

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXIV, 16

SECTIO D

1969

Katedra i Zakład Fizjologii Człowieka. Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: prof. dr Wiesław Hołobut

Katedra i Zakład Fizjologii Zwierząt. Wydział Biologii i Nauk o Ziemi

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Kierownik: doc. dr Jerzy Cytawa

Georgios KUTULAS

**Wpływ uszkodzeń mózgowych okolicy przegrody na emocjonalność
szczurów ***

Эффект повреждения области *septum* на эмоциональность крыс

The Effect of the Septal Forebrain Lesion on the Emotionality of Rats

Zagadnienie emocji, jej mechanizm powstawania oraz lokalizacji ośrodków kierujących emocjami od dawna wzbudzało duże zainteresowanie i było przedmiotem licznych teoretyzowań. Punktem zwrotnym w poglądach na zagadnienie emocji stała się śmiała hipoteza Papeza (1937) głosząca, że oprócz podwzgórza ścisły związek z emocjami mają również i struktury, które zaliczano dawniej do węchomózgowia, a obecnie do układu limbicznego, tj. zakręt obręczy (*gyrus cinguli*) i hipokamp (*hippocampus*), a także ciała suteczkowate (*corpora mamillaria*) połączone drogą suteczkowo-wzgórzową (*tractus mamillo-thalamicus*) z jądrami przednimi wzgórza (*nuclei anteriores thalami*). Struktury te tworzą zamknięty łańcuch neuronowy, zwany kołem Papeza, po którym krążą impulsy nerwowe dające podłoże stanom emocjonalnym. Późniejsze badania eksperymentalne McLeana (1949, 1958) potwierdziły prawdziwość tej hipotezy. Obecnie do koła Papeza włączono także zespół ciała migdałowatego (*corpus amygdaloideum*) oraz drogę łączącą go z podwzgórzem (*hypothalamus*) i okolicą przegrody (*regio septalis*), którą to drogą jest prążek krańcowy (*stria terminalis*), co razem tworzy tzw. koło Nauty.

Teoria Papeza postulowała, że układ limbiczny jest centralnym układem emocji. Jednakże eksperymentalne potwierdzenie jej stało się możliwe dzięki zastosowaniu metody stereotaktycznej, która pozwala wprowadzać elektrody w dowolne okolice mózgu celem odbierania potencjałów czynnościowych, drażnienia, czy też elektrolitycznego uszkodzenia tych struktur. Okazało się, że najbardziej drastyczne zmiany reaktywności emocjonalnej otrzymano w doświadczeniach z elektrolitycznym niszczeniem okolicy przegrody. Okolica ta obejmuje przegrodę przeźroczystą (*septum*

* Praca niniejsza była częściowo finansowana przez Polską Akademię Nauk — Wydział Nauk Medycznych. Została ona wygłoszona na Zjeździe Młodych Naukowców Greckich we Wrocławiu w roku 1967 i opublikowana w postaci wstępnego doniesienia w czasopiśmie *Demokratis* (Kutulas — 1967).

pellucidum) wraz z szeregiem jąder znajdujących się poniżej dziobu ciała modzełowatego (*rostrum corporis callosum*). Posiada ona liczne połączenia za pośrednictwem zakrętu przekątnego (*gyrus diagonalis*) oraz prążka krańcowego z jądrem migdałowatym i podwzgórzem, a za pośrednictwem prążka rdzeniowego (*stria medullaris*) łączy się z jądrem uzdeczki (*nucleus habenulae*) leżącym w nadwzgórzcu (*epithalamus*), które z kolei wysyła włókna drogą uzdeczkowo-międzykonarową (*tractus habenulo interpeduncularis*) do jądra międzykonarowego (*nucleus interpeduncularis*) w śródmózgowiu.

Pierwsze badania nad rolą okolicy przegrody w stanach emocjonalnych wykonane zostały przez Brady'ego i Nautę (1953, 1955) oraz Kinga (1958, 1959). Wykazały one, że uszkodzenie tej okolicy wywołuje nagły wzrost reaktywności emocjonalnej. Fenomen ten został następnie potwierdzony w pracach: King i Meyer (1958), Yutzey, Meyer i Meyer (1964), Cytawa i Teitelbaum (1967) i Meyer (1967). Pomimo że syndrom septalnej hiperemocjonalności, przynajmniej u szczurów został w tych pracach niewątpliwie potwierdzony, to jednak nie był on przedmiotem dokładnej analizy, która uwzględniłaby dynamikę zmian emocjonalnych na przestrzeni dłuższego czasu obserwacji. Jedynie w pracach Cytawy i Teitelbauma (1967, 1968) nawiasowo, przy okazji badań nad wpływem szerzącej się depresji korowej na proces restytucji funkcji po uszkodzeniach podkorowych, poddano dokładniejszej analizie jednomiesięczny przebieg zmian reaktywności emocjonalnej po uszkodzeniu okolicy przegrody. W związku z brakiem doniesień, które obejmowałyby dłuższy okres obserwacji, oraz całkowitym brakiem publikacji na ten temat w piśmiennictwie polskim postanowiono podjąć badania nad długoterminowymi zmianami reaktywności emocjonalnej u szczurów z uszkodzeniami okolicy przegrody. Do podjęcia tego tematu skłonił również fakt, że zwierzęta z hiperreaktywnością emocjonalną mogą być doskonałym modelem do badania efektu środków neuroleptycznych. Niniejsze doniesienie jest wstępem do obszerniejszych badań na ten temat.

MATERIAŁ I METODA

Badania przeprowadzono na 15 białych szczurach, samcach w wieku około 90 dni i ciężarze ciała na początku doświadczenia około 150 gramów. Tuż przed zabiegiem operacyjnym podzielono zwierzęta na dwie grupy: grupa doświadczalna stanowiła 11 szczurów, którym wykonano uszkodzenia okolicy przegrody; grupą kontrolną były 4 szczury, którym wykonano operację pozorną, różniącą się tym od właściwej, że po umieszczeniu elektrod w okolicy przegrody, nie przepuszczano przez nie prądu elektrycznego. Reaktywność emocjonalną szczurów badano 5 dni przed operacją oraz po operacji w ciągu 42 dni aż do powrotu do normy, a następnie do ustalenia się reaktywności emocjonalnej na trwałym poziomie. Zmiany emocjonalne występujące po uszkodzeniu okolicy przegrody, badano przy pomocy nieco zmodyfikowanej skali ocen podanej przez Brady'ego i Nautę (1953). Zastosowana skala ocen obejmowała 7 testów, w zakresie których nasilenie reakcji oceniono w punktach od 0 do 3.

- I. Reakcja startowa na nagłe dmuchanie strzykawką Janeta:
 - 0 — brak reakcji,
 - 1 — lekkie wzdrygnięcie się,
 - 2 — nasilona reakcja z poderwaniem się zwierzęcia,
 - 3 — eksplozywna i długo utrzymująca się reakcja startowa;
- II. Reakcja szczura na próbę brania do ręki w klatce:

- 0 — brak oporu,
 - 1 — ucieka,
 - 2 — staje w agresywnej postawie,
 - 3 — aktywnie atakuje;
- III. Reakcja szczura na próbę chwytania go poza klatką:
- 0 — brak oporu,
 - 1 — ucieka,
 - 2 — staje w agresywnej postawie,
 - 3 — aktywnie atakuje;
- IV. Reakcja głosowa na próbę chwytania szczura poza klatką:
- 0 — brak reakcji,
 - 1 — tylko za pierwszym razem,
 - 2 — na początku każdego chwytania,
 - 3 — stała reakcja;
- V. Napięcie mięśniowe:
- 0 — brak napięcia mięśniowego,
 - 1 — lekko zaznaczone napięcie mięśni brzucha i kończyn dolnych,
 - 2 — wyraźnie zaznaczone napięcie,
 - 3 — silnie zaznaczona sztywność;
- VI. Reakcja na manipulowanie szczypcami przed pyskiem szczura:
- 0 — brak reakcji,
 - 1 — ucieka,
 - 2 — staje w agresywnej postawie,
 - 3 — atakuje;
- VII. Reakcja szczura na drażnienie go szczypcami w okolicy pyska, kończyn przednich i tylnych:
- 0 — brak reakcji,
 - 1 — ucieka,
 - 2 — staje w agresywnej postawie,
 - 3 — aktywnie atakuje.

Wynik ogólny powstawał przez sumowanie punktów poszczególnych testów. Przy pomocy tej skali dwóch eksperymentatorów określało reaktywność emocjonalną szczurów w okresie 5 dni poprzedzających operację, tuż przed nią w dniu operacji oraz w okresie pooperacyjnym aż do powrotu szczurów do stanu normalnego, a następnie ustalenie się zmian reaktywności emocjonalnej na trwałym poziomie, co obejmowało okres 42 dni. Szczury trzymane były w osobnych klatkach, tak przed jak i po operacji.

Uszkodzenie okolicy przegrody dokonywano za pomocą aparatu stereotaktycznego dla małych zwierząt opisanego przez Stellara i Krausego (1954). Pod kontrolą aparatu stereotaktycznego wprowadzono do mózgu elektrody ze stali nierdzewnej o przekroju 0,25 mm, izolowane lakierem epoksydowo-poliamidowym "Orex 1305" produkowany przez Instytut Tworzyw Sztucznych w Warszawie. Uszkodzenia wywoływano prądem stałym, anodowym o natężeniu 3 mA w ciągu 30 sek., według techniki, którą opisali Rowland, MacIntyre i Bidder (1960). Operację wykonano w narkozie wywołanej 5% roztworem hexobarbitalu sodowego w dawce 100 mg/kg ciężaru ciała, podanego dootrzewnowo. Po uśpieniu zwierzęcia, głowa jego orientowana była w aparacie stereotaktycznym według linii usznej oraz płaszczyzny horyzontalnej czaszki. Po ogoleniu, a następnie dezynfekcji pola operacyjnego, nacinano skórę oraz czepiec ścięgniasty wzdłuż linii szwu strzałkowego i preparując na tępó odsłonięto kości sklepienia czaszki. Następnie wiertłem trepa-

nacyjnym o średnicy 4 mm wiercono otwór w czaszce o linii środkowej tuż przed bregmą. Przez otwór ten przy pomocy aparatu stereotaktycznego wprowadzono do mózgu elektrodę, którą wykonywano lezje elektrolityczne według następujących koordynatorów: 2,5 mm przed bregmą, 0,5 mm na boki od linii środkowej, którą stanowiła zatoka strzałkowa górna, oraz 6,5 mm poniżej powierzchni kory mózgowej. Po wykonaniu obustronnego uszkodzenia, elektrody usuwano, ubytek kostny pokrywano płatem gąbki fibrynowej, a na skórę głowy zakładano pojedyncze szwy katgutowe. W celu uniknięcia ewentualnych powikłań w postaci zakażenia pooperacyjnego podano domięśniowo antybiotyki: streptomycynę 25 mg/kg ciężaru ciała i penicylinę 50 000 jednostek. Po zakończeniu doświadczeń sporządzono preparaty histologiczne mózgowia celem weryfikacji uszkodzeń. Zwierzętom uspionym w narkozie eterowej perfundowano układ krążenia 10% roztworem formaliny, a następnie wypreparowywano mózg w całości, który przechowywano w roztworze formaliny do czasu sporządzenia preparatów histologicznych barwionych hematoksylina i eozyzną.

Otrzymane wyniki zmian reaktywności emocjonalnej starano się opracować statystycznie. Ponieważ jednak okazało się, że wyniki te nie posiadają rozkładu normalnego, zgodnie z krzywą Gaussa, wobec tego zamiast obliczać dla nich średnią arytmetyczną i odchylenia standardowe postanowiono charakteryzować je wartościami mediany i średniego odchylenia ćwiartkowego, a do oceny istotności różnic zastosować nieparametryczne testy Wilcoxa (według Owena, 1966): dla zmiennych zależnych zastosowano test T — znaków i rang różnic, zaś dla zmiennych niezależnych — test R — złożonych rang.

WYNIKI

Po obustronnym elektrolitycznym uszkodzeniu okolicy przegrody wystąpiły wyraźne zmiany w zachowaniu się szczurów. Zwierzęta, dotychczas łagodne, dające się brać w rękę i słabo reagujące nawet na bodźce bólowe, takie jak np. drażnienie szczypcami chirurgicznymi, od tego momentu stały się dzikie, z karykaturalnie nasilonymi reakcjami emocjonalnymi strachu i agresji. Nagłe dmuchnięcie strzykawką Janeta wywoływało żywą reakcję startową. W odpowiedzi na ten bodziec szczur podskakiwał, przy czym reakcja startowa przybierała niezwykle nasilenie tak, że szczur wykonując w klatce szereg intensywnych skoków ustawicznie odbijał się o jej ściany. Chwywanie szczura w klatce w pierwszych dniach po operacji gołą ręką było niemożliwe. Z chwilą włożenia ręki do klatki, bądź to atakował ją intensywnie gryząc, bądź też korzystał z otwarcia klatki i uciekał na zewnątrz. Również schwywanie szczura poza klatką nastęczało duże trudności. W momencie zbliżania się do niego natychmiast uciekał, wykonując skoki przypominające króliczy chód, nigdy nie obserwowany u szczurów w normalnych warunkach. Przy próbie chwytania szczura lub trzymania go w ręku reagował bardzo żywo gryząc, szczękając zębami i wydając odgłosy podobne do skrzeczenia. Wyraźnie dawało się odczuć silnie zaznaczone napięcie mięśni brzucha oraz kończyn, co sprawiało nawet wrażenie sztywności. Podczas

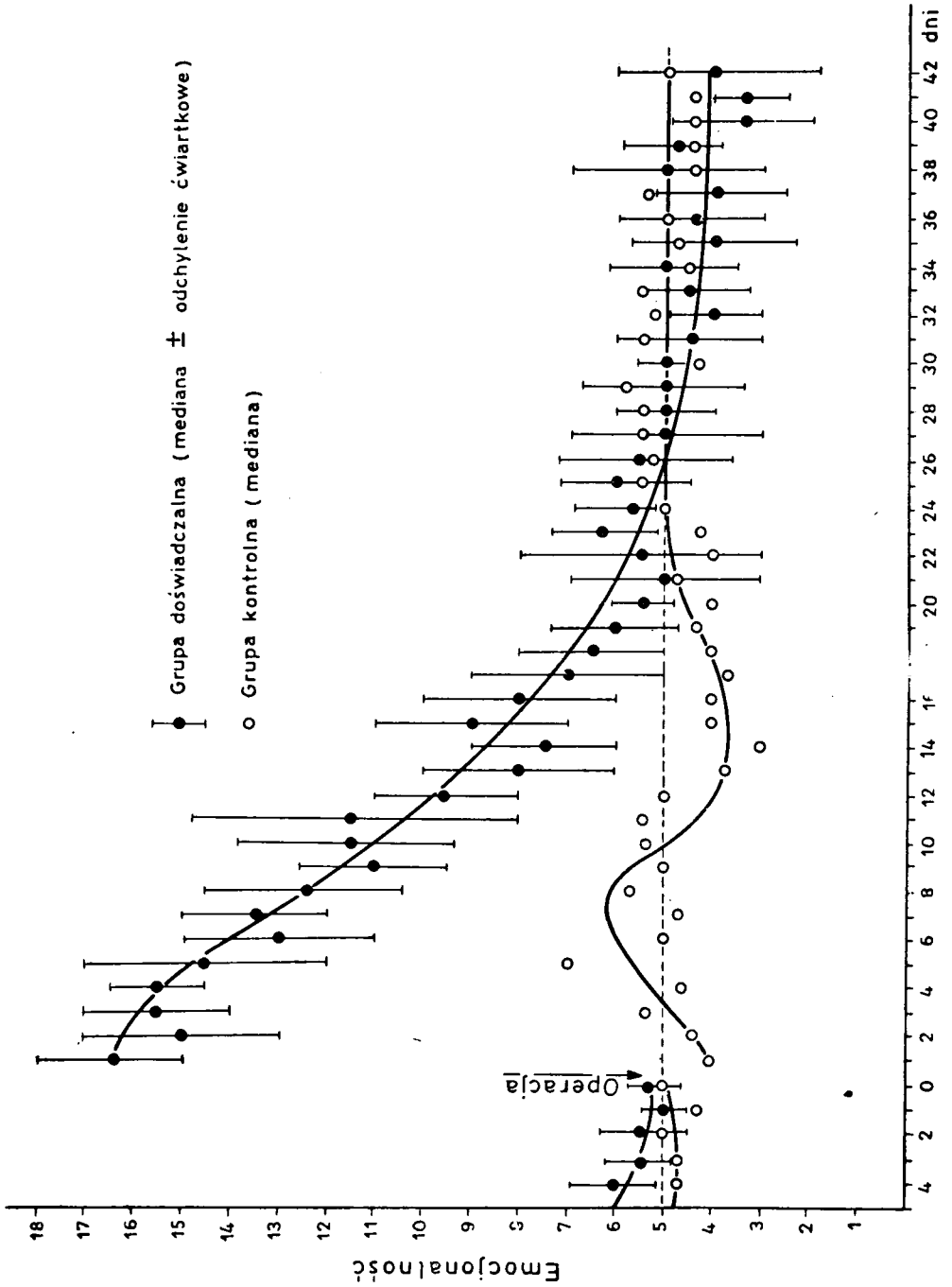
manipulowania szczypcami przed pyskiem, szczur przybierał agresywną postawę i z reguły aktywnie atakował, gryząc szczypce. Największe nasilenie reakcji emocjonalnych obserwowano się przy próbie drażnienia szczura szczypcami w okolicy pyska, kończyn przednich i tylnych. Test ten wywoływał silnie wyrażoną reakcję wściekłości, której u normalnych zwierząt nie obserwuje się. Szczury septalne przyjmują wówczas agresywną postawę, aktywnie atakują z reguły szczękając zębami i gryząc, rzadko natomiast uciekają. Wpływ uszkodzenia okolicy przegrody na emocjonalność szczura ilustruje ryc. 1.

Przed operacją, w grupie doświadczalnej, poziom reaktywności emocjonalnej, mierzony według zastosowanej skali ocen, był stały z minimalnymi i statystycznie nieistotnymi tendencjami spadkowymi spowodowanymi adaptacją zwierząt do procedury badania. W dniach tych, wartość mediany oraz średniego odchylenia ćwiartkowego wahała się w granicach $6,0 \pm 1,0$ do $5,0 \pm 0,5$. Obliczenia statystyczne dokonano względem ostatniego dania przed operacją, dla którego wartości mediany wynosiły $5,0 \pm 1,0$ i ten poziom reaktywności emocjonalnej przyjęto za normę.

Po zabiegu operacyjnym widoczny jest wyraźny wzrost reaktywności emocjonalnej, która w pierwszym dniu osiąga największą wartość mediany $16,5 \pm 2,5$ i utrzymuje się na wysokim poziomie w ciągu 4 pierwszych dni, a następnie stopniowo opada, by po raz pierwszy powrócić do normy w 21 dniu, kiedy to mediana wynosi $5 \pm 1,5$, na stałe zaś w 27 dniu po operacji. Okazało się, że w późniejszych dniach emocjonalność nadal obniża się i spada poniżej wartości przyjętej za normę i ostatecznie w 42 dniu posiada wartości mediany $4,0 \pm 1,5$.

Zmiany reaktywności emocjonalnej według testu rang i znaków różnic Wilcoxon'a okazały się statystycznie wysoce istotne na poziomie $P < 0,001$ w ciągu wszystkich pierwszych dwunastu dni po operacji. Zmiany te były nadal istotne w ciągu dalszych siedmiu dni, lecz już na poziomie nieco niższym $P < 0,01$ do $P < 0,05$. Poczynając od 20 dnia po operacji aż do końca obserwacji zmiany te okazały się statystycznie nieistotne.

U zwierząt kontrolnych, którym wykonano operację pozorną, zasadniczo nie obserwowano się zmian emocjonalnych. Niewielki wzrost, a następnie spadek reaktywności emocjonalnej, widoczny w okresie rekonwalescencji po zabiegu chirurgicznym, był bowiem statystycznie nieistotny. Natomiast porównanie grupy doświadczalnej z grupą kontrolną wykazało wysoką istotność różnic w zachowaniu się obu tych grup. W ciągu pierwszych ośmiu dni po operacji różnice były statystycznie istotne na poziomie $P < 0,001$, do dnia 13 na poziomie $P < 0,01$, a do



Ryc. 1. Wpływ uszkodzenia okolicy przegrody na emocjonalność szczurów
 The effect of the septal forebrain lesion on the emotionality of rats

dnia 19 na poziomie $P < 0,05$. Poczynając od dnia 19 brak jest statystycznie istotnych różnic między obu grupami.

OMÓWIENIE

Wyniki tej pracy są zgodne z danymi literatury cytowanej na wstępie, potwierdzającymi doniesienia Brady'ego i Nauty z 1953 r. o wzroście emocjonalności szczurów, spowodowanym uszkodzeniem okolicy przegrody. Wykazują one, że okolica przegrody w normalnych warunkach wywiera wpływ hamujący na niżej położone ośrodki podwzgórza zarządzające reakcjami emocjonalnymi. Odnośnie czasu trwania zaburzeń emocjonalnych wywołanych uszkodzeniem okolicy przegrody, dane literatury są mniej zgodne. W pracy Yutzey, Meyer i Meyer (1964) oraz Meyer (1967) reaktywność emocjonalna była wyraźnie nasiloną tylko w pierwszym dniu po operacji, w następnych była nieco podwyższona, a na ogół w 6 dniu wracała do wartości normalnych. Autorzy ci jednak nie podają koordynatów uszkodzeń, stąd trudno ustosunkować się do tych danych.

Większość jednak prac, w tym Brady'ego i Nauty (1953, 1955) oraz Cytawy i Teitelbauma (1967, 1968) jest zgodna z przedstawionymi: wynikami, gdyż powrót do normy zaznaczał się, podobnie jak w niniejszym doniesieniu, na przestrzeni 3 lub 4 tygodnia. W pracy tej ponadto prześledzono dokładnie dynamikę zmian emocjonalnych spowodowanych uszkodzeniem okolicy przegrody. Zmiany te są najsilniej wyrażone w pierwszych dniach po operacji, a następnie stopniowo maleją z upływem czasu, tak że w rezultacie efekt hiperemocjonalności septalnej całkowicie znika, a nawet, co stanowi nowość dotychczas niesygnalizowaną, zastąpiony zostaje przez niewielkie obniżenie reaktywności emocjonalnej poniżej normy. Wydaje się, że dokładne prześledzenie dynamiki tych zmian powinno znaleźć zastosowanie praktyczne, gdyż syndrom hiperreaktywności emocjonalnej jest doskonałym, jeśli nie jedynym, modelem doświadczalnym, na którym można by badać wpływ środków neuroleptycznych na sferę emocjonalną, a więc środków, które szeroko stosuje się we współczesnej medycynie, a szczególnie w psychiatrii.

WNIOSKI

1. Uszkodzenie okolicy przegrody powoduje nagły wzrost reaktywności emocjonalnej, która osiąga swój największy poziom w pierwszych czterech dniach po operacji, po czym stopniowo obniża się, aby w 3—4 tygodniu powrócić do normy, a następnie nawet obniżyć się poniżej poziomu wyjściowego.

2. Szczury z hiperreaktywnością emocjonalną mogą być doskonałym modelem, na którym można by badać wpływ środków neuroleptycznych na sferę emocjonalną.

PIŚMIENICTWO

1. Brady J. V., Nauta W. J. H.: J. comp. physiol. Psychol. 46, 339—346, 1953.
 2. Brady J. V., Nauta W. J. H.: J. comp. physiol. Psychol. 48, 412—420, 1955.
 3. Cytawa J., Teitelbaum Ph.: Acta Biol. Exper. (Warsaw), 27, 345—353, 1967.
 4. Cytawa J., Teitelbaum Ph.: Folia Biologica, 16 (w druku), 1968.
 5. King F. A.: J. nerv. ment. Dis., 126, 57—63, 1958.
 6. King F. A.: Psychol. Rev. 5, 11—17, 1959.
 7. King F. A., Meyer P. M.: Science, 128, 655—656, 1958.
 8. Kutulas G.: Dimokratis, 49, 6, 1967.
 9. McLean P. D.: Psychosomat. Med., 11, 338—353, 1949.
 10. McLean P. D.: J. nerv. ment. Dis. 127, 1—11, 1958.
 11. Meyer P. M.: The Behaviour of Rats Following Cortical and Subcortical Lesions. Ammons Horn, Spring, 3—14, 1967.
 12. Papez J. W.: Neurol. and Psychiatry 38, 724—743, 1937.
 13. Owen D. B.: Handbook of Statistical Tables. London, Addison-Wesley Publishing Company, Jrc., 325—330, 1966.
 14. Rowland V., MacIntyre W. J., Bidder T. G.: J. of Neurosurg. 17, 55—69, 1960.
 15. Stellar E., Krause N. P.: Science, 120, 664, 1954.
 16. Yutzey, Meyer D. R., Meyer P. M.: J. of Comp. and Physiol. Psychol. 58, 463—465, 1964.
- Otrzymano 5 X 1968.

РЕЗЮМЕ

Исследовали 15 белых крыс-самцов в возрасте около 90 дней и весом в начале опыта приблизительно 150 г. Эмоциональные изменения, появляющиеся после повреждения области *septum*, исследовались при помощи несколько модифицированной шкалы оценок Brady и Nauta (1). Повреждение области *septum* проводилось при помощи стереотактического аппарата. Под его контролем вводился в головной мозг электрод из нержавеющей стали диаметром 0,25 мм, изолированный эпокси-полиамидным лаком. Для повреждения применялся постоянный анодный электрический ток напряжением 3 ма в течение 30 сек. Операцию проводили под наркозом, применяя 5% гексобарбиталовый раствор в дозе 100 мг/кг веса тела крысы.

Повреждение области *septum* вызвало ясное и статистически высокозначимое увеличение эмоциональной реактивности крыс. Этот эффект показан на рис. 1 ($P < 0,001$).

Автор считает, что животные с гиперэмоциональностью после повреждения области *septum* могут быть хорошими моделями для исследования влияния невролептических средств на эмоциональность.

S U M M A R Y

Examinations were carried out on 15 albino rats, aged about 90 days and weighing about 150 g, at the beginning of experiments. Emotional changes, which appear as a result of lesions of the septal region, were tested with the emotional reactivity rating scale, according to Brady and Nauta (1), with some modification. The injury of the septal region was made with the stereotaxic instrument. A stainless steel electrode, of 0.25 mm in diameter, isolated with epoxypoliamid resin, was inserted into the brain. The injury was made by direct anodal current of 3 mA during 30 sec. The operations were made in anesthesia induced by 5% Hexobarbital Natrium in a dose of 100 mg/kg. The injury of the septal region caused a distinct and statistically highly significant ($P < 0.001$) increase in the emotional response of the rats. This effect is presented in Fig. 1. It seems that the syndrome of septal hyperemotionality can be an excellent example for experimental testing of the effect of neuroleptic drugs.

