

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ  
Լ.Ա. ՕՐԲԵԼՈՒ ԱՆՎԱՆ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ՆԱԼԲԱՆԴՅԱՆ ԱՐՓԻՆԵ ԱՐՏԱՎԱԶԴԻ

ՊԱՐԿԻՆՍՈՆԻ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ ՄՈՂԵԼՈՒՄ և ԳԱԼԱՐՄԻՆՈՎ ՊՐՈՏԵԿՏԻԱՅԻ  
ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ ՈՂՆՈՒՂԵՂԻ և ՍԵՆՅՈՒԹԻ ՆԵՅՐՈՆՆԵՐԻ ՄԻՆԱՊՏԻԿ  
ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԸ

Գ.00.09 – «Մարդու և կենդանիների ֆիզիոլոգիա»  
մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի  
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ –2014

---

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ  
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. Л. А. ОРБЕЛИ

НАЛБАНДЯН АРПИНЕ АРТАВАЗДОВНА

СИНАПТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В НЕЙРОНАХ СПИННОГО МОЗГА И ЧЕРНОЙ  
СУБСТАНЦИИ НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И В УСЛОВИЯХ  
ПРОТЕКЦИИ ГАЛАРМИНОМ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук по специальности  
03.00.09 - «Физиология человека и животных»

ЕРЕВАН 2014

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվ. Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի գիտական խորհրդում:

Գիտական ղեկավար՝ կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆ. Ջ.Ս. Սարգսյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆ. Խ.Հ. Նահապետյան  
կենս. գիտ. դոկտոր, Գ.Թ. Սարգիսով

Առաջատար կազմակերպություն՝ Երեվանի Մ. Հերացու անվ. Պետական բժշկական համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2014թ հունիսի 7-ին ժ. 13<sup>00</sup>-ին ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում, Փորձարարական կենսաբանության 042 մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, 0028, ք. Երևան, Օրբելի եղբ. 22):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվ. Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի գրադարանում և [www.molbiol.sci.am](http://www.molbiol.sci.am) կայքում:

Սեղմագիրն առաքվել է 2014 թ հունիսի 6-ին:

042 մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,  
կենս. գիտ. թեկնածու

Գ. Մ. Մկրտչյան



---

Тема диссертации утверждена в Институте физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА.

Научный руководитель: доктор биол. наук, проф. Дж.С. Саркисян

Официальные оппоненты: доктор биол. наук, проф. Х.О. Нагапетян  
доктор биол. наук Г.Т. Саркисов

Ведущая организация: Ереванский Государственный  
медицинский университет им. М. Гераци

Защита диссертации состоится 07 июля 2014г. в 13<sup>00</sup>ч. на заседании специализированного совета 042 Экспериментальной биологии, в Институте физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА (РА, 0028, г. Ереван, ул. бр. Орбели 22).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА и на сайте [www.molbiol.sci.am](http://www.molbiol.sci.am).

Автореферат разослан 6 июня 2014г.

Ученый секретарь специализированного совета 042,  
кандидат биол. наук



Г.М. Мкртчян

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Ротеноновая модель болезни Паркинсона (БП) признана надежной для изучения механизмов повреждения допамиnergических (ДА) нейронов и оценки нейрохимических, иммуногистохимических, поведенческих и когнитивных проявлений до 4 нед выживания [Moreira C. et al., 2011]. Пестициды, в частности, гербицид ротенон, занимают ведущее место среди негенетических или экологических факторов в развитии спорадической формы БП, приводящих к развитию патологии, сходной с БП у крыс [Abd-El Gawad H. et al., 2004]. Ротенон – митохондриальный яд, генерирующий реактивные формы кислорода, тем самым содействующий оксидативному стрессу (ОС) и облегчающий потенциацию NMDA токов в ДА нейронах черной субстанции (substantia nigra - SN), чем обеспечивается эксайтотоксичность [Wu Y., Johnson S., 2011]. Даже при кратковременном воздействии ротенона возникают значительные сосудистые повреждения с ишемической нейродегенерацией, содействующие как нейрональной, так и не-нейрональной патологии [Radad K. et al., 2013]. Среди процессов, ответственных за гибель нейронов при БП, следует отметить также воспалительные изменения и реакцию микроглии [Qian L. et al., 2010]. Доказано, что глиальные клетки [Stichel C. et al., 2007; Schmidt S. et al., 2010], в том числе олигодендроциты [Shults C. et al., 2005; Yazawa I et al., 2005], имеют активный вклад в инициацию и прогрессию БП. Поэтому, в патогенезе нейродегенеративных болезней (НБ) приобретает значение нейроглиальное взаимодействие. Так, длительное воздействие ротенона усиливает нейровоспалительные процессы через повышение плотности астроглиального P2X7 рецепторного тока [Gao X. et al., 2011]. Все большее внимание при НБ, в особенности БП, уделяется изменениям в динамических свойствах митохондрий, сопровождаемых уменьшением нейритов перед клеточной гибелью [Arnold B. et al., 2011]. Ротенон, в качестве ингибитора митохондриального комплекса I, причиняет оксидативное повреждение, а также повышение количества астроцитов и микроглии в SN с уменьшением ДА нейронов [Nogazit A. et al., 2010]. Иными словами, митохондриальная дисфункция и ОС являются патофизиологическими механизмами, вовлекаемыми в ротеноновой модели и генетических формах БП [Tanner C. et al., 2011]. Наконец, имеет значение критический баланс соотношения ДА и Ach на примере конвергентной модели для когнитивной дисфункции при БП [Calabresi P. et al., 2006] и превалирования холинергической активации.

С учетом достижений последних лет по механизмам развития БП, проблема претерпела существенные изменения в аспекте поиска перспективной терапевтической стратегии. Согласно клиническим и экспериментальным данным, оказалось большим пробелом исключение избирательного вовлечения спинного мозга (СМ) в прогрессию БП, в качестве экстраингитальной структуры, признанной потенциальной мишенью терапевтических приложений [Dickson D. et al., 2009; Lim S. et al., 2009; Knaryan V. et al., 2011]. С доказательством активного вовлечения СМ у пациентов с БП, особое внимание начали уделять не-моторным симптомам, в качестве преклинических. Признали, что нигростриатная дегенерация ответственна за экстрапирамидные моторные признаки, а экстраингитальная – за множество изменений в центральных и периферических ядрах нервной системы [Kalaitzakis M. et al., 2008]. К тому же, в настоящее время происхождение отдельных симптомов БП определенно связывают с дискретными ядрами в СМ [см. обзор Vivacqua G. et al., 2011]. Последние данные позволяют полагать, что патологические манифестации, впервые определяются в СМ, затем прогрессируют в каудо-ростральном направлении до среднего мозга, чем объясняются не ДА симптомы, предшествующие клеточной гибели в SN [Braak H. et al., 2003], такие как беспокойное поведение [Bodis-Wollner I., 2003], депрессия, нарушения сна, контролируемые нижней частью ствола мозга и спинальным ганглием [Langston J., 2006]. Исследование каудо-ростральной прогрессии БП у трансгенных мышей [Mendritzki S. et al., 2010] обнаружило

клеточную гибель, митохондриальные отклонения и тяжелые воспалительные реакции в глиальных клетках СМ, включая тяжелые моторные нарушения, которые очевидно относились к патологическим изменениям в СМ [Braak H. et al., 2003]. В заключение, на основе недавних исследований на животных, СМ предлагается как перспективный участок стимуляции для облегчения моторных симптомов при БП и менее инвазивный, чем глубинная мозговая стимуляция. Так, стимуляция педункулопонтинного ядра служит экспериментальной терапией для скованной походки у пациентов с БП [Pierantozzi M. et al., 2008]. Продемонстрировано далее, что эпидуральная электрическая стимуляция дорзальных столбов в комбинации с значительно низкими дозами L-DOPA в СМ восстанавливает локомоцию на мышинной модели БП [Fuentes R. et al., 2009]. Иными словами, в клинических испытаниях для облегчения моторных симптомов при БП, признана полезной комбинация ДА замещающей терапии и спинальной электрической стимуляции [Fuentes R. et al., 2010]. Тем не менее, механизмы, ответственные за нейрональную дегенерацию при БП, сложные и во многом остаются неясными. Среди различных нейрональных типов, дегенерирующих при этой болезни, вызывает сомнение, что только недостаток ДА нейронов в компактной части SN ответственен за характерные моторные симптомы, ведущие к симптоматической терапии [Fahn S., Sulzer D. 2004; Sulzer D., Surmeier D., 2013].

**Цель и задачи исследования.** Целью исследования явилось изучение соотношения и выраженности синаптической потенциации и депрессии на примере активации мотонейронов (МН) СМ при тетанической стимуляции экстензорного (n. Peroneus communis - P) и флексорного (n. Gastrocnemius - G) ответвлений седалищного нерва, SN и активности последней на стимуляцию хвостатого ядра (Caudate putamen-CPu) на ротеноновой модели БП (2 и 4 нед спустя) в динамике развития и в условиях протекторного воздействия галармина (PRP-1).

В соответствии с поставленной целью, в задачи исследования входило электрофизиологическое изучение, техникой экстраклеточного отведения, частоты потока спайковой активности:

- МН СМ в условиях стимуляции экстензорного и флексорного нервов у интактных крыс;
- нейронов SN на стимуляцию CPu у интактных крыс;
- МН СМ при стимуляции экстензорного и флексорного нервов на модели БП у крыс
- нейронов SN при стимуляции CPu на модели БП;
- МН СМ при стимуляции экстензорного и флексорного нервов на модели БП в условиях протекторного воздействия системной инъекции галармина;
- нейронов SN при стимуляции CPu на модели БП в условиях воздействия галармина.

**Научная новизна.** В полухронических экспериментах на крысах Альбино интактных и на ротеноновой модели БП спустя 2 и 4 нед в остром эксперименте, регистрация активности одиночных МН L<sub>4</sub>-L<sub>5</sub> сегментов СМ при ВЧС флексорного, экстензорного нервов задней конечности и компактного отдела SN, а также – SN на ВЧС CPu, *on-line* селекцией и программным математическим анализом выявила следующее. На основании экспериментальных данных заключено нарастание в МН СМ постстимульной тетанической депрессии выше нормы, преимущественно с увеличением сроков испытаний. Исключение составляют нейроны SN на ВЧС CPu, в которых получено относительно значительное превышение депрессии в ранние сроки, а также МН СМ при активации SN, в которых установлено сближение уровней в случае депрессорно-возбудительной постстимульной последовательности, что свидетельствует о относительной эффективности депрессорной протекции на Ротеноновой модели БП. Возбудительные тетанические реакции в МН СМ при активации P, G и SN, в сочетании с возбудительными посттетаническими, преимущественно оказались меньше

выраженными в поздние сроки, но в комбинации с посттетаническими депрессорными, а также при активации SN в обеих последовательностях, не было обнаружено существенной разницы в различные сроки испытаний. В нейронах SN выявилось более выраженное снижение уровня тетанического возбуждения с удлинением сроков испытаний, также в сочетании с посттетаническими депрессорными реакциями, но в отличие от всех предыдущих случаев ТП при этом оказалась выше нормы.

В условиях использования галармина в МН СМ и нейронах SN на модели БП получено углубление тетанической депрессии выше нормы, нередко лучше выраженной в поздние сроки, за исключением нейронов SN, в которых оно, будучи высоким, преваляло в ранние сроки. Возбудительная активность преимущественно не достигала нормы, за исключением МН СМ на активацию нервов в постстимульной возбудительной последовательности и нейронов SN - в возбудительно-депрессорной, в которых активность отсутствовала даже в ранние сроки. Таким образом, возбудительные эффекты нуждались в продолжении испытаний до их восстановления при наличии высокой депрессорной активности и не без дальнейшего использования галармина.

**Научно-практическое значение.** Признанная модель БП, связанная с пестицидами, помимо серьезной, фактически неизлечимой, и не только двигательной болезни, свидетельствует о повсеместной и неизбежной опасности употребления пестицидов и необходимости действенной борьбы с ними. Результаты настоящей работы, с одной стороны, позволяют вникнуть в механизм динамики сдвигов в соотношении возбудительных и депрессорных постстимульных синаптических проявлений, сопровождающих развитие БП, с другой, предлагают в преκлиническом плане эффективное использование эндогенного универсального пролином-богатого полипептида (PRP-1) - галармина - нейрогормона - иммуномодулятора, наиболее и многосторонне исследованного в отношении широкого спектра биологического воздействия на иммунную и нервную систему, как в лечебном, так и профилактическом аспекте.

**Апробация.** Материалы и основные положения диссертационной работы представлены на Всеросс. Конф. с межд. участием. Изд-во Росс. Акад. мед. Наук, 2010, Москва; 2012, Москва и Межд. юбил. конф. «Физиологические механизмы регуляции деятельности организма», посвященного 130-летию со дня рожд. акад. Л.А. Орбели, Ереван, 2012.

**Публикации.** По теме диссертации опубликованы 6 работ.

**Структура диссертации.** Диссертация изложена на 120 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследований, 3-х глав результатов собственных исследований, обсуждения, выводов и списка литературы, включающего 164 источника. Иллюстрирована 29 рисунками 1 таблицей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили в 3-х сериях на зрелых разнополых крысах Альбино (200-250 г): интактных (n=5), билатерально инъецированных интрацеребрально ротеноном (12 мкг в 0.5 мкл Димексида со скоростью 0.1 мкл/мин) в "medial forebrain bundle" по координатам стереотаксического атласа [Paxinos G., Watson C., 2005] (AP+0.2; L±1.8; DV+8.0 мм) и выдержанных до острого эксперимента 2 (n=6), 4 (n=7) нед и с системным введением (со следующего дня после введения ротенона, семь инъекций через день) галармина (10γ/100 г) и выдержанных до острого эксперимента 2 (n=5), 4 (n=9) нед. Все эксперименты проводили согласно «правилам ухода за лабораторными животными» (публикации НИИ за № 85-23, исправленной в 1985 году). Проведено изучение активности МН поясничного отдела СМ на ВЧС Р и G коллатеральных ответвлений седалищного нерва и SN (AP-5.0; L±2.0; DV+7.5-8.0 мм), а также нейронов SN на ВЧС СРu (AP+1.7; L±2.0; DV+4.0 мм). Операции проводили

под нембугаловым наркозом (40 мг/кг, в/б). После фиксации черепа в стереотаксическом аппарате производили кранеотомию, дорсальную ламинэктомию пояснично–крестцового отдела СМ и отсепаровку Р и G нервов. Затем животных обездвигивали 1% дитиллином (25 мг/кг в/б) и переводили на искусственное дыхание. Регистрацию электрической спайковой активности МН СМ и нейронов SN, по координатам того же атласа, производили стеклянными микроэлектродами с кончиком порядка 1-2  $\mu\text{M}$ , заполненными 2М раствором NaCl, которые вживлялись в передние рога серого вещества поясничных сегментов (L4-L5) в область МН СМ (VIII-IX пластины по Рекседу) и SN. ВЧС (0,05мс, 0,10-0,16 мА, 50 Гц в течение 1 сек) G и Р осуществляли биполярными серебряными электродами. Раздражали SN и СРи с ипсилатеральной стороны вольфрамовыми биполярными электродами одиночными прямоугольными толчками тока (длительность 0.5 мс, частота 50, 100 Гц в течение 1 сек).

Проводили программный математический анализ одиночной спайковой активности МН СМ и нейронов SN в норме (n=220), на модели БП спустя 2 и 4 нед (n=386) и на модели БП спустя 2 и 4 нед, леченной галармином (n=398). Активность проявлялась в виде ТП и ТД с последующей ППП и ПТД. Оценку ранних и поздних постстимульных проявлений спайковой активности производили в режиме *on-line* селекции и программного математического анализа. Для избираемых сравниваемых групп спайкинга нейрональной активности использовали построения комплексных усредненных и суммированных перистимульных временных гистограмм – Peri-event time histogram (PETH Average) числа спайков и гистограмм частоты (Frequency Average). Производили также детальный анализ произвольно избранных испытаний в отдельном нейроне с регистрацией спайкинга активности (Spike timing), построением PETH и гистограммы частоты. *On-line* регистрацию производили на основе программ, обеспечивающей селекцию спайков посредством амплитудной дискриминации (разработчик В.С. Каменецкий). В среднем, в течение одной регистрации проводили до 10-15 постстимульных испытаний. Импульсный поток после селекции посредством амплитудного дискриминатора подвергали программному анализу с последующим выводом отдельных или усредненных по количеству испытаний перистимульных временных гистограмм, «растера» пре- и постстимульного спайкинга активности единичных нейронов, распределенных в реальном времени и построенных на их основе суммарных или усредненных гистограмм частоты с данными многоуровневой статистической обработки дифференцированно для пре- и постстимульного времени, включая период ВЧС. Целью анализа являлось определение статистической достоверности различий в длительности межспайковых интервалов до и после действия стимула. Для решения этой задачи строили гистограммы межспайковых интервалов, определяли основные параметры распределений: средние значения, моды, дисперсии, частоты. Традиционным методом проверки однородности двух независимых выборок являлся *t*-критерий Стьюдента. Анализ полученных данных производили по специально разработанному алгоритму. Для повышения надежности статистических оценок и достоверности различий в длительности межспайковых интервалов до и после действия стимула применяли также непараметрический критерий проверки однородности двух независимых выборок - двухвыборочный критерий Вилкоксона-Манна-Уитни (Wilcoxon-Mann-Whitney test) [Орлов А., 2004]. Так как число регистрируемых спайков было достаточно велико (до нескольких сотен спайков за 10-20 секундный интервал после действия стимула), использовалась разновидность указанного теста, учитывающая его асимптоматическую нормальность – *z*-тест. Сравнение критических значений с табличными значениями нормального распределения при уровнях значимости 0.05, 0.01 и 0.001 (для различных испытаний), показывает, что в результате ВЧС для большинства выборок спайкинга нейрональной активности имеется статистически значимое изменение как минимум с уровнем значимости 0.05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### СООТНОШЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ДЕПРЕССОРНЫХ РЕАКЦИЙ В СПИННОМ МОЗГЕ И ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ НА ВЧС ЭКСТЕНЗОРНОГО И ФЛЕКСОРНОГО НЕРВОВ И СРЦ В НОРМЕ

Сравнительный анализ импульсной активности одиночных МН СМ на ВЧС Р, G и SN и нейронов SN при ВЧС СРц в норме ( $n=187$  и  $n=33$ , соответственно) выявил формирование возбудительных и депрессорных ответов в виде ТП и ТД, с последующими постстимульными одно- и разнонаправленными проявлениями активности в виде ПТП и ПТД. Анализ последних на основе усредненного количества спайков (РЕТН), с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты в Гц (Frequency Average) в норме, показал следующее.

В норме в МН СМ на ВЧС Р ТД в депрессорной последовательности с ПТД исчислялась в пределах 2.5-кратного снижения исходной престаимпульной активности, ТД в смешанной депрессорно-возбудительной последовательности с ПТП достигала 4-кратного снижения, ТП в сочетании с ПТП превысила престаимпульный уровень в 4.75 раз, а ТП в комбинации с ПТД – 2.8-кратно. В МН СМ на ВЧС G в норме ТД в ТД ПТД достигала 3-кратного занижения, ТД в ТД ПТП – 3.5-кратного, ТП в ТП ПТП исчислялась порядка 2.8-кратного завышения, а ТП в ТП ПТД – 4.25-кратного превышения. В МН СМ на ВЧС SN ТД в сочетании с ПТД достигала 2.5-кратного занижения, ТД с ПТП – 4-кратного, ТП в комбинации с ПТП – 4-кратного превышения, а ТП с ПТД – 1.55-кратного. Наконец, в нейронах SN при ВЧС СРц ТД в ТД ПТД исчислялась порядка 8-кратного занижения, ТД с ПТП – 7-кратного занижения, ТП с ПТП достигал 2.75-кратного превышения, а ТП с ПТД – 1.28-кратного превышения. Таким образом в норме, во всех случаях испытаний в указанных структурах, имелось определенное соотношение возбудительных и депрессорных частотных проявлений постстимульной активации, реже с значительным превалированием одних над другими в количественном соотношении и выраженности, как, например, в последнем случае.

Анализ гистограмм пре- и постстимульных проявлений спайковой активности, построенных на основе растров суммы и диаграмм усредненной частоты, с указанием средних цифровых значений в реальном времени 20 сек до и после стимуляции, включая время ВЧС, чисто депрессорных, смешанных депрессорно-возбудительных, возбудительных и смешанных возбудительно-депрессорных постстимульных реакций в МН СМ на ВЧС нервов и SN и нейронах SN при ВЧС СРц выявил степень выраженности изменения частоты в перистимульном соотношении в следующих пределах. В МН СМ на ВЧС Р выраженность ТД в ТД ПТП - исчислялась в пределах порядка 2.5-кратного снижения, ТД в ТД ПТП – 2.42-кратного, ТП в ТП ПТП – достигала уровня превышения в пределах 6.1, а ТП в ТП ПТД – 4.0. В МН СМ при ВЧС G выраженность ТД в ТД ПТД – исчислялась порядка 2.27-кратного снижения, ТД в сочетании с ПТП – 2.22-кратного, ТП в комбинации с ПТП – в пределах 3.2-кратного превышения, а ТП в ТП ПТД – 5.28-кратного превышения. В МН СМ при ВЧС SN ТД в ТД ПТД достигала 2.42-кратного занижения, ТД в ТД ПТП – 2.93-кратного занижения, ТП в ТП ПТП – 6-кратного превышения, а ТП в ТП ПТД – 2.73-кратного превышения. Наконец, в нейронах SN на ВЧС СРц ТД в сочетании с ПТД занижала престаимпульный уровень в 7.77 раз, ТД в ТД ПТП исчислялась порядка – 15.0 кратного занижения, ТП в ТП ПТП – достигала 6.4-кратного превышения престаимпульной активности, а ТП в ТП ПТД – 3.15-кратного превышения.

## ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В СПИННОМ МОЗГЕ И ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ НА РОТЕНОВОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА В СРАВНЕНИИ С НОРМОЙ

Сравнительный анализ импульсной активности одиночных МН СМ на ВЧС Р G и SN и нейронов SN при ВЧС СРи на Ротеновой модели БП, спустя 2 (n=122 и n=72) и 4 (n=157 и n=35) нед, выявил формирование возбудительных и депрессорных ответов в виде ТП и ТД, с последующими постстимульными одно- и разнонаправленными проявлениями постстимульной активности в виде ПТП и ПТД.

Анализ последних на основе усредненного количества спайков (РЕТН Average), с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты в Гц (Frequency Average) на модели БП, в сравнении с нормой, показал следующее. В МН СМ на ВЧС Р на модели БП через 2 нед ТД, в однонаправленной депрессорной последовательности, (ТД ПТД), исчислялась в пределах 4-кратного занижения престаимпульного уровня, что было значительно выше нормы (2.5); ТД в смешанной депрессорно-возбудительной последовательности (ТД ПТП) на модели БП достигала 5-кратного занижения (Рис. 6 А, Группа Г), что также превышало норму (4). В МН СМ при ВЧС Р 4 нед спустя занижение ТД в ТД ПТД определялась на относительно низком 3-кратном уровне, что было ближе к норме (2.5), а уровень ТД в ТД ПТП оказался еще ниже – порядка 2-кратного занижения, намного ниже нормы (4) и такового в 2 нед сроке испытаний (5). В МН СМ на ВЧС G 2 и 4 нед спустя ТД в ТД ПТД достигала 2.5- и 2-кратного занижения, ниже нормы (3); ТД в ТД ПТП в 2 нед срок приблизилась к норме и даже несколько превысила ее (4-кратно против 3.5-кратного), соответственно, в то время как после 4 нед срока она резко снизилась до 1-кратного. В МН СМ на ВЧС SN ТД в ТД ПТД 2 нед спустя достигла 1.66-кратного занижения, ниже нормы (2.5-кратно), в то время как после 4 нед она несколько превысила норму, достигнув 3-кратного занижения; ТД в ТД ПТП 2 и 4 нед спустя оказалась в пределах 2.66- и 2-кратного занижения, соответственно, намного ниже нормы (2). Наконец, в нейронах SN на ВЧС СРи на модели БП ТД в ТД ПТД 2 нед спустя два раза превысила норму (16-кратно против 8-кратного), но 4 нед спустя доходила лишь до 2.33-кратного занижения, намного ниже нормы; ТД в ТД ПТП 2 нед спустя проявила тенденцию аналогичного углубления до 12-кратного, опять выше нормы (7), но через 4 нед также значительно снизилась до 1.66-кратного.

В МН СМ ТП в чисто возбудительной последовательности (ТП ПТП) при ВЧС Р на модели БП спустя 2 и 4 нед определялась порядка 4- и 1.66-кратного превышения престаимпульного уровня, что оказалось ниже нормы (4.75 и 2.8, соответственно), ТП в смешанной возбудительно-депрессорной последовательности (ТП ПТД) спустя 2 и 4 нед исчислялась в пределах 2-кратного превышения престаимпульного уровня, что также было ниже нормы (2.8). В МН СМ при ВЧС G спустя 2 и 4 нед превышение определялось в пределах 3- и 1.5-кратного, что достигало нормы и ниже нее (2.8), соответственно; в МН СМ на ВЧС G показатели превышения ТП в ТП ПТД через 2 и 4 нед оказались намного ниже таковых при ВЧС нерва Р, порядка 1.4 и 1.14, что было намного ниже нормы (4). В МН СМ при ВЧС SN ТП в ТП ПТП спустя 2 и 4 нед определялась порядка 1.5-кратного превышения, что также было намного ниже нормы (4); ТП в ТП ПТД спустя 2 и 4 нед оказалась в пределах 1.6 и 1.8-кратного превышения, особенно не отличающихся от нормы (1.55-кратно). Наконец, в нейронах SN при ВЧС СРи ТП в ТП ПТП через 2 нед достигала 2.8-кратного превышения, равного норме (2.75), а спустя 4 нед достаточно снизившись до 1.6-кратного превышения, оказалась ниже нормы; ТП в ТП ПТД ко 2 и 4 нед, достигнув 1.1 и 1.25-кратного превышения также оказалась близкой к норме (1.28).



Проводился анализ диаграмм усредненной частоты спайков, построенных на основе рasters пре- и постстимульных депрессорных и возбудительных проявлений спайковой активности на модели БП ко 2 и 4 нед, после введения ротенона, в сравнении с нормой, одно- и разнонаправленных постстимульных тетанических и посттетанических проявлений активности изученных структур, в частотном выражении, по отношению к прeстимульному уровню. В чисто депрессорных и смешанных депрессорно-возбудительных постстимульных реакциях МН СМ и нейронов SN было выявлено следующее. В МН СМ на ВЧС Р ТД в ТД ПТД, спустя 2 и 4 нед после интрацеребрального введения ротенона, степень выраженности снижения частоты в перистимульном соотношении колебалась в пределах (3.1 и 2.96, соответственно), выше и ближе к норме (2.5); ТД в ТД ПТП – в пределах, порядка 2.76 и 6.2, уже несколько выше и намного выше нормы (2.42). В МН СМ при ВЧС G ситуация изменилась: ТД в ТД ПТД спустя 2 и 4 нед оказалась в пределах 2 и 2.7-кратных снижений частоты, т.е несколько ниже и выше нормы (2.27), соответственно; а ТД в ТД ПТП – порядка 4.0 и 3.5, т.е. с большим и меньшим превалированием на 2 и 4 нед, соответственно, в сравнении с нормой (2.22). В МН СМ при ВЧС SN ко 2 и 4 нед, наоборот, имело место углубление ТД в ТД ПТД лишь до 1.68- и уже 2.66-кратного превышения, ниже и ближе к норме (2.4), а в ТД ПТП - до 2 и 1.85-кратного, соответственно, что оказалось ниже и намного ниже нормы (2.93). В нейронах SN на ВЧС СРч, однако, ситуация сложилась в резком не соответствии в разные сроки испытаний: на 2 нед ТД в ТД ПТД достигла 5.8-кратного углубления, в отличие от лишь 1.47-кратного на 4 нед, ближе и намного ниже нормы (7.77), соответственно, а ТД в ТД ПТП – в пределах даже 9.74-кратного и лишь 1.28-кратного для 2 и 4 нед, также приближающихся и намного ниже нормы (15.07).

Возбудительные постстимульные тетанические реакции проявились в следующих пределах частотных сдвигов в перистимульных соотношениях. В МН СМ ТП в ТП ПТП при ВЧС Р на 2 и 4 нед достигли превышения порядка 6.3 и 2.2, что оказалось ближе и намного ниже нормы (6.08); ТП в ТП ПТД – в пределах 0.07 и 1.6, т.е еще ниже нормы (4). В МН СМ при ВЧС нерва G ТП в ТП ПТП и ПТД на 2 нед достигла превышения 4.13 и 1.12, что оказалось выше и намного ниже нормы (3.2), а на 4 нед, 2.37 и 2.05, соответственно, что было значительно ниже нормы (5.28). В МН СМ на ВЧС SN ТП в обеих одно- и разнонаправленных последовательностях также достигала небольшого превышения порядка 1.8 и 1.4 на 2 нед и 2 и 1.9 – на 4 нед, что также было намного ниже нормы (6.0 и 2.7), особенно в ранние сроки. Наконец, в нейронах SN при ВЧС СРч ТП в ТП ПТП и ПТД на 2 нед оказались намного завышенными порядка 4.6 и 6.16, ниже и почти вдвое превышая норму (6.4 и 3.15, соответственно), в то время как на 4 нед положение резко ухудшилось, достигнув пределов соответствующих ТП лишь до 1.45 и 1.3, намного ниже нормы.

Для окончательного заключения, на основе соответствующих подсчетов по степени выраженности (Рис. 1 и 2) разнонаправленных постстимульных депрессорных и возбудительных реакций, в сравнении с нормой, в вышеотмеченные сроки испытаний на модели БП, составлены дисковые диаграммы, в которых они наглядно представлены для всех вышеприведенных случаев.

Таким образом, сравнение уровня тетанической депрессии в МН СМ спустя 2 и 4 нед испытаний привело к следующему выводу. В случае активации нервов тетаническая депрессия, в целом, оказалась более выраженной в поздние сроки, при активации SN уровень тетанической депрессии в однонаправленной депрессорной последовательности (ТД ПТД) был также выше в поздние сроки, а в таковой смешанной (ТД ПТП) – не было обнаружено разницы с изменением сроков. Наконец, при активации СРч в нейронах SN тетаническая депрессия снизилась в поздний срок. В сравнении с нормой результаты сводились к следующему. В случае активации Р в обеих последовательностях

тетаническая депрессия превысила норму. При активации G ТД намного превысила норму в депрессорной последовательности в поздний срок, в отличие от таковой – в ранний, в то время как в смешанной последовательности ТД превысила норму, особенно значительно в поздний срок испытаний. При активации SN ТД в ТД ПТД также превысила норму, особенно в поздний срок, а в ТД ПТП – намного превысила норму. Наконец, активация CPи в нейронах SN привела к значительно большему (вдвое) превышению нормы ТД в ТД ПТД в ранний срок и еще более значительному (более чем трехкратному) снижению – в поздний срок; ТД же в ТД ПТП оказалась меньше нормы в ранний срок и даже трехкратно снизилась по сравнению с нормой – в поздний. Возбудительные тетанические и посттетанические эффекты в МН СМ и нейронах SN на модели БП претерпевали следующие сдвиги. В МН СМ при активации P, G ТП в сочетании с ПТП оказалась меньше выраженной в поздние сроки, но в комбинации с ПТД, а также при активации SN в обеих последовательностях, не было обнаружено существенной разницы в различные сроки испытаний. Активация CPи в нейронах SN выявила более выраженное снижение уровня ТП с удлинением сроков испытаний, особенно в сочетании с ПТД, но в отличие от всех предыдущих случаев ТП при этом оказалась выше нормы.

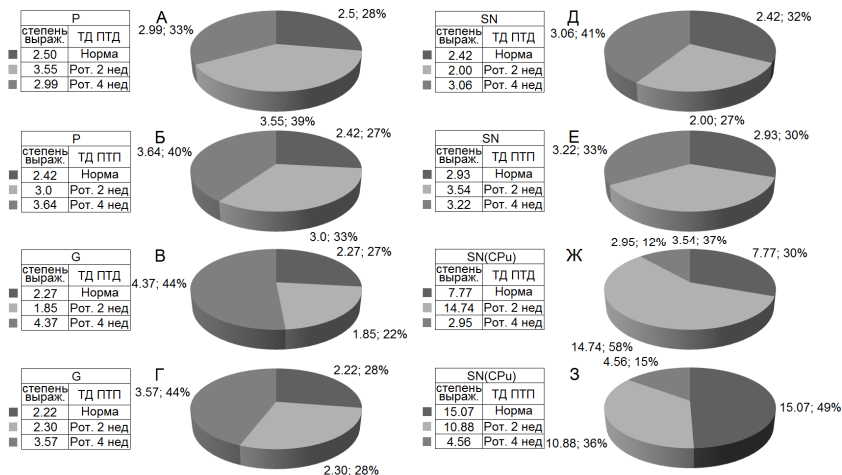


Рисунок 1. Процентное соотношение степени выраженности тетанических депрессорных эффектов с таковыми посттетаническими (А, В, Д, Ж), и смешанных депрессорных-возбудительных (Б, Г, Е, З) в одиночных МН СМ на ВЧС экстензорного – Р (А, Б), флексорного – G (В, Г) нервов, SN (Д, Е) и в нейронах SN на ВЧС CPи (Ж, З) на ротеновой модели БП, в сравнении с нормой. Обозначения: степень выраж. – степень выраженности, Rot. – ротенон, нед - недели.

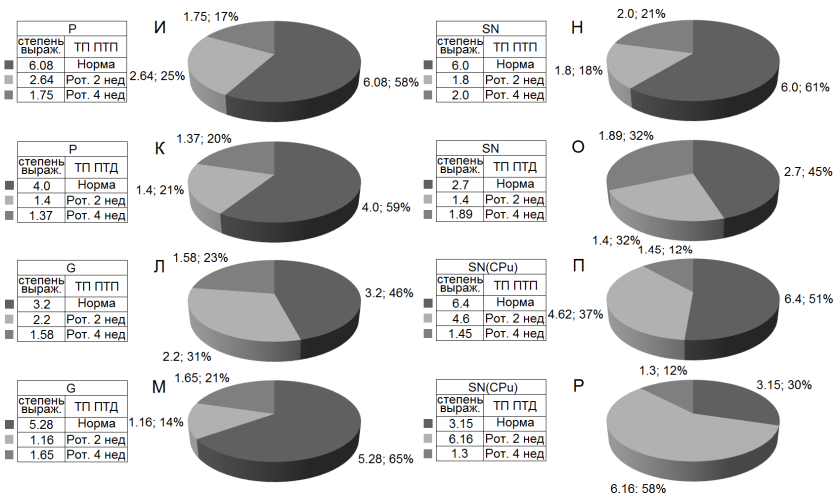


Рисунок 2. Процентное соотношение степени выраженности тетанических возбудительных эффектов с посттетаническими (И, Л, Н, П) и смешанных возбудительно-депрессорных (К, М, О, Р) в одиночных МН СМ на ВЧС Р (И, К), G (Л, М), SN (Н, О) и в нейронах SN при ВЧС CPu (П, Р) на модели БП.

## СОТНОШЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ТОРМОЗНЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ НА РОТЕНОВОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА ПОД ПРОТЕКТОРНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГАЛАРМИНА

Сравнительный анализ импульсной активности одиночных МН СМ на ВЧС Р, G и SN и нейронов SN при ВЧС CPu в норме (n=220: n=187 и n=33, соответственно), на модели БП спустя 2 (n=194: n=122 и n=72) и 4 (n=192: n=157 и n=35, соответственно) нед и в сочетании с введением галармина спустя 2 (n=160: n=115 и n=45, соответственно) и 4 (n=238: n=204 и n=34, соответственно) нед, выявил формирование возбудительных и депрессорных тетанических эффектов с последующими посттетаническими проявлениями активности, исчисляемых на основе усредненного количества спайков (PETN), с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты в Гц (Frequency Average).

Ко 2 нед развития модели БП, в условиях протекции галармином в МН СМ на ВЧС нерва Р ТД в ТД ПТД определялась в пределах уже 6-кратного занижения, более чем вдвое выше нормы (2.5) и патологии без протекции (4); ТД в ТД ПТП – порядка также 5-кратного, опять выше нормы (4); ТД в ТД ПТП под воздействием галармина достигала снижения престимульного уровня в пределах 5-кратного, что также оказалось выше нормы (4), но равного патологии без протекции (5). В МН СМ на ВЧС нерва G в МН СМ на ВЧС нерва G под воздействием галармина ТД в ТД ПТД достигала 3-кратного занижения, равного норме (3), но выше патологии (2.5), а ТД в ТД ПТП – 5-кратного, также выше нормы (3.5) и патологии (4). В МН СМ на ВЧС SN ТД в ТД ПТД оказалось выше нормы (3 против 2.5) и намного выше патологии (1.66), но ТД в ТД ПТП – порядка 5-кратного, также выше нормы (4) и почти вдвое - патологии (2.66). Наконец, в нейронах SN ТД в ТД ПТД на ВЧС CPu достигала 6-кратного занижения, ниже нормы (8) и значительно ниже патологии (16), а ТД в ТД ПТП - 5-кратного, опять ниже нормы (7) и патологии (12).

При протекции галармином 2 нед спустя на модели БП выявлены следующие значения возбудительных постстимульных проявлений. В МН СМ на ВЧС Р ТП в ТП ПТП превышала престоимурный уровень лишь в 2.25 раз, ниже нормы (4.75) и патологии (4); ТП в ТП ПТД – в 1.16 раз, ниже нормы (2.8) и патологии (2). ВМН СМ на ВЧС G ТП в ТП ПТП достигала 2-кратного превышения ниже нормы (2.8) и патологии (3); ТП в ТП ПТД определялась порядка лишь 1.1-кратного превышения, намного ниже нормы (4.25) и даже патологии (1.4). В МН СМ на ВЧС SN ТП в сочетании с ПТП достигала 2-кратного превышения, вдвое ниже нормы (4), но выше патологии (1.5); ТП в ТП ПТД – 1.5-кратного превышения, ближе к норме (1.55) и патологии (1.6). Наконец, в нейронах SN при ВЧС СРи ТП не регистрировалась вообще, в то время как в норме она в сочетании с ПТП и ПТД достигала 2.75 и 1.28-кратного превышения, а в патологии – порядка 2.8 и 1.1, соответственно.

Спустя 4 нед в МН СМ на ВЧС Р, на модели БП в условиях протекции галармином, ТД в однонаправленной депрессорной последовательности (ТД ПТД) исчислялась в пределах 4.5-кратного занижения престоимурного уровня, что оказалось выше нормы (2.5) и патологии (3); ТД в смешанной депрессорно-возбудительной (ТД ПТП) последовательности достигала аналогичного 4.5-кратного занижения, выше нормы (4), и более чем вдвое выше патологии (2). В МН СМ на ВЧС G ТД в ТД ПТД исчислялась в пределах 5-кратного занижения, достаточно выше нормы (3.5) и намного выше патологии (2); ТД в ТД ПТП достигала 4-кратного занижения, выше нормы (3.5) и намного выше патологии (1). В МН СМ на ВЧС SN ТД в ТД ПТД исчислялась в пределах 4-кратного занижения, достаточно выше нормы (2.5) и выше патологии (3); ТД в ТД ПТП достигала даже 6-кратного занижения, выше нормы (4) и втрое выше патологии (2). Наконец, в нейронах SN при ВЧС СРи ТД в ТД ПТД определялась в пределах 3.4-кратного занижения намного ниже нормы (8), но выше патологии (2.33); ТД в ТД ПТП достигала 3.2-кратного занижения, также ниже нормы (7) но вдвое выше патологии (1.66).

В МН СМ 4 нед спустя, на модели БП с протекцией галармином, ТП в чисто возбудительной последовательности (ТП ПТП) при ВЧС Р определялась порядка лишь 1.33-кратного превышения престоимурного уровня, намного ниже нормы (4.75) и ближе к патологии (1.66); ТП в ТД ПТД – достигала 1.6-кратного превышения, опять ниже нормы (2.8) и патологии (2). В МН СМ на ВЧС G ТП в ТП ПТП исчислялась в пределах лишь 1.16-кратного превышения, ниже нормы (2.8) и патологии (1.14); ТП в ТП ПТД достигала 1.11-кратного превышения, намного ниже нормы (4.25), но равного патологии (1.14). В МН СМ на ВЧС SN ТП в ТП ПТП и ТП ПТД определялась в пределах 1.4-кратного превышения, намного ниже (4) и ближе к норме (1.55), соответственно, и патологии (1.5 и 1.8). В нейронах SN на ВЧС СРи ТП в ТП ПТП достигала 3.8-кратного превышения, выше нормы (2.75) и более чем вдвое выше патологии (1.6); ТП в ТП ПТД – достигала 1.86-кратного превышения, выше нормы (1.28) и патологии (1.25).

Для окончательного заключения, на основе соответствующих подсчетов по количественному соотношению (Рис. 3 и 4) разнонаправленных постстимульных депрессорных и возбудительных реакций, в сравнении с нормой, в вышеотмеченные сроки испытаний в патологии и под воздействием галармина, составлены дисковые диаграммы, в которых они наглядно представлены для всех вышеприведенных случаев. Анализ количественного соотношения в процентах депрессорных и возбудительных тетанических проявлений постстимульной активности в условиях применения галармина на модели БП, в динамике ее развития, привел к следующему выводу. При стимуляции нерва Р в МН СМ, резко увеличилось количество депрессорных эффектов, в сравнении с БП без протекции, в особенности, а также с нормой в депрессорной последовательности, и в смешанной также, но особенно значительно в сравнении с БП в поздний срок. При активации нерва G ситуация фактически складывалась аналогичным образом. При

активации SN в МН СМ ТД в ТД ПТД значительно превосходила норму лишь в поздний период испытаний, но не достигала в ранний, а в отношении БП – превышала уровни в оба срока; ТД в ТД ПТП также превосходила норму и при БП в поздний срок, но в ранний – количество случаев было почти вдвое меньше, чем при БП. Наконец, в нейронах SN при активации СРи галармин не позволил превысить норму для ТД в ТД ПТД, но в ТД ПТП несколько превысил ее в ранний срок, будучи приблизившимся к аналогичным уровням при БП; ТД же в ТД ПТП, хотя в ранний срок была несколько выше нормы, в остальном разницы не отмечалось. Возбудительные эффекты складывались следующим образом. Применение протекции в МН СМ при активации Р позволило ТП в ТП ПТП приблизиться к норме и намного превысить ее уровни при БП лишь в поздний период, но в ранний - ее количество оказалось несравненно выше при БП; ТП в ТП ПТД превысила норму и, в особенности, значительно уровни при БП в поздний период. ТП в ТП ПТП при активации G в МН СМ оказалась меньше нормы, но выше патологии в поздний период, в отличие от такового – в ранний; ТП в ТП ПТД была выше нормы и патологии в поздний период. В МН СМ при активации SN ТП в ТП ПТП была ниже нормы, но намного выше патологии; ТП в ТП ПТД – ниже нормы, но выше патологии. Наконец, в нейронах SN при стимуляции СРи ТП в ТП ПТП и ПТД не выявлялась вообще, а в ранние сроки была ниже нормы и патологии.

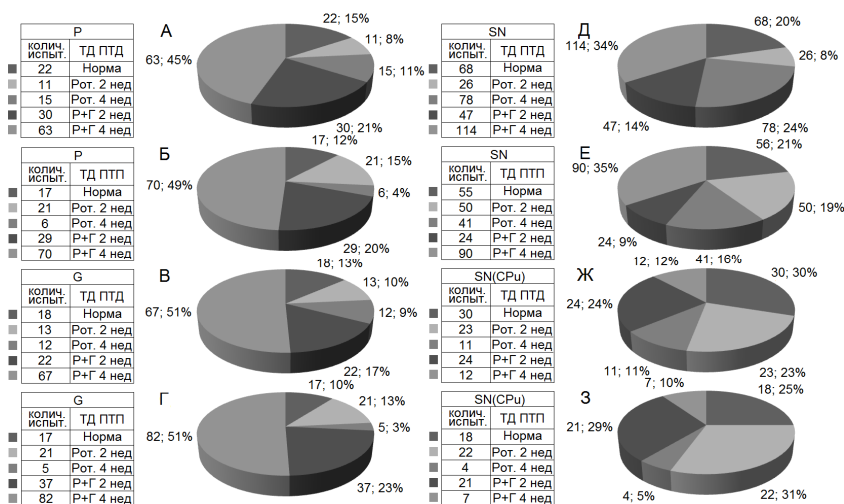


Рис. 3. Процентное соотношение количества тетанических депрессорных (в последовательности с таковыми посттетаническими эффектами) (А, В, Д, Ж), и смешанных депрессорных-возбудительных (Б, Г, Е, З) постстимульных проявлений активности в одиночных МН СМ на ВЧС экстензорного – Р (А, Б), флексорного – G (В, Г) нервов, SN (Д, Е) и в нейронах SN на ВЧС СРи (Ж, З) на ротеноновой модели БП с системным введением Галармина. Обозначения: колич. испыт. – количество испытаний, Рот. – ротенон, Р+Г – ротенон+галармин.

На модели БП ко 2 и 4 нед, после введения Ротенона и с протекцией галармином, в сравнении нормой, согласно диаграммам усредненной частоты спайков единичных МН СМ на ВЧС Р, G и SN, а также нейронов SN при ВЧС СРи, построенных на основе растеров пре- и постстимульных депрессорных и возбудительных проявлений спайковой

активности, с указанием средних цифровых значений в реальном времени 20 сек до и после стимуляции, включая время ВЧС выявлено следующее. При анализе относительной степени выраженности чисто депрессорных и смешанных депрессорно-возбудительных постстимульных реакций на модели БП в условиях протекции галармином, по сравнению с нормой и патологией, вышеотмеченных одно- и разнонаправленных постстимульных проявлений активности изученных структур, в частотном выражении по отношению к престоимильному уровню, спустя 2 нед, было получено следующее. В МН СМ при ВЧС Р ТД в ТД ПТД в условиях протекции галармином достигала занижения частоты до 3.55 Гц, выше нормы (2.5), но ближе к патологии (3.1); ТД в ТД ПТП – порядка 3-кратного занижения, несколько выше нормы (2.42) и ближе к патологии (2.76). В МН СМ при ВЧС G ТД в ТД ПТД – достигала занижения до 1.85-кратного, ниже нормы (2.27), но ближе к патологии (2); ТД в ТД ПТП – до 2.3-кратного, равного норме (2.22), но почти вдвое ниже патологии (4). В МН СМ при ВЧС SN занижение ТД в ТД ПТД определялось порядка 2-кратного, ниже нормы (2.4), но выше патологии (1.68); ТД в ТД ПТП достигала уже 3.54-кратного занижения, выше нормы (2.93) и патологии (2.06). В нейронах SN на ВЧС СРи ТД в ТД ПТД достигала занижения почти два раза выше нормы (14.74 против 7.77) и патологии (5.8), но ТД в ТД ПТП оказалась ниже нормы (10.88 против 15.07), но выше патологии (9.74).

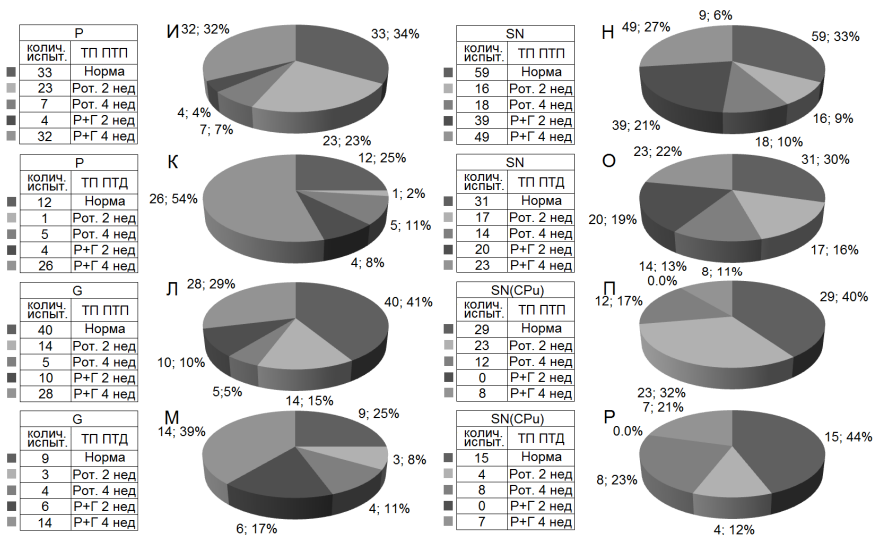


Рис. 4. Процентное соотношение количества тетанических и посттетанических возбудительных ((И, Л, Н, П, соответственно), и смешанных возбудительно-депрессорных (К, М, О, Р) постстимульных проявлений активности в одиночных МН СМ на ВЧС Р (И, К), G (Л, М) нервов, SN (Н, О) и в нейронах SN при ВЧС СРи (П, Р) на ротеновой модели БП с введением галармина.

При оценке вышеотмеченных одно- и разнонаправленных постстимульных проявлений активности изученных структур, в частотном выражении по отношению к престоимильному уровню, спустя 4 нед было выявлено следующее. В МН СМ на ВЧС Р ТД в ТД ПТД, в условиях протекции галармином, выявлялась в пределах 2.99-кратного занижения, что оказалось выше нормы (2.5), но равной патологии без протекции (2.96);

ТД в ТД ПТП – порядка 3.64-кратного занижения, что уже было выше нормы (2.42), но намного ниже патологии без протекции (6.2). В МН СМ при ВЧС G под воздействием галармина ТД в ТД ПТД выявляла занижение престаимпульного уровня в пределах 4.37-кратного, что почти вдвое превышало норму (2.27) и несколько меньше - патологию (2.7); ТД в ТД ПТП выявляла занижение в 3.57 раз, что оказалось выше нормы (2.22), и равным патологии (3.5). В условиях протекции в МН СМ на ВЧС SN ТД в ТД ПТД проявлялась в пределах 3.06-кратного занижения престаимпульного уровня, что оказалось выше нормы (2.4) и патологии без протекции (2.66); ТД в последовательности ТД ПТП была в 3.22 раза ниже престаимпульного уровня, что опять превышало как норму (2.93), так и, в особенности, патологию (1.85). Что же касается нейронов SN при ВЧС СРи, то в условиях воздействия галармина ТД в ТД ПТД достигала уровня почти 3-кратного занижения (2.95), что оказалось более чем в два раза ниже нормы (7.77), но выше патологии (1.47); ТД в ТД ПТП исчислялась в пределах 4.56-кратного занижения, что более чем в три раза было ниже нормы (15.07) и более чем в три раза выше патологии (1.28).

В МН СМ ТП в ТП ПТП при ВЧС Р, спустя 2 нед в условиях протекции галармином претерпевала превышение порядка 2.64, т.е. значительно ниже нормы (6.08), и патологии (6.3); ТП в ТП ПТД – до лишь 1.4-кратного, ниже нормы (4), но намного выше патологии (0.07). В МН СМ при ВЧС G ТП в ТП ПТП при протекции превышала престаимпульный уровень 2.2-кратно, что было ниже нормы (3.2) и патологии (4.13); ТП же в ТП ПТД – до лишь 1.16-кратного, близкого к патологии (1.12) и намного ниже нормы (5.28). В МН СМ на ВЧС SN в условиях протекции ТП в ТП ПТП превышала престаимпульный уровень 2.5-кратно, намного ниже такового в норме (6), но выше патологии (1.79); ТП же в ТП ПТД – 1.8-кратно, что опять было ниже нормы (2.73) и патологии (1.4). Наконец, в нейронах SN на ВЧС СРи под протекцией не отводились возбуждающие эффекты, в то время как в норме они достигали значительного уровня превышения в обеих последовательностях (6.4 и 3.15) и при патологии (4.6 и 6.16, соответственно).

В МН СМ на ВЧС Р ТП в ТП ПТП спустя 4 нед в условиях протекции определялась в пределах 1.75-кратного превышения, что было значительно ниже нормы (6.08) и даже патологии (2.2); ТП в ТП ПТД – в пределах 1.37-кратного превышения, что также оказалось намного ниже нормы (4) и несколько ниже патологии (1.6). В условиях протекции в МН СМ на ВЧС G ТП в ТП ПТП достигала 1.58-кратного превышения, что почти вдвое было ниже нормы (3.2) и патологии (2.05); ТП в ТП ПТД достигала 1.65-кратного превышения, значительно ниже нормы (5.28), и патологии (2.05). В МН СМ ТП в ТП ПТП на ВЧС SN при использовании протекции оказалась в пределах 1.6-кратного превышения, что было несравненно ниже нормы (6) и даже патологии (2.04); ТП в ТП ПТД достигала 1.5-кратного превышения, что опять было ниже нормы (2.73) и патологии (1.89). Наконец, в нейронах SN при ВЧС СРи в условиях протекции ТП в ТП ПТП исчислялась порядка 4.45-кратного превышения, что оказалось ниже нормы (6.4) и намного выше патологии (1.45); ТП в ТП ПТД исчислялась в пределах 1.88-кратного превышения, что было ниже нормы (3.15), но выше патологии (1.3).

Для окончательного заключения, на основе соответствующих подсчетов по степени выраженности (Рис. 5 и 6) разнонаправленных постстимульных депрессорных и возбуждающих реакций, в сравнении с нормой, в вышеотмеченные сроки испытаний в патологии и под воздействием галармина, составлены дисковые диаграммы, в которых они наглядно представлены для всех вышеприведенных случаев.

В заключение, в условиях использования протекции галармином на модели БП тетаническая депрессия и возбуждение проявили следующие сдвиги с удлинением сроков испытаний. В МН СМ на стимуляцию Р в этих условиях имело место увеличение тетанической депрессии больше нормы и на модели БП лишь в депрессорной последовательности (ТД ПТД), а в смешанной – депрессорно-возбуждающей (ТД ПТП) -

выше нормы, но ниже при БП. На активацию G в обоих случаях тетаническая депрессия превосходила норму, но с той разницей, что в сочетании с ПТД в ранний срок приближалась к значению при БП, а в поздний – превосходила; в сочетании же с ПТП в ранний срок не достигала таковой при БП, а в поздний – приближалась к ней. При стимуляции SN ТД в ТД ПТД оказалась больше нормы и БП в поздний срок, а ТД в ТД ПТП – больше нормы и при БП, независимо от сроков испытаний. Наконец, в нейронах SN при активации CPu ТД в ТД ПТД в ранний срок достигла уровня вдвое выше нормы и намного выше при БП, а в поздний – оказалась меньше нормы и больше при БП; ТД в ТД ПТП не достигала нормы, особенно в поздний срок и была больше уровня при БП как в ранний, так и в поздний сроки. В МН СМ при активации P ТП в сочетании с ПТП оказалась меньше и нормы и при БП, а в сочетании с ПТД – меньше нормы, но больше при БП в ранний срок и ближе – в поздний. При активации G в МН СМ ТП в сочетании с ПТП оказалась меньше нормы и при БП, а в ТП ПТД – намного меньше нормы и ближе к таковой при БП лишь в ранний срок. Активация SN в МН СМ привела к резкому уменьшению ТП в ТП ПТП, по сравнению с нормой, но превышению уровня при БП в ранний срок и снижению – в поздний; ТП в ТП ПТД оказалась меньше нормы и ближе к уровню при БП. Наконец, стимуляция CPu в нейронах SN выявила отсутствие ТП в ТП ПТП в ранний срок и уменьшение ниже нормы и приближение к уровню при БП в ранний срок, но резкому увеличению – в поздний. ТП в сочетании с ПТД отсутствовала в ранний срок, а в поздний – была меньше нормы, но больше при БП - в поздний.

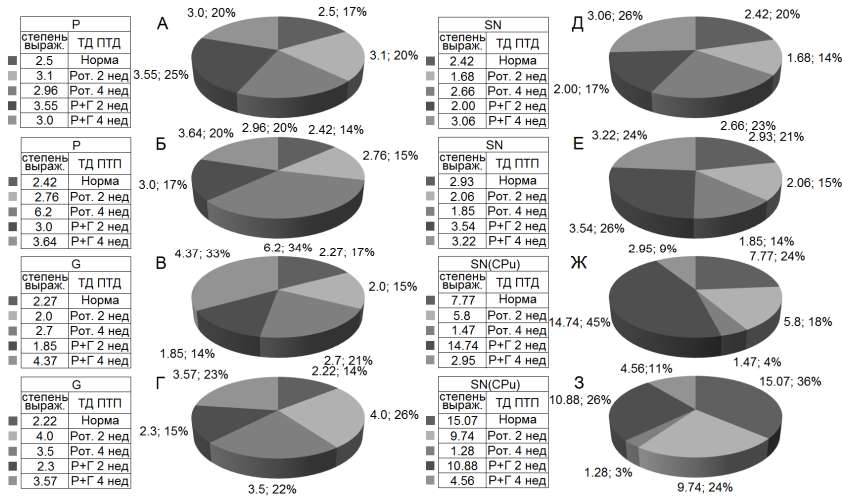


Рис. 5. Процентное соотношение степени выраженности тетанических депрессорных (с таковыми посттетаническими) (А, В, Д, Ж) и смешанных депрессорно-возбудительных (Б, Г, Е, З) эффектов в одиночных МН СМ на ВЧС экстензорного – Р (А, Б), флексорного – G (В, Г) нервов, SN (Д, Е) и в нейронах SN при ВЧС CPu (Ж, З) на ротеноновой модели БП с введением галармина.



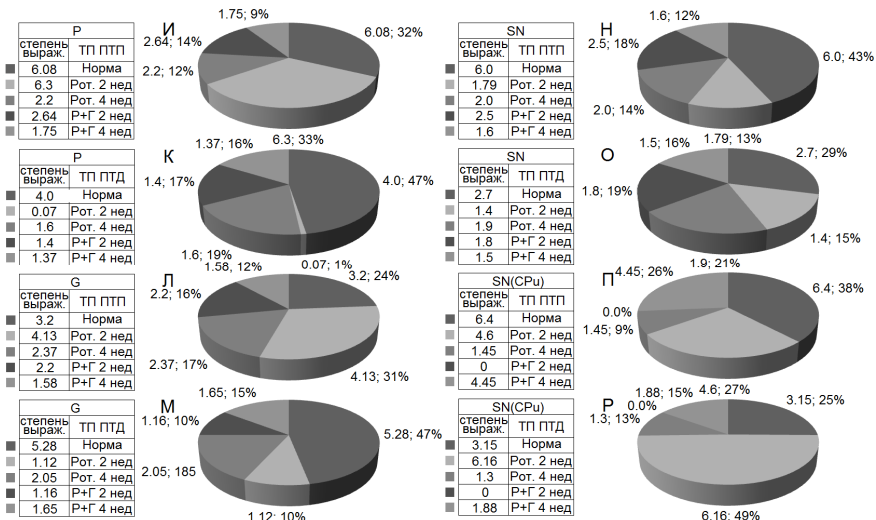


Рис. 6. Пропорциональное соотношение степени выраженности тетанических возбудительных (И, Л, Н, П) и возбуждительно-депрессорных (К, М, О, Р) эффектов в одиночных МН СМ на ВЧС экстензорного – Р (И, К), флексорного– G (Л, М) нервов, SN (Н, О) и в нейронах SN при ВЧС CPu (П, Р) на модели БП с введением галармина.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С учетом состояния проблемы в аспекте механизмов развития БП, в частности, ее ротеноновой модели и перспектив терапии, согласно достижениям последних лет, признано значительным пробелом исключение избирательного вовлечения СМ в БП, в особенности, при попытках организации эффективной терапевтической стратегии, что привело к признанию СМ потенциальной мишенью терапевтических приложений [Dickson D. et al., 2009; Lim S. et al., 2009; Knaryan V. Et al., 2011]. Клинически и экспериментально показана высокая степень вовлечения СМ в прогрессию БП, в качестве экстранигральной структуры, с уделением особого внимания немоторным симптомам в качестве преклинических. Таким образом, наряду с нигростриатной дегенерацией, ответственной за экстрапирамидные моторные признаки, экстранигральная, в свою очередь, отвечает за множество изменений в центральных и периферических ядрах нервной системы [Kalaitzakis M. et al., 2008]. По образному выражению Вильяма Лангстона [Langston J., 2006], как клиницисты, так и исследователи считают БП верхушкой айсберга, в то время как тело его более широко распространено повсеместно в ЦНС и ПНС. К тому же, в настоящее время происхождение отдельных симптомов БП определенно связывают с дискретными ядрами в СМ [см. обзор Vivacqua G. et al., 2011b]. Более того, согласно последним данным, патологические манифестации первоначально возникают в СМ, распространяясь в каудо-ростральном направлении до мезэнцефалона, о чем свидетельствуют тяжелые патологические сдвиги в глиальных клетках СМ [Braak H. et al., 2003], в виде клеточной гибели, митохондриальных альтераций и тяжелых воспалительных проявлений у трансгенных мышей [Mendritzki S. et al., 2010], включая тяжелые моторные нарушения также спинального происхождения. Это предусматривает возникновение в ранних стадиях БП не ДА симптомов, предшествующих клеточной

гибели в SN, в качестве беспокойного поведения [Bodis-Wollner I., 2003], дисфункции типа депрессии, нарушения сна, контролируемые нижней частью ствола мозга и спинальным ганглием [Langston J., 2006]. Исследование указанного каудо-рострального направления прогрессии БП у трансгенных мышей [Mendritzki S. et al., 2010] обнаружило клеточную гибель, митохондриальные альтерации и тяжелые воспалительные реакции в глиальных клетках СМ. Дополнительно обнаружили тяжелые моторные нарушения, которые очевидно относились к патологическим изменениям в СМ. Более того, трансгенные мыши, перенесшие БП-индуцированные генные мутации, возбуждали более тяжелые патологические нарушения в глиальных клетках СМ, чем в мезэнцефалоне, сходно с ситуацией в ранних проявлениях БП [Braak H. et al., 2003]. Впоследствии было показано, что глиальные клетки имеют активный вклад в инициацию или прогрессию БП [Schmidt S. et al., 2010; Stichel C. et al., 2007]. Также имеют активный вклад в нейродегенерацию олигодендроциты [Shults C. et al., 2005]. На основе недавних исследований на животных, СМ, как менее инвазивный, чем глубинная-мозговая стимуляция, предлагается в качестве перспективного участка стимуляции для облегчения моторных симптомов при БП. Так, стимуляция педункулопонтинного ядра служит экспериментальной терапией для скованной (freezing) походки у пациентов с БП [Pierantozzi M. et al., 2008]. К тому же, эпидуральная электрическая стимуляция дорзальных столбов в СМ, в комбинации с значительно низкими дозами L-DOPA, восстанавливает локомоцию на мышинной модели БП [Fuentes R. et al., 2009]. В заключение, в клинических испытаниях для облегчения моторных симптомов при БП, признаны полезными комбинация ДА замещающей терапии со спинальной электрической стимуляцией [Fuentes R. et al., 2010].

В настоящих полуронических экспериментах на крысах Альбино интактных и на ротеноновой модели БП спустя 2 и 4 нед в остром эксперименте, регистрация активности одиночных МН L<sub>4</sub>-L<sub>5</sub> сегментов СМ (n=358) при ВЧС (1сек) флексорного (G), экстензорного (P) нервов задней конечности и компактного отдела SN, а также – SN на ВЧС СРи (n=140), *on-line* селекцией и программным математическим анализом выявила следующее.

Согласно диаграммам усредненной частоты, построенным на основе растров пре- и постстимульных депрессорных и возбуждательных проявлений спайковой активности, с указанием средних цифровых значений в реальном времени 20 сек до и после стимуляции, включая время ВЧС, была установлена относительная степень выраженности в патологии, по сравнению с нормой, вышеотмеченных одно- и разнонаправленных постстимульных тетанических и посттетанических проявлений активности изученных структур, в частотном выражении, по отношению к престоимному уровню. В норме, во всех случаях испытаний в указанных структурах, имелось определенное соотношение возбуждательных и депрессорных частотных проявлений постстимульной активации, реже с значительным превалированием одних над другими в количественном соотношении и выраженности, как, например, в последнем случае.

На модели БП сравнение уровня тетанической депрессии в МН СМ спустя 2 и 4 нед испытаний привело к следующему выводу. В случае активации нервов тетаническая депрессия, в целом, оказалась более выраженной в поздние сроки, при активации SN уровень тетанической депрессии в однонаправленной депрессорной последовательности (ТД ПТД) был также выше в поздние сроки, а в таковой смешанной (ТД ПТП) – не было обнаружено разницы с изменением сроков. Наконец, при активации СРи в нейронах SN тетаническая депрессия снизилась в поздний срок. В сравнении с нормой результаты сводились к следующему. В случае активации P в обеих последовательностях тетаническая депрессия превысила норму. При активации G ТД намного превысила

норму в депрессорной последовательности в поздний срок, в отличие от таковой – в ранний, в то время как в смешанной последовательности ТД превысила норму, особенно значительно в поздний срок испытаний. При активации SN ТД в ТД ПТД также превысила норму, особенно в поздний срок, а в ТД ПТП – намного превысила норму. Наконец, активация CPu привела к значительно большему (вдвое) превышению нормы ТД в ТД ПТД в ранний срок и еще более значительному (более чем трехкратному) снижению – в поздний срок; ТД же в ТД ПТП оказалась меньше нормы в ранний срок и даже трехкратно снизилась по сравнению с нормой – в поздний. Возбудительные тетанические и посттетанические эффекты в МН СМ и нейронах SN на модели БП претерпевали следующие сдвиги в отмеченные сроки испытаний. В МН СМ при активации P, G ТП в сочетании с ПТП оказалась меньше выраженной в поздние сроки, но в комбинации с ПТД, а также при активации SN в обеих последовательностях, не было обнаружено существенной разницы в различные сроки испытаний. Активация CPu в нейронах SN выявила более выраженное снижение уровня ТП с удлинением сроков испытаний, особенно в сочетании с ПТД, но в отличие от всех предыдущих случаев ТП при этом оказалась выше нормы. Отмеченное позволяет заключить о нарастании постстимульной тетанической депрессии выше нормы в МН СМ преимущественно с увеличением сроков испытаний, за исключением нейронов SN, в которых намечается относительно значительное превышение депрессии в ранние сроки, а также при активации SN в МН СМ, в которых происходит сближение уровней в случае смешанной постстимульной последовательности, что свидетельствует об относительной эффективности депрессорной протекции на Ротеноновой модели БП. Возбудительные тетанические реакции в МН СМ и нейронах SN преимущественно оказались меньше выраженными в поздние сроки и по уровню не выше нормы, за исключением нейронов SN, которые в возбудительно-депрессорной последовательности оказались выше нормы.

В полухронических экспериментах на ротеноновой модели БП и в условиях протекции галармином, спустя 2 и 4 нед в остром эксперименте, регистрация активности одиночных МН L<sub>4</sub>-L<sub>5</sub> сегментов СМ (n=617) при ВЧС (1сек) экстензорного и флексорного нервов задней конечности и компактного отдела SN, а также – SN на ВЧС CPu (n=219), on-line селекцией и программным математическим анализом, выявила следующее. В условиях использования галармина на модели БП тетаническая депрессия и возбуждение проявили следующие сдвиги с удлинением сроков испытаний. В МН СМ на стимуляцию P в этих условиях имело место увеличение тетанической депрессии больше нормы и на модели лишь БП в депрессорной последовательности (ТД ПТД), а в смешанной – депрессорно-возбудительной (ТД ПТП) - выше нормы, но ниже при БП. На активацию G в обеих случаях тетаническая депрессия превосходила норму, но с той разницей, что в сочетании с ПТД в ранний срок приближалась к значению при БП, а в поздний – превосходила; в сочетании же с ПТП ТД в ранний срок не достигала БП, а в поздний – приближалась к ней. При стимуляции SN ТД в ТД ПТД оказалась больше нормы и при БП в поздний срок, а ТД в ТД ПТП – больше нормы и при БП, независимо от сроков испытаний. Наконец, в нейронах SN при активации CPu ТД в ТД ПТД в ранний срок достигла уровня вдвое выше нормы и намного выше при БП, а в поздний – оказалась меньше нормы и больше при БП; ТД в ТД ПТП не достигала нормы, особенно в поздний срок и была больше уровня при БП как в ранний, так и в поздний сроки. В МН СМ при активации P ТП в сочетании с ПТП оказалась меньше и нормы и при БП, а в сочетании с ПТД – меньше нормы, но больше при БП в ранний срок и ближе – в поздний. При активации G в МН СМ ТП в сочетании с ПТП оказалась меньше нормы и при БП, а в ТП ПТД – намного меньше нормы и лишь ближе к таковой при БП в ранний срок. Активация SN в МН СМ привела к резкому уменьшению ТП в ТП ПТП, по сравнению с нормой, но превышению уровня при БП в ранний срок и снижению – в поздний; ТП в ТП ПТД

оказалась меньше нормы и ближе к уровню при БП. Наконец, стимуляция СРи в нейронах SN выявила отсутствие ТП в ТП ПТП в ранний срок и уменьшение ниже нормы и приближение к уровню при БП в ранний срок, но резкому увеличению – в поздний. ТП в сочетании с ПТД отсутствовала в ранний срок, а в поздний – была меньше нормы, но больше уровня при БП в поздний. Иными словами, в целом, протекция галармином содействовала углублению тетанической депрессии выше нормы в МН СМ и нейронах SN, нередко лучше выраженной в поздний срок, за исключением нейронов SN, в которых она, будучи высокой, превалировала в ранние сроки. Возбудительная активность преимущественно не достигала нормы, за исключением МН СМ на активацию нервов (в ТП ПТП) и нейронов SN (в ТП ПТД), в которых активность даже отсутствовала в ранние сроки. Таким образом, возбудительные эффекты нуждались в продолжении испытаний до их восстановления при наличии высокой депрессорной активности, а значит не без дальнейшего использования галармина.

В связи с увеличением нейродегенеративных заболеваний придается все большее значение вопросам нарушения взаимодействия нейромедиаторов в синхронизации работы нервных сетей. Показаны нарушения коммуникационных связей различных нейротрансмиттерных систем, в частности, между глутамат- и ГАМК-ергической системами. Углубление депрессорных тетанических реакций, по-видимому, является следствием их выдвигания в качестве несущих протекторную нагрузку в начальной стадии восстановления. Согласно собственным данным, депрессорные реакции интенсивнее вовлекаются как при неспецифической (периферической, центральной) так и специфической нейродегенерации в различных отделах мозгах [Galoyan A. et al., 2008; 2010; Sarkissian J. et al., 2007 и др.]. Полагается выдвигание углубления депрессорных тетанических реакций, в качестве несущих протекторную нагрузку при нейродегенерациях различного происхождения в начальной стадии восстановления и, содействующих восстановлению исходного соотношения возбудительных и депрессорных процессов. В настоящем исследовании следует оценить значение депрессорных тетанических проявлений активности МН СМ и SN, лучше выраженных в начальной стадии восстановления. Поскольку в основе депрессии, лежит торможение, то представляет интерес возможность ее содействия протекции. В свою очередь, истинное торможение, в отличие от депрессии дисфасилитаторного происхождения, может быть различного происхождения. Как известно, депрессорные постстимульные проявления активности в виде ТД и ПТД опосредуют тормозные моноамины ГАМК или Глицин. Нами ранее протекторное назначение ГАМК показано в исследованиях по неспецифической нейродегенерации, в частности, в ядре Дейтерса (односторонняя лабиринтэктомия) [Galoyan A. et al., 2010], в СМ в условиях латеральной гемисекции [Саркисян Дж. и соавт. 2004; Galoyan A. et al., 2005; Галоян и соавт. 2007; Galoyan et al., 2007 ], на поврежденном периферическом нерве [Galoyan A. et al., 2001; Саркисян и соавт. 2003; 2005; Galoyan et al., 2005; Meliksetyan I. et al., 2011; Minasyan A., 2011; Минасян и соавт., 2012] и при специфической нейродегенерации в гиппокампе (на амилоидной модели БА) [Галоян А. и соавт. 2004; Galoyan A. et al., 2008; Yenkovyan K. et al., 2011], в нейронах преимущественно ГАМК-ергической природы, в которых интенсивно рано вовлекаемые депрессорные реакции сопровождают процесс восстановления до его завершения. Подтверждением предположения о универсальном протекторном назначении ГАМК-ергического торможения служат также литературные данные, свидетельствующие о том, что в некоторых системах в течение развития нервной системы ГАМК действует в качестве фактора, влияющего на различные признаки, включающие пролиферацию, миграцию, а также дифференциацию и созревание синапса, клеточную гибель и экспрессию рецептора ГАМК<sub>A</sub> [Owens D., Kriegstein A., 2002]. Согласно недавним данным, предположено, что ГАМК и глицин могут играть важную и возможно различную роль в развивающейся и

зрелой центральной вестибулярной системе [Tighilet B., Lacour M., 2001]. В свою очередь, установлена решающая роль событий, опосредованных ГАМК рецепторов в нейронах вестибулярных ядер при восстановлении функции после односторонней лабиринтэктомии, известном в качестве вестибулярной компенсации [Tighilet B., Lacour M., 2001; Giardino L. et al., 2002; Johnston A. et al., 2001; Yamanaka T. et al., 2000]. К тому же, устойчивое углубление депрессии в вышеотмеченных наших работах являлось следствием привлечения в качестве протекторной категории галармина - гипоталамического нейропептида-иммуно модулятора. В настоящей работе, где также не исключено вовлечение истинного ГАМК–эргического торможения в течение ТД и ПТД, с целью углубления депрессии в изученных структурах естественно возникла необходимость терапевтического воздействия галармина в процессе де- и регенерации. Помимо того, представляет интерес влияние галармина на активность системы нейромедиаторных аминокислот глутамин–глутамат–ГАМК [Hambartsumyan D. et al., 2003]. В подтверждение, современные изучения на клеточном и сетевом уровнях доказывают, что синаптическое торможение не может оцениваться лишь в качестве противостоящей синаптическому возбуждению и дополнительно обслуживает высоко специфические функции в нервной системе млекопитающих [Birkv G., Draguhn A., 2010].

## ВЫВОДЫ

1. В норме, согласно диаграммам усредненной частоты, построенным на основе растеров постстимульных депрессорных и возбудительных проявлений спайковой активности, по отношению к престоимому уровню, во всех случаях испытаний в МН СМ и нейронах SN, на активацию экстензорных и флексорных нервов, SN и СРу, соответственно, установлено определенное соотношение относительной степени выраженности и количественного соотношения тетанических возбудительных и депрессорных эффектов, реже с значительным превалированием одних над другими, за исключением последнего.
2. На рогеноновой модели БП получено нарастание постстимульной тетанической депрессии выше нормы в МН СМ, преимущественно с увеличением сроков испытаний, за исключением нейронов SN, в которых выявлено значительное превышение депрессии в ранние сроки, а также при активации SN в МН СМ, в которых происходит сближение уровней в случае смешанной постстимульной последовательности, что свидетельствует о относительной эффективности депрессорной протекции.
3. Возбудительные тетанические реакции в МН СМ и нейронах SN оказались преимущественно меньше нормы и менее выраженными в поздние сроки испытаний или без существенной разницы в различные сроки в возбuditельно-депрессорной последовательности, а также при активации SN в обеих последовательностях.
4. В МН СМ и нейронах SN системное введение галармина содействовало углублению тетанической депрессии выше нормы, нередко лучше выраженной в поздний срок, за исключением нейронов SN, в которых оно, будучи высоким, превалировало в ранние сроки.
5. Возбудительная активность в условиях протекции галармином преимущественно не достигала нормы, за исключением МН СМ на активацию нервов в сочетании с посттетанической потенциацией и нейронов SN в комбинации с посттетанической депрессией, в которых отсутствовало тетаническое возбуждение в ранние сроки.

6. Полагается необходимость продолжения испытаний до полного восстановления возбудительных эффектов, при наличии высокой депрессорной активности, и с использованием галармина

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Налбандян А.А., Погосян М.В., Чавушян В.А., Саркисян Дж.С. Электрофизиологическое изучение мотонейронов спинного мозга на модели болезни Паркинсона, индуцированной ротеноном. «Современные направления исследований функциональной межполушарной асимметрии и пластичности мозга». Матер Всеросс. Конф. с межд. участием. Изд-во Росс. Акад. мед. Наук, Москва, 2010, С. 424-429.
2. Погосян М.В., Налбандян А.А., Бадалян Б.Ю., Бехнам Н., Чавушян В.А., Авакян З.Э., Саркисян Дж.С. Возбудительные и тормозные синаптические процессы в нейронах спинного мозга на модели болезни Паркинсона, индуцированной ротеноном. «Современные направления исследований функциональной межполушарной асимметрии и пластичности мозга». Матер Всеросс. Конф. с межд. участием. Изд-во Росс. Акад. мед. Наук, Москва, 2012, С. 349-354.
3. Погосян М.В., Налбандян А.А., Бадалян Б.Ю., Бехнам Н., Чавушян В.А., Авакян З.Э., Саркисян Дж.С. Соотношение возбудительных и тормозных синаптических процессов в нейронах спинного мозга на модели болезни Паркинсона, индуцированной ротеноном. Матер. Межд. юбил. конф. «Физиологические механизмы регуляции деятельности организма», посвящ. 130-летию со дня рожд. акад. Л.А. Орбели, Ереван, 2012, С. 254-260.
4. Погосян М.В., Налбандян А.А., Малоян В.А., Аветисян З.А., Асатрян Т.Т., Саркисян В.А., Саркисян Дж.С. Синаптические процессы в спинном мозге и черной субстанции на ротеноновой модели болезни Паркинсона в условиях протекции Галармином. Вопросы теоретической и клинической медицины. Научно-практический журнал 2014, № 2 (88), С. 80-91.
5. Погосян М.В., Налбандян А.А., Бадалян Б.Ю., Бехнам Н., Араджян Г.М., Саркисян Дж.С. Динамика развития синаптических процессов в спинном мозге и черной субстанции на ротеноновой модели болезни Паркинсона. Вопросы теоретической и клинической медицины. Научно-практический журнал. 2014, № 3(90), С. 4-12.
6. Налбандян А.А. Соотношение возбудительных и тормозных синаптических процессов в динамике развития модели болезни Паркинсона под воздействием галармина. Медицинская наука Армении 2014, Т. 54, № 2, С. 21-34.

## ՆԱԼԲԱՆՆՅԱՆ ԱՐՓԻՆԵ ԱՐՏԱՎԱԶԴԻ

### ՊԱՐԿԻՆՍՈՆԻ ԶԻՎԱՆՈՒԹՅԱՆ ՍՈՂԵԼՈՒՄ Ե ՉԱՆԱՐՄԻՆՈՎ ՊՐՈՏԵԿՑԻԱՅԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ ՈՂՆՈՒՂԵՂԻ Ե ՄԵ ՆՅՈՒԹԻ ՆԵՅՐՈՆՆԵՐԻ ՄԻՆԱՊՏԻԿ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԸ

#### ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Հասուն Ալբինո առնետների վրա (200-250գ) կիսաքրոնիկ երեք փորձաշարերում ուսումնասիրվել է ինտակտ (n=5), ռոտեմոնի երկկողմանի ներուղեղային ներարկմամբ (12  $\mu$ g in 0.5  $\mu$ l of Dimexid, 0.1  $\mu$ լ/րոպ արագությամբ) *medial forebrain bundle*-ում ստերեոտակսիկ կոորդինատներով և պահպանված սուր փորձերի համար մինչև 2 (n=6), 4 (n=7) շաբաթ և պրոլինով հարուստ պեպտիդի (PRP-1, galargin) -նեյրոհորմոն, իմունամոդուլյատոր համակարգված: Նորմայում նշված հատվածներում փորձարկումների բոլոր դեպքերում գրգռիչ և դեպրեսոր հետխթանման ակտիվության հաճախականային բնութագրերում դիտվում է որոշակի փոխհարաբերություն, երբեմն մեկը մյուսի նկատմամբ զգալի առավելությամբ:

Սպայկների միջին քանակի հիման վրա (PETH Average) և միջինպոլյասային ինտերվալների ու հաճախականային բնութագրերով (Frequency Average, Hz) ՊՀ մոդելի վրա 2 շաբաթ անց փորձարկումներում ողնուղեղի ՇՆ-ում դիտվում է նորմայից բարձր ՏԴ միայն ՏԴ ՊՏՊ-ում, բացառությամբ P ակտիվացման ավելի ուժեղ ՄՆ-ի նեյրոններում՝ ՏԴ ՏԴ ՊՏԴ-ում: 2 շաբաթում ողնուղեղի ՇՆ-ում դիտվում է ՏՊ-ի աննշան բարձրացում ՏՊ ՊՏՊ-ում և նվազում ՏՊ ՊՏԴ-ում: ՄՆ-ի նեյրոններում ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում հասնում է նորմային հավասար բարձացման, իսկ 4 շաբաթ անց նվազում է նորմայից ցած: ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏԴ-ում 2 և 4 շաբաթում հասնում է նորմային: Այսպիսով, նեյրոդեգեներացիայի «բնական» հակազդեցության ցուցանիշները, մասնավորապես տետանիկ դեպրեսիայի խորացման օրինակով, համեմատաբար ավելի արտահայտված են կամ մոտ են նորմային՝ ուշ ժամկետում: Ողնուղեղի ՇՆ-ում և ՄՆ-ի նեյրոններում դրդող ռեակցիաները, ընդհակառակը, դրսևորում են նվազում ուշ ժամկետներում՝ վաղ ժամկետներում նրանց պահպանման դեպքում:

ՊՀ-ի մոդելի վրա 2 շաբաթում ողնուղեղի ՇՆ-ում նյարդերի և ՄՆ-ի ԲՀԳ ժամանակ տետանիկ դեպրեսիան (ՏԴ) նվազում է նորմայից ցածր, բացառությամբ՝ P-ի ԲՀԳ ժամանակ նորմայից բարձր ՏԴ-ի: 4 շաբաթում ՏԴ-ն ՄՆ-ի ԲՀԳ ժամանակ, ընդհակառակը, հավասարվում է նորմային հետխթանման դեպրեսոր հաջորդականությամբ, իսկ P-ի ԲՀԳ դեպքում պահպանվում է կտրուկ աճ դեպրեսոր-դրդիչ ուղղությամբ: Նշվածը թույլ է տալիս ենթադրել ողնուղեղի ՇՆ-ում փորձարկման ժամկետների մեծացման հետ կապված դեպրեսիայի աճի մասին: Ողնուղեղի ՇՆ-ում և ՄՆ-ի նեյրոններում ՊՀ-ի մոդելի վրա դրդող տետանիկ և հետտետանիկ էֆեկտները կրում էին հետևյալ փոփոխությունները: Ողնուղեղի ՇՆ-ում P, G-ի ակտիվացման դեպքում ՏՊ-ն զուգորդված ՊՏՊ-ի հետ ավելի քիչ արտահայտված էր ուշ ժամկետում, բայց զուգորդված ՊՏԴ-ի հետ, և նմանապես ՄՆ-ի ակտիվացիայի դեպքում երկու հաջորդականություններում չի հայտնաբերված զգալի տարբերություն փորձարկման տարբեր ժամկետներում: Պոչավոր կորիզի

ակտիվացումը ՄՆ ներդրումներում հայտնաբերել է ՏՊ-ի մակարդակի ավելի արտահայտված ցածրացում փորձարկման ժամկետների երկարացման հետ, մասնավորապես զուգորդված ՊՏԴ-ի հետ, բայց, ի տարբերություն բոլոր նախկին դեպքերի, ՏՊ-ն նորմայից բարձր էր: Այսպիսով, ներդրողներացիայի “բնական” հակազդեցության ցուցանիշները ողնուղեղի ՇՆ-ում, մասնավորապես, տետանիկ դեպրեսիայի խորացման օրինակով, համեմատաբար ավելի արտահայտված են կամ մոտ են նորմային՝ ուշ ժամկետում: Ողնուղեղի ՇՆ-ում և ՄՆ-ի ներդրումներում դրոդո տետանիկ ռեակցիաները, ընդհակառակը, դրսևորում են նվազում ուշ ժամկետներում՝ վաղ ժամկետներում նրանց պահպանման դեպքում, իսկ ՄՆ ներդրումներում գրգռիչ- դեպրեսոր հաջորդականությունում կրկնակի դրսևորվում են նորմայից բարձր:

Արոտեկցիայի 2 շաբաթում ողնուղեղի ՇՆ-ում P նյարդի ԲՀԳ ժամանակ ստացվել է ՏԴ նորմայից բարձր, պաթոլոգիային մոտ, իսկ G նյարդի ԲՀԳ ժամանակ նորմայից ցածր, պաթոլոգիային մոտ դեպրեսոր հաջորդականությամբ և նրան հավասար ու պաթոլոգիայից ավելի ցածր դեպրեսոր-դրոդո հաջորդականությունում, ՄՆ-ի ԲՀԳ ժամանակ – ՏԴ նորմայից ցածր, բայց պաթոլոգիայից բարձր է ՏԴ ՊՏԴ-ում, նորմայից ու պաթոլոգիայից բարձր ՏԴ ՊՏՊ-ում: ՄՆ-ի ներդրումներում ՏԴ-ն նորմայից կրկնակի գերազանցում է ՏԴ ՊՏԴ-ում և նորմայից ցածր է ՏԴ ՊՏՊ-ում: 4 շաբաթում ողնուղեղի ՇՆ-ում նյարդերի ԲՀԳ ժամանակ ցույց է տրվում ՏԴ ՏԴ ՊՏԴ-ում նորմային ու պաթոլոգիային մոտ P-նյարդի ԲՀԳ ժամանակ, նորմայից բավական բարձր և պաթոլոգիայից ցածր G նյարդի ԲՀԳ, նորմայից ու պաթոլոգիայից բարձր ՄՆ –ի ԲՀԳ ժամանակ: Ողնուղեղի ՇՆ-ում ՏԴ ՏԴ ՊՏՊ-ում նորմայից և պաթոլոգիայից բավական բարձր է բացառությամբ պաթոլոգիայի ժամանակ P նյարդի ցածր էֆեկտների: ՄՆ-ի ներդրումներում դիտվում է ՏԴ նորմայից բավական ցածր, բայց պաթոլոգիայից բարձր: Այլ խոսքով, ներդրողներացիայի հակազդեցության ցուցանիշները, մասնավորապես, պրոտեկցիայի ժամանակ տետանիկ դեպրեսիայի խորացման օրինակով, համեմատաբար ավելի էֆեկտիվ են ուշ ժամկետներում և նորմայից ավելի ցածր են, բայց պաթոլոգիայից բարձր են ՄՆ-ի ներդրումներում: Փորձարկման ժամանակների երկարացման հետ պրոտեկցիայի ժամանակ ողնուղեղի ՇՆ-ում տետանիկ դրոդումը վաղ ժամկետներում լինելով գերազանցապես նորմայից և պաթոլոգիայից ցածր, ուշ ժամկետներում դրսևորվում է ավելի ցածր նորմայից և ցածր պաթոլոգիայից: ՄՆ-ի ներդրումներում պրոտեկցիայի ժամանակ տետանիկ դրոդումը դրսևորվում է նորմայից ցածր, բայց պաթոլոգիայից բարձր միայն ուշ ժամկետներում:

Այսպիսով, ողնուղեղի ՇՆ-ում պրոտեկցիայով 2 շաբաթ անց ՏՊ-ն դրսևորվել է նորմայից բավականի ցածր երկու հաջորդականություններում, պաթոլոգիայից ցածր - ՏՊ ՊՏՊ-ում և պաթոլոգիային մոտ – ՏՊ ՊՏԴ-ում: 4 շաբաթում պրոտեկցիայով ողնուղեղի ՇՆ-ում ՏՊ-ն դրսևորվել է մեծամասնությամբ նորմայից ցածր և նույնիսկ պաթոլոգիայում, հաճախ բավականաչափ, բացառությամբ ՄՆ ակտիվացման ՏՊ ՊՏԴ-ում: 4 շաբաթում ողնուղեղի ՇՆ-ում դիտվում է ՏԴ-ի բարձրացում G ԲՀԳ ժամանակ նորմային մոտեցումով կամ նրան գերազանցելով ՏԴ ՊՏՊ-ում և ՄՆ-ում – երկու հաջորդականություններում, բացառությամբ ՄՆ ներդրումների, ակտիվացվող նորմայից ցածր, բայց պաթոլոգիայից բարձր:



**SYNAPTIC PROCESSES IN NEURONS OF THE SPINAL CORD AND SUBSTANTIA NIGRA ON THE MODEL OF PARKINSON'S DISEASE IN CONDITIONS OF PROTECTION WITH GALARMIN**

**SUMMARY**

In three series of semichronic experiments on adult Albino rats (200-250 g): intact (n=5), bilateral intracerebrally injected by rotenone (12 µg in 0.5 µl of Dimexid with velocity of 0.1 µl/min) in "medial forebrain bundle" on stereotaxical coordinate and seasoned to acute experiments up to 2 (n=6), 4 (n=7) weeks and with systemic administration (from next day, seven injection every other day) of proline-rich peptide (PRP-1, galarmin) – neurohormone, immunomodulator (10γ/100 g) and seasoned to acute experiment 2 (n=5), 4 (n=9) weeks was studied activity of spinal cord (SC) motoneurons (MN) to high frequency stimulation (HFS) (1s) of flexor (n. Gastrocnemius - G), extensor (n. Peroneus communis - P) nerves of hind limbs and compact part of substantia nigra (SN), as well as activity of SN neurons to HFS of Caudate Putamen (CPu) (n = 140) by mean of on-line selection and software mathematical analysis on the basis of post-stimulus depressor and excitatory tetanic (TD, TP) and post-tetanic (PTD, PTP) effects. The comparative analysis of impulse activity of single neurons in these structures at following correlation of activity recording was carried out. In SC MNs at HFS of P, G, SN and SN neurons at HFS of CPu in norm (n=187 and n=33, respectively), on the rotenone model of Parkinson's disease (PD) after 2 (n=122 and n=72) and 4 (n=157 and n=35) weeks and in combined with galarmin administration after 2 (n=115 and n=45) and 4 (n=204 and n=34) weeks. On the whole was registered in SC MNs and neurons of SN in norm 220 cells, on the model of PD at 2 and 4 weeks 386 cells and on the model of PD in condition of galarmin administration after 2 and 4 weeks 398 cells.

In norm, in all cases of trials at mentioned structures took place strict correlation of excitatory and depressor post-stimulus activation of frequency manifestation, rarely with significant prevail one above the other.

On the base of averaged quantity of spikes (PETH Average), with recalculation in interimpulse intervals and frequencies in Hz (Frequency Average) at 2nd week on PD in SC MNs observed TD above the norm only in TD PTP, except activation of P and more powerful the neurons of SN - TD in the TD PTD. At 2 week in SC MNs observed slight excess of TP in the TP PTP and decrease - in TP PTD. In SN neurons TP in PTP after 2 weeks achieves the exceeding equal to norm, and after 4 weeks it was found below normal; TP in TP PTD up to 2 and 4 weeks achieves to norm. Finally, the indices resisting neurodegeneration, in particular on example the deepening of tetanic depression were relatively more efficient in the late periods.

By mean of on-line selection and software mathematical analysis and according to averaged frequency diagrams, built on the basis of peri-stimulus depressor and excitatory manifestations of spike activity revealed relative severity of post-stimulus tetanic and posttetanic effects in relation to the pre-stimulus level. On the PD model at 2nd week in SC MNs to HFS of nerves and SN TD undergo decline below the norm, except for significant TD above norm to HFS of P. By 4 weeks TD to HFS of SN on the contrary, was aligned with the norm, to HFS of G - exceeded the norm in the post-stimulus depressor sequence and to HFS of P remained sharp rise - in depressor-excitatory shape. Noted allows us to conclude about the rise of depression in SC MNs with the gain of tests' time. The excitatory tetanic and post-tetanic effects in SC MNs and SN neurons on the model of PD undergo following changes. In SC MNs at HFS of P, G TP combined with PTP was found less expressed in the late periods, but in combination with PTD as well as by activation of SN in both sequences was not discovered essential distinction in difference periods of trials. Activation of CPu in SN neurons revealed more expressed decrease

the level of TP with prolongation of periods of trials, especially in combination with PTD, but as opposed to all previous cases TP herewith was found higher than norm. In conclusion, the performance of "natural" resistance to neurodegeneration, on example of tetanic depression deepening in SC MNs appeared relatively more pronounced or close to norm in the later stages. Excitatory tetanic responses in SC MNs and in SN neurons, on the contrary revealed underestimated in the later stages and when the certain safety in early stages and in SN neurons at excitatory-depressive sequences even twice exceeded the norm.

With galarmin administration after 2 and 4 weeks, by mean of on-line selection and software mathematical analysis and according to averaged frequency diagrams, built on the basis of peri-stimulus depressor and excitatory manifestations of spike activity revealed relative severity of post-stimulus tetanic and posttetanic effects in relation to the pre-stimulus level. With protection at 2nd week in SC MNs at HFS of P obtained TD above the norm and closer to the pathology, to HFS of G below the norm, closer to the pathology in the depressor sequence and equal to it and much lower the pathology in depressor- excitatory, to HFS of SN TD below the norm but above pathology in TD PTD and above the norm and pathology in the TD PTP. In SN neurons TD reached two-fold excess of the norm in TD PTD and below the norm in TD PTP. By 4 weeks in SC MNs to HFS of nerves was shown TD in TD PTD closer to the norm and pathology to HFS of P, much higher than the norm and below the pathology to HFS of G, above the norm and pathology to HFS of SN. In SC MNs TD in TD PTP were much higher than the norm and pathology, except for the effects of lower than pathology to HFS of P. In SN neurons observed TD much below the norm, but above pathology. In other words, the indices resisting neurodegeneration, in particular on example of tetanic depression deepening with protection found relatively more effective in later stages, and much lower than in norm, but above the pathologies in SN neurons. With the lengthening of the tetanic excitation test periods in SC MNs with protection, being predominantly below the norm and pathology in the early stages was much lower than norm and below the pathology in later stages. In SN neurons with protection tetanic excitation were detected below the norm and above pathology only in the later stages.

Thus in SC MNs with protection at 2nd week TP revealed much lower the norm in both sequences, lower the pathology – in TP PTP and closer to the pathology – in TP PTD. At 4th week with protection in SC MNs TP found predominately lower the norm and even pathology, quite often significantly, except activation of SN in TP PTD. At 4th week in SC MNs evidently exceeding TD, at HFS of G with approaching to norm or its exceeding in TD PTP and SN – in two sequences, except SN neurons, activated lower the norm, but above pathology. In other words, in the pathology and protection, is recorded comparatively worst severity of tetanic excitatory effects in SC MNs except in neurons of SN, while depressive, conversely, in conditions of protection identified above or close to the norm with exception of SN neurons, which nevertheless, exceeded those in pathology without protection.