

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.44.018:616.893-053.8-092.9

М. А. Даниелян, В. А. Чавушян

Электрофизиологическое исследование синаптической активности центральных норадренэргических нейронов при стимуляции гипоталамического ядра на модели иммобилизационного стресса

(Представлено чл.-кор. НАН РА Л.Р. Манвеляном 28/VI 2012))

Ключевые слова: *спайковая активность нейронов locus coeruleus, иммобилизационный стресс.*

Известна значительная способность головного мозга – центрального органа стресса проявлять обратимую структуральную и функциональную пластичность, включающую нейрональное замещение, дендритное и синаптическое ремоделирование [1]. Паравентрикулярное ядро (ПВЯ) гипоталамуса и голубое пятно (ГП) являются ключевыми структурами, вовлеченными в стресс-реакции для обеспечения адаптивных и патологических реакций организма.

В контроллинге физиологического ответа на стресс большую роль играет ПВЯ гипоталамуса, модулирующее следующие стресс-эффектор-ные системы: 1) гипофизотропные нейроны ПВЯ, контролирующие гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальную ось; 2) магноцеллюлярные нейроны и секретируемые ими нейрогипофизарные пептиды; 3) проецируемые в мозговой ствол и спинной мозг нейроны, регулирующие автономную функцию. При длительном стрессе ПВЯ координирует ответы множества стресс-эффекторных систем и, возможно, играет роль как в адаптации, так и в патологии хронического стресса [2]. Показано, что индуцированная хроническим стрессом морфологическая пластичность нейронов ПВЯ вызывает морфологические изменения и преобразования ГАМК- и глутаматэргической иннервации [2].

В когнитивный аспект стрессорного ответа вовлечено норадренэргическое ядро LC, частично регулируемое стресс-ассоциированным нейропептидом – кортикотропинрелизинг фактором (CRF). Показано, что изме-

нение баланса CRF может быть причиной уязвимости к стрессу нейронов LC [3]. Электронномикроскопические исследования нейронов LC у крыс с стресс-индуцированной депрессией выявили снижение нейрональной плотности, разрушение мембран, агрегацию внутриклеточных структур и повышение микроглиальной активности, т.е. дегенерацию норадренэргических нейронов LC [4].

Хронический стресс истощает системы компенсации ряда структур ЦНС: в частности, истощение или гибель норадренэргических нейронов LC приводят к неспособности мозговых структур реально оценивать сигналы окружающей среды [5], а у людей пожилого возраста стресс индуцирует торможение нейрогенеза, ослабление выживаемости нейронов, формируя вторичный когнитивный дефицит и нарушения аффективной сферы [6].

Материал и методы. Микроэлектрофизиологические эксперименты с экстраклеточной регистрацией единичных нейронов голубого пятна проведены в группах Норма ($n=3$) и спустя 1 день ($n=2$) и 3 месяца ($n=2$) после стресса. Имобилизационный стресс вызывали в эксперименте посредством фиксации животного на спине в течение двух часов. В остром эксперименте животных обездвигивали 1%-ным дитилином (25 мг/кг в/б) и переводили на искусственное дыхание. Модель изолированного головного мозга крысы получали перерезкой спинного мозга глазным скальпелем на уровне грудных T_2 - T_3 сегментов под местным новокаиновым наркозом. После краниотомии стереотаксически ориентированный раздражающий биполярный электрод вводили в ПВЯ по координатам AP-1.08, $L\pm 0.6$, DV+7.8 мм, а стеклянный микроэлектрод с диаметром кончика 1 мкм, заполненный 2 М раствором NaCl, многократно погружали в голубое пятно по координатам AP-9.5; $L\pm 1.5$ -3.5; DV+7.8 мм. Высокочастотную стимуляцию (ВЧС) (100 Гц в течение 1 с) осуществляли посредством прямоугольных толчков тока длительностью 0.05 мс и амплитудой 0.16 – 0.18 мА. В онлайн режиме импульсный поток после регистрации подвергался программному анализу, с последующим выводом «растера» пре- и постстимульного спайкинга активности единичных нейронов, распределенных в реальном времени и построенных на их основе усредненных частотных и куммулятивных гистограмм с данными многоуровневой статистической обработки дифференцированно для престаимпульного и постстимульного времени, а также на период ВЧС.

Результаты и их обсуждение. У интактных животных при ВЧС ипсилатерального ПВЯ экстраклеточной регистрацией фоновой и вызванной спайковой активности одиночных нейронов ГП ($n=116$) выявлены: возбудительные ответы в виде тетанической и посттетанической потенциации (ТП и ПТП 34.48 %), тормозные ответы в виде тетанической и посттетанической депрессии (ТД и ПТД 23.28 %), одновременно ингибиторные и возбудительные компоненты ответов (ТД+ПТП 42.24 %) (рис. 1, Ж). После стресса в нейронах ГП нарушение баланса ингибиторных и возбудительных ответов характеризуется доминированием ТД+ПТП ответов (40 из 72 = 55.5%) спустя 1 день и ТД+ПТД ответов (26 из 56 = 46.4%) спустя 3

месяца после стресса, а также наличием ТП+ПТД ответов (6 из 56= 10.7%), отсутствующих в группе Норма (рис. 1, Ж).

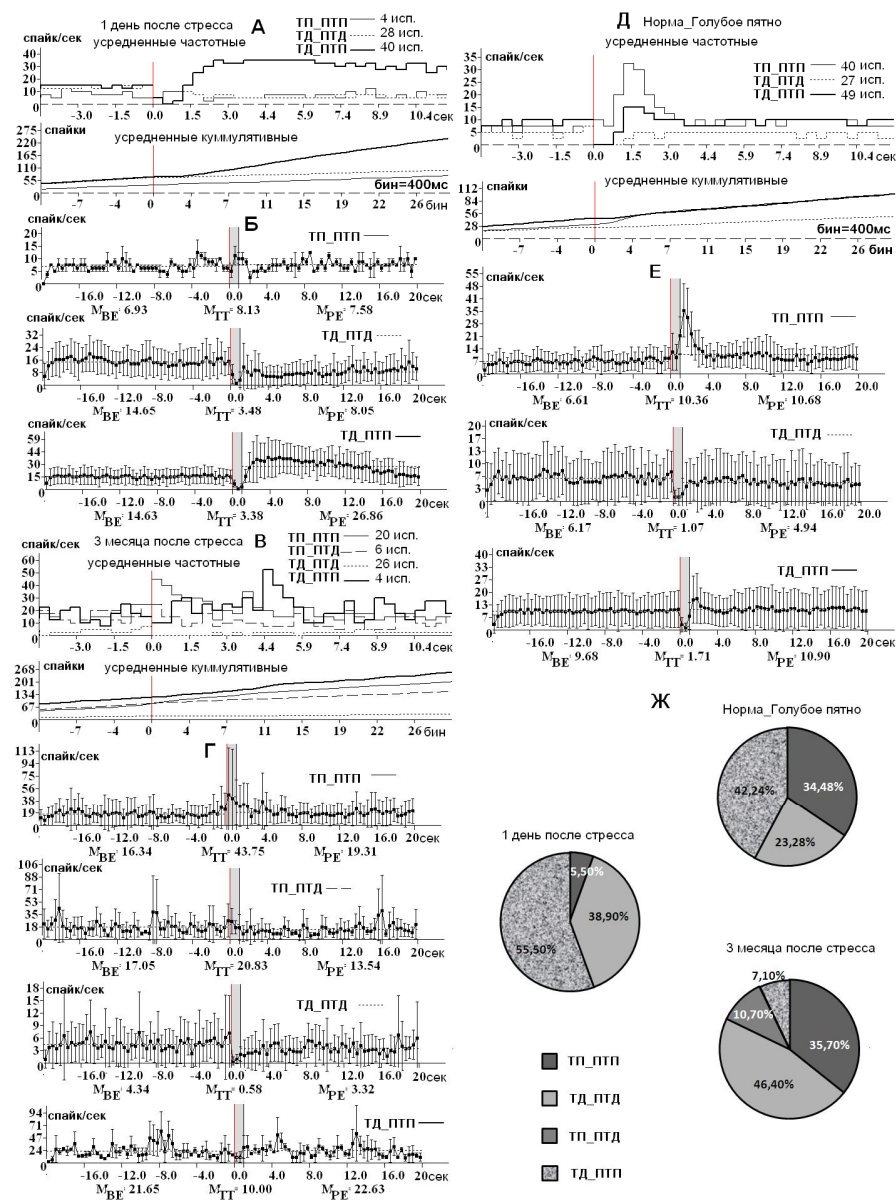


Рис. 1. А, В, Д – перистимульные усредненные частотные и куммулятивные гистограммы для нейронов голубого пятна с возбудительными и тормозными ответами на стимуляцию паравентрикулярного ядра в группах Норма (Д), 1 день (А) и 3 месяца (Б) после стресса. Б, Г, Е – перистимульные диаграммы средней частоты, построенные на основе пре- и постстимульной спайковой активности n-го количества единичных нейронов ГП при ВЧС ПВЯ в реальном времени 20 с до (M_{BE}) и 20 с

после (M_{PE}) стимуляции (в течение 1 с – M_{TT}) в группах Норма (Е), 1 день (Б) и 3 месяца (Г) после стресса. Сокращения: ВЕ (before event) – временной отрезок до стимуляции, РЕ (post event) – временной отрезок после стимуляции, ТТ (time tetanization) – время тетанизации; исп. – число испытаний, в которых зарегистрирован данный тип эффектов в данной группе; ордината – спайки в с или среднее число спайков во временной последовательности (с, бин), указанной по оси абсцисс. Ж – Процентное долевое соотношение нейронов с указанными типами ответов в тех же экспериментальных группах.

Представленные результаты в целом согласуются с имеющимися данными о роли Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов в стресс-индуцированных функциональных изменениях ЦНС [7], а также с концепцией автоингибиторного контроля активности ЛС при хронических стресс-индуцированных изменениях, когда изменения электрофизиологических свойств нейронов ЛС способствуют стресс-индуцированной сенситизации центральной норадренэргической функции *in vivo* [8].

Таким образом, спустя 1 день после стресса наиболее уязвимыми оказались нейроны, проявляющие ТП+ПТП ответы, поскольку их долевое соотношение в общем объеме зарегистрированных единиц составило 5.5 % против 34.48 % в норме, в то время как доля популяции нейронов с ТД+ПТП ответами доминирует, как и в норме. Спустя 3 месяца адаптивные изменения спайковой вызванной активности проявились в виде: 1) восстановления до нормы долевого соотношения нейронов с возбудительными ответами (35.7 и 34.48 % соответственно); 2) минимизации доли нейронов с ТД+ПТП ответами (7.1%) против максимальной доли таковых в норме (42.24%) (рис.1, Ж). Иными словами нарушение баланса типов ответов более выражено на 3-м месяце после стресса, и при этом следует отметить увеличение доли тормозных типов ответов (согласно рис. 1, Ж). К основным центральным стресс-лимитирующим системам относят ГАМКэргическую систему ЦНС [9], а также опиоидэргическую систему, объединяющую нейроны гипоталамуса и секреторные клетки гипофиза, продуцирующие опиоидные пептиды [10], которые также оказывают тормозные воздействия на нейроны головного и спинного мозга. Что же касается выраженности ответов, то спустя 1 день после стресса наиболее выражены ПТП ответы в популяции нейронов с ТД+ПТП ответами (согласно усредненным частотным и куммулятивным гистограммам на рис. 1, А). На 3-м месяце после стресса в популяции нейронов с ТП+ПТП ответами возбудительные ответы выражены больше в 2.7 раза ($43.75/16.34$ спайк/с), что превышает таковые в норме ($10.68/6.61 = 1.6$ раза). Анализ результатов дает основание заключить, что характерной особенностью спайкового потока нейронов ГП после стресса является высокий уровень средней частоты фоновой/престимульной активности (согласно M_{BE} на рис. 1, Б, Г). Известно, что CRF и опиоидные афференты вовлекаются в стресс для точного регулирования активности ЛС, и элиминация/исключение антагонистической комбинации воздействия CRF и опиоидов приводит активность ЛС в состояние неаффертирования/немодифицирования стрессорами [3]. При этом превалирующее воздействие CRF переключает операционную

моду активности LC в направлении высокого тонического состояния, которое, как предполагается, способствует поведенческой гибкости и адаптации [3].

Представленные результаты в целом согласуются с имеющимися данными о роли Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов в стресс-индуцированных функциональных изменениях ЦНС [7], а также с концепцией автоингибиторного контроля активности LC при хронических стресс-индуцированных изменениях, когда изменения электрофизиологических свойств нейронов LC способствуют стресс-индуцированной сенситизации центральной норадренэргической функции in vivo [8].

Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА

М. А. Даниелян, В. А. Чавушян

Электрофизиологическое исследование синаптической активности центральных норадренэргических нейронов при стимуляции гипоталамического ядра на модели иммобилизационного стресса

Получены данные о функциональной пластичности синаптической активности нейронов голубого пятна (ГП) при высокочастотной стимуляции ПВЯ в условиях иммобилизационного стресса. Характерной особенностью спайкового потока нейронов ГП после стресса являются высокий уровень средней частоты фоновой/престимульной активности и нарушение баланса типов ответов, с увеличением доли тормозных ответов, более выраженным на 3-м месяце после стресса.

Մ. Հ. Դանիելյան , Վ. Ա. Չավուշյան

Բնորոշիչացիոն սթրեսի մոդելի վրա հիպոթալամուսի կորիզի խթանման պայմաններում կենտրոնական նորադրեներգիկ նեյրոնների սինապտիկ ակտիվության էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրություն

Ստացվել են տվյալներ՝ սթրեսից հետո պարավենտրիկուլյար կորիզի բարձր հաճախականությամբ գրգռման պայմաններում կապուլտ բժի նեյրոնների սինապտիկ ակտիվության ֆունկցիոնալ պլաստիկականությանը վերաբերող: Կապուլտ բժի նեյրոնների իմպուլսային հոսքին բնորոշ են միջին հաճախականության բարձր մակարդակ՝ սենսիտիզացիայով պայմանավորված, և պատասխանների տեսակների հաշվեկշռի տեղաշարժ հոգուտ արգելակիչների՝ առավել արտահայտված սթրեսից 3 ամիս անց:

M. H. Danielyan, V. A. Chavushyan

Electrophysiological Study of Synaptic Activity of Central Noradrenergic Neurons during Stimulation of Hypothalamic Nucleus in Model of Immobilization Stress

Data about functional plasticity of synaptic activity of locus coeruleus neurons under high frequency stimulation of paraventricular nucleus in condition of immobilization stress were obtained. The characteristic features of spike flow of locus coerule-

us neurons following stress are the high level of mean frequency of the background/prestimulus activity and disbalance of types of responses with an increase in the proportion of inhibitory responses, more expressed at the 3d month after stress.

Литература

1. *McEwen B.S., Eiland L., Hunter R. G., Miller M. M.* - Neuropharmacology. 2012. V. 62. N 1. P. 3-12.
2. *Herman J.P., Flak J., Jankord R.* - Prog Brain Res. 2008. V. 170. P. 353-364.
3. *Curtis A.L., Leiser S.C., Snyder K., Valentino R.J.* - Neuropharmacology. 2012. V. 62. N 4. P. 1737-1745.
4. *Kitayama I.T., Otani M., Murase S.* - Ann N Y Acad Sci. 2008. V. 1148. P. 95-98.
5. *Arango V., Underwood M.D., Mann J.J.* - Biol. Psychiatry. 1996. V. 39. N 1. P. 112-120.
6. *Lupien S.J., McEwen B.S., Gunnar M.R., Heim C.* - Nat. Rev. Neurosci. 2009. V. 10. N 6. P. 434-445.
7. *Guo Y.Y., Liu S.B., Cui G.B., Ma L., Feng B., Xing J.H., Yang Q., Li X.Q., Wu Y.M., Xiong L.Z., Zhang W., Zhao M.G.* - J. Physiol. 2012. V. V. 590. Pt 4. P. 875-886.
8. *Jedema H.P., Grace A.A.* - Neuropsychopharmacology. 2003. V. 28. N 1 P. 63-72.
9. *Андреев Б.В., Ипатов Ю.Д., Никитина З.С., Сытинский И.А.* - Журн. высш. нервн. деят. 1982. Т. 32. Вып. 3. С. 511-519.
10. *Пиенникова М.Г.* - Пат. физиол. 1987. № 3. С. 85-90.