

Физиология

УДК 597.82:612.886

Член-корреспондент НАН РА Л. Р. Манвелян, А. М. Насоян, Д. О. Терзян

**О влиянии мозжечка на электрическую активность нейронов
вестибулярного ядерного комплекса лягушки**

(Представлено 20/IV 2011)

Ключевые слова: *вестибулярный ядерный комплекс, аурикулярная область мозжечка*

Уникальность позиции вестибулярных и мозжечковых ядер у бесхвостых амфибий заключается в их значительной модификации, отражающей изменение среды обитания (частичный или полный переход на сушу), и в развитии четырехконечностного тела [1-6]. Представляя ранний этап эволюционного развития позвоночных, бесхвостые амфибии обладают наименее дифференцированными вестибуло-мозжечковыми структурами среди существующих четвероногих [7-10]. Однако уже на этой стадии вестибулярный ядерный комплекс (ВЯК) представляет центральные структуры, интегрирующие сигналы, поступающие из лабиринта, мозжечка и ретикулярной формации. Связи между мозжечком и латеральным ядром Дейтерса настолько тесны и специфичны, что позволяют рассматривать последнее как ядро мозжечка, вынесенное в продолговатый мозг [11]. Мозжечок формируется из ромбовидной губы четвертого желудочка, области, где также формируются вестибулярные ядра. В исследованиях, проведенных на высших позвоночных, выявлено, что некоторые области коры мозжечка, получающие вестибулярные афференты, в свою очередь, проецируются в вестибулярные ядра через аксоны клеток Пуркинье [12]. Показано, что аксоны клеток Пуркинье оказы-

вают тормозное воздействие на вестибулярные нейроны [13]. Наши знания об организации проекций клеток Пуркинье к вестибулярной системе у амфибий крайне скудны. Известно единственное исследование, где описывается проекция аксонов клеток Пуркинье аурикулярной долики мозжечка в ВЯК [14]. Выявлено, что отмеченная проекция имеет тормозный характер [15, 16].

В настоящей работе проведен электрофизиологический анализ влияния стимуляции аурикулярной зоны мозжечка на нейроны ВЯК методом внутриклеточной регистрации потенциалов.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 51 взрослой озерной лягушке (*Rana ridibunda*) обоего пола по описанной ранее методике изолированного перфузируемого мозга, разработанной в лаборатории физиологии центральной нервной системы [17]. Животных глубоко наркотизировали раствором MS – 222 (2 мг/кг). Вскрывали грудную клетку и обнажали сердце. Через его желудочек в дугу аорты вводили канюлю с целью перфузии раствором Рингера для холоднокровных, насыщенным карбогеном (96% O₂ и 4% CO₂) и охлажденным до 10 – 18⁰ С. Череп вскрывали с дорсальной стороны. Электрическое раздражение передней ветви VIII нерва осуществлялось одиночными прямоугольными ударами постоянного тока (0.1 – 0.2 мс; 0.05 – 0.4 мА) посредством серебряных всасывающих электродов. Краниотомией обнажался также мозжечок. Под визуальным контролем на поверхность аурикулярной области мозжечка осторожно прикладывались серебряные биполярные шариковые электроды [16, 18]. Для электрического раздражения аурикулярной области мозжечка применялись те же параметры тока, что и в отношении передней ветви VIII нерва. С целью внутриклеточного отведения электрической активности нейронов ВЯК использовались сточенные стеклянные микроэлектроды, заполненные раствором 2М лимоннокислого калия, с сопротивлением 10 – 20 МΩ. Проводился компьютерный анализ данных. Пробеги луча осциллографа сохранялись в компьютере для последующей обработки посредством аналого-цифровой конвертации. Приведены среднеарифметические стандартные отклонения показателей.

Результаты и обсуждение. Внутриклеточная активность зарегистрирована в 125 вестибулярных нейронах. Электрическое раздражение вестибулярного нерва вызывало химически передаваемые возбуждающие постсинаптические потенциалы (ВПСП). Вестибулярные нейроны идентифицировались на основании ВПСП (рис.1, А, 1, 3; Б, 1, 3), возникающих в ответ на раздражение ипсилатерального (по отношению к вестибулярному ядру) вестибуляр-

ного нерва и синаптической активации тех же нейронов, при стимуляции аурикулярной области коры мозжечка.

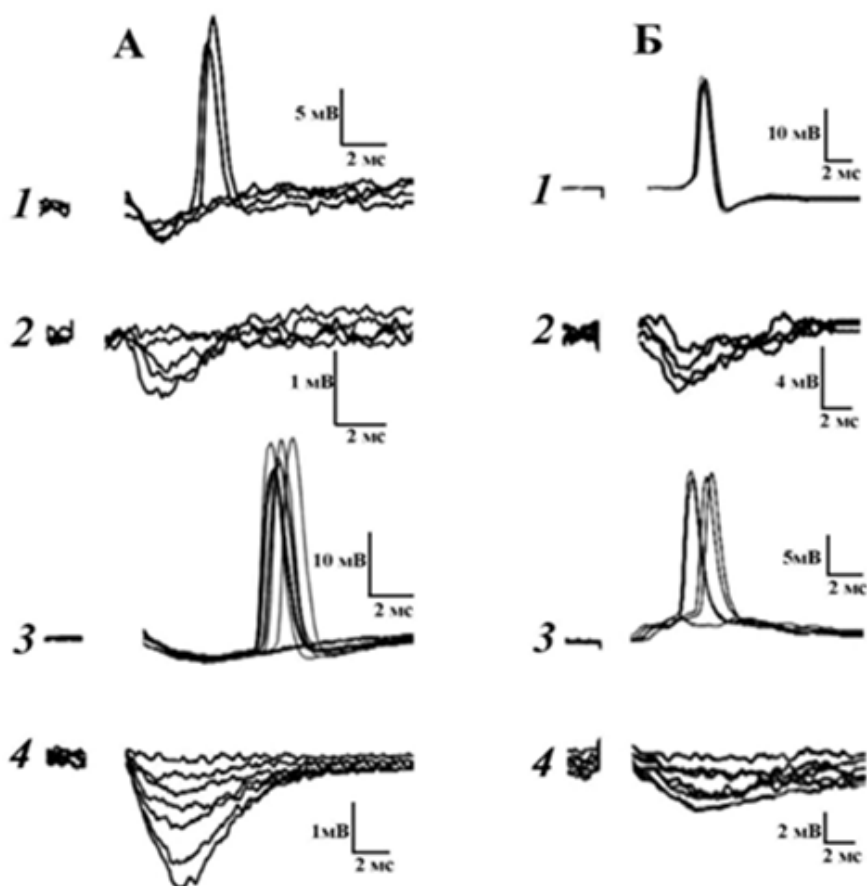


Рис. 1. Синаптическая активация четырех нейронов вестибулярного ядерного комплекса на раздражение ипсилатеральной аурикулярной области мозжечка:
 А, 2, 4 – моносинаптические, Б, 2, 4 – полисинаптические ТПСП при различной интенсивности стимуляции ипсилатеральной аурикулярной области коры мозжечка;
 А, 1, 3; Б, 1, 3 – ВПСП тех же нейронов вестибулярного ядерного комплекса на раздражение передней ветви вестибулярного нерва с целью их идентификации.

Одинокое раздражение коры мозжечка в 110 вестибулярных нейронах вызывало тормозные постсинаптические потенциалы (ТПСП) (рис. 1, А, 2, 4; рис. 2) со скрытым периодом 1.54 – 2.92 мс (в среднем 2.26 ± 0.39 мс; $n=110$). Их амплитуда достигала в среднем 1.37 ± 0.48 мВ (0.72 – 3.44 мВ; $n=97$), время нарастания до максимума составляло 1.38 – 4.14 мс (в среднем 2.73 ± 0.64 мс; $n=108$). Общая длительность колебалась в пределах 5.35 – 12.66 мс (в среднем 8.89 ± 1.54 мс; $n=110$). Продолжительность скрытого периода ТПСП и время нарастания амплитуды до максимума испытывали незначительные изменения при различных

интенсивностях раздражения коры мозжечка. Вышеотмеченное дало основание рассматривать указанные ТПСП как моносинаптические.

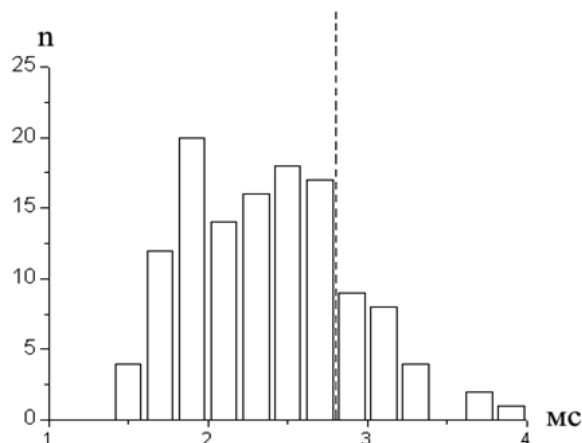


Рис. 2. Гистограмма распределения моно- и полисинаптических ТПСП, нейронов вестибулярного ядерного комплекса в ответ на раздражение ипсилатеральной аурикулярной области коры мозжечка. Прерывистая линия разделяет моно- и полисинаптические ответы. По оси абсцисс – время (в мс); по оси ординат – количество исследованных нейронов (n).

Проведенные ранее исследования показали, что синаптическая задержка в центральной нервной системе амфибий имеет величину порядка 1 мс [19, 20]. Это позволяет полагать, что зарегистрированные ТПСП генерировались моносинаптически в нейронах ВЯК, предположительно, прямой активацией аксонов клеток Пуркинье, проецирующихся в вестибулярные ядра.

Аксоны клеток Пуркинье аурикулярной доли мозжечка, проецируемые в ВЯК, у лягушки до настоящего времени морфологически не выявлены. Вместе с тем и морфологически, и электрофизиологически показано широкое распределение последних в латеральное вестибулярное ядро у высших позвоночных [13, 21], у которых наблюдается моносинаптическое торможение вестибулярных нейронов [14, 22, 23].

В 15 нейронах ВЯК в ответ на раздражение аурикулярной зоны коры мозжечка зарегистрированы ТПСП, характеризующиеся большей величиной и нестабильностью скрытых периодов, при различной интенсивности стимуляции, в пределах 3 – 3.89 мс (в среднем 3.25 ± 0.27 мс; $n=15$) (рис. 1, Б, 2, 4; рис. 2). Амплитуда достигала максимума в среднем 1.27 ± 0.54 мВ (0.79 – 2.73 мВ; $n=13$). Длительность времени нарастания ТПСП до максимума колебалась в широких пределах 2.19 – 4.38 мс (в среднем 2.87 ± 0.62 мс; $n=14$). Общая длительность зарегистрированных тормозных потенциалов составляла 6.65 – 10.71 мс

(в среднем 9.24 ± 1.08 мс; $n=13$) (рис.1, Б, 2). Отмеченные выше временные характеристики исследованных ТПСП указывают на их полисинаптическое происхождение.

Возможно, что описанные длиннolatентные ТПСП были вызваны косвенной активацией клеток Пуркинье через параллельные волокна [15, 24, 25]. Как отмечают Магерини и др [16], скрытый период вышеописанных коротко- и длиннolatентных ТПСП может зависеть не только от интенсивности стимуляции, но и локализации раздражающего электрода, т.к. некоторые нейроны ВЯК реагируют моносинаптически при очень слабой стимуляции коры мозжечка, а другим необходим сильный стимул. Малые размеры мозжечка лягушки и близость аурикулярной дольки от ножки мозжечка не дают возможности точно определить месторасположение мозжечково-вестибулярных клеток Пуркинье. Согласно указанным авторам, при перемещении раздражающего электрода ближе к средней линии мозжечка количество регистрируемых ТПСП в ВЯК снижалось. Это указывает на то, что аурикулярная долька мозжечка как у лягушки, так и у высших позвоночных посылает аксоны клеток Пуркинье в вестибулярные нейроны. Важно отметить, что вестибулярные нейроны, тормозящиеся в ответ на раздражение аурикулярной дольки мозжечка, локализовались в тех областях ВЯК, в которых регистрировались четко выраженные ВПСП на стимуляцию ипсилатерального вестибулярного нерва.

Известно, что вестибулярные нейроны лягушки, посылающие свои аксоны к различным отделам спинного мозга, не группируются вместе в поля, как у млекопитающих, которые характеризуются достаточно четкими очертаниями и в то же время значительным перекрытием люмбо-сакральных грудных и шейных областей ядра Дейтерса [26, 27]. Есть первичные сведения, что часть вестибулярных нейронов, тормозящихся клетками Пуркинье, посылает свои аксоны в спинной мозг. Снятие влияния тонического мозжечкового торможения может частично объяснить нарушение позы мозжечково-эктомированных амфибий [28].

В настоящее время мало известно о функциональной роли мозжечкового торможения вестибулярных нейронов у лягушки. Известно, что аурикулярные клетки Пуркинье отвечают за естественную стимуляцию полукружных каналов [16, 29]. Поскольку аурикулярная стимуляция моносинаптически тормозит вестибулярные нейроны [15], можно полагать, что мозжечок у лягушки, как и у высших позвоночных, участвует в модуляции вестибулоокулярных рефлексив.

Член–корреспондент НАН РА Л. Р. Манвелян, А. М. Насоян, Д. О. Терзян

О влиянии мозжечка на электрическую активность нейронов вестибулярного ядерного комплекса лягушки

В экспериментах на препарате перфузируемого мозга лягушки исследовались внутриклеточные потенциалы нейронов вестибулярного ядерного комплекса (ВЯК) в ответ на раздражение ипсилатеральной аурикулярной зоны коры мозжечка. Выявлено, что раздражение клеток Пуркинье вызывало моно- и полисинаптические тормозные постсинаптические потенциалы в нейронах ВЯК.

Corresponding member of NAS RA L. R. Manvelyan, A. M. Nasoyan, D. O. Terzyan

The Influence of the Cerebellum on the Electrical Activity of Neurons in the Vestibular Nuclear Complex of Frogs

In experiments on the perfused frog brainstem intracellular potentials of neurons of the vestibular nuclear complex (VNC) in response to stimulation of ipsilateral auricular lobe of the cerebellar cortex were studied. It was established that stimulation of Purkinje cells evoked mono- and polysynaptic inhibitory postsynaptic potentials in the VNC neurons.

ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ Լ. Ռ. Մանվելյան, Ա. Մ. Նասոյան, Դ. Օ. Թերզյան

Գորտի անդաստակային կորիզային համակարգի նեյրոնների էլեկտրական ակտիվության վրա ուղեղիկի ազդեցության մասին

Գորտի պերֆուզացվող ուղեղի պրեպարատի վրա կատարված փորձերում ուսումնասիրվել են անդաստակային կորիզային համակարգի (ԱԿՀ) նեյրոնների ներքջային պոտենցիալները՝ ի պատասխան ուղեղիկի կեղևի նույն կողմի լսողական շրջանի գրգռման: Հայտնաբերված է, որ Պուրկինյեի բջիջների դրդումն առաջացնում է մոնո- և պոլիսինապտիկ արգելակիչ հետսինապտիկ պոտենցիալներ ԱԿՀ նեյրոններում:

Литература

1. *Larsell O.* The Comparative Anatomy and Histology of the Cerebellum from Myxinoidea through Birds. - Minneapolis: University of Minnesota Press, 1967.
2. *Montgomery N. M.* - Evol. 1988. V. 31. P. 82 – 95.
3. *Փանրձյան Բ. Բ.* - Успехи физиологических наук. 2002. Т. 33. С. 3 – 16.

4. *Highstein S. M., Holstien G. R.* - Prog. Brain Res. 2006. V. 151. P. 157-203.
5. *Matesz C., Kovalicz G., Veress G., Deák A., Rácz E, Bácskai T.* - Brain Res. Bull. 2008. V. 75. P. 2-4.
6. *Deák A., Bácskai T., Veress G., Matesz C.* - Brain Res. 2009. V. 1286. P. 60-65.
7. *Kappers A. C. U., Huber G. C., Crosby E. C.* The Comparative Anatomy of the Nervous system of Vertebrates, Including Man. - New York: Hafner 1960. V. 1.
8. *Wilson V. J., Melvill Jones G.* Mammalian Vestibular Physiology. - New York: Plenum, 1979.
9. *Фанарджян В. В., Манвелян Л. Р., Погосян В. И., Закарян В. Л., Арутюнян Э. Ю., Насоян А. М.* - Журн. эволюционной биохимии и физиологии. 1998. Т. 34. С. 471 – 479.
10. *Varmack N. H.* - Brain Res. Bull. 2003. V. 60. P. 5-6.
11. *Гранит Р. (Granit R.).* Основы регуляции движений. - Изд-во “Мир”, Москва, 1973.
12. *Angaut P., Brodal A.* - Arch. Ital. Biol. 1967. V. 105. P. 441-479.
13. *Ito M., Yoshida M.* - Experimentia (Basel). 1964. V. 20. P. 515-516.
14. *Hillman D. E.* - Exp. Brain Res. 1969. V. 9. P. 1-15.
15. *Llinás R., Precht W.* - Exp. Brain Res. 1969. V. 9. P. 16-29.
16. *Magherini P. C., Giretti M. L., Precht W.* - Arch. 1975. V. 356. P. 99-109.
17. *Погосян В. И., Фанарджян В. В., Манвелян Л. Р.* - Журн. Эвол. Биохимии и физиологии. 1997. Т. 5. С. 164-173.
18. *Kemali M., Braitenberg V.* Atlas of the Frog's Brain. - Springer- Verlag. Berlin, Heidleberg, New York. 1969.
19. *Brookhart J. M., Fadiga E. J.* - Physiol. (Lond.) 1960. V. 150. P. 633-655.
20. *Precht W., Richter A., Ozawa S., Shimazu H.* - Exp. Brain Res. 1974. V. 19. P. 377-393.
21. *Senn D., Goodman D. C.* Patterns of localization in the cerebellar corticofugal projections of the alligator (*Caiman sclerops*). - Chicago: Amer. Med. Assn. Educ. and Res. Fdn. R. Llinás, ed., 1969. P. 475-489.
22. *Фанарджян В. В., Саркисян В. А.* – Нейрофизиология. 1979. Т. 11, № 1. С. 54-64.
23. *Fukuda J., Highstein S. M., Ito M.* - Exp. Brain Res. 1972. V. 14. P. 511-526.
24. *Eccles J. C., Llinás R., Sasaki K.* - Exp. Brain Res. 1966. V. 1. P. 17-39.

25. *Llinás R., Bloedel J. R., Hillman D. E.* - J. Neurophysiol. 1969. V. 32. P. 847-870.
26. *Pompeano O., Brodal A.* - Arch. Ital. Biol. 1957. V. 95, № 2. P. 166-195.
27. *Фанарджян В. В., Манвелян Л. Р., Насоян А. М.* - Журн. эвол. биохимии и физиологии. 2001. Т. 37. № 6. С. 480-485.
28. *Abbie A. A., Adey W. R.* - J. Comp. Neurol. 1950. V. 92. P. 242-291.
29. *Llinás R., Precht W., Clarke M.* - Exp. Brain Res. 1971. V. 13. P. 408-431.