

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.8; 615.919; 616.858
DOI: 10.54503/0321-1339-2022.122.4-323

М. Э. Овсепян

Импульсная активность нейронов анальгетической системы головного мозга в ходе развития паркинсонического синдрома под влиянием гидрокортизона

(Представлено чл.-кор. НАН РА Л. Р. Манвеляном 10/X 2022)

Ключевые слова: *ротеноновая модель болезни Паркинсона, Periaqueductal gray matter, Nucleus Raphe magnus, гидрокортизон.*

Введение. Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое прогрессирующее заболевание головного мозга, которое характеризуется дегенерацией дофаминергических нейронов черной субстанции и появлением телец Льюи в оставшихся нейронах этой структуры. Эта потеря нейронов, продуцирующих дофамин, приводит к заметному нарушению двигательного контроля [1]. Помимо классических двигательных нарушений, таких как гипокинезия, ригидность, тремор покоя и постуральная неустойчивость, для болезни Паркинсона характерен широкий спектр немоторных проявлений, к которым относятся вегетативные, сенсорные, психические, аффективные расстройства, нарушения сна и бодрствования. Немоторные симптомы заболевания являются следствием вовлечения в дегенеративный процесс других структур центральной и периферической нервной системы. Боль при болезни Паркинсона занимает важное место среди симптомов заболевания. Существуют данные о распространенности боли в этой популяции, которая, по оценкам, составляет до 85% [2, 3].

В настоящем исследовании проведено изучение анальгетической системы головного мозга в ходе развития паркинсонического синдрома с последующим влиянием гидрокортизона. Была изучена импульсная активность нейронов такой важной структуры этой системы, как околосредовое серое вещество (PAG). Изучались функциональные характеристики данных нейронов у нормальных крыс, у крыс, подверженных инток-

сикации ротеноном, и у крыс, подверженных интоксикации с последующим применением гидрокортизона.

Материал и методы. Проводили электрофизиологические исследования на 15 крысах-самцах линии Альбино (250 г): интактных ($n=3$), на моделях БП (унилатеральное введение ротенона с выдержанием до опыта 4 нед. ($n=4$) и в условиях моделей БП с применением гидрокортизона (14 инъекций через день в дозе 1.25 мг/кг) ($n=8$). При введении ротенона (12 мкг в 0.5 μ л димексида в «medial forebrain bundle» по координатам стереотаксического атласа [4] (AP+0.2; $L\pm 1.8$; DV+8 мм) использовался наркоз нембутал (40 мг/кг, в/б). Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями руководства ARRIVE [5]. Стеклообразные микроэлектроды с диаметром кончика 1-2 μ М, заполненные 2М NaCl, вводили в PAG согласно стереотаксическим координатам (AP-4.92; $L\pm 2.0$; DV+5.7 мм) для регистрации импульсной активности одиночных нейронов. Осуществляли высокочастотную стимуляцию (ВЧС) большого ядра шва (RMG) (AP-11.6; $L\pm 2.0$; DV+10.3 мм) 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. При регистрации импульсной активности использовался наркоз уретан (1.2 г/кг в/б).

Активность проявлялась в виде тетанической потенциации (ТП) и депрессии (ТД) с посттетаническими (ПТП и ПТД). Проведен анализ активности 241 нейрона. Использовали построения усредненных и суммированных перистимульных временных гистограмм (РЕТН) числа потенциалов действия с разностной кривой и гистограмм частоты с вычислением средней частоты потенциалов действия. Использовался t-критерий Стьюдента. Сравнение критических значений с таковыми нормального распределения при уровнях 0.05, 0.01 и 0.001 показало, что в большинстве случаев статистически значимое изменение достигало как минимум уровня 0.05.

Результаты и обсуждение. Производили регистрацию импульсной активности одиночных нейронов PAG в норме (46 нейронов, $n=3$), на модели БП (80 нейронов, $n=4$) и с протекцией гидрокортизоном (115 нейронов, $n=8$). На основе рис. 1 получены значения, представленные в виде дисковых диаграмм на рис. 2.

В норме в нейронах PAG при ВЧС RMG значения тетанической депрессии в депрессорном и депрессорно-возбудительном эффектах достигали 1.33- и 1.66-кратного понижения. Уровни тетанической потенциации в возбудительном и возбудительно-депрессорном эффектах достигали 1.87- и 1.36-кратного повышения (рис. 1, А-Г; 2, А-Г), соответственно, что свидетельствует о балансе депрессорных и возбудительных проявлений активности исследуемых нейронов.

На модели БП в условиях протекции гидрокортизоном в нейронах PAG значения ТД в депрессорном и депрессорно-возбудительном эффектах показали 2-кратное понижение. Значения ТП в возбудительном и

возбудительно-депрессорном эффектах показали 1.5-кратное повышение (рис. 1, И-М; 2, А-Г). Таким образом, на модели БП депрессорные и возбудительные эффекты понизились. После применения гидрокортизона значения депрессорных эффектов восстановились и превысили значения нормы, а в возбудительных эффектах восстановились до уровней нормы.

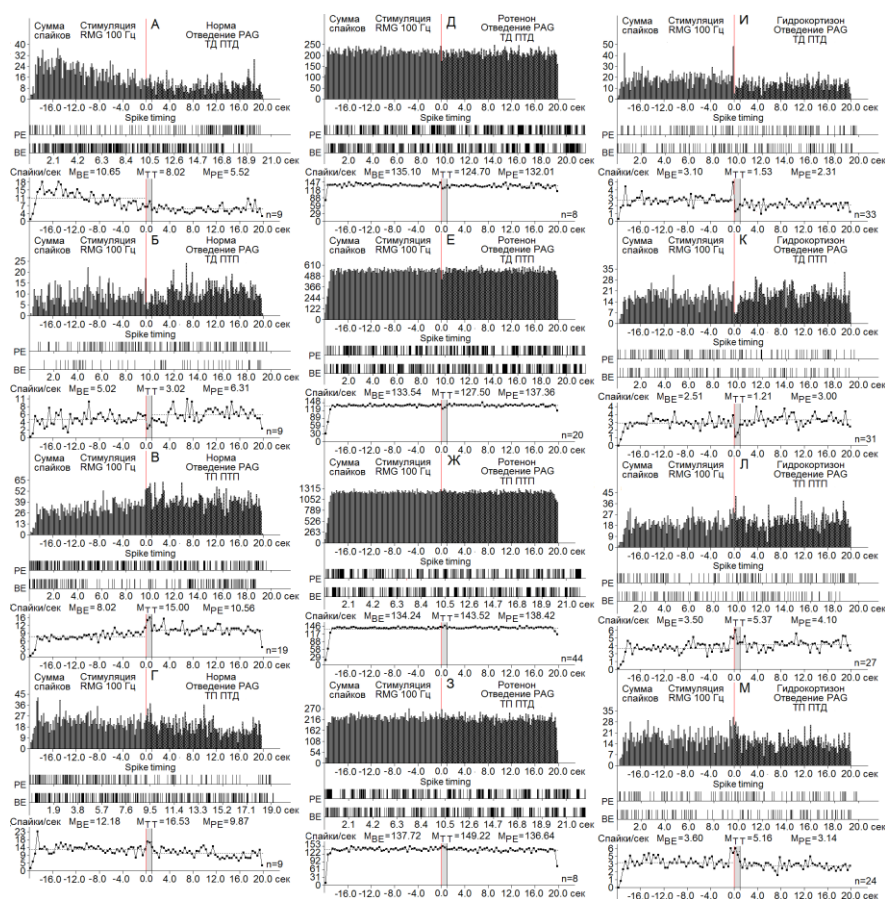


Рис. 1. Гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных депрессорных (А, Д, И), депрессорно-возбудительных (Б, Е, К), возбудительных (В, Ж, Л), в сочетании с депрессорными – ТП ПТД (Г, З, М) проявлений активности в реальном времени 20 с (до и после стимуляции) нейронов PAG, посредством ВЧС RMG в норме (А-Г), на ротеноновой модели БП (Д-З) и с протекцией гидрокортизоном (И-М). Здесь: диаграммы частоты спайков, представленных в гистограммах, с усредненными значениями (М) для временных отрезков до стимуляции (BE – before event), на время тетанизации (ТТ – time tetanization) и после стимуляции (PE – post event). Справа от диаграмм – количество испытаний (n).

На модели БП престимульная частота потенциалов действия в депрессорных и возбудительных эффектах повысилась более чем в 10 раз (рис. 1; 2, Д-З), т.е. была выявлена чрезмерная возбудимость клеток PAG, возможно, связанная с эксайтотоксичностью.

В условиях протекции гидрокортизоном в нейронах PAG престаимпульная импульсная частота в депрессорных и возбудительных эффектах сильно понизилась, показав уровни, практически близкие к уровням нормы (рис. 1, 2, Д-З).

Постстимульная частота нейронов PAG при ВЧС RMG в норме в депрессорных эффектах достигала 8.02, 3.02, а в возбудительных – 15.00 и 16.53. На модели БП постстимульная частота сильно повысилась, составив 124.70, 127.50 в депрессорных эффектах и 143.52, 149.22 в возбудительных (рис. 1, 2, И-М). На модели БП постстимульная частота превысила норму 15.55- и 42.22-кратно в депрессорных эффектах и 9.57- и 9.03-кратно в возбудительных.

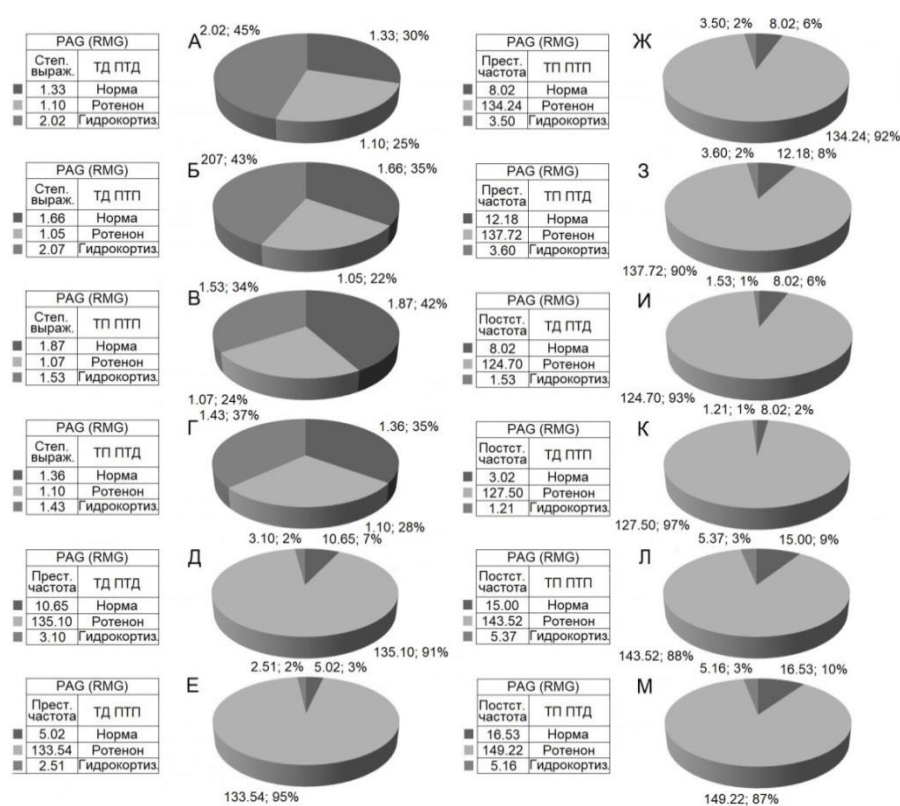


Рис. 2. А-М – процентное соотношение степени выраженности (по усредненной частоте А-Г), депрессорных (ТД ПТД), депрессорно-возбудительных (ТД ПТП), возбудительных (ТП ПТП) и возбудительно-депрессорных (ТП ПТД) постстимульных эффектов в одиночных нейронах RMG при ВЧС PAG, а также частоты престаимпульной (Д-З) и постстимульной (И-М) активности в норме, на ротеиновой модели БП и в условиях протекции гидрокортизоном. Обозначения: степ. выраж. – степень выраженности, преста. – престаимпульная, постст. – постстимульная.

Таким образом, на модели БП имело место мощное повышение постстимульной частоты нейронов PAG. Выявленная гипервозбудимость нервных клеток данной структуры, возможно, объясняется эксайтотоксичностью.

В условиях применения гидрокортизона произошло резкое снижение постстимульной частоты в депрессорных эффектах на модели БП до уровней ниже нормы, например, от 124.70 до 1.53 в ТД ПТД. Такое же сильное понижение частоты произошло и во всех других эффектах, что свидетельствует об успешном протекторном эффекте гидрокортизона (рис. 1, 2, И-М). Таким образом, в настоящем исследовании на модели БП в нейронах PAG, активированных ВЧС RMG, выявлено мощное превышение возбудительных эффектов, представленных в виде чрезмерно высокой частоты импульсной активности как в депрессорных, так и возбудительных проявлениях.

Очевидно, речь идет о таком процессе, как эксайтотоксичность. Это явление, которое описывается как токсическое действие возбуждающих нейротрансмиттеров, в первую очередь глутамата, когда усиленная или длительная активация глутаматных рецепторов запускает каскад нейротоксичности, в конечном итоге приводящее к потере функции нейронов и гибели клеток. Молекулярный механизм, который вызывает эксайтотоксичность, включает изменения в метаболизме глутамата и кальция, дисфункцию переносчиков глутамата и нарушение работы рецепторов глутамата, в частности рецепторов N-метил-D-аспарагиновой кислоты (NMDAR). С другой стороны, эксайтотоксичность можно рассматривать как следствие таких клеточных явлений, как митохондриальная дисфункция, физическое повреждение нейронов и окислительный стресс. Известно, что чрезмерная активация NMDAR приводит к устойчивому притоку кальция в нейроны и ряду вредных последствий, включая митохондриальную дисфункцию, перепроизводство активных форм кислорода (АФК), нарушение буферизации кальция, высвобождение проапоптотических факторов, и способствует повреждению нейронов. NMDAR-опосредованная эксайтотоксичность является центральным механизмом в патогенезе многих нейродегенеративных заболеваний [6]. Отмеченное свидетельствует о необходимости углубления депрессорных эффектов, несущих протекторную нагрузку и снижающих чрезмерные возбудительные реакции [7].

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

М. Э. Овсепян

**Импульсная активность нейронов анальгетической системы
головного мозга в ходе развития паркинсонического синдрома
под влиянием гидрокортизона**

Проведен анализ импульсной активности одиночных нейронов околосредоводного серого вещества (PAG) при высокочастотной стимуляции большого ядра шва в норме, на ротеноновой модели болезни Паркинсона и с протекцией гидрокортизоном. После интоксикации ротеноном в нейронах PAG депрессорные и возбудительные реакции показали снижение. После применения гидрокортизона депрессорные реакции показали превышение уровней нормы, а возбудительные – восстановление до уровней нормы. Выявлено повышение частоты импульсной активности в депрессорных и возбудительных эффектах после интоксикации ротеноном и понижение до уровней ниже нормы как в депрессорных, так и в возбудительных эффектах после применения гидрокортизона. Установлено, что гидрокортизон противодействует процессам эксайтотоксичности нейронов PAG.

Մ. Է. Օվսեփյան

**Ուղեղի անալգետիկ համակարգի նեյրոնների իմպուլսային ակտիվությունը
հիդրոկորտիզոնի ազդեցության տակ Պարկինսոնյան համախտանիշի
զարգացման ընթացքում**

Իրականացվել է հարջրատարային գորշ նյութի (PAG) մեկական նեյրոնների իմպուլսային ակտիվության վերլուծություն կարի մեծ կորիզի բարձր հաճախականության խթանման ժամանակ, նորմալ, Պարկինսոնի հիվանդության ռոտենոնային մոդելի վրա և հիդրոկորտիզոնի պաշտպանությամբ: PAG նեյրոններում ռոտենոնի ինտոքսիկացիայից հետո ճնշիչ և գրգռիչ ռեակցիաները ցույց տվեցին նվազում: Հիդրոկորտիզոնի օգտագործումից հետո ճնշիչ ռեակցիաները ցույց տվեցին նորմայի մակարդակի գերազանցումը, իսկ գրգռիչ ռեակցիաները՝ նորմայի մակարդակի վերականգնումը: Հայտնաբերվել է ռոտենոնի ինտոքսիկացիայից հետո ճնշիչ և դրդիչ ազդեցություններում իմպուլսային գործունեության հաճախականության բարձրացում և հիդրոկորտիզոնի օգտագործումից հետո նորմայից ցածր մակարդակի իջեցում ինչպես ճնշիչ, այնպես էլ դրդիչ ազդեցություններում: Հաստատվել է, որ հիդրոկորտիզոնը հակազդում է PAG նեյրոնների էքսայտոտոքսիկության գործընթացներին:

M. E. Hovsepyan

**Pulse Activity of Neurons of the Analgesic System of the Brain During
the Development of Parkinsonian Syndrome under the Influence
of Hydrocortisone**

The analysis of the pulse activity of single neurons of the periaqueductal gray matter (PAG) under high-frequency stimulation of the raphe magnus nucleus nucleus in norm, on the rotenone model of Parkinson's disease and with the protection of hydrocortisone was carried out. After rotenone intoxication depressive and excitatory reactions in PAG neurons showed a decrease. After the use of hydrocortisone, depressive reactions showed an excess of normal levels, and excitatory reactions showed a recovery to normal levels. An increase in the frequency of pulse activity in depressive and excitatory effects after intoxication with rotenone and a decrease to levels below normal in both depressive and excitatory effects after the use of hydrocortisone was revealed. Hydrocortisone has been found to counteract the processes of excitotoxicity of PAG neurons.

Литература

1. *Beitz J. M.* – Front Biosci (Schol Ed). 2014. V. 6. № 1. P. 65-74. .
2. *Cuomo A., Crispo A., Truini A. et al.* – Pain Res. 2019. № 12 P. 2201–2209.
3. *Broen M. P., Braaksma M. M., Patijn J. et al.* – Mov Disord. 2012. V. 27. № 4. P. 480-484.
4. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, Academic Press, 5th ed. 2005. P. 367.
5. *Kilkenny C., Browne W., Cuthill I. C. et al.* – Br J Pharmacol. 2010.V. 160. № 7. P. 1577–1579.
6. *Armada-Moreira A., Gomes J. I., Pina C. C. et al.* – Front. Cell. Neurosci. 2020 V. 14. Article 90.
7. *Саркисян Дж. С., Погосян М. В., Даниелян М. А. и др.* Назначение депрессорных синаптических процессов в условиях специфической нейродегенеративной патологии и протекции. LAMBERT Academic Publishing RU. 2018. 252 с.