою успішністю, великою кількістю неефективних рухів. На цьому етапі освоєння навичку щурі роблять в середньому 3,5 - 4,5 спроби для успішного захоплення харчової кульки. Цей етап за нашими даними триває з першої по п'яту добу навчання (середня величина кількості рухів початкової стадії становить  $3,7 \pm 0,5$ ).

В наступні дні відбувається поступове зменшення кількості рухів в середньому від 3,5 до 1,5 спроб. На цій стадії відбувається удосконалення навичку, впрацювання (середня величина кількості рухів перехідної стадії становить  $2,3 \pm 0,3$ ). В наших дослідженнях ця перехідна стадія триває з п'ятої по восьму добу навчання.

Надалі, від восьмого дня триває остання, третя стадія „плато” (досконала), яка характеризується автоматизованим виконанням здобутого навичку. В цей період кількість спроб для захоплення харчової кульки складає 1,5-1,2 рухів (середня величина кількості рухів під час досконалої стадії становить  $1,4 \pm 0,2$ ).

Таким чином, формування нового моторного навичку у вигляді автоматизованого балістичного їжодобувного руху у щурів відбувається у три стадії: початкову (з 1 по 5 добу), перехідну (6-8 добу), досконалу (від 8 доби). Критичними днями вироблення навичку ми вважаємо перший, п'ятий, восьмий дні. Тому наступні дослідження були виконані саме в ці дні, а стадія досконалого виконання навичку була додатково досліджена на 14 день тренувань.

Для кількісного описання процесу навчання нами запропоновано розраховувати показник успішності захоплення харчової кульки за формулою:

$$\text{Успішність захоплення} = 1 / \text{кількість рухів}$$

Отже, для наступних розрахунків було використано результати дослідів і їх перерахунок у величину успішності захоплення (табл. 1). Схематично три стадії навчання можна зобразити, використовуючи показник успішності захоплення харчової кульки (рис. 2). Суттєвим результатом тренування є кількість захоплених кульок за фіксований час.

день ( $22,5 \pm 5,2$ ;  $P < 0,01$ ). Наступні дні (стадія стійкого навичка) характеризуються хвилюватим зростанням цього показника до величин 60-70 кульок за одну тренувальну сесію (середня величина -  $56,3 \pm 4,3$ ).

Встановлено, що мікростимуляція моторної кори викликала ефект у вигляді скорочення м'язів передньої кінцівки, задньої кінцівки, шиї, голови, язика, вусів, нижньої щелепи. В наших дослідженнях до вироблення моторного навичку причетні м'язи практично усіх груп (при формуванні відповідної пози), але до здійснення точного захоплення харчової кульки були в першу чергу задіяні м'язи однієї (робочої)

кінцівки. Тому послідовний аналіз буде зосереджений на результатах, в яких сферентною ланкою виступає саме передня кінцівка.

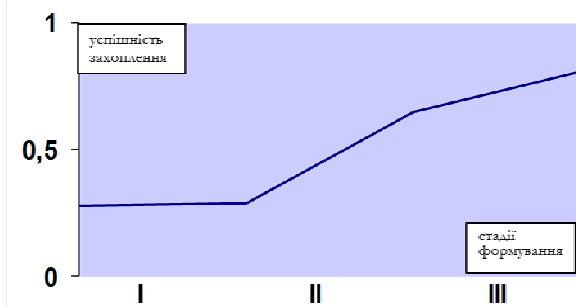


Рис. 2. Зміна успішності захоплення харчової кульки в процесі формування моторного навика: I стадія – початкова; II стадія – перехідна; III стадія – досконалого навика.

Дисперсійний аналіз (ANOVA) результатів у п'яти груп щурів показав, що всі дані належать до однієї генеральної сукупності і не відрізняються між собою ( $F(4, 24) = 1,45; P = 0,25$ ).

Встановлено тенденцію до збільшення загальної площі представництва контралатеральної передньої кінцівки в моторній корі щурів. Так, в групі контрольних тварин середня величина і стандартне відхилення складала  $(6,41 \pm 0,76)$  мм<sup>2</sup>, в перший день тренувань –  $(6,73 \pm 0,61)$  мм<sup>2</sup>, на п'яту добу  $(7,00 \pm 0,56)$  мм<sup>2</sup>, на восьму добу –  $(6,97 \pm 0,97)$  мм<sup>2</sup>, на чотирнадцяту добу –  $(7,39 \pm 0,45)$  мм<sup>2</sup>.

Загальна площа моторної кори, мікростимуляція якої викликала скорочення м'язів контралатеральної передньої кінцівки, поділяється на дві ділянки. Меншу площу займала ростральна зона, а позаду неї знаходилась більша за площею каудальна зона.

Мікростимуляцією кори встановлено, що ростральна зона представництва передньої кінцівки має тенденцію до збільшення. Так, в групі контрольних (ненавчених) тварин середня величина і стандартне відхилення склали  $(1,21 \pm 0,32)$  мм<sup>2</sup>, у тварин після першого дня тренування –  $(1,25 \pm 0,29)$  мм<sup>2</sup>, після п'ятого дня –  $(1,30 \pm 0,25)$  мм<sup>2</sup>, після восьмого дня –  $(1,47 \pm 0,62)$  мм<sup>2</sup>, на 14 добу –  $(1,47 \pm 0,39)$  мм<sup>2</sup>. Дисперсійний аналіз (ANOVA) результатів у п'яти груп щурів показав, що всі вони належать до однієї генеральної сукупності і не відрізняються між собою ( $F(4, 24) = 0,54; P=0,70$ ).

У тих же експериментальних тварин виявлено каудальну зону, мікростимуляція якої також викликала скорочення м'язів контралатеральної передньої кінцівки. Площа каудальної зони також мала тенденцію до збільшення по мірі зростання тренуваності навика у щурів. Так, у нетренованих щурів площа ( $M \pm \sigma$ ) складала  $(5,21 \pm 0,57)$  мм<sup>2</sup>, після першого дня тренування –  $(5,48 \pm 0,72)$  мм<sup>2</sup>, після п'ятого дня –  $(5,70 \pm 0,65)$  мм<sup>2</sup>, після восьмого дня –  $(5,54 \pm 0,45)$  мм<sup>2</sup>, на 14 добу –  $(5,99 \pm 0,26)$  мм<sup>2</sup>. Дисперсійний аналіз (ANOVA) результатів досліджень у п'яти груп щурів показав, що всі вони належать до однієї генеральної сукупності і між ними немає вірогідних відмінностей ( $F(4, 24) = 1,67; P=0,18$ ).

Поглиблений аналіз даних мікростимуляції кори свідчить, що ефект у вигляді скорочення груп м'язів передньої кінцівки був неоднорідним. Окремі точки кори були представництвом м'язів, що забезпечують рухи пальців, викликали рух у

зап'ястку, в ліктьовому суглобі, рух у плечовому суглобі. Часто подразнення однієї точки викликали рух у двох суміжних анатомічних утвореннях. Тому ми окремо виділили дві субділянки і проаналізували площі кори, одна з яких відповідає за рухи дистальних відділів передньої кінцівки – зап'ястка і пальців, а стимуляція другої субділянки викликає рухи в проксимальних відділах – у плечовому і ліктьовому суглобах.

У ростральній зоні не було точок, стимуляція яких викликала ізольоване скорочення, що призводило до руху у ліктьовому або плечовому суглобі, тому такого детального поділу на субділянки ми не проводили.

В той же час каудальна зона (більша за площею) складалась із суми площ субділянки проксимальних відділів передньої кінцівки (мікростимуляція викликала рухи в зап'ястку і пальців) та субділянки дистальних відділів (викликала рухи в ліктьовому та/або плечовому суглобах). Площа субділянки представництва проксимальних відділів передньої кінцівки щурів у процесі навчання мала тенденцію до зменшення. Так, у нетренованих щурів площа ( $M \pm \sigma$ ) складала  $(3,35 \pm 0,47)$  мм<sup>2</sup>, після першої доби тренування –  $(3,30 \pm 0,47)$  мм<sup>2</sup>, після п'ятої доби тренування –  $(3,11 \pm 0,42)$  мм<sup>2</sup>, після восьмої –  $(2,68 \pm 0,45)$  мм<sup>2</sup>, після 14 доби тренування –  $(1,55 \pm 0,41)$  мм<sup>2</sup>.

Дисперсійний аналіз (ANOVA) результатів у п'яти груп щурів показав ( $F(4, 24) = 17,47; P<0,01$ ), що вибірки неоднорідні, не належать до однієї генеральної сукупності, мають між собою вірогідні відмінності. В такому разі згідно вимог правил статистичного аналізу, ми перешли до покрокового множинного порівняння між вибірками. Так як критерій Ст'юдента не може використовуватись при більш ніж двох вибірках, ми використали коректний в даному випадку критерій Ст'юдента з поправкою Бонферроні для множинних порівнянь [8]. Для спрощення термінології цей метод в послідовному будемо іменувати критерієм Бонферроні, як це допускає література із статистичного аналізу.

Шляхом попарного порівняння між групами різного рівня тренуваності встановлено, що вірогідні відмінності існують між площею субділянки проксимальних відділів у групі після 14 дня навчання із групами контролю, першого, п'ятого та восьмого дня навчання (усі  $P<0,01$ ).

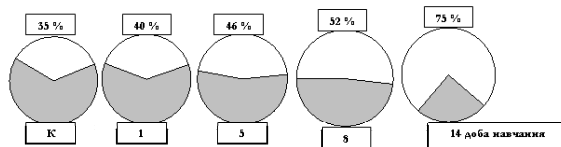
Друга половина, дистальна субділянка каудальної зони представництва передньої кінцівки в моторній корі в різних групах щурів також змінювалась по мірі удосконалення моторного навика (рис. 6.5).

Площа субділянки представництва дистальних відділів передньої кінцівки щурів у процесі навчання мала тенденцію до збільшення. Так, у нетренованих щурів площа ( $M \pm \sigma$ ) складала  $(1,85 \pm 0,31)$  мм<sup>2</sup>, після першого дня тренування –  $(2,18 \pm 0,32)$  мм<sup>2</sup>, після п'ятого дня –  $(2,58 \pm 0,29)$  мм<sup>2</sup>, після восьмого –  $(2,82 \pm 0,50)$  мм<sup>2</sup>, після 14 днів тренування –  $(4,42 \pm 0,56)$  мм<sup>2</sup>. Дисперсійний аналіз (ANOVA) результатів у п'яти груп щурів показав ( $F(4, 24) = 31,88; P<0,01$ ), що вибірки неоднорідні, не належать до однієї генеральної сукупності, мають між собою вірогідні відмінності. Послідовний міжгруповий аналіз шляхом множинного порів-

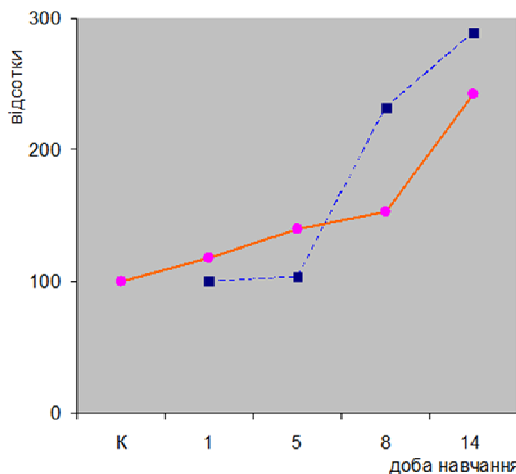
няння з використанням критерію Бонферроні дозволив встановити наступне. Вірогідно більша площа субдіянки дистальних відділів передньої кінцівки моторної кори щурів на 14 добу тренування у порівнянні з аналогічною площею у інтактних, на перший, п'ятий та восьмий день навчання (усі  $P < 0,01$ ). Інших міжгрупових відмінностей не було відмічено.

Встановлені відмінності дозволяють зробити висновок про те, що під час набуття нового навичку відбувається вірогідно збільшення площі тієї частини моторної кори, яка відповідає за переміщення дистальних відділів передньої кінцівки. При цьому забезпечується принципове виконання рухової задачі, що реалізується точними рухами пальців, кисті, зап'ястка. На рисунку 3. подано схематичне зображення перерозподілу площі в межах каудальної зони субдіянок дистального і проксимального відділів передньої кінцівки в процесі вироблення моторного навичку.

Використавши числовий вираз успішності захоплення харчової кульки (див. табл. 1), можна описати її кореляційну залежність із площею дистальної субдіянки в каудальній зоні моторної кори щура.



**Рис 3.** Співвідношення площі субдіянок дистального представництва (незафарбована частка) і проксимального представництва (зафарбована частка) передньої кінцівки в межах каудальної зони моторної кори в процесі вироблення рухового навичку.



**Рис 4.** Співставлення графіків змін нормалізованих показників успішності реалізації навички (пунктирна лінія) із відсотками зміни площі субдіянки моторної кори, при стимуляції якої виникають рухи пальців, кисті, зап'ястка (суцільна лінія) в процесі формування рухового навичку. За 100 % взято показник успішності захоплення харчової кульки рівень в 1 день тренування та відсоток площі субдіянки моторної кори у нетренованих (контрольних) щурів („К”).

Коефіцієнт кореляції ( $r=0,87$ ) свідчить про високий рівень зв'язку між показниками, що порівнюються. Цей зв'язок прямий, отже, чим вищий рівень набуття моторного навичку, тим більша площа ділянки моторної кори, при стимуляції якої виникають рухи пальців, кисті, зап'ястка.

Подальший аналіз полягав у співставленні стадій формування нового навичку із фазами зміни площі

дистальної субдіянки моторної кори (рис. 4). Звертає на себе увагу той факт, що процеси зміщені у часі, першим рівня завершеності досягає зовнішній прояв моторної програми – реалізація автоматизованого руху із досягненням харчової кульки (на 8 добу тренування). А максимальне значення площі відповідної ділянки кори ми спостерігали на 14 добу.

### Висновки та перспективи подальших розробок.

1. Проведені дослідження впливу процесу набуття рухового навичку на площу моторної кори щура дозволили встановити наступні закономірності. Загальна площа моторної кори, мікростимуляція якої викликає рухи контралатеральної передньої кінцівки, в процесі тренувань має тенденцію до збільшення. В межах цієї моторної кори відбувається перерозподіл площі субдіянок. За рахунок зменшення частки кори, мікростимуляція якої викликає рухи в проксимальних відділах передньої кінцівки, відбувається вірогідне збільшення частки кори, мікростимуляція якої викликає рухи в дистальних відділах – пальцях, кисті, зап'ястку.

2. Збільшення площі субдіянки представництва дистальних м'язів робочої кінцівки в моторній корі має сильний прямий кореляційний зв'язок ( $r=0,87$ ) із показником успішності захоплення харчової кульки.

3. Дослідження динаміки розвитку моторного навичку свідчить, що спочатку (на 8 добу) починається стадія досконалої реалізації руху, а потім (на 14 добу) максимальних значень набуває площа відповідної субдіянки моторної кори. Така невідповідність ставить під сумнів наші уявлення про причинно-наслідкові зв'язки між морфо-функціональними змінами в моторній корі і зовнішніми проявами діяльності, що потребує подальших досліджень.

### ЛІТЕРАТУРА:

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. / С. Гланц. – М.: „Практика”, 1998. – 459 с.
2. Особливості формування параметрів їждобувних рухів щурів в умовах вільної поведінки // В.М. Мороз, М.В. Йолтухівський, О.В. Власенко, І.А. Рокунець, М.М. Йолтухівський // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2010. – Том 14, № 1. – С. 1-14.
3. Kleim J.A. Functional reorganization of the rat motor cortex following motor skill learning / J.A. Kleim, S. Barbay, R.J. Nudo // J. Neurophysiol. – 1998. – Vol. 80, № 6. – P. 3321-3325.
4. Monfils M.H. In Search of the Motor Engram: Motor Map Plasticity as a Mechanism for Encoding Motor Experience / M.H. Monfils, E. Plautz, J. Kleim // The Neuroscientist. – 2005. – Vol. 11, № 5. – P. 471-483.
5. Motor cortex plasticity during forced-use therapy in stroke patients: a preliminary study / J. Liepert, I. Uhde, S. Graf, O. Leidner, C. Weiller // J. Neurol. – 2001. – Vol. 248, № 4. – P. 315-321.
6. Neurophysiological correlates of hand preference in primary motor cortex of adult squirrel monkeys / R.J. Nudo, W.M. Jenkins, M.M. Merzenich, T. Prejean, R. Grenda // J. Neurosci. – 1992. – Vol. 12, № 8. – P. 2918-2947.
7. Paxinos G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. Paxinos and C. Watson. – San Diego: «Acad. Press», 1997. – 245 p.
8. Penfield W. The cerebral cortex of man / W. Penfield, T. Rasmussen. – New York: „Macmillan”, 1950. – 352 p.

Надійшло 11.06.2012 р.

Рецензент: проф. С.А.Кашенко