

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.8; 615.919; 616.858

Л. М. Хачатрян, М. В. Погосян, М. А. Даниелян,
Дж. С. Саркисян

**О соотношении возбудительных и депрессорных процессов
в корковой проекции к ретикулярному отделу черной
субстанции на модели болезни Паркинсона**

(Представлено чл.-кор. НАН РА Л. Р. Манвеляном 16/VI 2021)

Ключевые слова: *ротеноновая модель болезни Паркинсона, первичная моторная кора мозга, компактный и ретикулярный отделы черной субстанции.*

Введение. Черная субстанция (SN) осуществляет регуляцию базальных ганглиев (БГ) через нигро-стриатный путь. При повреждениях SN развиваются различные нейрологические и нейропсихиатрические болезни, в частности, болезнь Паркинсона (БП) [1]. В [2-4] продемонстрирована обширная подкорковая сеть для компактного и ретикулярного (SNr) отделов SN. В [5] описаны связи SN с различными отделами коры и подкорковых структур. В обширных изучениях на грызунах показано, что корковый контроль среднего мозга прямо или косвенно управляет или модулирует допаминергические (DA) клетки [6]. В [7] проведена оценка *in vivo* у человека корковых связей SN с префронтальной корой, пре- и постцентральной извилиной и верхней париетальной долей, что может помочь пониманию природы таких нейрологических болезней, как БП, шизофрения и др. Тем самым подкреплена гипотеза, что SN не только часть сети подкорковых БГ, но также связана с корой посредством дополнительного параллельного круга. В ходе трактографических исследований обнаружено наличие кортико-нигрального пути у людей [7]. Там же продемонстрировано наличие прямой анатомической кортико-нигральной связи у людей, уже широко описанной у кошек, грызунов и приматов.

В настоящей работе исследована выраженность кортико-нигральных связей на примере соотношения возбудительных и депрессорных процес-

сов в нейронах SNr при активации первичной моторной коры мозга (M1) в норме и на модели БП.

Материал и методы. Проводили электрофизиологические исследования на 14 крысах-самцах линии Альбино (250 г) в двух сериях экспериментов: интактных (n=7) и на модели БП, индуцированной унилатеральным введением ротенона и выдержанной 4 недели (n=7). Введение ротенона осуществляли в условиях нембуталового наркоза (40 мг/кг, в/б, 12 μ г в 0.5 μ л димексида, со скоростью 1 μ л/мин) в medial forebrain bundle по координатам стереотаксического атласа [8] (AP+0.2; L \pm 1.8; DV+8 мм). Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями руководства ARRIVE [9]. В стереотаксическом аппарате производили трепанацию черепа от брегмы до лямбды и вскрывали твердую мозговую оболочку. После краниотомии раздражающий электрод вживляли в ипсилатеральную M1 по стереотаксическим координатам (AP+2.1, L \pm 2.6, DV+1.6 мм), а стеклянные микроэлектроды с диаметром кончика 1-2 μ М, заполненные 2 М NaCl, вводили в SNr (AP-5.1, L \pm 2.0, DV+8.6 мм) для экстраклеточной регистрации спайковой активности одиночных нейронов. Осуществляли высокочастотную стимуляцию M1 посредством прямоугольных толчков тока (длительностью 0.05 мс, амплитудой 0.12–0.18 мВ, силой тока 0.32 мА и частотой 100 Гц в течение 1 с). Операции осуществляли на наркотизированных уретаном животных (уретан 1.5 г/кг в/б). Была зарегистрирована импульсная активность 316 нейронов.

Активность проявлялась в виде тетанических потенциации (ТП) и депрессии (ТД) с посттетаническими (ПТП и ПТД). Проводили программный математический анализ импульсной активности нейронов в режиме online. Использовали построения комплексных усредненных и суммированных перистимульных временных гистограмм (РЕТН) числа потенциалов действия с разностной кривой и гистограмм частоты с вычислением средней частоты потенциалов действия. Однородность двух независимых выборок контролировалась t-критерием Стьюдента. Сравнение критических значений с таковыми нормального распределения при уровнях 0.05, 0.01 и 0.001 показало, что в большинстве случаев спайкинга статистически значимое изменение достигало как минимум уровня 0.05.

Результаты и обсуждение. Проведен сравнительный анализ импульсной активности одиночных нейронов SNr (316 нейронов, n=14) при высокочастотной стимуляции (ВЧС) M1 в норме (135 нейронов, n=5) и на модели БП (184 нейрона, n=7). Оценивалась степень выраженности эффектов с помощью диаграмм усредненной частоты потенциалов действия нейронов SNr при ВЧС M1. Были получены значения (рис. 1, 2), представленные в виде дисковых диаграмм для оценки степени выраженности в процентах (рис. 3).

В нейронах SNr при ВЧС M1 значения понижения ТД и повышения ТП престаимульной активности в норме. В депрессорной последовательности ТД достигала 2.05-кратного занижения, в депрессорно-возбуди-

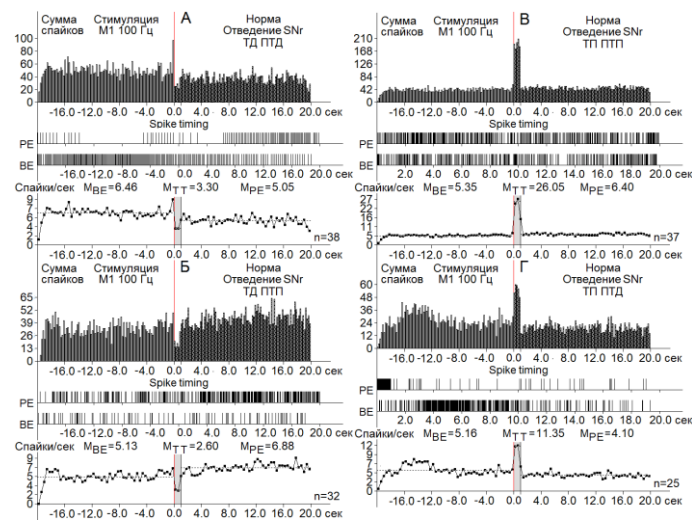


Рис. 1. Гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных депрессорных проявлений активности (А), депрессорно-возбудительных (Б), возбудительных (В), в сочетании с депрессорными – ТП ПТД (Г) в реальном времени 20 с (до и после стимуляции) нейронов SNr, вызванных ВЧС М1 в норме. Здесь и в следующем рисунке: диаграммы частоты спайков, представленных в гистограммах, с усредненными значениями (М) для временных отрезков до стимуляции (ВЕ – before event), на время тетанизации (ТТ – time tetanization) и после стимуляции (РЕ – post event). Справа от диаграмм – количество испытаний (n).

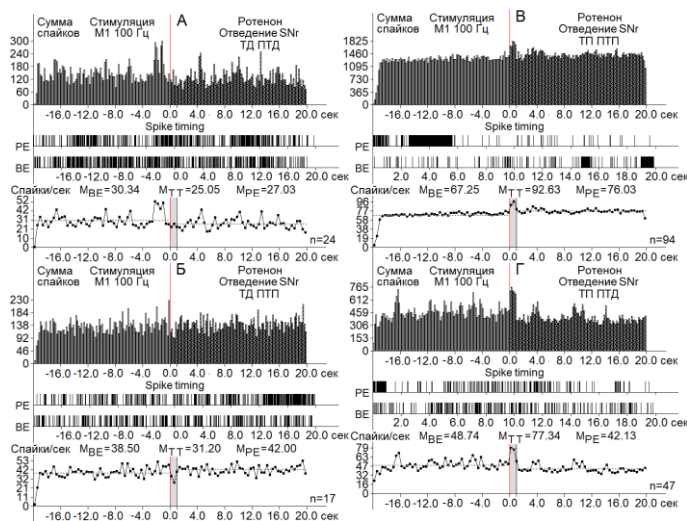


Рис. 2. Гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных депрессорных проявлений активности (А), депрессорно-возбудительных (Б), возбудительных (В), в сочетании с депрессорными – ТП ПТД (Г) в реальном времени 20 с (до и после стимуляции) нейронов SNr, вызванных ВЧС М1 на модели БП. Справа от диаграмм – количество испытаний (n).

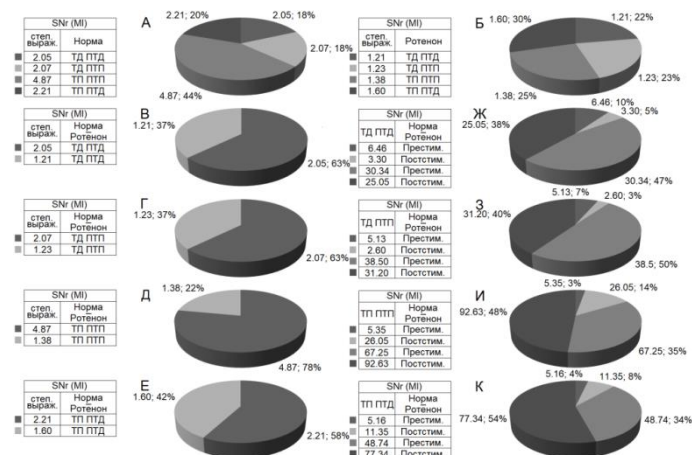


Рис. 3. А-К – процентное соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) депрессорных (А), депрессорно-возбудительных (Б), возбудительных (В) и возбудительно-депрессорных (Г) постстимульных эффектов, а также частоты пре- и постстимульной активности в одиночных нейронах SNr на ВЧС М1 в норме и на модели БП. Обозначения: степ. выраж. – степень выраженности, престим. – престоимительный, постстим. – постстимульный.

тельной – 2.07-кратного (рис. 1, А, Б; 3, А). В возбудительной последовательности ТП исчислялась в пределах 4.87-кратного завышения, а в возбудительно-депрессорной – 2.21-кратного (рис. 1, В, Г; 3, А). Иными словами, ТП в нейронах SNr оказалась выше ТД. На модели БП ТД в обеих последовательностях достигала лишь 1.21- и 1.23-кратного занижения активности (рис. 2, А, Б; 3, Б-Г). Однако ТП в обеих последовательностях также исчислялась в небольших пределах, порядка 1.38- и 1.60-кратного превышения (рис. 2, В, Г; 3, Б, Д, Е), т.е. уровни как депрессорной, так и возбудительной постстимульной активности оказались на модели БП ниже нормы.

На модели БП в нейронах SNr при ВЧС М1 уровни частоты престоимительной активности в депрессорных последовательностях определялись в пределах 30.34 и 38.5 против 6.46 и 5.13 в норме, тем самым превысив норму порядка 4.7- и 7.5-кратно (рис. 1, 2; 3, Ж, З). На модели БП частота активности нейронов SNr в возбудительных последовательностях достигала 67.25 и 48.74 против 5.35 и 5.16 в норме, т.е. в 12.57 и 9.44 раза превышала норму (рис. 1, 2; 3, И, К). На модели БП постстимульная частота активности нейронов SNr в депрессорных последовательностях исчислялась в пределах 25.05 и 31.2 против 3.3 и 2.6 в норме (7.73- и 12-кратно выше нормы), а частота в возбудительных последовательностях, соответственно, в пределах 92.63 и 77.34 против 26.05 и 11.35 в норме (3.55- и 6.81-кратно выше нормы) (рис. 3, Ж-К). Иными словами, уровни как пре-, так и постстимульной частоты активности нейронов SNr в патологии показали мощное превышение по сравнению с нормой, больше со

стороны престаимпульной фоновой активности, что свидетельствует об эксайтотоксичности.

Согласно современным представлениям, эксайтотоксичность при НБ является результатом сверхактивации глутаматных NMDA и AMPA рецепторов, содействующей серьезному повреждению нейронов [11] с их гибелью [12, 13]. Возникает она в результате неизбежного развития целого ряда отрицательных явлений, включающих нарушение кальциевой буферизации, генерацию свободных радикалов, активацию митохондриальной проницаемости и вторичной эксайтотоксичности [14]. С целью их предотвращения необходимы восстановление и углубление депрессорных эффектов протекторного назначения и снижение чрезмерных возбуждательных [10].

Заключение. Анализ изменений вышеотмеченных депрессорных и возбуждательных эффектов на основе диаграмм усредненной частоты спайков, представленных в виде дисковых диаграмм (в %), привел к следующим выводам. В нейронах SNr при активации M1 в целом как депрессорные, так и возбуждательные постстимульные реакции оказались резко завышенными, что свидетельствует о выраженности корковой проекции к SNr. Более того, выявлена невысокая ранимость депрессорных постстимульных проявлений активности нейронов SNr в условиях патологии, с формированием эксайтотоксичности. На модели БП нейроны SNr сохраняют депрессорные постстимульные реакции, хотя и сниженные. При этом снижены и возбуждательные реакции, что свидетельствует также о меньшей подверженности нейронов SNr эксайтотоксичности.

Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА
e-mail: avanecmisha@yahoo.com

Л. М. Хачатрян, М. В. Погосян, М. А. Даниелян, Дж. С. Саркисян

О соотношении возбуждательных и тормозных синаптических процессов в корковой проекции к ретикулярному отделу черной субстанции на модели болезни Паркинсона

Проведен анализ импульсной активности одиночных нейронов substantia nigra reticulata (SNr; 316 нейронов) в ответ на высокочастотную стимуляцию первичной моторной коры мозга в норме и на модели болезни Паркинсона (БП). Анализировалась степень частотной выраженности депрессорных и возбуждательных эффектов. На модели БП степень частотной выраженности депрессорной и возбуждательной активности оказалась ниже нормы. Фоновая импульсная активность довольно высока по сравнению с нормой, что свидетельствует об эксайтотоксичности. В нейронах SNr в норме как депрессорные, так и возбуждательные постстимульные реакции оказались резко выраженными, что свидетельствует о выраженности корковой проекции к SNr. На модели БП выявлено, что депрессорные эффекты в нейронах SNr снижаются не сильно. Также показано, что

возбуждаемые эффекты снижаются, что указывает на меньшую ранимость нейронов SNr при данной патологии.

**Լ. Մ. Խաչատրյան, Մ. Վ. Պողոսյան, Մ. Հ. Դանիելյան,
Ջ. Ս. Սարգսյան**

**Դրողղ և դեպրեսոր սինապտիկ պրոցեսների հարաբերակցության վերաբերյալ
սև նյութի ռետիկուլյար հատվածի կեղևային պրոյեկցիայում Պարկինսոնի
հիվանդության մոդելի վրա**

Իրականացվել է առաջնային շարժիչ կեղևի (M1) բարձր հաճախականության խթանմամբ Substantia Nigra reticulata – SNr նեյրոնների (316 նեյրոն) իմպուլսային ակտիվության վերլուծություն նորմայում և Պարկինսոնի հիվանդության (ՊՀ) մոդելի վրա: Վերլուծվել է դեպրեսոր և դրողղ էֆեկտների հաճախականության արտահայտվածության աստիճանը: ՊՀ մոդելի վրա ինչպես դեպրեսոր, այնպես էլ դրողղ ակտիվության արտահայտվածության աստիճանը նորմայից պակաս է: SNr նեյրոնների նախա- և հետստիմուլային ակտիվության հաճախականությունը հիվանդության ժամանակ նորմայի համեմատությամբ կտրուկ մեծացավ: Այն վկայում է էքսայտոտոքսիկության մասին: SNr նեյրոններում նորմայում ինչպես դեպրեսոր, այնպես էլ դրողղ հետստիմուլային ռեակցիաները կտրուկ արտահայտված են, որը վկայում է SNr-ում արտահայտված կեղևային պրոյեկցիայի մասին: Բացի այդ, ՊՀ մոդելի վրա դուրս է բերվել SNr նեյրոնների դեպրեսոր էֆեկտների մի փոքր ցածրացում: Նմանապես ցույց է տրված դրողղ էֆեկտների ցածրացում: Վերջինս վկայում է նաև SNr նեյրոնների թույլ խոցելիության մասին:

**L. M. Khachatryan, M. V. Poghosyan, M. H. Danielyan,
J. S. Sarkissian**

**About the Study of Synaptic Excitatory and Depressor Processes
Correlation at Cortical Projection to Reticular Pars of Substantia Nigra on
the Model of Parkinson's Disease**

The analyses of single neuron's impulse activity of substantia nigra reticulata – SNr (316 neurons, n=14) at high frequency stimulation of the brain primary motor cortex (M1) in norm and on the model of Parkinson's disease (PD) has been conducted. Analyses of degree of depressor and excitatory effects frequency intensity. On the model of PD the degree of both depressor and excitatory activity below normal turned out to be. The analyses of pre- and poststimulus frequency of impulse activity of SNr neurons in pathology showed powerful excess, in comparison with the norm. This attests to the excitotoxicity. In SNr neurons in norm of both depressor and excitatory poststimulus reactions sharply pronounced turned out to be, that attests to the greater intensity of cortical projection to SNr. Moreover, on the PD model it was revealed that depressor effects in SNr neurons are not significantly reduced. It has also been shown that excitatory effects are reduced. The latter testifies to the lesser vulnerability of SNr neurons in this pathology.

Литература

1. Carman J. B. – N. Engl. J. M. 1968. V. 17. P. 919–930.
2. Düzel E., Bunzeck N., Guitart-Masip M. et al. – Trends Neurosci. 2009. V. 32. P. 321 - 328.
3. Menke R. A., Jbabdi S., Miller K. L. et al. – Neuroimage. 2010. V. 52. P. 1175 - 1180.
4. Chowdhury R., Lambert C., Dolan R. J. et al. – Neuroimage. 2013. V. 81. P. 191 - 198.
5. Kwon H. G., Jang S. H. – Front. Hum. Neurosci. 2014. V. 8. P. 41.
6. Sesack S. R., Carr D. B. – Physiol. Behav. 2002. V. 77. P. 513 - 517.
7. Cacciola A., Milardi D., Quartarone A. – Brain. 2016. V. 139. Issue 9. P. e48.
8. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier. Academic Press, 5th ed. 2005. 367 p.
9. Kilkenny C., Browne W., Cuthill I. C. et al. – Animal research: Reporting *in vivo* experiments. The ARRIVE guidelines 06 July 2010.
10. Саркисян Дж.С., Погосян М.В., Даниелян М.А. и др. Назначение депрессорных синаптических процессов в условиях специфической нейродегенеративной патологии и протекции. LAP LAMBERT Academic Publishing RU. 2018. 252 с.
11. Matthew R. H., Heather L. S., Peter R. D. – NCI. 2004. V. 45. Issue 5. P. 583 - 595.
12. Lucas D. R., Newhouse J. P. – AMA Archives of ophthalmology. 1957. V. 58. № 2. P. 193 - 201.
13. Olney J. W. – Science. 1969. V. 164. № 3880. P. 719 - 721.
14. Dong Xiao-xia, Wang Yan, Qin Zheng-hong – Acta Pharmacologica Sinica. 2009. V. 30. P. 379 - 387.