

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

ԲԱԴԱԼՅԱՆ ԲԵՆԻԱՄԻՆ ՑՈՒՐԻԻ

**ՊԱՐԿԻՆՍՈՆԻ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ ՍՈՂԵԼԻ ՎՐԱ ՊԱՐԱԹԻՐԵՈՒԴ
ՀՈՐՄՈՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՂՆՈՒՂԵՂԻ ԵՎ ՍԵՆՆՅՈՒԹԻ
ՆՅՅՐՈՆՆԵՐԻ ՄԻՆԱՊՄԱՅԻՆ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԻ ՎՐԱ**

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

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ –2015

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

БАДАЛЯН БЕНИАМИН ЮРЬЕВИЧ

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ПАРАТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА НА
СИНАПТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ НЕЙРОНОВ СПИННОГО МОЗГА И
ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

АВТОРЕФЕРАТ

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

Ереван 2015

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՝ բժշկ. գիտ. դոկտոր, Ա.Լ. Մինասյան
կենս. գիտ. դոկտոր, Ռ.Շ. Սարգսյան


Առաջատար կազմակերպություն՝ Հայաստանի Ազգային Ագրարային
Համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2015թ հուլիսի 30-ին ժամը 14⁰⁰-ին ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում, Ֆիզիոլոգիայի 023 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0028, ք. Երևան, Օրբելի եղբ. 22):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվ. Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի գրադարանում և www.physiol.sci.am կայքում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքվել է 2015 թ հունիսի 30-ին

023 մասնագիտական խորհրդի
Գիտական քարտուղար, կ.գ.թ.

 Ն.Է. Թադևոսյան

Тема диссертации утверждена на заседании ученого совета Института физиологии им. акад. Л.А. Орбели НАН РА.

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


Официальные оппоненты: доктор мед. наук А.Л. Минасян
доктор биол. наук Р.Ш. Саркисян

Ведущая организация: Национальный Аграрный Университет
Армении

Защита диссертации состоится 30-ого июля 2015г. в 14⁰⁰ часов, на заседании Специализированного совета 023 по Физиологии, в Институте физиологии им. акад. Л.А. Орбели НАН РА (РА, 0028, г. Ереван, ул. бр. Орбели 22).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии им. акад. Л.А. Орбели НАН РА и на сайте www.physiol.sci.am.

Автореферат диссертации разослан 30-ого июня 2015г.
Ученый секретарь спец. совета 023 к.б.н.

 Н.Э. Тадевосян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Согласно достижениям последних лет, в отношении механизмов развития болезни Паркинсона (БП), продолжают оставаться крайне актуальными перспективы поиска эффективной терапевтической стратегии для этого тяжелого неизлечимого нейродегенеративного заболевания, фактически облегчаемого лишь симптоматически. С этой точки зрения оказалось большим пробелом признание в основе БП дегенерации лишь nigralной структуры (компактной зоны черной субстанции (*substantia nigra pars compacta* - SNc) и исключение избирательного вовлечения спинного мозга (СМ) в ее прогрессию на ранних стадиях развития, в качестве экстранигральной структуры. К тому же, согласно клиническим и экспериментальным данным, СМ признан серьезной потенциальной мишенью терапевтических приложений [Dickson et al., 2009; Lim et al., 2009]. В качестве преclinical исследований было выявлено активное вовлечение СМ у пациентов с БП, особое внимание начали уделять немоторным симптомам. Доказано, что нигростриатная дегенерация ответственна за экстрапирамидные моторные признаки, а экстранигральная – за множество изменений в центральных и периферических ядрах нервной системы [Kalaitzakis et al., 2008]. Более того, в настоящее время происхождение отдельных симптомов БП определенно связывают с дискретными ядрами в СМ [Vivacqua et al., 2011]. Последние данные даже позволяют предполагать, что патологические манифестации впервые определяются в СМ, затем прогрессируют в каудо-ростральном направлении до среднего мозга, чем объясняются недопаминергические симптомы, предшествующие клеточной гибели в SNc [Braak et al., 2003], такие как беспокойное поведение, депрессия, нарушения сна, контролируемые нижней частью ствола мозга и спинальным ганглием [Langston, 2006]. Исследование каудо-ростральной прогрессии БП у трансгенных мышей [Mendritzki 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 et al., 2003]. В заключение, на основе недавних исследований на животных, СМ предлагается в качестве перспективного участка стимуляции для облегчения моторных симптомов при БП, как менее инвазивный, чем глубинная мозговая стимуляция. Так, стимуляция педункулопонтинного ядра служит успешной экспериментальной терапией для скванной походки у пациентов с БП [Pierantozzi et al., 2008]. Продемонстрировано далее, что эпидуральная электрическая стимуляция дорзальных столбов СМ, и что особенно важно, в комбинации с значительно низкими дозами L-DOPA, восстанавливает локомоцию на мышинной модели БП [Fuentes et al., 2009]. Иными словами, в клинических испытаниях для облегчения моторных симптомов при БП, признана полезной комбинация минимальной ДА замещающей терапии и спинальной электрической стимуляции [Fuentes et al., 2010]. Среди различных нейрональных типов, дегенерирующих при этой болезни, вызывает вполне обоснованное сомнение тот факт, что лишь недостаток ДА нейронов в SNc ответственен за характерные моторные симптомы, ведущие к банальной симптоматической терапии [Sulzer, Surmeier, 2013]. С другой стороны, в последние годы проведен ряд исследований, посвященные выяснению нейропротекторной роли паратиреоидного гормона (ПТГ) в функционировании нейронов. В частности, исследованиями проф. Д.Н. Худавердяна и сотр. показано модулирующее влияние ПТГ на функциональное состояние нейронов как на клеточном [Худавердян, Тер-Маркосян, 2000], так и системном уровне (гипоталамо-нейрогипофизарная система) [Худавердян, Асратян, 2001]. И действительно, данные свидетельствуют о наличии в разных областях мозга как пептидоподобных ПТГ, так и их рецепторов [Matsui et al., 1995], что указывает на определенную роль ПТГ в ЦНС.

Ротеноновая модель БП признана в качестве надежной для изучения механизмов повреждения допамиnergических нейронов и оценки нейрoхимических, иммуногистохимических, поведенческих и когнитивных проявлений, в особенности, до 4 нед выживания [Moreira et al., 2011]. Ротенон – митохондриальный яд, генерирующий реактивные формы кислорода, тем самым содействующий оксидативному стрессу и облегчающий потенциацию NMDA токов в ДА нейронах SNc, чем обеспечивается эксайтотоксичность [Wu, Johnson, 2011]. Даже при кратковременном воздействии ротенона возникают значительные сосудистые повреждения с последующей ишемической нейродегенерацией и содействующие как нейрональной, так и нейрональной патологии [Radad et al., 2013]. В качестве процессов, ответственных за гибель нейронов при БП, следует отметить также воспалительные изменения и реакцию микроглии [Qian et al., 2010]. Доказано, что глиальные клетки [Schmidt et al., 2010], в том числе олигодендроциты [Shults et al., 2005], имеют активный вклад в инициацию и прогрессию БП, поэтому в патогенезе нейродегенерации приобретает значение нейроглиальное взаимодействие. Длительное воздействие ротенона усиливает нейровоспалительные процессы через повышение плотности астроглиального P2X7 рецепторного тока [Gao et al., 2011]. Ротенон, в качестве ингибитора митохондриального комплекса 1, вызывает оксидативное повреждение, а также повышение количества астроцитов и микроглии в SNc с уменьшением ДА нейронов [Norazit et al., 2010]. Иными словами, митохондриальная дисфункция и оксидативный стресс являются патофизиологическими механизмами, вовлекаемыми в ротеноновой модели и генетических формах БП [Tanner et al., 2011].

Цель и задачи исследования. Целью исследования явилось изучение соотношения и выраженности синаптической потенциации и депрессии, на примере активации мотонейронов (МН) СМ при высокочастотной стимуляции (ВЧС) экстензорного (n. *peroneus communis* – P) и флексорного (n. *Gastrocnemius* – G) нервов задней конечности, SNc и активности последней при ВЧС хвостатого ядра (*caudate putamen* – CPu) на ротеноновой модели БП у крыс в условиях протекторного воздействия ПТГ и морфо-гистохимическое подтверждение полученных данных.

В соответствии с поставленной целью, в задачи исследования входило морфо-гистохимическое и электрофизиологическое изучение техникой экстраклеточного отведения частоты потока спайковой активности одиночных нейронов у крыс:

- МН СМ в условиях стимуляции P, G и SNc у интактных;
- нейронов SNc на стимуляцию CPu у интактных;
- МН СМ при стимуляции P, G и SNc на модели БП к 4 нед;
- нейронов SNc при стимуляции CPu на модели БП к 4 нед;
- МН СМ при стимуляции P, G и SNc на модели БП в условиях протекторного воздействия системной инъекции ПТГ 2 нед (через день) и острого эксперимента к 4 нед;
- то же при воздействии ПТГ 4 нед (через день) спустя 4 нед;
- нейронов SNc при стимуляции CPu на модели БП, в условиях протекторного воздействия ПТГ 2 нед спустя 4 нед;
- то же при воздействии ПТГ 4 нед спустя 4 нед;
- морфо-гистохимическое исследование изменений в МН СМ и нейронах SNc у интактных и нейронах SNc на 2 и 4 нед модели БП;
- морфо-гистохимическое исследование изменений в МН СМ и нейронах SNc на 4 нед модели БП в условиях 2- и 4 нед воздействия ПТГ.

Научная новизна. На модели БП, тетаническая депрессия в МН СМ ко 2 нед при активации нервов превышала норму лишь в депрессорной последовательности, в то время

как на активацию SNc и в нейронах SNc при активации CPu – не достигала нормы. К 4 нед при активации экстензорного нерва и в нейронах SNc она была ниже и намного ниже нормы, а в МН СМ на активацию SNc и флексорного нерва - приближалась к норме и намного превышала ее, соответственно. На модели БП тетаническое возбуждение ко 2 и 4 нед в МН СМ на активацию нервов превышала норму или не достигала ее, а на активацию SNc и в нейронах SNc выявлялась ниже нее. В условиях 2 нед применения ПТГ, в МН СМ на активацию нервов, в большинстве тетаническая депрессия превалировала, а при 4 нед протекции ее превышение имело на активацию флексорного нерва, а на активацию SNc - лишь при 4 нед протекции. Тетаническая потенциация при 2- и 4-нед протекции в МН СМ на активацию нервов и в нейронах SNc, не превышала норму, резко снижалась при активации флексорного нерва на 2 нед и превышала норму при активации SNc. По сравнению с контролем (БП без протекции) ТД и ТП в МН СМ при ВЧС нервов в большинстве случаев были ниже в условиях как 2-, так и 4 нед протекции, а на ВЧС SNc и в нейронах SNc - превалировали лишь на 4 нед, при отсутствии эффекта вообще ко 2 нед. В целом, у интактных в МН СМ на активацию нервов и SNc степень выраженности тетанической потенциации превалировала над депрессией и, наоборот, в нейронах SNc. На модели БП ко 2 нед и 4 нед в МН СМ на стимуляцию нервов и SNc в большинстве случаев потенциация превалировала над депрессией, в отличие от нейронов SNc, а в сравнении с БП без протекции, лишь при 4-нед протекции выявлялось превышение потенциации, что свидетельствует о очевидной эффективности удлинения сроков протекции. Морфо-гистохимически, в основном, подтверждены результаты электрофизиологического изучения. И что особенно важно, впервые представлены аналогичные данные в отношении не только общепризнанного компактного, но и ретикулярного и латерального отделов SN на модели БП.

Научно-практическое значение. Модель БП, связанная с пестицидами, гербицидом ротеноном, из-за фактически неизлечимой двигательной и когнитивной патологии, свидетельствует о повсеместной опасности употребления пестицидов и необходимости борьбы с ними. Результаты настоящей работы, с одной стороны, позволяют взглянуть в механизм динамики сдвигов в соотношении возбуждающих и депрессорных постстимульных синаптических проявлений, сопровождающих развитие БП, индуцированной ротеноном, с другой, предлагают в преκлиническом плане эффективное использование ПТГ, исследованного в отношении широкого спектра заболеваний, в частности, при БА, в лечебном и профилактическом аспекте с возрастом.

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

Публикации. По теме диссертации опубликованы 5 работ.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 141 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, посвященного современным представлениям о кальциевых сигналах при БП, материала и методов исследований, 4-х глав результатов собственных исследований, обсуждения, выводов и списка литературы, включающего 288 источников. Иллюстрирована 43 рисунками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на зрелых белых крысах самцах (250±30г) в трех сериях: интактных (n=5), билатерального введения ротенона (12 мкг в 0.5 мл Димексида со скоростью 0.1 мл/мин) в “medial forebrain bundle” по координатам стереотаксического атласа [Paxinos, Watson, 2005] (AP+0.2; L±1.8; DV+8 мм) на 2 (n=5) и 4 (n=7) нед, и с

системным введением ПТГ (со следующего дня после введения ротенона 7 и 14 инъекций через день) из расчета 0,7 мл 10–9 М раствора 2 (n=2) и 4 (n=9) нед и выдержанных до острого эксперимента 4 нед. Проведено изучение активности МН поясничного отдела СМ на ВЧС экстензорного (Р), флексорного (G) коллатеральных ответвлений седалищного нерва и SNc электродами, введенными по стереотаксическим координатам (AP-5.0; L±2.0; DV+7.5-8.0 мм). Все эксперименты проводили согласно «правилам ухода за лабораторными животными» (публикации НИИ за № 85-23, исправленной в 1985 году). Операции проводили под нембуталовым наркозом (40 мг/кг, в/б). После фиксации черепа в стереотаксическом аппарате производили кранеотомию (кости черепа удалялись от брегмы до ламбды и отсепарывалась твердая мозговая оболочка), дорсальную ламинэктомию пояснично–крестцового отдела СМ и отсепаровку Р и G. Затем животных обездвигивали 1% дитиллином (25 мг/кг в/б) и переводили на искусственное дыхание. Отведение электрической спайковой активности МН СМ и нейронов SNc, по координатам того же атласа, производили стеклянными микроэлектродами с кончиком 1-2 μM , заполненными 2M раствором NaCl, которые вводили в передние рога серого вещества поясничных сегментов (L4-L5) в область МН СМ (VIII-IX пластины по Рекседу). ВЧС (0.05мс, 0.10-0.16 мА, частота 100 Гц в течение 1 сек) Р и G осуществляли биполярными серебрянными электродами. Раздражали SNc и CPu (AP+1.7, L±2.0 и DV+4.0 мм) с ипсилатеральной стороны по координатам того же атласа вольфрамовыми биполярными электродами прямоугольными толчками тока (0.5 мс, 0,10-0,16 мА, 100 Гц в течение 1 сек).

Проводили программный математический анализ одиночной спайковой активности МН СМ и нейронов SNc (n=1497): в норме (n=187+33), на модели БП ко 2 (n=55+88) и 4 (n=436+162) нед и с протекцией ПТГ на протяжении 2 (n=78 + 135) и 4 (n=292+31) нед спустя 4 нед. Оценку ранних и поздних постстимульных проявлений активности производили в режиме on-line селекции. Регистрацию производили на основе программы, обеспечивающей селекцию спайков, посредством амплитудной дискриминации с последующим выводом «растеров» пре- и постстимульного спайкинга от множества нейронов, а также диаграмм усредненной частоты спайков (разработчик В.С. Каменецкий). Импульсный поток после селекции подвергался программному математическому анализу. Для избираемых сравниваемых групп спайкинга нейрональной активности строили суммированные и усредненные перистимульные (PETN Average) гистограммы и гистограммы частоты (Frequency Average). Анализ полученных данных производили по специально разработанному алгоритму. Для определения статистической достоверности различий в длительности межспайковых интервалов до и после действия стимула использовался непараметрический критерий проверки однородности двух независимых выборок - двухвыборочный критерий Вилкоксона-Манна-Уитни (Wilcoxon-Mann-Whitney test). Так как число регистрируемых спайков было достаточно велико, использовалась разновидность указанного теста, учитывающая его асимптотическую нормальность – z-тест. Для большинства выборок спайкинга нейрональной активности имелось статистически значимое изменение как минимум с уровнем значимости 0.05.

После завершения электрофизиологических экспериментов животные забивались (эвтаназия осуществлялась с соблюдением этических норм путем углубления наркоза) на предмет определения патологии и нейропротекции методом выявления активности Ca²⁺-зависимой кислой фосфатазы (КФ). Указанный метод, разработанный [Меликсетян, 2007] на базе метода Гомори, позволяет в определенной степени и в рамках поставленных задач и возможности судить о морфо–гистохимических изменениях в мозгу. Метод позволяет воспроизвести адекватные морфо–гистохимические изменения, и обладает избирательностью выявления важнейшего Ca²⁺-зависимого маркера деятельности нейрона–КФ, позволяющей, наряду с возможностями оценки метаболизма, судить о

структурных изменениях нейронов и их окончаний. Кроме того, он высоко воспроизводим как на интактном, так и на патологическом материале, что является важным критерием надежности его использования, в том числе, в сравнительном аспекте.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

СОТНОШЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ДЕПРЕССОРНЫХ РЕАКЦИЙ В СПИННОМ МОЗГЕ И ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ НА ВЧС ЭКСТЕНЗОРНОГО И ФЛЕКСОРНОГО НЕРВОВ И СРУ В НОРМЕ

Сравнительный анализ импульсной активности одиночных МН СМ на ВЧС Р, G, SNc и нейронов SNc при ВЧС СРу в норме (n=187 и n=33, соответственно) выявил формирование возбудительных и депрессорных ответов в виде ТП и ТД, с последующими постстимульными одно- (ТД ПТД и ТП ПТП) и разнонаправленными (ТД ПТП и ТП ПТД) проявлениями активности. Анализ последних на основе усредненного количества спайков (РЕТН), с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты в Гц (Frequency Average) в норме, показал следующее. В МН СМ на ВЧС Р ТД в депрессорной однонаправленной последовательности с ПТД исчислялась в пределах 2.5-кратного снижения исходной престоимпульной активности, ТД в депрессорно-возбудительной последовательности с ПТП достигала 4.0-кратного снижения, ТП в сочетании с ПТП превысила престоимпульный уровень в 4.75 раз, а ТП в комбинации с ПТД – 2.8-кратно. В МН СМ на ВЧС G ТД в ТД ПТД достигала 3.0-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 SNc ТД в сочетании с ПТД достигала 2.66-кратного занижения, ТД с ПТП – 4.0-кратного, ТП с ПТП – 4.7-кратного превышения, а ТП с ПТД – 1.75-кратного. Наконец, в нейронах SNc при ВЧС СРу ТД в ТД ПТД исчислялась порядка 8.0-кратного занижения, ТД с ПТП – 7.0-кратного занижения, ТП с ПТП достигала 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 постимпульной активации, реже с значительным превалированием одних над другими в количественном соотношении и выраженности, как, например, в случае нейронов SNc, активированных СРу. В МН СМ на активацию нервов и SNc имелось превалирование депрессорных тетанических эффектов, по отношению к таковым возбудительным, лишь в разнонаправленной последовательности на активацию Р и SNc и незначительное - в однонаправленной на Р, а в нейронах SNc при активации СРу, наоборот, в обеих последовательностях имело место сильно выраженное превалирование тетанической депрессии над возбудительной.

Далее представлены депрессорные и возбудительные тетанические и посттетанические эффекты в тех же структурах в норме, построенные на основе растров соответствующих проявлений пре- и постстимульной суммы и диаграмм усредненной частоты спайковой активности единичных нейронов, с указанием средних цифровых значений в реальном времени 20 сек до и после стимуляции, включая время ВЧС. При этом виде анализа можно судить о относительной степени выраженности постстимульных проявлений активности изученных структур, в частотном выражении, по отношению к престоимпульному уровню. В МН СМ на ВЧС нервов и SNc и нейронах SNc при ВЧС СРу степень выраженности изменения частоты в перистимульном соотношении колебалась в следующих пределах. В МН СМ на ВЧС Р выраженность ТД в ТД ПТП – исчислялась в пределах 2.5-кратного снижения, ТД в ТД ПТП – 2.42-кратного, ТП в ТП ПТП – достигала уровня превышения порядка 6.1-, а ТП в ТП ПТД – 4.0-кратного. В МН СМ при ВЧС G

выраженность ТД в ТД ПТД – исчислялась в пределах 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 S_{NC} ТД в ТД ПТД достигала 2.42-кратного занижения, ТД в ТД ПТП – 2.93-кратного занижения, ТП в ТП ПТП – 6.0-кратного превышения, а ТП в ТП ПТД – 2.73-кратного превышения. Наконец, в нейронах S_{NC} на ВЧС СР_и ТД в сочетании с ПТД занижала престаимульный уровень в 7.77 раз, ТД в ТД ПТП исчислялась порядка – 15.0-кратного занижения, ТП в ТП ПТП – достигала 6.4-кратного превышения престаимульной активности, а ТП в ТП ПТД – 3.15-кратного превышения.

При оценке относительной степени выраженности вышеотмеченных депрессорных и возбуждающих эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спайков, выведенных на основе растеров пре – и постстимульных депрессорных, возбуждающих и смешанных проявлений спайковой активности МН СМ на ВЧС Р, G, S_{NC} и нейронов S_{NC} на ВЧС СР_и, получены значения, представленные в виде дисковых диаграмм для более наглядного представления степени выраженности в частотном отображении (в %) экспериментальных данных в норме. Иными словами, по степени частотной выраженности сравнение депрессорных и возбуждающих тетанических эффектов в одно- и разнонаправленных постстимульных проявлениях активности привело к следующему заключению. В МН СМ при активации нервов, как правило, тетаническое возбуждение превалировало над тетанической депрессией в обеих последовательностях, при активации S_{NC} также, но лишь в однонаправленной последовательности, при фактическом выравнивании – в таковой разнонаправленной. Однако, в нейронах S_{NC} при активации СР_и, наоборот, в обеих случаях имело место превалирование тетанической депрессии, особенно выраженное в разнонаправленной последовательности.

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, S_{NC} и нейронов S_{NC} при ВЧС СР_и на модели БП 2 (55 и 88 клеток) и 4 нед (436 и 162 клеток) выявил следующее.

По сравнению с престаимульным уровнем в норме и на модели БП без протекции (контроль), были обнаружены следующие изменения в депрессорных тетанических реакциях. После 2-х нед в МН СМ на ВЧС Р в депрессорной последовательности, по сравнению с престаимульным уровнем, выявлена 4.0-кратная ТД, в то время как в норме лишь 2.5-кратная; в разнонаправленной последовательности имело место 5-кратное снижение престаимульной активности, а в норме – 4.0-кратное. В условиях 4 нед срока в МН СМ в контроле отмечалось 2.4- и 4.0-кратное снижение ТД в ТД ПТД и ТД ПТП, соответственно, т.е. ближе и равно норме (2.5- и 4.0-кратное). В МН СМ на ВЧС G после 2 нед в соответствующих последовательностях обнаружены 2.5- и 4.0-кратная ТД, против 3.0 и 3.5 – в норме (ниже и выше нормы); после 4-х нед отмечались 4.5- и 4.0-кратные снижения в соответствующих последовательностях, т.е. выше нормы (3.0 и 3.5-кратное). В МН СМ при ВЧС S_{NC} после 2-х нед имела самая низкая ТД в пределах двух последовательностей порядка 1.66- и 2.0-кратного снижения, в то время как в норме – 2.5 и 3.33-кратное; в условиях 4 нед ТД достигала 3.0- и 2.0-кратного значений, соответственно, выше и ниже нормы (2.5- и 3.33-кратного снижений). Наконец, в нейронах S_{NC} при ВЧС СР_и ТД в ТД ПТД на модели БП через 2 нед достигала 16.0- и 10.0-кратного занижения престаимульной активности в соответствующих последовательностях, что оказалось значительно выше нормы (в пределах 8.0- и 7.0-

кратного занижения); через 4 нед аналогичные уровни постстимульной активации исчислялись порядка 3.0- и 4.0- кратного, значительно ниже нормы (8- и 7-кратного). Таким образом, на модели БП в МН СМ на ВЧС Р, в сравнении с нормой, в течение 2-х и 4-нед очевидно превышение контрольных уровней ТД, за исключением ее приближения и выравнивания с нормой после 4 нед в ТД ПТД и ТД ПТП, а на ВЧС G - превышение нормы, за исключением снижения после 2-х нед в депрессорной последовательности, но при активации SNc во всех случаях отмечалось снижение после 2 нед и превышение и снижение после 4 нед в соответствующих последовательностях. Что же касается ТД в нейронах SNc на ВЧС СРи, наблюдалось значительное ее превышение ко 2 нед, достигающее даже двухкратного уровня в ТД ПТД и значительное снижение на 4 нед порядка, например, 2.66-кратного в той же последовательности.

Возбудительные тетанические эффекты выявлялись в следующих пределах. В МН СМ на ВЧС Р в условиях 2-х нед контроля в ТП ПТП имелось 5-кратное превышение престоимного уровня, в ТП ПТД - 3.16-кратное превышение, несколько выше нормы в пределах 4.75- и 2.8-кратного превышения; при 4 нед контроле - 4.66 и 2.6-кратное превышение, соответственно, ближе к норме. В МН СМ на ВЧС G через 2 нед в контроле имелось 3.0- и 1.14-кратное превышение, в сравнении с нормой в пределах 2.8- и 4.25-кратного, а в условиях 4 нед срока - 2.9- и 2.0-кратное превышение в обеих последовательностях, соответственно, т.е. ближе и намного ниже нормы (2.8- и 4.25-кратного) в соответствующих последовательностях. В МН СМ на ВЧС SNc в 2-нед срок превышение достигало порядка 3.4- и 1.75-кратного в двух последовательностях, что в сравнении с нормой оказалось ниже (в пределах 4.7- и 2.75- кратного превышения); на 4-нед уровни превышения достигали 1.5- и 1.8-кратного, намного ниже нормы (порядка 4.7- и 2.75-кратного). Наконец, на 2 нед в нейронах SNc на ВЧС СРи возбудительные тетанические эффекты определялись в пределах 2.0- и 3.0-кратного превышения в соответствующих последовательностях, в то время как в норме они исчислялись в пределах 2.75-и 1.28-кратного; в 4 нед срок уровни превышения достигали 1.2- и 1.25-кратного, соответственно, т.е. ниже и ближе к норме (2.75- и 1.28-кратного).

Таким образом, в целом, на 2-ой нед испытаний, в сравнении с нормой, в МН СМ определялось незначительное превышение тетанического возбуждения при активации Р, приближение и резкое снижение - на ВЧС G в двух последовательностях, соответственно, снижение и выравнивание на ВЧС SNc, наконец превышение и снижение в нейронах SNc на ВЧС СРи. К 4 нед испытаний, во всех случаях на ВЧС нервов, как правило, имелось преимущественное приближение тетанического возбуждения к норме и лишь в разнонаправленной последовательности на ВЧС G - резкое ее снижение, на ВЧС SNc имелось снижение тетанического возбуждения в обеих последовательностях, соответственно, в особенности резкое в возбудительной, а в нейронах SNc на ВЧС СРи к 4 нед ближе и ниже нормы, соответственно.

При оценке относительной степени выраженности вышеотмеченных депрессорных возбудительных эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спайков, выведенных на основе растеров пре – и постстимульных депрессорных, возбудительных и разнонаправленных проявлений спайковой активности в тех же структурах, получены значения, представленные в виде дисковых диаграмм для более наглядного их представления в частотном отображении (в %) на модели БП, в сравнении с нормой (Рис. 1-3).

Как видно из диаграмм, при сравнении депрессорных и возбудительных одно- и разнонаправленных постстимульных реакций, на модели БП ко 2 нед испытаний, во всех случаях в МН СМ на ВЧС нервов и SNc степень выраженности возбудительной активности превалировала над таковой депрессорной, за исключением разнонаправленных эффектов - при активации G. На 4 нед испытаний, депрессорные

эффекты в МН СМ на ВЧС нервов также не превышали возбудительные и намного - в односторонней последовательности, за исключением преваляирования депрессорных реакций на ВЧС G в разнонаправленной последовательности, а на ВЧС SNc имелось преваляирование тетанического возбуждения в односторонней последовательности и фактическое выравнивание - в разнонаправленной (Рис. 1).

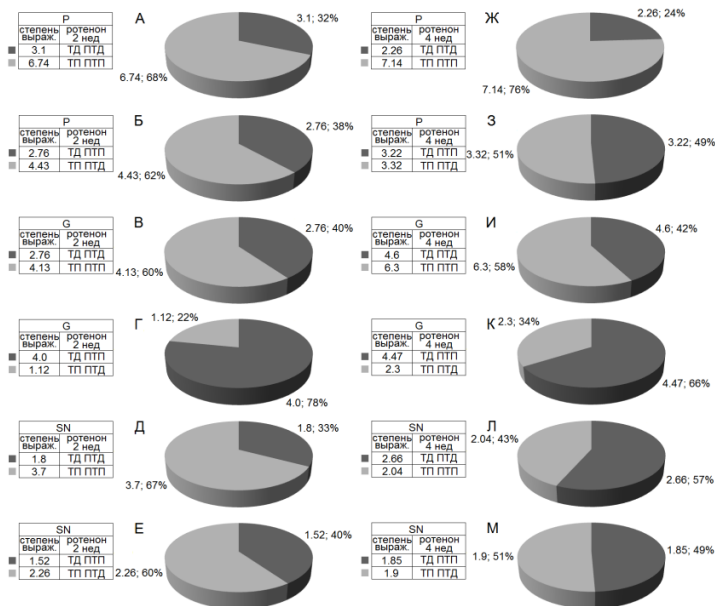


Рис.1. Процентное соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) депрессорных и возбудительных одно- (А, В, Д, Ж, И, Л) и разнонаправленных (Б, Г, Е, З, К, М) постстимульных эффектов в одиночных МН СМ на ВЧС Р (А, Б, Ж, З), G (В, Г, И, К), SNc (Д, Е, Л, М) 2 (А-Е) и 4 (Ж-М) нед спустя после введения ротенона.

В нейронах SNc при ВЧС CPu на модели БП, как на 2-, так и 4 нед испытаний депрессорные реакции преваляировали над возбудительными, особенно значительно в разнонаправленных постстимульных проявлениях на 4 нед (Рис. 2).

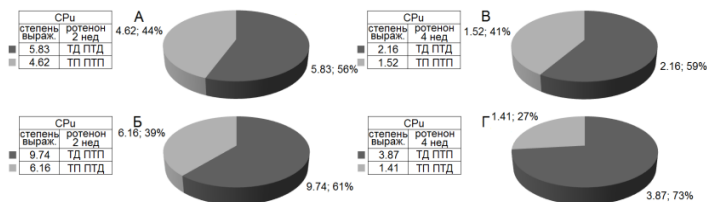


Рис.2. Процентное соотношение степени выраженности депрессорных (А, Б) и возбудительных (В, Г) эффектов в нейронах SNc на ВЧС

CPu 2 (А, Б) и 4 (В, Г) нед спустя после введения ротенона.

Представляет интерес сравнение указанных эффектов с нормой на модели БП. На 2 нед испытаний депрессорные реакции в МН СМ в обеих постстимульных последовательностях при ВЧС Р преимущественно оказались несколько выше и ниже нормы, и лишь на G - превышали норму, но оказались ниже нормы на ВЧС SNc и в нейронах SNc на ВЧС CPu. К 4 нед испытаний опять при ВЧС Р депрессорные эффекты не превышали норму, а на G уже намного превысили норму, на SNc – оказались ближе и

ниже нормы в обеих последовательностях соответственно, а в нейронах SNc на ВЧС СРи намного ниже нормы.

Что же касается тетанических возбудительных реакций, то на модели БП, в сравнении с нормой, в МН СМ на ВЧС нервов ко 2 нед они достигали уровня во всех случаях выше нормы в возбудительной последовательности и ниже – в возбудительно-депрессорной, в особенности резко на ВЧС G. На 4 нед тетаническое возбуждение на ВЧС нервов также превысило норму в возбудительной последовательности и оказалось ниже – в разнонаправленной. В МН СМ на ВЧС SNc и в нейронах SNc на ВЧС СРи тетаническое возбуждение выявлялось ниже нормы во всех случаях, как на 2, так и 4 нед, особенно значительно к 4 нед, за исключением почти двухкратного превышения нормы при активации СРи в нейронах SNc в разнонаправленной последовательности на 2 нед.

СООТНОШЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ДЕПРЕССОРНЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ НА РОТЕНОВОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА ПОД ПРОТЕКТОРНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПАРАТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА

Сравнительный анализ импульсной активности одиночных МН СМ на ВЧС P, G и SNc с протекцией ПТГ – 2 нед (78 клеток) и 4 нед (292 клетки), выявил следующее. По сравнению с престаимпульным уровнем, после 2 и 4 нед введения ПТГ на 4 нед испытаний в МН СМ при ВЧС нервов и SNc, в сравнении с контролем без протекции, были обнаружены следующие изменения в тетанических депрессорных реакциях. После 2-х нед протекции ПТГ в МН СМ на ВЧС P в ТД ПТД, по сравнению с престаимпульным уровнем, выявлена 3.43-кратная ТД, в то время как в контроле лишь 4-кратная; в ТД ПТП с протекцией имело место 2.0-кратное снижение престаимпульной активности, а в контроле – 5.0-кратное. В условиях введения ПТГ 4 нед в МН СМ на ВЧС P отмечалось 4.2- и 3.28-кратное снижение ТД в двух последовательностях, против 2.4 и 4.0-кратного в контроле, соответственно. В МН СМ на ВЧС G после 2-х нед введения ПТГ в соответствующих последовательностях обнаружены 2.2- и 3.25-кратная ТД, против 2.5 и 4.0-кратной – в контроле; после 4-х нед протекции ПТГ отмечались 8.5- и 5.0-кратные снижения в соответствующих последовательностях, а в контроле – 4.5- и 4.0-кратные. В МН СМ при ВЧС SNc после 2-х нед введения ПТГ имела ТД в пределах двух последовательностей порядка 2-кратного снижения, мало отличающаяся от таковой в контроле – порядка 1.66 и 2-кратного, соответственно. В условиях 4 нед протекции ПТГ ТД достигала 3.5- и 3.0-кратного значений, а в контроле уровнями 3.0- и 2.0-кратного снижений. Таким образом, очевидно в МН СМ на ВЧС нервов отсутствие превышения контрольных уровней ТД в результате протекции ПТГ в течение 2-х нед, несколько менее выраженное – при активации G, в то время как при активации SNc фактически не наблюдалось существенной разницы. Что же касается 4 нед обработки ПТГ в МН СМ при активации нервов и SNc отмечалось превышение уровней ТД по сравнению с контролем, за исключением активации P в разнонаправленной последовательности и более выраженное при активации G в обеих последовательностях (8.5 и 5.0-кратное против 4.5 и 4.0-кратного), что свидетельствует о необходимости удлинения сроков протекции. При сравнении тех же значений с нормой выявлены следующие сдвиги. В МН СМ на ВЧС P после 2-х нед протекции в пределах депрессорных сдвигов получено соотношение порядка 3.43- и 2.0-кратного против 2.5 и 4.0 (для протекции и нормы в обеих последовательностях), а спустя 4 нед введения ПТГ – 4.2 и 3.28 против 2.5 и 4.0, соответственно. При активации G те же значения определялись в пределах 2.2 и 3.25 против 3.0 и 3.5 спустя 2 нед протекции и 8.5 и 5.0 против 3.0 и 3.5 – через 4 нед. Наконец, при ВЧС SNc значения распределялись в пределах 2.0 и 2.0 против 2.5 и 3.33 после 2 нед протекции и 3.5 и 3.0 против 2.5 и 3.33 через 4 нед протекции. Иными словами, после 2

нед испытаний в условиях протекции, в сравнении с нормой, в МН СМ при активации Р не имело место превалирование тетанической депрессии в обеих последовательностях на активацию Р, за исключением депрессорной последовательности и снижение – на G и SNc, в то время как спустя 4 нед, в сравнении с нормой, при достаточном повышении тетанической депрессии на Р в депрессорной последовательности и незначительном снижении - в депрессорно-возбудительной (4.2- 3.3- кратном против 2.5- и 4.0-кратных), имелось значительное ее превышение при активации G (8.5- и 5.0-кратное против 3.0 и 3.5-кратных в соответствующих последовательностях).

Возбудительные постстимульные тетанические эффекты выявлялись в следующих пределах. В МН СМ на ВЧС Р в условиях 2 нед протекции, по сравнению с контролем, в обеих последовательностях отмечалось 1.5- и 2.1-кратное превышение престоимого уровня активности против 5.0- и 3.16-кратного; при 4 нед использовании ПТГ – 1.66- и 2.1-кратное превышение против 4.66- и 2.6-кратного в контроле. В МН СМ на ВЧС G через 2 нед применения ПТГ имелось 2.0-кратное превышение в ТП ПТП, при отсутствии такового – в ТП ПТД, в сравнении с контролем в пределах 3.0 и 1.14-кратного, а в условиях 4 нед использования протекции – 1.86- и 4.5-кратное превышение, а в контроле порядка 2.9- и 2.0-кратного превышения в соответствующих последовательностях. В МН СМ на ВЧС SNc с 2-нед протекцией превышение достигало 1.33- и 1.25-кратного в двух последовательностях, в сравнении с контролем порядка 3.4- и 1.75-кратного превышения; при 4 нед протекции уровни превышения достигали 2.5- и 1.37-кратного, по сравнению с таковыми в контроле порядка 1.5- и 1.8-кратного. Наконец, в аналогичных условиях применения ПТГ, в сравнении с нормой, получено следующее. В МН СМ на ВЧС Р при 2 нед использовании ПТГ отмечалось 1.5- и 2.1-кратное превышение ТП против 4.75- и 2.8-кратного в обеих последовательностях в норме, а при 4-нед применении протекции 1.66- и 2.1-кратное превышение против 4.75 и 2.8 в норме. В МН СМ при ВЧС G аналогичные значения распределялись в пределах 2.0-кратного превышения при 2 нед протекции в ТП ПТП, при отсутствии такового – в ТП ПТД, против 2.83- и 4.25-кратного в норме; в условиях 4 нед протекции наблюдалось соотношение порядка 1.85- и 4.5-кратного против 2.83- и 4.25-кратного в норме. Наконец, В МН СМ на ВЧС SNc аналогичные уровни значений достигали 1.33- и 2.25-кратного превышения при 2 нед протекции против 4.7- и 1.75- кратного – в норме, а при 4 нед использовании протекции – 2.5- и 1.37- кратного против 4.7- и 1.75- кратного в норме. Иными словами, в целом, в МН СМ на ВЧС нервов в условиях 2- и 4-нед протекции, в сравнении с контролем, в большинстве случаев испытаний в обеих последовательностях не было превалирования постстимульных возбудительных тетанических реакций, даже значительное их отставание, в особенности выраженное на активацию Р и лишь некоторое превалирование при активации G в 4 нед срок в ТП ПТД, при отсутствии эффекта вообще в той же последовательности на 2 нед, в то время как на активацию SNc отмечалось превалирование и снижение в соответствующих последовательностях. В сравнении с нормой, при 2- и 4-нед протекции во всех случаях не имелось превалирования тетанического возбуждения, а лишь резкое ее снижение и приближение уровня на 2 нед в ТП ПТП. Наконец, при активации SNc в МН СМ, в целом, в одно- и разнонаправленной последовательностях показатели тетанического возбуждения в условиях протекции на 4 нед достигали уровня выше таковых на 2 нед. В сравнении с нормой в обеих последовательностях показатели как 2-, так и 4 нед протекции оказались ниже, в сравнении с контролем – лишь в условиях 4-нед протекции в ТП ПТП выявлялось превышение, а в ТП ПТД – незначительное превалирование.

При оценке относительной степени выраженности вышеотмеченных депрессорных и возбудительных эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спайков, выведенных на основе растров пре – и постстимульных депрессорных, возбудительных и

разнонаправленных проявлений спайковой активности МН СМ на ВЧС нервов Р, G и SNc, получены значения, представленные в виде дисковых диаграмм для более наглядного представления степени выраженности в условиях использования ПТГ, в сравнении с контролем и нормой (Рис. 3).

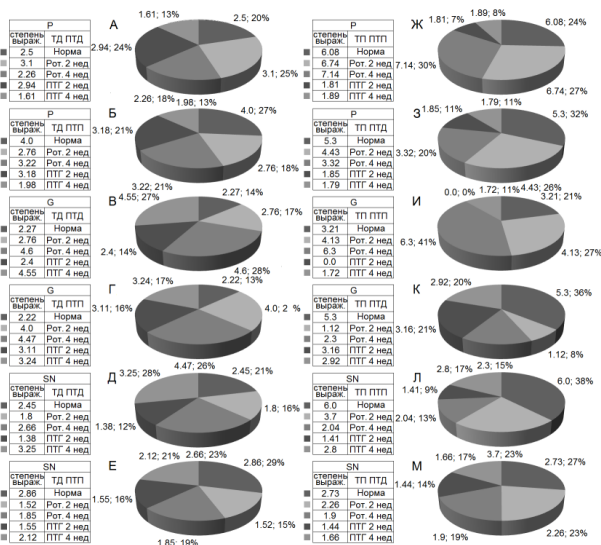


Рис.3. Процентное соотношение степени выраженности депрессорных (А-Е) и возбудительных (Ж-М) эффектов в одиночных МН СМ на ВЧС Р (А, Б, Ж, З), G (В, Г, И, К), SN (Д, Е, Л, М) 2 и 4 нед спустя после введения ротенона, с протекцией 2 и 4 нед ПТГ через 4 нед после введения ротенона, в сравнении с нормой.

Как видно из диаграмм, при чисто депрессорной и депрессорно-возбудительной последовательности, на основе вычисления степени выраженности тетанической депрессии, в большинстве случаев испытаний в условиях протекции активность МН СМ при стимуляции нервов, по сравнению с контролем, была ниже, за исключением некоторого превышения в разнонаправленной последовательности ко 2 нед протекции. Более того, при 2 нед протекции, в сравнении с нормой, в большинстве случаев тетаническая депрессия превалировала, также за исключением активации Р в разнонаправленной последовательности. В условиях 4 нед протекции в МН СМ при активации нервов, в сравнении с контролем, имелось отставание в уровне, более выраженное на Р. В сравнении с нормой, лишь в случае активации Р тетаническая депрессия несколько превышала норму. При 4 нед протекции, в сравнении с нормой, во всех случаях испытаний имелось превышение тетанической депрессии на G и снижение – на Р. В МН СМ на активацию SNc результаты сводились к следующему. В МН СМ на активацию SNc в условиях 2 и 4 нед протекции, в сравнении с контролем, показатели тетанической депрессии превалировали лишь при таковой 4 нед, с выравниванием – в разнонаправленной последовательности на 2 нед. При сравнении уровней протекции на 2 и 4 нед с нормой, превышение имело место лишь при 4 нед протекции в депрессорной последовательности. Что же касается постстимульных возбудительных тетанических реакций в МН СМ на ВЧС нервов в условиях 2- и 4-нед протекции, в сравнении с контролем, то в большинстве случаев испытаний в обеих последовательностях не было их превалирования, даже значительное отставание и лишь некоторое превалирование при активации G в 4 нед срок в разнонаправленной последовательности, при отсутствии эффекта вообще в той же последовательности на 2 нед. В сравнении с нормой при 2- и 4-нед протекции во всех случаях не имелось превалирования тетанического возбуждения, а

резкое ее снижение и лишь приближение уровня при активации G на 2 нед в возбудительной последовательности. Наконец, при активации SNc в МН СМ выявлялось превышение показателей тетанического возбуждения в однонаправленной последовательности. В сравнении с нормой в обеих последовательностях, показатели как 2-, так и 4 нед протекции оказались ниже.

Сравнительный анализ импульсной активности одиночных нейронов SNc на ВЧС СРи с протекцией ПТГ – 2 нед - 135 клеток и 4 нед – 31 клетка, исчисляемых на основе усредненного количества спаиков (РЕТН) с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты в Гц (Frequency Aveage), выявил формирование следующих возбудительных и депрессорных ответов. В норме в нейронах SNc на ВЧС СРи при относительном снижении депрессорных реакций, имело место некоторое завышение возбудительных. Спустя 2 нед на модели БП в нейронах SNc на ВЧС СРи ТД в ТД ПТД достигала 16.0-кратного занижения престоимой активности, ТД в ТД ПТП – 10.0-кратного; в условиях протекции ПТГ до 2 нед ТД в ТД ПТД исчислялась в пределах 4-кратного занижения, а в ТД ПТП – 2.0-кратного. Иными словами, имело место значительное снижение ТД при 2 нед протекции по сравнению с показателями при БП без протекции. Через 4 нед на модели БП это соотношение изменилось в пользу большей эффективности протекции: ТД в ТД ПТД определялась порядка 3.0-кратного занижения на модели БП против 7.33-кратного с протекцией, ТД в ТД ПТП без протекции достигала 4.0-кратного занижения против 9.25-кратного с протекцией. Таким образом, с увеличением длительности протекции имело место значительное улучшение показателей тетанической депрессии. Что же касается возбудительных эффектов, то они изменялись следующим образом. 2 нед спустя на модели БП ТП в ТП ПТП достигала 2.83-кратного завышения, а в ТП ПТД - 1.1-кратного; ТП в ТП ПТП с протекцией исчислялась порядка 2.0-кратного превышения, а в ТП ПТД - 3.0-кратного. 4 нед спустя ТП в ТП ПТП определялась в пределах 1.2-кратного завышения, а в ТП ПТД – 1.25-кратного; ТП с протекцией - порядка лишь 1.13- и 1.6-кратного завышения, соответственно. Нет завышения возбудительных эффектов с более длительной 4 нед протекцией, а при 2 нед протекции – завышение имелось лишь в ТП ПТД. Представляет интерес оценка изменений в сравнении с нормой. В норме ТД в ТД ПТД и ТД ПТП достигала 8.0- и 7.0-кратного занижения, в то время как в условиях 2 нед срока на модели БП ТД была почти вдвое выше (16.0-и 10.0-кратного), а 4-нед срока – порядка 3.0- и 5.0-кратного отмеченных последовательностей, наоборот, намного ниже, в сравнении с нормой (8.0 и 7.0-кратного); в условиях 4 нед протекции соотношение изменилось в направлении приближения и превышения в обеих последовательностях, соответственно (ср. 8.0 и 7.0 в норме с 7.33 и 9.25 с протекцией). Таким образом, и здесь лучшие показатели тетанической депрессии, в сравнении с нормой, выявились в условиях длительной протекции. Возбудительные тетанические реакции оказались в отношении аналогичных показателей в следующих соотношениях. В норме ТП в ТП ПТП и ТП ПТД выявлялась в пределах 1.75 и 1.28-кратного завышения. На модели БП в 2 нед срок показатели, будучи порядка 2.83 и 1.1-кратного превышения престоимого уровня, фактически превысили норму, а с протекцией в 2 нед срок они, будучи порядка 2.0 и 3.0-кратного, также оказались выше. На модели БП 4 нед срока показатели, достигая уровня 1.6 и 1.2-кратного, практически приближались к норме, а с протекцией 4 нед периода, достигая 1.13 и 1.6-кратного завышения престоимого уровня, незначительно отличались от нормы. Итак, в возбудительных тетанических реакциях уровни протекции особенно не отличались в зависимости от ее длительности и даже оказались выше при 2 нед протекции.

При оценке относительной степени выраженности вышеотмеченных депрессорных и возбудительных эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спаиков, выведенных на основе растров пре – и постстимульных депрессорных, возбудительных

и смешанных проявлений спайковой активности нейронов в SNc на ВЧС СРи, получены значения, представленные в виде дисковых диаграмм для более наглядного представления степени выраженности в частотном отображении (в %) экспериментальных данных на модели БП в сочетании с ПТГ, в сравнении с контролем и нормой (Рис. 4).

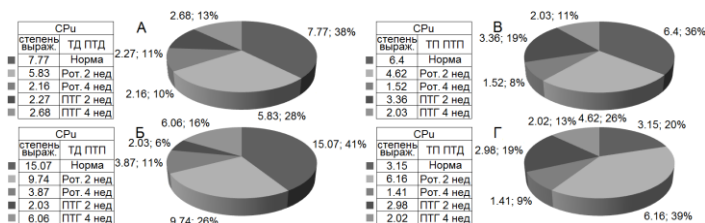


Рис.4. Процентное соотношение степени выраженности депрессорности (А, Б) и возбуждательных (В, Г) эффектов в одиночных МН СМ на

ВЧС СРи 2 и 4 нед спустя после введения ротенона, с протекцией ПТГ 2 и 4 нед через 4 нед после введения ротенона, в сравнении с нормой.

По сравнению с показателями на модели БП без протекции имело место значительное уменьшение тетанической депрессии с 2 нед протекцией (более чем двухкратное в депрессорной последовательности и 4.8-кратное – в разнонаправленной). С увеличением длительности протекции до 4 нед произошло улучшение показателей в направлении относительного углубления депрессии. По сравнению с условиями на модели БП без протекции очевидно определенное завышение возбуждательных эффектов с более длительной 4 нед протекцией. В сравнении с нормой и здесь несколько лучшие показатели выявились в условиях более длительной 4 нед протекции. Однако, время протекции, в целом, особенно не отразилось на показателях тетанического возбуждения (Рис. 4).

МОРФО-ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ В МОТОНЕЙРОНАХ СПИННОГО МОЗГА И ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ ПТГ

Проводились морфо-функциональные исследования трех зон SN (компактной, ретикулярной и латеральной) интактных крыс, на модели БП и в сочетании с инъекцией ПТГ в течение 2 и 4 нед спустя 2 и 4 нед. Представляет особый интерес компактная зона, поскольку электрофизиологически в настоящей работе остальные не изучены. Нейроны SN интактных крыс имеют нормальные размеры и различные формы с преобладанием полигональной, а также центрально расположенные ядра и длинные отростки, на отростках и соме клеток и в межклеточном пространстве видны также гранулы, напоминающие синапсы. В нейронах латеральной и ретикулярной зон SN на модели БП спустя 4 нед видны центральный хроматолиз, отсутствие отростков, эктопированные ядра, окруженные тканевым отеком. В нейронах компактной, ретикулярной и латеральной зон SN на модели БП в условиях введения ПТГ 2 нед показаны клетки разной формы, с высокой активностью КФ, окруженные многочисленными ядрами глиальных клеток, но в отличие от контроля без протекции, без глиального рубца, с сохраненным отеком мозга. В нейронах компактной и ретикулярной зон SN на модели БП в условиях 2 нед приема ПТГ спустя 4 нед выявляются клетки-тени, с центральным хроматолизом, отсутствием отростков, в цитоплазме - тонкое кольцо осадка свинца. В нейронах компактной и ретикулярной зон SN на модели БП после 2 нед введения ПТГ спустя 4 нед в цитоплазме некоторых клеток виден центральный хроматолиз с низкой активностью КФ и сильно выраженный тканевой отек. В нейронах SN на модели БП с 4-нед инъекцией ПТГ спустя 4

нед показаны нейроны сходные с интактными, обладающие длинными толстыми отростками, с высокой фосфатазной активностью, в латеральной и ретикулярной зонах - нейроны круглые, удлинненные или полигональные без и с отростками; характерно увеличение количества ядер глиальных клеток, по-видимому из-за пролиферации, и тканевой отек. В SNc и ретикулярной зоне на модели БП в течение 4 нед воздействия ПТГ спустя 4 нед обнаруживаются нейроны с центральным хроматоллизом, в основном, без отростков, окруженные отеком мозга и КФ-положительными гранулами, напоминающими нервные окончания, встречаются нейроны с восстановленными короткими окончаниями и с гомогенной окраской КФ.

МН СМ интактных крыс характеризуются гранулярным осадком фосфата свинца в цитоплазме и длинными отростками, выявляются также нейрофибриллы. МН на модели БП к 4 нед сморщенные или гипертрофированные, в основном, лишены отростков, но у некоторых наблюдается утолщение апикального дендрита и гомогенный осадок фосфата свинца. МН СМ на модели БП в условиях протекции ПТГ 2 нед гомогенно окрашены, с восстановленными длинными отростками, с высокой активностью КФ, с утолщенными дендритами, с двумя ядрами, свидетельствующие о высокой функциональной активности, окруженные тканевым отеком. МН СМ на модели БП в условиях 2 нед введения ПТГ, с- и без отростков, обладающие высокой активностью КФ, у некоторых сильно утолщенные восстановленные дендриты, сохраняется большое количество ядер глиальных клеток, обнаруживается отек. МН СМ на модели БП в условиях 2 нед приема ПТГ спустя 4 нед, с низкой активностью КФ, без отростков. видны единичные гранулы на мембране и в межклеточном пространстве и отечность ткани. МН СМ на модели БП спустя 4 нед, в условиях 4 нед воздействия ПТГ с высокой активностью КФ, окруженные отеком, у некоторых из них восстановлены отростки, у других - контуры нервные с двумя ядрами и с короткими расширенными выростами, по-видимому представляющими места отхождения вновь образующихся отростков.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе на модели БП, тетаническая депрессия в МН СМ ко 2 нед при активации нервов превышала норму лишь в депрессорной последовательности, в то время как на активацию SNc и в нейронах SNc при активации CPU – не достигала нормы. К 4 нед при активации экстензорного нерва и в нейронах SNc она была ниже и намного ниже нормы, а в МН СМ на активацию SNc и флексорного нерва - приближалась к норме и намного превышала ее, соответственно. На модели БП тетаническое возбуждение ко 2 и 4 нед в МН СМ на активацию нервов превышала норму или не достигала ее, а на активацию SNc и в нейронах SNc выявлялась ниже нее. В условиях 2 нед применения ПТГ, в МН СМ на активацию нервов, в большинстве тетаническая депрессия превалировала, а при 4 нед протекции ее превышение имело на активацию флексорного нерва, а на активацию SNc- лишь при 4 нед протекции. Тетаническая потенциация при 2- и 4-нед протекции в МН СМ на активацию нервов и в нейронах SNc, не превышала норму, резко снижалась при активации флексорного нерва на 2 нед и превышала норму при активации SNc. По сравнению с контролем (БП без протекции) ТД и ТП в МН СМ при ВЧС нервов в большинстве случаев были ниже в условиях как 2-, так и 4 нед протекции, а на ВЧС SNc и в нейронах SNc - превалировали лишь на 4 нед, при отсутствии эффекта вообще ко 2 нед. В целом, у интактных в МН СМ на активацию нервов и SNc степень выраженности тетанической потенциации превалировала над депрессией и, наоборот, в нейронах SNc.

На модели БП ко 2 нед и 4 нед в МН СМ на стимуляцию нервов и SNc в большинстве случаев потенциация превалировала над депрессией, в отличие от нейронов SNc, а в сравнении с БП без протекции, лишь при 4-нед протекции выявлялось

превышение потенциации, что свидетельствует о очевидной эффективности удлинения сроков протекции. Морфо-гистохимически, в основном, подтверждены результаты электрофизиологического изучения. И что особенно важно, впервые представлены аналогичные данные в отношении не только компактного, но и ретикулярного и латерального отделов SNC на модели БП.

Большое значение придается вопросам нарушения взаимодействия нейромедиаторов в синхронизации работы нервных сетей. Показаны нарушения связей в различных нейротрансмиттерных системах, в частности, между глутамат- и ГАМК-ергическими системами. Согласно собственным данным, депрессорные реакции интенсивнее вовлекаются, как при неспецифической так и специфической нейродегенерации в различных отделах мозга [Sarkissian et al., 2007 и др.]. Поскольку в основе депрессии, лежит торможение, то представляет интерес возможность ее содействия протекции. В настоящем исследовании следует оценить значение депрессорных тетанических проявлений активности МН СМ и SNC, лучше выраженных в начальной стадии восстановления. 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 показано протекторное назначение ГАМК в исследованиях по неспецифической нейродегенерации, в частности, на поврежденном периферическом нерве [Meliksetyan et al., 2011] и при специфической нейродегенерации в гиппокампе [Galoyan et al., 2008]. Показано, что в нейронах преимущественно ГАМК-ергической природы, рано вовлекаемые депрессорные реакции сопровождают процесс восстановления до его завершения. Подтверждением вышеотмеченных предположений служат также литературные данные, указывающие на то, что в некоторых системах в ходе развития нервной системы ГАМК действует в качестве фактора, влияющего на пролиферацию, миграцию, а также дифференциацию и созревание синапса, клеточную гибель и экспрессию рецептора ГАМКА [Owens, Kriegstein, 2002]. Предположено далее, что ГАМК и глицин могут играть важную и возможно различную роль в развивающейся и зрелой центральной вестибулярной системе [Tighilet, Lacour, 2001]. Установлена решающая роль проявлений, опосредованных ГАМК рецептором в нейронах вестибулярных ядер при восстановлении функции, после односторонней лабиринтэктомии [Giardino et al., 2002]. В настоящей работе, где также не исключено вовлечение истинного ГАМК-ергического торможения в течение ТД и ПТД, с целью углубления депрессии в изученных структурах естественно возникла необходимость терапевтического воздействия ПТГ в процессе де- и регенерации. Помимо того, представляет интерес протекторное влияние ПТГ на активность нейронов гиппокампа на амилоидной модели БА [Худавердян и соавт. 2008].

ВЫВОДЫ

1. На модели БП, в сравнении с нормой, в МН СМ ТД в ТД ПТД ко 2-й нед при ВЧС нервов либо была завышенной, либо не превышала норму, а на ВЧС SNC и в нейронах SNC на ВЧС СРи - оказалась ниже. К 4-й нед ТД при активации Р не превысила норму, G - намного превысила таковую, SNC - приблизилась к ней, а в нейронах SNC – оказалась намного ниже нормы.
2. На модели БП, в сравнении с нормой, в МН СМ ТП в ТП ПТП на ВЧС нервов ко 2-й и 4-й нед развития БП превысила норму или не достигала ее, а на ВЧС SNC и в нейронах SNC как на 2-й, так и 4-й нед выявлялась ниже нормы.
3. В условиях протекции ПТГ ко 2-й нед, в сравнении с нормой, в МН СМ на ВЧС нервов, в большинстве случаев ТД превалировала, а к 4-й нед имелось превышение

- ТД на ВЧС G и снижение – на Р. В МН СМ на ВЧС SNc ТД превысила норму лишь на 4 нед протекции.
4. При 2 и 4-нед протекции ТП в МН СМ на ВЧС нервов, не превышала норму, даже резко снизилась при активации G на 2 нед, превысила норму при активации SNc, но в нейронах SNc не достигала ее. В условиях протекции ко 2-й и 4-й нед, по сравнению с контролем (без протекции), ТД и ТП в МН СМ при ВЧС нервов, в большинстве случаев, были ниже, а на ВЧС SNc и в нейронах SNc превалировали лишь на 4-ой нед, при отсутствии эффекта ко 2-й нед.
 5. По степени выраженности у интактных в МН СМ на активацию нервов и SNc ТП превалировала над ТД, а в нейронах SNc - наоборот. На модели БП ко 2-й и 4-й нед в МН СМ на ВЧС нервов и SNc, в большинстве случаев, ТП превалировала над ТД, в нейронах SNc, как на 2-й, так и 4-й нед – наблюдались обратные эффекты. В сравнении с контролем превышение выявлялось лишь в период 4-й нед протекции. Наблюдалась эффективность удлинения сроков протекции. Следует отметить превышение ТД протекторного назначения, с тенденцией сохранения уровня при удлинении сроков протекции до восстановления исходного соотношения возбудительных и депрессорных постстимульных проявлений активности в изученных структурах.
 6. Морфо-гистохимически, в основном, подтверждены результаты электрофизиологического изучения. И что особенно важно, впервые представлены аналогичные данные в отношении не только компактного, но и ретикулярного и латерального отделов SNc на модели БП.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. 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, Из-во Гитутюн НАН РА, 2012, с. 254-260. ISBN 978-5-80-80-06961-5, Ред. К.В. Казарян.
2. Погосян М.В., Налбандян А.А., Бадалян Б.Ю., Бехнам Н., Цаканян К.В., Авакян З.Э., Степанян А.Ю., 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». Всеросс. Конф. с межд. Участием, 12-14 декабря, 2012, Москва. Изд-во Росс. Акад. мед. Наук, Москва, 2012, с. 349-354. ISBN 978-5-90-42-65-22-9, Ред. С.Н. Иллариошкин.
3. Погосян М.В., Налбандян А.А., Бадалян Б.Ю., Н. Бехнам, 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.
4. Бадалян Б.Ю., Худавердян Д.Н., Погосян М.Ю., Мкртчян О.А., Аветисян З.А., Саркисян Дж.С. Синаптические процессы в мотонейронах спинного мозга на модели болезни Паркинсона при активации периферических нервов и черной субстанции в условиях протекции паратормоном. Вопросы теоретической и клинической медицины. Научно-практический журнал. 2014, № 6, (95), с. 44-53.
5. Бадалян Б.Ю. Соотношение возбудительных и тормозных синаптических процессов на модели болезни Паркинсона в нейронах черной субстанции при активации хвостатого ядра в условиях протекции паратиреоидным гормоном. Вопросы теоретической и клинической медицины. Научно-практический журнал. 2014, № 6, (95), с. 53-58.

ԲԱԴԱԼՅԱՆ ԲԵՆԻԱՄԻՆ ՅՈՒՐԻԻ

ՊԱՐԿԻՆՍՈՆԻ ԶԻՎԱՆՂՈՒԹՅԱՆ ՍՈՂԵԼԻ ՎՐԱ ՊԱՐԱԹԻՐԵՆՈՒԴ ՀՈՐՄՈՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՂՆՈՒՂԵՂԻ ԵՎ ՍԵՆ ԱՅՈՒԹԻ ՆԵՑՐՈՆՆԵՐԻ ՄԻՆԱՊԱՍՑԻՆ ՊՈՈՑԵՄՆԵՐԻ ՎՐԱ

ԱՍՓՈՓԱԳԻՐ

Սպիտակ հասուն արու առնետների վրա՝ (250±30գ): Կիսաքրոնիկ երեք փորձաշարերում. Ինտակտ (n=5); ռոտենոնի երկկողմանի ներուղեղային ներարկմամբ (12 μ g in 0.5 μ l of Dimexid, 0.1 μ լ/րոպ արագությամբ medial forebrain bundle) ստերեոտակսիկ աղյախ կորդիինատներով [Paxinos, Watson, 2005] և պարաթիրեոիդ հորմոնի (ՊԹՀ) համակարգված ներարկմամբ (յոթ և տասնչորս ներարկում օրը մեջ, հաջորդ օրվանից): Կենդանիները պահվել են մինչև սուր փորձեր 2 (n=2), 4 (n=9) շաբ.: Ուսումնասիրվել է ողնուղեղի շարժանէյրոնների (ՈՇՆ) ակտիվությունը՝ հետին վերջույթների ֆլեքսոր (n. Gastrocnemius - G) և էքստենզոր (n. Peroneus communis - P) նյարդերի և սև նյութի կոմպակտ մասի (SNc) ակտիվությունը բարձր հաճախականությամբ գրգռմամբ (ԲՀԳ): Հետագուսվել է Պոչավոր կորիզի (Caudate Putamen - CPu) ԲՀԳ-ով SNc ակտիվությունը՝ հիմնվելով արգելակիչ և դրդիչ հետտետանիկ (ՀՏԴ, ՀՏՊ) ու տետանիկ (ՏԴ, ՏՊ) էֆեկտների վրա, on-line մաթեմատիկական ծրագրային անալիզի հիման վրա: Կատարվել է մեկական նեյրոնների ազդակային ակտիվության համեմատական անալիզ՝ ՈՇՆ-ից P, G, SN ԲՀԳ-ով, և SNc նեյրոններում նորմալում (n=187 և n=33 համապատասխանաբար) CPu ԲՀԳ-ով, Պարկինսոնի հիվանդության (ՊՀ) ռոտենոնային մոդելի վրա 2 (n=55 և n=88) և 4 (n=436 և n=162) շաբ. անց և պարաթիրեոիդ հորմոնի (ՊԹՀ) զուգակցված ներմուծմամբ 2 (n=78 և n=135) և 4 (n=292 և n=31) շաբ անց: Ընդհանուր առմամբ գրանցվել է ՈՇՆ և SNc-ի (n=1497): Նորմալում 220 բջիջ՝ ՊՀ մոդելի վրա 2 և 4 շաբ 598 բջիջ և ՊՀ մոդելի վրա՝ ՊԹՀ ներմուծմամբ 2 և 4 շաբ 536 բջիջ: Ինտակտ կենդանիների վերոնշյալ նյարդերի և SNc ակտիվացման դեպքում ՈՇՆ ՏՊ արտահայտման աստիճանը գերակշռել է ՏԴ, իսկ SNc նեյրոններում՝ ընդհակառակը: ՊՀ մոդելի վրա 2 և 4 շաբ. ԲՀԳ-ով ՈՇՆ և SNc դեպքերի մեծամասնությամբ ՏՊ գերակշռել է ՏԴ-ին, իսկ SNc նեյրոններում՝ ինչպես 2 այնպես էլ 4 շաբ ՏԴ գերակշռել է ՏՊ-ին: Ի համեմատ նորմալի 2 շաբ վերոնշյալ նյարդերի ակտիվացման դեպքում ՈՇՆ ՏԴ կամ գերակշռել է կամ եղել է նորմալից ցածր: SNc ԲՀԳ-ով ակտիվացումից և SNc նեյրոններում եղել է նորմալից ցածր: 4 շաբ. P, G, SNc ակտիվացման դեպքում ՏԴ չի գերազանցել նորմալին և փոքր ինչ բարձրացել է՝ համապատասխանաբար հասնելով նրան, իսկ CPu ԲՀԳ-ով SNc նեյրոններում գրանցվել են նորմալից ցածր ցուցանիշներ: Վերը նշված նյարդերի ԲՀԳ-ով ՈՇՆ ՏՊ 2 և 4 շաբ գերակշռել են նորմալին, կամ չեն հասել նրան, իսկ SNc ԲՀԳ և SNc նեյրոններում ՏՊ, ինչպես 2 այնպես էլ 4 շաբ եղել է նորմալից ցածր: ՊՀ մոդելի վրա դրդիչ և արգելակիչ ռեակցիաների համեմատության դեպքում 2 և 4 շաբ. ՏՊ արտահայտման աստիճանը նշված նյարդերի ԲՀԳ ՈՇՆ և SNc առավելապես գերակշռել են ՏԴ նկատմամբ, SNc նեյրոններում՝ ընդհակառակը, իսկ ստուգիչի հետ համեմատելիս գերակշռումը արտահայտվել է միայն պրոտեկցիայի 4 շաբ.: Ստուգիչի հետ համեմատելիս

պրոտեկցիայի 2 և 4 շաբ., նյարդերի ԲՀԳ-մբ ՈՇՆ ՏԴ և ՏՊ դեպքերի մեծամասնությամբ եղել են ցածր, իսկ ՏՆc և ՏՆc ԲՀԳ գերիշխել է միայն 4 շաբ.՝ 2 շաբ. Էֆեկտի առհասարակ բացակայությամբ: Ի համեմատ նորմայի՝ նյարդերի ԲՀԳ պրոտեկցիայի 2 շաբ ՈՇՆ ՏԴ մեծամասամբ ավելացել է, իսկ պրոտեկցիայի 4 շաբ առկա է եղել ԲՀԳ G նյարդի ՏԴ-ի ավելացում և իջեցում P-ում: ՏՆc նյութի ակտիվացումից ՈՇՆ 2 և 4 շաբ ավելացումը տեղ է գտել միայն 4 շաբ պրոտեկցիայի դեպքում: Նյարդերի ԲՀԳ ՈՇՆ ՏՊ նորմայի հետ համեմատելիս 2 և 4 շաբ. չի գերազանցել իրեն՝ նույնիսկ կտրուկ իջել է 2 շաբ. G նյարդի ակտրվացումից, իսկ ՏՆc ակտիվացումից գերազանցել է, բայց ՏՆc նեյրոններում չի հասել նորմային: Այլ կերպ ասած՝ պրոտեկցիայի ժամանակը առանձնահատուկ կերպով չի անդրադարձել ՏՊ-ի վրա: Միևնույն ժամանակ ակնառու է պրոտեկցիայի ժամանակի երկարացումը: Հարկ է նշել, որ հետազոտված կառույցներում պրոտեկտոր նշանակության ՏԴ ավելացումը, որը պրոտեկցիայի ժամանակի երկարացման դեպքում միտված է պահպանելու դրդող և ճնշող հետխթանիչ երևույթների մինչև ելակետային մակարդակի վերականգնմանը: Ձևաբանա-հիստոքիմիական մեթոդով թթու ֆոսֆատազայի արտահայտումը ընդհանուր առմամբ հաստատում է էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրությունների արդյունքները: Հետազոտվել է ՈՇՆ-ի և ՄՆ-ի բոլոր երեք գոտիները կոմպակտ, ցանցավոր և կողմնային: Սակայն հետաքրքրություն է ներկայացնում կոմպակտ գոտին, քանի որ սույն աշխատանքում մյուս գոտիները էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրության չեն ենթարկվել: Ամենակարևորը այն է, որ առաջին անգամ ՊՀ մոդելի վրա անալոգիկ տվյալներ են ներկայացվում ոչ միայն կոմպակտ, այլև ԿՆՀ-ի ցանցային և կողմնային բաժինների վերաբերյալ: ՊՀ մոդելի վրա 4 շաբ. ՄՆ հայտնաբերվել են հիպերտրոֆիկ կնճռուոված նեյրոններ, որոնք զրկված են էլուստներից և տարբեր ձևերի են: Որոշ նեյրոնների մոտ ապիկալ դենդրիտները հաստացած են գլիալ բջիջների կորիզների մոտ և նկատվում է հյուսվածքային այտուց: Շարժանեյրոնները կնճռուոված են կամ հիպերտրոֆիկ, հիմնականում զրկված են էլուստներից, որոշների մոտ նկատվում է ապիկալ դենդրիտների հաստացում և կապարի ֆոսֆատի հոմոգեն նստվածք: ՊՀ մոդելի վրա ՊԹՀ ներմուծման 2 շաբ. ՄՆ տեսանելի են թթու ֆոսֆատազային բարձր ակտիվությամբ տարբեր ձևերի բջիջներ, որոնք շրջապատված են գլիալ բջիջներով, սակայն առանց գլիալ սպիի, այտուցը պահպանված է: 4 շաբ անց իհայտ են գալիս բջիջ-ստվերները կենտրոնական քրոմատոլիզով, էլուստների բացակայությամբ ցիտոպլազմայում կապարի նստվածքի բարակ օղակով, թթու ֆոսֆատազայի ցածր ակտիվությամբ և խիստ արտահայտված հյուսվածքային այտուցով: 4 շաբ. ՊԹՀ -ի ներմուծումից 4 շաբ անց նկատվում են այնպիսի նեյրոններ, որոնք համապատասխանում են ինտակտ նեյրոններին: Դրանք ունեն երկար հաստ էլուստներ, թթու ֆոսֆատազային բարձր ակտիվություն և գերազանցապես պոլիգոնալ ձևի են:

THE PARATHYROID HORMONE ACTION ON THE SYNAPTIC PROCESSES OF SPINAL CORD AND SUBSTANTIA NIGRA NEURONS IN PARKINSON'S DISEASE MODEL

SUMMARY

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 (SNc) was investigated in the three series of semichronic experiments on adult rats (250±30g): 1. intact (n=5), 2. bilateral intracerebrally injected by rotenone (12 µg in 0.5 µl of Dimexid with velocity of 0.1 µl/min) in the "medial forebrain bundle" on stereotaxical coordinate and seasoned to acute experiments up to 2 (n=5), 4 (n=7) weeks and with systemic administration (from next day, seven and fourteen injection every other day) of Parathyroid hormone - PTH (0,7 ml 10–9 M sol.). 3. seasoned to acute experiment 2 (n=2), 4 (n=9) weeks. Activity of SN neurons to HFS of Caudate Putamen (CPu) 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 was studied also. The comparative analysis of impulse activity of single neurons in the investigated structures was carried out as follows: in SC MNs under 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 (control) after 2 (n=55 and n=88) and 4 (n=436 and n=162) weeks in combined with PTH administration after 2 (n=78 and n=135) and 4 (n=292 and n=31) weeks. Generally, about 1354 cells in SC MNs and neurons of SN (n=1497) was registered: in norm (220 cells), on the model of PD at 2 and 4 week (598 cells) and on the model of PD in condition of PTH administration after 2 and 4 week (536 cells). In the SC MN of intact animals the degree of manifestations of tetanic potentiation prevailed over depression under activation of nerves and SNc. In SNc neurons revealed patterns were the opposite. At PD model on the 2- and 4 weeks TD prevailed over TP in SC MN at HFS of nerves and SNc in most cases of trials. At the same time, in SNc neurons on the 2- and 4 week TD prevailed over TP. In comparison with norm, under nerves stimulation on the 2 week in SC MN TD either was over the or below the norm in corresponding successions. But under SNc activation and in SNc neurons TD was strongly below the norm. On the 4 weeks the TD did not prevail the norm under P activation, considerable prevailed under G activation and approached it in the case of SNc activation. In SNc neurons at CPu HFS the TD was much below the norm. In SC MN under nerves HFS TP on the 2- and 4 week either exceed the norm or did not approached it. At the same time under SNc HFS in SNc neurons TP was below the norm both on the 2 and 4 week. On the 2- and 4- weeks, the degree of manifestations of TP was predominantly over TD in SC MN under nerves and SNc HFS, if compared the depressor and excitatory reactions. In SNc neurons the opposite picture is revealed. Compared with the control TP exceeding is revealed only in condition of 4 week protection. In condition of 2 and 4 week protection, compared with control, TD and TP in SC MN under nerves HFS in the most cases was less expressed. But under SNc HFS and in SNc neurons TD and TP were over the norm only on 4 weeks, however the absence of the effect on 2 weeks is observed. Compared with the norm in SC MN under HFS of nerves on the 2 week of protection, in most cases prevalence of the TD was detected. On the 4 weeks of protection prevalence of the TD under G HFS was shown, but in P – it was less expressed. In SC MN under SN activation on the 2 and 4 week the prevalence was found only on the 4 week of protection. Compared with the norm, TP was below the norm in SC MN under nerves HFS on the 2 and 4 week protection. At the same time, it dramatically decreased on the 2 week in condition of G activation. At the same conditions TP in SNc neurons was below the norm. In other word, TP is

not specifically dependent on the time of protection. At the same time, it is obviously shown the effectiveness of elongation of the protection time. The exceeding of protective TD should be also mentioned, that had the tendency of preservation the TD level under elongation of protection time, and up to restoration of initial correlation between excitatory and depressor poststimulus manifestation of activity in studied structures. On the whole, the electrophysiological result has been confirmed morpho-histochemically with using the method of acidic phosphatase (Aph). All three zone of SN were investigated (compact, reticular and lateral), for the current research the main interest is for the compact zone, since the rest is not investigated in the electrophysiological part of the current work. In intact rats the neurons of SNc are of the normal size, predominantly polygonal with central located nuclei and long processes. On the model of PD in SNc neurons the following has been revealed after 4 weeks - the central chromatolysis, absence of processes, the ectopic nuclei, surrounded by tissular oedema has been seen. In condition of 2 week PTH administration the cells of different form, with high activity of Aph, surrounded with numerous nuclei of glial cells are seen, but in contrary to control (without protection), the cells are without glial scar, with preserved oedema. In condition of 2 weeks of PTH usage and after 4 weeks in the cells-shadows are revealed, with central chromatolysis, absence of processes, with thin ring of plumbum deposit in cytoplasm. After 2 weeks PTH injection and after 4 weeks in the cytoplasm of some cells the central chromatolysis with low Aph activity and expressed tissular oedema has been observed. On the 4 week of PTH injection and after 4 weeks the neurons has been seen similar with intact - possessing the long thick processes, with high activity of Aph. The SC MNs of intact rats are characterized with the granular deposit of plumbum phosphate in cytoplasm and with the long processes, the neurofibrilles is revealed also. In MNs on the model of PD the following has been revealed. On the 4 week the MNs are wrinkled or hypertrophied, mainly with devoid processes, but in some cells the thickening of apical dendrites and homogeneous deposit of plumbum phosphate is observed. On the 2 week of PTH protection in PD model the MNs are homogeneous painted, with restored long processes, with high activity of Aph, as well as with thickened dendrites and two nuclei that testifies the high functional activity and are surrounded by tissular oedema. In condition of 2 week PTH administration, the MNs with- and without processes are seen, possessing the high Aph activity, in some cases – strongly thickened restored dendrites are observed the multitude nuclei of glial cells is preserved and oedema. In condition of 2 weeks of PTH use, MNs with low Aph activity, without processes has been seen, without processes and with tissular oedema. At MNs in condition of 4 week PTH action and after 4 week the neurons with high activity of Aph, surrounded by oedema has been seen, in some of them restored processes are observed, in other cases cells have uneven contours, two nuclei and expanded short outgrowths, obviously representing the point of origin of the newly formed processes.

