

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

ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ ԼՈՒՍԻՆԵ ՄԱՐԼԵՆԻ

**ՊԱՐԿԻՆՍՈՆԻ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ ՍՈՂԵԼԻ ՎՐԱ ՄԻՋԻՆԱՍԻԱԿԱՆ ԿՈՔՐԱՅԻ
ԹՈՒՅՆԻ ԵՎ ՄԵԼԱՆԻՆԻ ՊԱՇՏՊԱՆԻՉ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ
ՍԵՎ ՆՅՈՒԹԻ ՆԵՅԻՐՆՆԵՐԻ ՍԻՆԱՊՍԱՅԻՆ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԸ ԿՈՐՏԻԿՈՆԻԳՐԱԼ
ՊՐՈՅԵԿՏԻԱԿԱՆ**

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

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ –2022

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

ХАЧАТРЯН ЛУСИНЕ МАРЛЕНОВНА

**СИНАПТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ НЕЙРОНОВ ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ В
КОРТИКОНИГРАЛЬНОЙ ПРОЕКЦИИ НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА В
УСЛОВИЯХ ПРОТЕКТОРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЯДА СРЕДНЕАЗИАТСКОЙ
КОБРЫ И МЕЛАНИНА**

АВТОРЕФЕРАТ

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

ЕРЕВАН 2022

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվ. ֆիզիոլոգիայի
ինստիտուտի գիտական խորհրդի նիստում:

Գիտական ղեկավար՝

Կենս. գիտ. թեկնածու Մ.Վ. Պողոսյան

Պաշտոնական
Ընդդիմախոսներ՝

բժշկ. գիտ. դոկտոր Ս.Վ. Գրիգորյան
Կենս. գիտ. թեկնածու Է.Ա. Ավետիսյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

Խաչատուր Աբովյանի անվան
Հայկական պետական մանկավարժական
համալսարան

Առենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2022 թ. սեպտեմբերի 29-ին
ժամը 13⁰⁰-ին ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում,
ֆիզիոլոգիայի 023 մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, 0028, ք. Երևան,
Օրբելի եղբ. 22):

Առենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի
ինստիտուտում գրադարանում և <http://www.physiol.sci.am> կայքում:

Առենախոսության սեղմագիրն առաքվել է 2022 թ. օգոստոսի 9-ին

023 մասնագիտական խորհրդի
գիտական քարտուղար, Կ.Գ.Թ

Ն.Է. Թադևոսյան



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

Научный руководитель:

канд. биол. наук М.В. Погосян

Официальные оппоненты:

доктор мед. наук, проф. С.В. Григорян
канд. биол. наук Э.А. Аветисян

Ведущая организация:

Армянский Государственный
Педагогический университет
им. Х. Абовяна

Защита диссертации состоится 29 сентября 2022 г. в 13⁰⁰ ч. на заседании
специализированного совета 023 по физиологии, 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 <http://www.physiol.sci.am>

Автореферат разослан 9 августа 2022г.

Ученый секретарь специализированного
совета 023, кандидат биол. наук

□



Н.Э. Тадевосян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Болезнь Паркинсона (БП) - это нейродегенеративное заболевание, включающее прогрессирующее нарушение произвольного двигательного контроля. Развитие БП приводит к появлению симптомов акинезии, брадикинезии, гипокинезии, постуральной

нестабильности, ригидности, сутулости и тремора в покое, скованности рук, ног и туловища, нарушениям равновесия и координации [Lotankar S. et al., 2017]. БП является результатом селективной дегенерации дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции (SNc), что вызывает снижение уровня дофамина в полосатом теле и приводит к нарушению двигательного контроля [Chia S.J. et al., 2020].

В обзоре Дэвида и Кристофера [David L., Christopher B., 2013] дискутируется критическое вовлечение первичной моторной коры головного мозга (M1) в патофизиологию БП. Хотя большинство исследований БП сосредоточено на хвостом ядре/скорлупе, многие аспекты функции M1 являются аномальными у пациентов и на животных моделях, что предполагает ее участие в симптомах болезни. В частности, обсуждается гипотеза, согласно которой истощение дофамина (DA) изменяет региональный метаболизм в M1, а также снижает активность интернейронов, нарушая внутрикоровое торможение [David L., Christopher B., 2013]. В частности, согласно недавним данным, из-за дегенерации нигростриатных дофаминергических нейронов при БП наблюдаются пластические изменения в подкорковых сетях и в M1 [Udupa K., Chen R., 2013]. Это приводит к функциональной реорганизации M1 и чрезмерной кортикостриатной синхронности при инициации движения. Также демонстрируется, что источником дисфункции у пациентов с БП являются сниженные проекции DA из среднего мозга непосредственно в M1 [Gaspar P. et al., 1991]. Показано, что дофаминергические терминалы и рецепторы в M1 обеспечивают обучение двигательным навыкам и повышают синаптическую пластичность M1. Элиминация дофаминергических терминалов в M1, в частности, нарушала приобретение двигательных навыков, которые восстанавливались после замещения DA. При этом, выполнение ранее приобретенных навыков не было затронуто [Molina-Luna K. et al., 2009]. Иными словами, M1 при БП приобретает все большее значение в качестве потенциальной мишени. Лучшее понимание ее вклада в симптомы БП будет способствовать разработке новых терапевтических подходов.

Как правило, у пациентов с БП с течением заболевания наблюдается снижение иннервации M1 ядрами ствола мозга. Предполагается, что различия в торможении / возбуждении, наблюдаемые у пациентов, отражают глобальные изменения баланса передачи сигналов ГАМК и глутамата в пределах M1 [Lefaucheur J., 2005]. В свою очередь, на модели БП электрофизиологические данные указывают на нарушение ГАМКергического торможения в M1, что мешает правильному выбору желаемых моторных программ. Причем, снижение глутаматергического возбуждения M1 не сказывается на передаче сигналов ГАМК [Obeso et al., 2000]. Согласно этой классической модели, снижение ГАМКергического ингибирования у пациентов с БП отражает компенсаторную адаптацию, основанную на отсутствии глутаматергического влечения. Наоборот, повышение возбудимости M1 можно связать с уменьшением иннервации дофаминергических нейронов. Иными словами, ключевая роль DA в M1 - облегчение моторного обучения, поэтому у пациентов с БП нарушена способность познавать новые двигательные задачи [Doyon J., 2008; Floel A et al., 2005]. Как было предложено [Lefaucheur, 2005], увеличение импульсной активности нейронов M1 при БП может быть вызвано снижением активности ГАМКергических интернейронов, что делает M1 неспособной выбрать подходящую моторную программу для выполнения движения. В связи с накоплением доказательств патологической активности M1 при БП необходимы дальнейшие исследования для определения того, является ли увеличение возбудимости M1, наблюдаемое у пациентов с БП, компенсацией потери DA в полосатом теле или оно напрямую связано с DAергической деафферентацией M1 поскольку клетки SNc, которые проецируются в полосатое тело, проецируются также в M1 [Debeir T et al., 2005]. Кроме того, накапливаются данные, что ГАМКергические интернейроны M1 при БП гипoaктивны [Gaspar P et al., 1991; Kroener S et al., 2009], что доказано и на уровне активности одиночных интернейронов M1 на модели БП [Brazhnik E et al., 2012]. Таким образом, определение

методов, усиливающих корково-корковое ингибирование, может быть полезно для поиска новых терапевтических подходов к БП. Раскрытие этих и других механизмов может пролить дополнительный свет на изменения в M1, которые необходимы для достижения положительного терапевтического результата.

Показан высочайший профиль связи SNc с префронтальной корой (ПФК), при этом SNr оказался больше связанным с M1 и премоторной корой [Menke R. et al., 2010]. Продолжает оставаться предполагаемой большая выраженность связей M1 и премоторной коры с SNr, по сравнению с SNc. Остаются недостаточно изученными особенности вовлечения ретикулярного отдела черной субстанции (SNr), и вопросы, связанные с синаптической пластичностью в обоих отделах черной субстанции (SN), а также новые аспекты терапии: оценка естественной протекции и привнесенной, способной, например, противостоять раннему формированию психических отклонений. Представляет интерес тот факт, что SN, осуществляя регуляцию базальных ганглиев (БГ) [Guatteeo E. et al., 2009], вовлекается в различные нейрологические и нейропсихиатрические болезни [Carman J., 1968], шизофрению [Weinberger D., 1987], патологические склонности и пагубные пристрастия [Wise R, 2009]. Поэтому понимание регуляции DA среднего мозга необходимо для составления представления о системе вознаграждения и нарушениях при этих болезнях [Guatteeo E et al., 2009]. Изучения у пациентов с шизофренией [Abi-Dargham A. et al., 1998, 2000], дополнительно подкрепили гипотезу повышенного подкоркового DA при шизофрении, что согласуется с текущим представлением об эксцессе подкорковой DA передачи и дефиците корковой DA передачи, предложенным Карлссоном и соавт. [Carlsson A. et al., 1999]. Изучение в этой области могут содействовать новому пониманию механизмов контроля моторики и когнитивных функций мозга, в условиях изменения его пластичности при нейродегенеративных болезнях (НБ).

Цель и задачи исследования: Целью исследования явилось – изучение степени вовлечения проекции первичной моторной коры в ретикулярный отдел черной субстанции при БП в сравнении с проекцией к компактному отделу черной субстанции, а также поиск новых, более эффективных природных нейропротекторных средств для лечения болезни Паркинсона. В соответствии с поставленной целью намечалось решение следующих задач:

1. Электрофизиологическое исследование степени выраженности синаптических депрессорных и возбудительных постстимульных проявлений активности и частоты пре- и постстимульной активности, в одиночных нейронах SNc и SNr в ответ на высокочастотную стимуляцию (ВЧС, 100 Гц в течение 1 сек) M1, у интактных крыс;
2. Электрофизиологическое исследование степени выраженности депрессорных и возбудительных постстимульных проявлений активности и частоты активности в одиночных нейронах SNc и SNr в ответ на ВЧС M1, на модели БП;
3. Электрофизиологическое исследование степени выраженности депрессорных и возбудительных постстимульных проявлений активности и частоты активности в одиночных нейронах SNc и SNr в ответ на ВЧС M1, на модели БП в условиях полагемого протекторного воздействия бактериального Меланинина;
4. Электрофизиологическое исследование степени выраженности депрессорных и возбудительных постстимульных проявлений активности и частоты активности в одиночных нейронах SNc и SNr на ВЧС M1, на модели БП в условиях полагемого протекторного воздействия яда NNO;
5. Морфогистохимическое изучение методом выявления активности кислой фосфатазы с целью определения патологических сдвигов и эффекта протекции во всех вышеотмеченных электрофизиологических экспериментах;

Научная новизна. Получены данные, позволяющие поставить под сомнение общепринятое мнение о преимущественной проекции префронтальной коры мозга в SNc, и позднее

вовлечении кортико-нигральной проекции к SNr. Показано, что проекция к SNr также на раннем этапе вовлекаются в нейродегенеративные процессы при БП, что, однако, сдерживается естественными компенсаторными процессами.

Нейроны SNr, в отличие от таковых SNc, показали в норме, уровень возбудительных проявлений активности выше депрессорных.

Представлено доказательство эксайтотоксичности нейронов SNc и SNr на модели БП. Это выразилось в понижении депрессорных эффектов и повышении возбудительных, а также в повышении фоновой частоты потенциалов действия обеих структур на модели БП.

В нейронах SNc, с использованием Меланина на модели БП, продемонстрировано восстановление депрессорных эффектов, которые абсолютно отсутствовали на модели БП. Также показано резкое снижение возбудительных эффектов. На основании как фактического восстановления депрессорной активности, так и превышения ее силы по сравнению с нормой показан протекторный эффект Меланина.

В нейронах SNr с использованием Меланина произошло очевидное повышение депрессорных эффектов.

В нейронах SNc, с использованием яда NNO, депрессорный эффект восстановился и превысил норму. Чрезмерные возбудительные эффекты на модели БП в нейронах SNc после применения NNO резко снизились.

Таким образом, в результате протекторного воздействия NNO и Меланина на модели БП показано понижение чрезмерной возбудительной активности SNc, то есть успешное противодействие эксайтотоксичности.

Морфогистохимические изменения нейронов SNc и SNr на модели БП, вызванной интоксикацией ротеноном, характеризуются структурно-метаболической дисфункцией - резкими морфологическими изменениями внутриклеточных структур, свидетельствующими о грубых метаболических нарушениях. На модели БП в условиях протекции ядом NNO и бактериальным меланином получены положительные изменения с повышением метаболизма, характеризующим клеточное выживание, с сохранением и нормализацией структуры, усилением Ca^{2+} -зависимого фосфорилирования и предотвращением нейродегенерации.

Научно-практическое значение. В настоящем исследовании на модели БП получены данные, позволяющие полагать достаточный протекторный эффект бактериального меланина и яда среднеазиатской кобры NNO на основе повышения сниженных депрессорных синаптических процессов, имеющих протекторное назначение, и снижения возбудительных процессов, повышенных в результате развития нейродегенерации в нейронах SNc и SNr, активированных M1. Получены данные, позволяющие поставить под сомнение общепринятое мнение о преимущественной проекции ПФК мозга лишь в SNc, и позднем вовлечении кортико-нигральной проекции (к SNr), сопровождаемое неизбежными психическими отклонениями. Полученные данные позволят разработать новые терапевтические стратегии в отношении тяжелого неизлечимого заболевания - болезни Паркинсона. **Апробация.** Материалы и основные положения диссертационной работы представлены на конференции Computer Science and Information Technologies – CSIT Proceedings в 17 г.

Публикации. По теме диссертации опубликованы 9 работ.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 111 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследований, 4-х глав результатов собственных исследований, обсуждения, выводов и списка литературы, включающего 208 источников. Иллюстрирована 29 рисунками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проводили электрофизиологические исследования на 37 нелинейных белых крысах-самцах (250г) в четырех сериях экспериментов: интактных (n=11), на модели БП,

индуцированной унилатеральным введением ротенона и выдерживаемых 4 нед. ($n=12$), в условиях протекции Меланином ($n=5$) и ядом NNO ($n=9$). Введение ротенона ($12 \mu\text{г}$ в $0.5 \mu\text{л}$ Димексида, со скоростью $1 \mu\text{л/мин}$) осуществляли под наркозом (нембутал, 40 мг/кг , в/б) в “medial forebrain bundle” по координатам стереотаксического атласа [Paxinos, Watson, 2005] ($\text{AP}+0.2$; $\text{L}\pm 1.8$; $\text{DV}+8 \text{ мм}$). Меланин в дозе 170 мг/кг вводили через день (14 инъекций), яд NNO в дозе 5% от LD 50 (1 мг/кг). Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями руководства ARRIVE [Kilkenny C. et al 2010]. В стереотаксическом аппарате производили трепанацию черепа от брегмы до лямбды и вскрывали твердую мозговую оболочку. После краниотомии, раздражающий электрод вживляли в ипсилатеральную M1 по стереотаксическим координатам ($\text{AP}+2.1$, $\text{L}\pm 2.6$, $\text{DV}+1.6 \text{ мм}$), а стеклянные микроэлектроды с диаметром кончика $1-2 \mu\text{м}$, заполненные 2M NaCl , вводили в SNc ($\text{AP}-5.0$; $\text{L}\pm 2.0$; $\text{DV}+8.1 \text{ мм}$) и SNr ($\text{AP}-5.1$, $\text{L}\pm 2.0$, $\text{DV}+8.6 \text{ мм}$) для экстраклеточной регистрации спайковой активности одиночных нейронов. Осуществляли высокочастотную стимуляцию M1 посредством прямоугольных толчков тока (длительностью 0.05 мс , амплитудой $0.12-0.18 \text{ мВ}$, силой тока 0.32 мА и частотой 100 Гц в течение 1 сек). Регистрацию осуществляли под наркозом (уретан 1.2 г/кг и/п) в следующей очередной последовательности: фиксация черепа в стереотаксическом аппарате, краниотомия с удалением костей от брегмы до лямбды и отсепаровкой твердой мозговой оболочки.

Активность проявлялась в виде тетанической потенциации (ТП) и тетанической депрессии (ТД) с последующей посттетанической потенциацией (ПТП) и посттетанической депрессией (ПТД). Проводили программный математический анализ спайковой активности одиночных 788 нейронов ($374 + 414$) нейронов SNc и SNr, соответственно. Проявления активности оценивали on-line регистрацией, позволяющим селекцию спайков посредством амплитудной дискриминацией с выводом растров перистимульного спайкинга нейронов, построением гистограмм суммы и диаграмм усредненной частоты спайков (разработчик В.С. Каменецкий). Производили далее многоуровневую статистическую обработку в отдельности для пре- и постстимульного отрезков времени и периода ВЧС. Для избираемых сравниваемых групп спайкинга нейрональной активности, строили суммированные и усредненные перистимульные (PETH Average) гистограммы и гистограммы частоты (Frequency Average) с вычислением средней частоты спайков. Анализ полученных данных производили по специально разработанному алгоритму, обеспечивающему достоверность перистимульных изменений межспайковых интервалов. Однородность двух независимых выборок контролировалась t -критерием Стьюдента. С целью повышения статистической достоверности перистимульных изменений межспайковых интервалов использовали также двухвыборочный критерий Вилкоксона-Манна-Уитни [Орлов А., 2004], в качестве непараметрического, оценивающего однородность независимых двух выборок. Так как число регистрируемых спайков было достаточно велико, использовалась разновидность указанного теста – z -тест, определяющий его асимптотическую нормальность. Учет критических значений в сравнении с таковыми нормального распределения при уровнях значимости 0.05 , 0.01 и 0.001 , показывает, что статистически значимое изменение достигало как минимум уровня 0.05 .

Морфогистохимические исследования проводили методом выявления активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы (КФ) [Меликсетян И., 2007] на основе метода Гамори. Данный методический подход основан на выявлении внутриклеточных фосфорсодержащих соединений, занимающих ключевые позиции в обменных энергетических процессах, направленных на сохранение и самовоспроизведение витальных систем. Полученная картина позволяет судить об определенных звеньях метаболизма исследуемых структур и о морфогистохимических изменениях в мозгу.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОСТСТИМУЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ СООТНОШЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ТОРМОЗНЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В SNc И SNr, АКТИВИРОВАННЫХ М1 МОЗГА НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА, В СРАВНЕНИИ С НОРМОЙ

Проведен сравнительный анализ импульсной активности одиночных нейронов SNc (107 нейронов, n=4) и SNr (135 нейронов, n=7) при ВЧС М1 в норме и на модели БП (105 нейронов, n=5) и (184 нейрона, n=7).

При обработке данных в виде графиков РЕТН были получены следующие результаты. В нейронах SNc при ВЧС М1 ТД в депрессорной и депрессорно-возбудительной последовательности в норме достигала 1.66 и 2.5-кратного понижения престоимпульной активности, а в двух возбудительных последовательностях ТП исчислялась в пределах 1.5- и 1.71-кратного превышения престоимпульной активности. В нейронах SNc на модели БП полностью отсутствовали депрессорные проявления активности, а ТП в двух возбудительных последовательностях исчислялась порядка 3.0- и 2.63-кратного превышения престоимпульной активности. В нейронах SNr в норме ТД в двух депрессорных последовательностях определялась в пределах 3.0- и 2.0- кратного понижения престоимпульной активности, а ТП в возбудительных последовательностях исчислялась порядка 3.33- и 2.0-кратного превышения престоимпульной активности. На модели БП в нейронах SNr ТД в двух депрессорных последовательностях достигала 1.11- и 1.73-кратного понижения престоимпульной активности, а в возбудительных – 1.32- и 1.55-кратного превышения. Иными словами, в нейронах SNr на модели БП значения полученных постстимульных эффектов оказались ниже нормы.

При оценке степени выраженности вышеотмеченных эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спайков, построенных на основе растров пре- и постстимульных проявлений спайковой активности нейронов SNc при ВЧС М1 в норме, с указанием средних цифровых значений в реальном времени 20 сек до и после стимуляции, получены значения (Рис. 1-7), представленные в виде дисковых диаграмм для оценки степени выраженности в процентах.

В нейронах SNc при ВЧС М1 в норме значения занижения (ТД) и завышения (ТП) престоимпульной активности, в одно- и разнонаправленных последовательностях, исчислялись в следующих пределах. В депрессорной последовательности ТД достигало 1.55-кратного занижения престоимпульной активности, в депрессорно-возбудительной – 1.5-кратного занижения. В возбудительной последовательности ТП показал 2.05-кратное повышение престоимпульной активности, а в возбудительно-депрессорной – 1.58-кратно.

На модели БП проявления депрессорной активности в нейронах SNc полностью отсутствовали. В возбудительной постстимульной активности ТП в двух последовательностях достигала 3.31 и 3.05-кратности превышения престоимпульной активности (Рис. 1, 5). Очевидна эксайтотоксичность SNc нейронов в условиях патологии, свидетельствующая об их нейродегенеративном поражении.

На модели БП в нейронах SNc при ВЧС М1 уровни частоты престоимпульной активности, предшествующие двум возбудительным постстимульным проявлениям активности, достигали значений превышающих таковые в норме, в пределах 25.4 и 23.7 против 11.10 и 15.77, т.е. 2.30- и 1.50-кратно (Рис. 1; 5 Ж, 3).

В нейронах SNr при ВЧС М1 в норме значения занижения (ТД) и завышения (ТП) престоимпульной активности, исчислялись в следующих пределах. На модели БП в нейронах SNr ТД в обеих последовательностях достигала лишь 1.21- и 1.23-кратного занижения

престимульной активности (Рис. 2 А, Б; 6 А, Б). Однако, ТП в обеих последовательностях также исчислялись в небольших пределах, порядка 1.40- и 1.60- кратного превышения (рис. 2

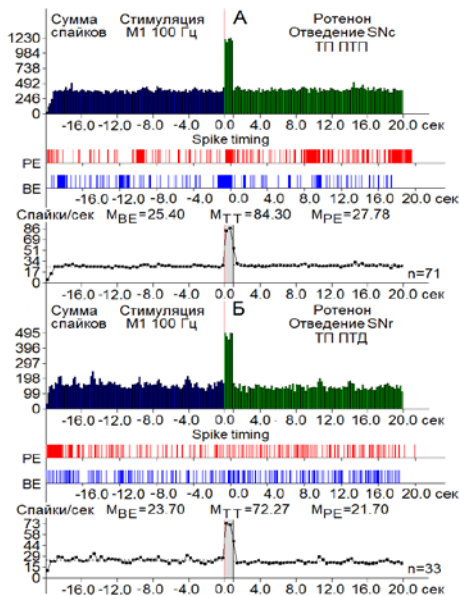


Рис. 1. Гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных возбудительных проявлений активности (А), возбuditельно-депрессорных проявлений активности (Б), в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции) нейронов SNc, вызванных ВЧС М1 на модели БП. Справа от диаграмм – количество испытаний (n).

В, Г; 6 В, Г). Иными словами, в нейронах SNr уровни как депрессорной, так и возбудительной активности на модели БП

Что же касается постстимульной частоты нейронов SNc, сопровождающей возбудительные проявления активности, то они исчислялись порядка 84.3 и 72.27 и против 22.2 и 25.0 в норме, т.е. она достигла в патологии значительных уровней, превышающих норму 3.25- и 3.37-кратно (Рис. 1; 5 Л, М). Таким образом, сравнительный анализ частоты нейронов SNc на модели БП, в сравнении с нормой, привел к заключению об эксайтотоксичности, сопровождаемой неизбежным и значительным нейродегенеративным повреждением.

В нейронах SNr при ВЧС М1 уровни частоты престимульной активности в двух депрессорных последовательностях, на модели БП в сравнении с нормой, определялись в пределах 30.34 и 38.5 против 6.46 и 5.13, тем самым превысив норму порядка 4.7- и 7.5-кратно (Рис. 2 А, Б, 6 Д, Е). Частота престимульной активности нейронов SNr в двух возбудительных последовательностях на модели БП, в сравнении с нормой достигала 67.25 и 48.74 против 5.35 и 5.16 в норме, т.е. 12.57 и даже 9.44- кратного превышения нормы (Рис. 2, В, Г; 6 Ж, З). Постстимульная частота активности нейронов SNr в двух депрессорных последовательностях на модели БП, в сравнении с нормой, исчислялась в пределах 25.05 и 31.2 против 3.3 и 2.6 в норме (7.6- и 12-кратно выше нормы), (Рис. 6 И, К). А постстимульная

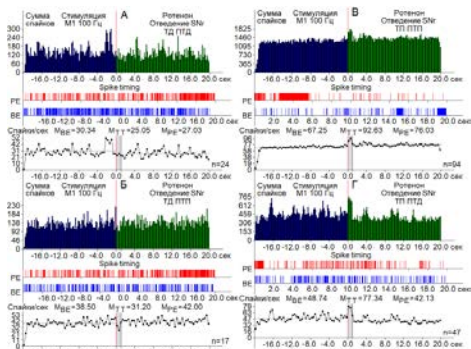


Рис. 2. Гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных депрессорных проявлений активности ТД ПТД (А), депрессорно-возбудительных ТД ПТП – (Б), возбудительных проявлений активности ТП ПТП (В), в сочетании с депрессорными - ТП ПТД (Г), в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции) нейронов SNr, вызванных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

частота в двух возбудительных последовательностях, соответственно 92.63 и 77.34 против 26.05 и 11.35 в норме (3.55- и 6.81-кратно выше нормы) (Рис. 2; 6 Л, М). Иными словами, уровни как пре-, так и постстимульной частоты активации нейронов SNr в патологии показали мощное превышение, по сравнению с нормой, больше со стороны престаимпульной фоновой активности, что свидетельствует о компенсаторной эксайтотоксичности, способствующей выраженной нейродегенерации, содействующей апоптозу и гибели нейронов.

ПОСТСТИМУЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ СООТНОШЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ТОРМОЗНЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В SNc И SNr, АКТИВИРОВАННЫХ M1 МОЗГА НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА, В УСЛОВИЯХ ПРОТЕКЦИИ МЕЛАНИНОМ

Проведен сравнительный анализ импульсной активности одиночных нейронов SNc и SNr при ВЧС M1 на модели БП в условиях протекции Меланином (50 нейронов, n=3) и (41 нейрон, n=2).

В нейронах SNc, на модели БП в условиях протекции Меланином ТД в обеих последовательностях достигала 4.0- и 2.0- кратного занижения престаимпульной активности, что оказалось намного выше и относительно ниже нормы (1.66 и 2.5-кратного), при полном отсутствии депрессорных эффектов на модели БП без протекции. ТП на модели БП с протекцией Меланином в обеих разнонаправленных возбудительных последовательностях достигала 2.0- и 4.0-кратного превышения престаимпульной активности, что оказалось ниже нормы (1.5- и 1.71) (Рис. 2 Б) и намного ниже патологии без протекции (3.0- и 2.63-кратного). Иными словами, очевидна протекция, успешно справляемая с эксайтотоксичностью. В нейронах SNr на модели БП в условиях использования Меланина ТД в обеих депрессорных последовательностях определялась в пределах 1.46- и 4.22-кратного занижения престаимпульной активности, в то время как в норме она исчислялась в пределах 3.0- и 2.0-кратного занижения престаимпульной активности, а на модели БП ТД в двух депрессорных последовательностях определялась порядка 1.11- и 1.73-кратного занижения престаимпульной активности. В нейронах SNr ТП на ВЧС M1 на модели БП с протекцией Меланином достигала 1.47-кратного превышения в обеих возбудительных последовательностях, в то время как в норме она достигала 3.33- и 2.0-кратного превышения престаимпульной активности, а на модели БП без протекции - 1.32- и 1.55-кратного превышения. Иными словами, в нейронах SNr на модели БП значения полученных постстимульных эффектов, в целом, оказались ниже нормы, а с применением Меланина – повысились, в особенности, в депрессорно-возбудительной последовательности.

При оценке степени выраженности вышеотмеченных эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спайков, выведенных на основе растров пре – и постстимульных разнонаправленных проявлений спайковой активности нейронов SNc и SNr при ВЧС M1 на модели БП в условиях протекции Меланином, с указанием средних цифровых значений, включая время ВЧС, получены значения, представленные в виде дисковых диаграмм для оценки степени выраженности в процентах (Рис. 3-6). В нейронах SNc в условиях использования Меланина ТД в депрессорных постстимульных последовательностях достигала 2.43- и 6.40-кратного занижения престаимпульной активности, что оказалось даже выше нормы (1.55- и 1.5-кратного занижения) (Рис. 3; 5 А, Б), с фактическим восстановлением утраченной депрессорной постстимульной активности на модели БП без протекции (Рис. 3 А, Б; 5 А, Б). В нейронах SNc в условиях протекции Меланином ТП в возбудительных последовательностях исчислялась порядка 1.20- и 1.46-кратного превышения, что снизило таковые завышенные на модели БП (3.32 и 3.05-кратно), с

тенденцией приближения к норме (2.00- и – 1.58-кратного) (Рис. 3 В, Г; 5 А, Б). Иными словами, с использованием Меланина имело место восстановление депрессорных эффектов.

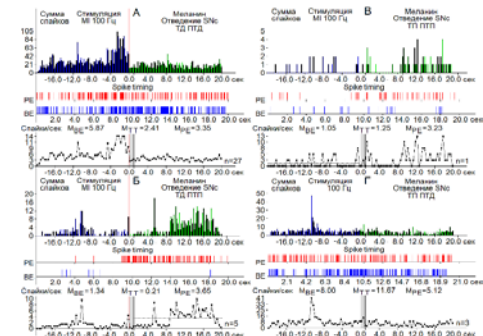


Рис. 3. А-Г – гистограммы суммы спаек пре- и постстимульных депрессорных проявлений активности ТД ПТД (А), в сочетании с возбуждаемыми - ТД ПТП (Б), возбуждаемых ТП ПТП (В), в сочетании с депрессорными ТП ПТД (Г) в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции) нейронов SNc, вызванных ВЧС М1 на модели БП в условиях использования Меланина. Справа от диаграмм – количество испытаний (n)

В нейронах SNr при ВЧС М1, в условиях использования Меланина, ТД в депрессорных постстимульных последовательностях определялась в пределах 2.10- и 2.15-кратного занижения престимульной активности, что значительно превысило таковые на модели БП (1.21- и 1.23-кратного), с приближением к норме (2.05-, 2.07-кратного) (Рис. 4 А, Б; 6 А, Б). Что касается ТП в обеих возбуждаемых последовательностях, на модели БП в условиях воздействия Меланина, то она исчислялась в пределах 1.71- и 1.26-кратного завышения престимульной активности, что оказалось намного ниже, чем в норме (5.07- и 2.20-кратного) и почти близким к значениям на модели БП без протекции (1.40- и 1.58-кратного) (Рис. 4 В, Г; 6 В, Г). Иными словами, ТП в нейронах SNr в норме оказалась выше ТД, преимущественно в однонаправленной последовательности, а на модели БП уровни постстимульной активности, как депрессорной, так и возбуждающей, оказались ниже нормы.

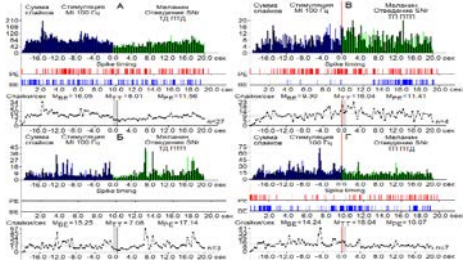


Рис. 4 А-Г – гистограммы суммы спаек пре- и постстимульных депрессорных проявлений активности ТД ПТД (А), в сочетании с возбуждаемыми - ТД ПТП (Б), возбуждаемых ТП ПТП (В), в сочетании с депрессорными ТП ПТД (Г) в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции) нейронов SNr, вызванных ВЧС М1 на модели БП в условиях использования Меланина. Справа от диаграмм – количество испытаний (n).

Таким образом, в нейронах SNr с использованием Меланина имело место очевидное повышение депрессорных постстимульных эффектов, сниженных на модели БП без протекции с выравниванием с нормой, а возбуждаемые - не претерпели ощутимых изменений. На основании фактического восстановления депрессорных постстимульных проявлений активности следует считать очевидным протекторный эффект Меланина.

На модели БП, в условиях использования Меланина, престимульная частота нейронов SNc в депрессорных реакциях была выявлена в пределах 5.87 и 1.34 против 14.77 и 9.10 в норме (Рис. 3 А, Б; 5 Д, Е). Престимульная частота в нейронах SNc в ТП с Меланином достигла значительного снижения, по сравнению с таковой на модели БП, порядка 1.05 и 8.0

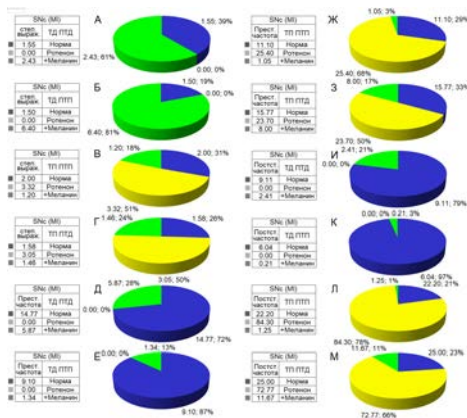


Рис. 5. А-М - процентное соотношение кратности степени выраженности (по усредненной частоте) депрессорных (А), депрессорно-возбудительных (Б), возбудительных (В) и возбуждительно-депрессорных (Г) постстимульных эффектов, а также частоты пре- (Д-З) и постстимульной (И-М) активности предшествующей и сопровождаемой депрессорными (Д, Е, И, К) и возбудительными (Ж, З, Л, М) постстимульными эффектами в одиночных нейронах SNc на ВЧС М1 в норме, на модели БП и с протекцией Меланином. Обозначения: степ. выраж. – степень

выраженности, престим. – престимульный, постстим. – постстимульный.

против 25.4 и 23.7, т.е. 24.2- и 3.06-кратно, но оказалась ниже нормы (в пределах 11.10 и 15.77) (Рис. 3 В, Г; 5 Ж, З).

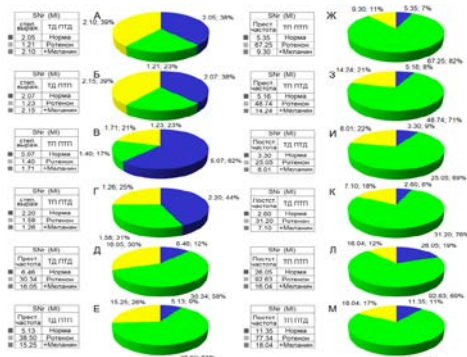


Рис. 6. А-М - процентное соотношение кратности степени выраженности (по усредненной частоте) депрессорных (А), депрессорно-возбудительных (Б), возбудительных (В) и возбуждительно-депрессорных (Г) постстимульных эффектов, а также частоты пре- (Д-З) и постстимульной (И-М) активности предшествующей и сопровождаемой депрессорными (Д, Е, И, К) и возбудительными (Ж, З, Л, М) постстимульными эффектами в одиночных нейронах SNr на ВЧС М1 в норме, на модели БП и с протекцией Меланином.

Обозначения: степ. выраж. – степень выраженности, престим. – престимульный, постстим. – постстимульный.

Постстимульная частота нейронов SNc, в условиях воздействия Меланина в депрессорных реакциях, как и в случае престимульной частоты не достигала нормы, однако имелась четкая тенденция восстановления (2.41 и 0.21 против 9.11 и 6.04) (Рис. 3 А, Б; 5 И, К). Однако, постстимульная частота нейронов SNc в возбуждительных эффектах, выявила снижение частоты в еще большей степени, чем в случае престимульной частоты. В условиях воздействия Меланина они были выявлены в пределах 1.25 и 11.67, в то время как на модели БП они достигали 84.30 и 72.27, против 22.2 и 25.0 в норме (Рис. 3 В, Г; 5 Л, М). Иными словами постстимульная частота достигла в патологии значительных уровней, превышающих норму 3.25- и 3.37-кратно, но благодаря протекции Меланином значительно снизилась (67.44- и 6.23-кратно). Таким образом, сравнительный анализ пре- и постстимульной частоты активности нейронов SNc на модели БП, в сравнении с нормой, привел к заключению об эксайтотоксичности, сопровождаемой значительным нейродегенеративным повреждением нейронов SNc, с которой успешно справился Меланин. В нейронах SNr с Меланином на модели БП произошло резкое снижение престимульной частоты в депрессорных эффектах

(16.05 и 15.25 против 30.34 и 38.50), т.е почти 2.0 и 2.5-кратно (Рис. 4 А, Б; 6 Д, Е). В то время как на модели БП без протекции, в сравнении с нормой, указанное соотношение определялось в пределах 30.34 и 38.5 против 6.46 и 5.13, превышая норму порядка 4.7- и 7.5-кратно. В нейронах SNr с Меланином на модели БП частота престоимпульной активности в возбудительных эффектах была выявлена в пределах 9.30 и 14.24, против частоты в патологии - 67.25 и 48.74 (то есть 7.23 - и 3.42-кратно), с приближением к норме (5.35 и 5.16) (Рис. 4 В, Г; 6 Ж, З). Постстимульная частота нейронов SNr в депрессорных реакциях на модели БП с применением Меланина, также значительно снизилась, порядка 8.01 и 7.10 против 25.05 и 31.20 (3.1- и 4.4-кратно) (Рис. 4 А, Б; 6 И, К). В то время как постстимульная частота нейронов SNr в двух депрессорных последовательностях на модели БП без протекции, в сравнении с нормой, исчислялась в пределах 25.05 и 31.2 против 3.3 и 2.6 (7.6- и 12-кратно выше нормы). Постстимульная частота активности нейронов SNr, сопровождаемая возбудительными эффектами на модели БП с протекцией Меланином также значительно изменилась в пределах 16.04 и 18.04 против 92.63 и 77.34 (5.77- и 2.70-кратно) (Рис. 4 В Г; 6 Л, М). В то время как на модели БП без протекции в нейронах SNr постстимульная частота в возбудительных последовательностях определялась соответственно 92.63 и 77.34 против 26.05 и 11.35 в норме (3.55- и 6.81-кратно выше). Иными словами, уровни как пре-, так и постстимульной частоты активации нейронов SNr в патологии показали мощное превышение, по сравнению с нормой, что свидетельствует о компенсаторной эксайтотоксичности, способствующей выраженной нейродегенерации и содействующей гибели нейронов, которое исключалось успешным протекторным воздействием Меланина.

ПОСТСТИМУЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ СООТНОШЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ТОРМОЗНЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В SNc и SNr, АКТИВИРОВАННЫХ M1 МОЗГА НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА, В УСЛОВИЯХ ПРОТЕКЦИИ ЯДОМ NNO

Проведен сравнительный анализ импульсной активности одиночных нейронов SNc (112 нейрона, n=6) и SNr (54 нейрона, n=3) при ВЧС M1 на модели БП в условиях протекции ядом NNO.

В нейронах SNc при ВЧС M1 в депрессорной и депрессорно-возбудительной +последовательности на модели БП с протекцией яда NNO ТД достигала 2.66- и 1.66-кратного занижения престоимпульной активности, в то время как в норме она определялась в пределах 1.66- и 2.5-кратного занижения, при полном отсутствии таковых на модели БП. Иными словами, очевидна успешная протекция NNO, способствующая восстановлению депрессорных постстимульных синаптических процессов, с приближением к норме и даже превалированием. В двух возбудительных последовательностях, на модели БП с протекцией NNO, ТП исчислялась в пределах 1.77- и 1.54-кратного превышения, что оказалось близким к норме (1.5- и 1.71-кратного) и намного меньше, чем на модели БП без протекции (3.0- и 2.63-кратного), что также является результатом успешной протекции, справившейся с эксайтотоксичностью.

В нейронах SNr на модели БП с протекцией NNO ТД в обеих депрессорных последовательностях достигала 1.40- и 1.31- кратного занижения престоимпульной активности, что оказалось ниже чем в норме (3.0- и 2.0- кратного) и выше и ниже, чем в патологии без протекции (1.11- и 1.73-кратного). В нейронах SNr на модели БП с протекцией NNO ТП в обеих возбудительных последовательностях исчислялась порядка 1.16- и 1.22-кратного превышения престоимпульной активности, что оказалось ниже чем в норме (3.33- и 2.0-кратного превышения) и ниже, чем на модели БП без протекции (1.32- и 1.55-кратного

превышения). Иными словами, в нейронах SNr на модели БП значения полученных постстимульных эффектов оказались ниже нормы, а с протекцией – еще ниже.

Оценивалась степень выраженности депрессорных и возбудительных эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спайков, построенных на основе растеров пре- и постстимульных депрессорных и возбудительных проявлений спайковой активности нейронов в норме, на модели БП и в условиях протекции.

В нейронах SNc при ВЧС М1 в депрессорных последовательностях ТД на модели БП, в условиях применения NNO, достигала 1.70- и 1.36-кратного занижения, что является выше и ближе к норме (1.55- и 1.50-кратное). Это свидетельствует о восстановлении депрессорных эффектов, исчезнувших в патологии без протекции. В возбудительной последовательности ТП в нейронах SNc после применения NNO выявлялась в пределах 2.14- и 1.77-кратного значений, в то время как в норме и БП (2.00-, 1.58-кратного и 3.32-, 3.05-кратного, соответственно), т.е. имело место резкое снижение чрезмерной возбудимости порядка 1.55- и 1.72-кратного. Таким образом, в результате воздействия NNO, показано успешное противодействие эксайтотоксичности на модели БП, иными словами, наблюдался протекторный эффект яда NNO.

В нейронах SNr на модели БП с воздействием NNO ТД в депрессорных последовательностях достигала 1.40- и 1.31-кратного занижения, в то время как в норме и при БП - 2.05-, 2.07- и 1.21-, 1.23-кратного, соответственно). Иными словами, имелось некоторое превышение с тенденцией приближения к норме. В возбудительных последовательностях ТП в нейронах SNr под воздействием NNO исчислялась в пределах 1.16- и 1.22-кратного завышения, в сравнении с нормой и БП (5.07-, 2.20- и 1.40-, 1.58-кратного соответственно). Иными словами, в нейронах SNr с протекцией NNO, возбудительные проявления активности изменились незначительно. В целом, депрессорные эффекты оказались выше чем в патологии, а возбудительные – ниже.

В нейронах SNc на модели БП с протекцией NNO престаимпульная частота в депрессорных постстимульных эффектах определялась 17.02 и 12.40, в то время как в норме она достигала 14.77 и 9.10, при полном ее отсутствии на модели БП. Иными словами, имело место восстановление престаимпульной частоты, даже с 1.15- и 1.36-кратным превазированием нормы. В условиях протекции NNO на модели БП престаимпульная частота в возбудительных постстимульных эффектах достигла 18.74 и 26.61, в то время как на модели БП она была в пределах 25.4 и 23.7 против 11.10 и 15.77 в норме, т.е. получено снижение эксайтотоксичности. Иными словами, в условиях применения NNO имело место восстановление депрессорной активности и снижение эксайтотоксичности в престаимпульной частоте, предшествующей возбуждающим последовательностям (порядка 1.35-кратного).

Постстимульная частота нейронов SNc в условиях протекции NNO на модели БП, сопровождающая возбуждающие проявления активности, оказалась в пределах 40.11 и 47.20. В то время как на модели БП, сопровождающая постстимульные возбуждающие проявления активности, она составляла 84.30 и 72.77 против 22.2 и 25.0 в норме, т.е. имело место 2.1- и 1.54-кратное снижение частоты, в сравнении с патологией без протекции, с приближением к норме. Это свидетельствует о снижении эксайтотоксичности с приближением к норме. Что же касается постстимульной частоты активности, предшествующей депрессорным эффектам, то имело место восстановление активности, близкой норме (10.07 и 9.10 против 9.11 и 6.04 в норме), при полном ее исчезновении в условиях ретенотоксической интоксикации без протекции.

В нейронах SNr в условиях протекции NNO на модели БП престаимпульная частота в депрессорных последовательностях исчислялась порядка 14.80 и 14.08, что оказалось ниже таковой при БП – 30.34 и 38.50-кратно, т.е. частота стремилась к норме (6.46 и 5.13). Престаимпульная частота нейронов SNr, предшествующая возбуждающим последовательностям, на модели БП в условиях протекции NNO, достигала 19.76 и 23.00, т.е.

3.40- и 2.12-кратно ниже таковой на модели БП (67.25 и 48.74). Очевидно эффективное противодействие эксайтотоксичности.

На модели БП с протекцией NNO постстимульная частота нейронов SNr в возбудительных последовательностях составила 23.02 и 28.21 против 92.63 и 77.34 на модели БП и 26.05 и 11.35 в норме, что оказалось близким к норме. В условиях протекции достигнуто значительное снижение эксайтотоксичности (порядка 4.02- и 2.74-кратно). Что же касается постстимульной частоты, сопровождаемой депрессорными последовательностями, в нейронах SNr на модели БП в условиях воздействия NNO, то она достигала 10.63 и 10.75 против 25.05 и 31.20 на модели БП и 3.30 и 2.60 в норме. Таким образом, с протекцией имело место снижение частоты порядка 2.35- и 3.00-кратного, с приближением к норме. Иными словами, очевидна протекция NNO.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙРОНОВ ЧЁРНОЙ СУБСТАНЦИИ НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА В УСЛОВИЯХ ПРОТЕКЦИИ МЕЛАНИНОМ И ЯДОМ NNO

Проводились морфофункциональные исследования SNC и SNr интактных крыс, на модели БП спустя 4 недели и на модели БП с инъекцией Меланина и NNO в отдельных сериях экспериментов SN состоит из трех частей, основными из которых являются ретикулярная и компактная части. В SNC выявлено большое количество нейронов, содержащих DA, в SNr - ГАМК. В основном, SN состоит из средних размеров мультиполярных нейронов, богатых

пигментом нейромеланином. В результате настоящих исследований установлено (Рис. 7, 8),

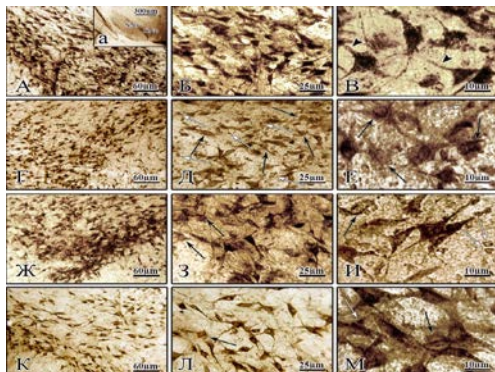


Рис. 7. Микрофотографии клеточных структур компактной части чёрной субстанции интактных (А-В) и экспериментальных (Г-М) крыс (Г-Е - в условиях ротеноновой интоксикации (БП); Ж-И - в условиях ротеноновой интоксикации в сочетании с регулярным введением малых доз яда NNO (БП+NNO); К-М - в условиях ротеноновой интоксикации в сочетании с регулярным

введением бактериального меланина (БП+Меланин)). А-В - мультиполярные нейроны крупных и средних размеров с центрально расположенными ядрами и длинными отростками, осадок свинца равномерно локализован; Г-Е - нарушение формы, размеров и контуров клеток, просветление цитоплазмы, глиоз; Ж-И - тенденция к сохранению нормальной морфологической картины, местами встречаются пораженные нейроны; К-М - высокая фосфатазная активность в цитоплазме и отростках нейронов, размеры и форма нейронов близки к норме, чёткие контуры (чёрная стрелка – хроматолиз; белая стрелка – ядра глии; черная головка стрелки – поперечная исчерченность в отростках). Оптич.ув.: $\times 25$ (а); $\times 160$ (А, Г, Ж, К); $\times 400$ (Б, Д, З, Л); $\times 1000$ (В, Е, И, М).

что у интактных животных в SNr и SNC встречаются клетки весьма разнообразной формы – треугольные, вытянутые, полигональные. В цитоплазме этих нейронов хроматофильное вещество диффузно распределено. Мелкозернистый и глыбчатый Меланин заполняет почти всю цитоплазму нервных клеток SN. Все клетки имеют длинные аксоны и несколько

умеренно или слабо ветвящиеся дендриты. Осадок фосфата свинца в виде гранул отчетливо виден в отростках. В аксонах мультиполярных клеток SNc наблюдаются чередующиеся светлые и тёмные участки, что создает впечатление поперечной исчерченности. Скорее всего, эти тёмные участки соответствуют местам высокой активности КФ. В нейронах обеих частей SN наблюдается высокий уровень метаболизма, который, по-видимому, связан с пигментообразовательной функцией этой структуры, а также с симпатической нервной системой [Шульговский В.В., 1997]. Среди нейронов SN наблюдается умеренная реакция ядер глиальных клеток, что характерно для нормы. У контрольных крыс SNc и SNr пронизаны кровеносными сосудами.

Анализ данных показал, что в условиях ротеиновой интоксикации отмечается уменьшение плотности нейронов SN, нарушение нейроархитектоники, по сравнению с нормой. В цитоплазме нервной клетки выявляется лизис гранул хроматофильного вещества вплоть до ее просветления, в телах поврежденных клеток осадок фосфата свинца распределен гомогенно. Поражение нейронов идет в разной степени выраженности –

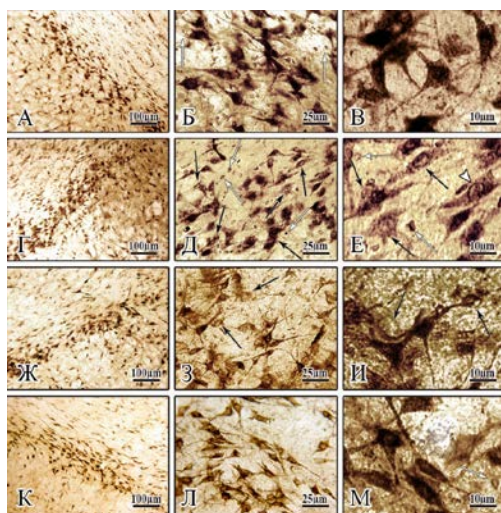


Рис. 8. Микрофотографии клеточных структур ретикулярной части чёрной субстанции интактных (А-В) и экспериментальных (Г-М) крыс (Г-Е - в условиях ротеиновой интоксикации (БП); Ж-И - в условиях ротеиновой интоксикации в сочетании с регулярным введением малых доз яда NNO (БП+NNO); К-М - в условиях ротеиновой интоксикации в сочетании с регулярным введением бактериального Меланина (БП+Меланин)). А-В - мультиполярные нейроны средних размеров с центрально расположенными ядрами и длинными отростками, осадок свинца равномерно локализован; Г-Е - нарушение формы, деформированные клетки с нечёткими контурами, просветленной и депигментированной цитоплазмой,

краевым гиперхроматозом ядра, глиоз; Ж-И - тенденция к сохранению нормальной морфологической картины, местами встречаются пораженные нейроны; К-М - форма и размеры нейронов сохранены, высокая фосфатазная активность в цитоплазме и отростках нейронов, чёткие контуры, светлые ядра центрально расположены) (чёрная стрелка – хроматоз; белая стрелка – ядра глии; белая головка стрелки – эксцентрично расположенное ядро). Оптич. ув.: $\times 100$ (А, Г, Ж, К); $\times 400$ (Б, Д, З, Л); $\times 1000$ (В, Е, И, М).

сегментарный или перинуклеарный хроматоз базофильного вещества цитоплазмы. Наблюдается депигментация нейронов обеих частей SN, встречаются клетки с полным отсутствием Меланина. То есть, наблюдается выход Меланина из поврежденных клеток. У клеток нарушается характерная полигональная форма, нет чёткого разграничения групп клеток. У некоторых клеток SNc полигональные клетки теряют характерную форму, приобретают шарообразную форму из-за набухания тел и потери отростков. Но у большинства нейронов вытянутая или треугольная форма, контуры клеток становятся неправильными, нечёткими, не просматривается граница между телом и отростками. У них

реагируют длинные отростки, в которых осадок фосфата свинца пылевидный или мелкозернистый. В цитоплазме выявляется набухшее ядро с эксцентрично расположенным темным ядрышком. У части нейронов крупно-глыбчатый осадок фосфата свинца неравномерно распределен в теле клетки, свидетельствуя о возможном полном распаде, дендриты утолщены и укорочены. У клеток SNr также нарушена полигональная форма, они деформированы и принимают, в основном, веретенообразную форму, но встречаются также круглые клетки с укороченными отростками, отмечается нечёткость контуров, цитоплазма светлая из-за депигментации. Ядро набухшее, с краевым гиперхроматозом, занимает эксцентричное положение, на его светлом фоне выявляется темное ядрышко. В пораженных нейронах тёмноокрашенный крупноглыбчатый осадок фосфата свинца неравномерно распределён по телу клетки, из-за чего не просматривается граница между телом и отростками. Патологические сдвиги в нейронах приводят к реакции нейроглии. Среди дегенерированных нейронов обеих частей SN чётко выделяются в значительном количестве гомогенно окрашенные ядра глиальных клеток.

Итак, при ротеноновой интоксикации мозга отмечаются гибель нейронов и депигментация SN, грубые метаболические и морфологические нарушения, о которых свидетельствуют резкие морфологические изменения внутриклеточных структур. Поражения нервных клеток в SNc и SNr происходят по так называемому абитрофическому типу, который сопровождается прогрессирующей потерей жизнеспособности, постепенной дегенерацией, приводящей к патологическим состояниям и утрате функций на более поздних стадиях заболевания. Состояние хроматофильных зерен в цитоплазме подвергается глубоким изменениям. В конечных этапах нейронального распада черный пигмент Меланин в больших количествах освобождается из разрушающихся клеток SN. В пораженных областях отмечаются значительные изменения глии. На ранних стадиях заболевания этот клеточный процесс может быть обратимым, однако, при углублении нейродегенеративного процесса клетка может погибнуть, подвергшись вакуолизации, лизису или пикнозу.

У животных, получивших инъекцию ротенона в сочетании с инъекциями яда NNO, полигональность формы клеток обеих частей SN частично сохранена, форма и размеры характерны для нейронов SNc и SNr мозга. У большинства нейронов SN на фоне гиперхромной цитоплазмы просматриваются светлоокрашенные центрально расположенные ядра; выявляются тонкие длинные отростки, что указывает на сохранение их связей с соседними клетками и другими областями мозга. Внутрицитоплазматические грануляции образуют спиралевидные или глыбчатые образования, что характерно для первично раздраженных нейронов. На фоне сохранивших форму и размеры клеток местами выявляются пораженные нейроны, в которых активность КФ слабая, отростки не выявляются, однако заметны ядра. Местами встречаются интенсивно окрашенные клетки с короткими отростками, их ядра смещены к периферии. Среди крупных нейронов реагируют мелкие округлые клетки. В целом, под воздействием яда NNO наблюдается морфологическая картина нейронов SN, близкая к норме. SN пронизывают сосуды, на стенках которых четко и интенсивно окрашиваются темные перicyты, которые своими хорошо выявляемыми отростками охватывают сосуд. Это значит, что при введении яда NNO имеет место очевидное улучшение васкуляризации.

У животных, получивших инъекцию ротенона в сочетании с инъекциями Меланина, полигональность формы клеток обеих частей SN в основном сохранена, есть тенденция к восстановлению характерных для нейронов размеров по сравнению с моделью БП. Цитоплазма интенсивно окрашена, в ней просматривается светлоокрашенное центрально расположенное ядро. Осадок фосфата свинца в цитоплазме клеток мелкогранулярный или глыбчатый, у нейронов выявляются тонкие длинные отростки. В SNc наряду с сохранившими форму и размеры клеток изредка выявляются пораженные нейроны, в которых активность

КФ слабая, отростки не выявляются, однако ядро центрально расположено. В ряде случаев в SN наблюдаются клетки с короткими отростками, они светло окрашены и их ядра эксцентрично расположены. В межклеточном пространстве, на фоне сохранившихся и частично поражённых нейронов SN местами обнаруживаются ядра глиальных клеток, имеет место защитная реакция глиальных клеток по отношению к нейронам. В целом, под воздействием Меланина наблюдается морфологическая картина нейронов SN, близкая к норме, очень редко встречаются нейроны, пораженные в результате ротеноновой интоксикации.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Эксайтотоксичность при нейродегенеративных заболеваниях является результатом сверхактивации глутаматных NMDA и AMPA рецепторов, содействующей повреждению нейронов [Matthew R. et al., 2004], и их гибели [Olney J., 1969]. Глутамат, основной возбуждающий передатчик в ЦНС млекопитающих, действует посредством стимуляции ионотропных и метаботропных рецепторов [Mayer M., Westbrook G., 1987] с повышением уровней ионов Ca^{2+} , входящих в клетку [Jaiswal M. et al., 2009], которые в физиологических условиях регулируют множество клеточных процессов, включающих клеточный рост, дифференциацию и синаптическую активность. При дисрегуляции Ca^{2+} притока в клетки активируются энзимы, включающие фосфолипазы, эндонуклеазы и протеазы, которые вовлекаются и повреждают клеточные структуры - цитоскелета, мембраны и ДНК [Hughes J., 2009]. Чрезмерный приток Ca^{2+} может сокрушить регуляторные механизмы и вести к клеточной гибели. Для их предотвращения необходимо восстановление и углубление депрессорных эффектов, имеющих протекторное назначение, и снижение чрезмерных возбудительных эффектов [Саркисян и соавт. 2018].

В настоящем исследовании в качестве одного из протекторов использован бактериальный Меланин. Как известно, Melanin-Concentrating Hormone (MCH) вовлечен в большинство мозговых функций и поведенческих реакций, существенных для выживания животных [Gao X., 2009]. На сегодняшний день MCH вообще рассматривается как пептид, действующий почти исключительно в ЦНС [Lakaye B. et al., 2009]. MCH присутствует в классической гипоталамо-нейрогипофизарной системе, указывающей, что он может играть роль нейрогормона. Наконец, нейромеланин (NM) – природный антиоксидант, который подавляет липидную пероксидацию в мышцах. Представляет интерес подавление MCH-ом активности глутаматных и ГАМКергических нейронов [Gao X., van den Pol A., 2001]. Изучение нормального развития NM в человеческой SN и изменений, которые встречаются при БП, улучшит понимание этой болезни и помогут предусмотреть мишени для развития новых интервенций для лечения этого заболевания [Fedorow H. et al., 2005]. В заключение, NM аккумулируется как функция старости в нормальной человеческой SN, но истощается в SN пациентов с БП. NM видимо играет протекторную роль в человеческом мозге, блокируя токсические молекулы. NM предстает в качестве подходящей мишени для разработки химических агентов, могущих модифицировать течение этого заболевания [Zecca L. et al., 2006].

В нейронах SNC, с использованием Меланина на модели БП, имело место восстановление депрессорных эффектов в нейронах SNC, даже выше нормы, и резкое снижение таковых возбудительных. В нейронах SNr на модели БП значения постстимульных эффектов, в целом, оказались ниже нормы, а с применением Меланина – повысились, в особенности, в депрессорно-возбудительной последовательности. Таким образом, в нейронах SNr с использованием Меланина сильно повысились депрессорные эффекты, сниженных на модели БП, с выравниванием с нормой, а возбудительные - не претерпели ощутимых изменений. Постстимульная частота нейронов SNC, в возбудительных эффектах, выявила снижение в еще

большей степени, чем в случае престоимпульной частоты. Иными словами, постстимульная частота достигла на модели БП уровней, превышающих норму 3.25- и 3.37-кратно, и благодаря протекции Меланином значительно снизилась (67.44- и 6.23-кратно). Таким образом, сравнительный анализ частоты нейронов SNC на модели БП, в сравнении с нормой, привел к заключению об эксайтотоксичности нейронов SNC, с которой успешно справился Меланин. Как было отмечено выше, уровни частоты нейронов SNr на модели БП показали мощное превышение, по сравнению с нормой, что свидетельствует об эксайтотоксичности, которое исключалось успешным протекторным воздействием Меланина.

Животные яды являются выраженными протекторами при многих патологических состояниях организма, обладая высокой избирательной специфичностью и необратимостью эффектов [Cook N., 1990]. Изучение белков дезинтегринов оказалось полезным для разработки антиагрегантов и принципов разработки иммунодепрессантов и противоопухолевых средств. Нейротоксины с пре- или постсинаптическими эффектами использовались для изучения нейrogenных синапсов и нервно-мышечных связей, а также для разработки анальгетиков, миорелаксантов и средств от нейродегенеративных заболеваний. Различные компоненты действуют путем ингибирования клеток и белков иммунной системы, что позволяет разрабатывать противовоспалительные препараты. Многие вопросы аутоиммунитета можно решить, изучив змеиный яд. В этих биологических процессах участвуют различные белки яда, и они были бы очень ценными, если бы их свойства творчески применялись в поисках терапевтических и диагностических эффектов или при изучении различных заболеваний, включая аутоиммунные [Cañas C. et al., 2021]. Иными словами, терапевтическое применение змеиных ядов продолжает оставаться в центре внимания научных изысканий.

В настоящем исследовании нейронах SNC на модели БП, в условиях применения яда NNO, депрессорные эффекты восстановились, а возбуждающие – резко снизились до уровня нормы. В нейронах SNr в условиях применения яда NNO депрессорные эффекты повысились, не достигнув уровня нормы. Возбуждающие эффекты не претерпели существенных изменений по сравнению с уровнем при БП. Частота импульсной активности в нейронах SNC и SNr понизилась. Иными словами, очевидна протекция NNO.

В последние десятилетия в связи с увеличением нейродегенеративных заболеваний придается все большее значение вопросам нарушения взаимодействия нейромедиаторов в синхронизации работы нейронных сетей. Показаны нарушения коммуникативных связей различных нейротрансмиттерных систем, в частности, между глутамат- и ГАМКергической. Углубление депрессорных тетанических реакций, по-видимому, является следствием выдвигания их в качестве несущих протекторную нагрузку в начальной стадии восстановления. Есть все основания полагать, что тетанические депрессорные эффекты ГАМК-зависимые. В качестве предварительного обоснования, при экстраклеточном отведении регистрировали достоверный эффект урежения потока импульсной активности в условиях системного введения ЭОС-кумулятора ГАМК [Камалян Р. и др. 2007]. Подтверждением предположения о универсальном протекторном назначении ГАМК-ергического торможения служат также литературные данные, свидетельствующие о том, что в некоторых структурах мозга в течение развития нервной системы ГАМК действует в качестве трофического фактора, влияющего на пролиферацию, миграцию, дифференциацию, созревание синапсов, клеточную гибель и экспрессию рецептора ГАМК(A) [Owens D., Kriegstein A., 2002; Cuppini R. et al., 2002]. Согласно недавним данным, полагается, что ГАМК и глицин могут играть важную и возможно различную роль в развивающейся и зрелой центральной вестибулярной системе [Owens D., Kriegstein A., 2002]. Интересно, что нейрогенез в зрелом мозге находится под ГАМКергическим контролем и ГАМК действует в качестве фактора, влияющего на пролиферацию, миграцию, дифференциацию и созревание синапса, клеточную гибель и экспрессию рецептора ГАМК(A) [Owens D., Kriegstein A., 2002].

К тому же, снижение функций ГАМК(A) рецепторов может служить всеобщим молекулярным субстратом для дефицита нейрогенеза в зрелом мозге [Earnheart J. et al., 2007]. Углубление тетанической депрессии может быть предложено в качестве протекторного воздействия. Тетаническая депрессия, рано вовлекаясь, сопровождает процесс восстановления до его завершения, тем самым противодействуя нейродегенерации и содействуя нейрогенезу. В основе депрессорных проявлений активности лежит торможение, опосредуемое тормозными моноаминами ГАМК или Глицином. что предусматривает универсальное протекторное назначение обусловленного ими торможения. Установлена решающая роль ГАМК рецептором опосредованных событий при вестибулярной компенсации [Giardino L. et al., 2002; Johnston A. et al., 2001; Tighilet B., Lacour M., 2001; Yamanaka T. et al., 2000]. В заключение, недавние изучения на клеточном и сетевом уровнях позволили утверждать, что синаптическое торможение не может оцениваться лишь в качестве противостоящего синаптическому возбуждению и дополнительно обслуживает высоко специфические функции в нервной системе млекопитающих [Birke G., Draguhn A., 2010]. К тому же, последнее показано преимущественно в нейронах ГАМК-ергической природы. Согласно предварительным исследованиям, депрессорные реакции интенсивно вовлекаются при нейродегенерациях: неспецифической периферической (на поврежденном периферическом нерве) [Саркисян Дж. и соавт., 2003; 2005; Galoyan A. et al., 2001; 2005; Meliksetyan I. et al., 2011; Minasyan A. et al., 2011], центральной (при односторонней лабиринтэктомии в ядре Дейтерса) [Galoyan A. et al., 2010], в спинном мозге (при латеральной гемисекции) [Саркисян Дж. и соавт., 2004; Galoyan A. et al., 2007], специфической (на амилоидной модели БА) [Погосян М. и соавт., 2015; Galoyan A. et al., 2008; Sarkissian J. et al., 2007; Yenkyan K. et al., 2011; Саркисян и соавт. 2018] и ротеноновой модели БП [Погосян М. и соавт. 2012; 2014; Саркисян и соавт. 2018].

В заключение, что касается морфологической части настоящих исследований, то они, в целом, подтвердили данные электрофизиологических. Результаты исследований по применению Меланина и яда NNO на модели БП дают основание предположить, что есть тенденция к сохранению нормальной морфологической картины - положительные изменения структурных свойств нейронов SNc и SNr, повышение метаболизма и плотности нейронов, усиление Ca^{2+} -зависимых процессов фосфорилирования, по сравнению с ротеноновой моделью БП. Наряду с сохранившимися нейронами, изредка встречаются пораженные клетки, форма и размеры которых не соответствуют интактным животным, хотя контуры уже выявляются. У большинства клеток выявляются длинные отростки, что важно для сохранения связей SN с другими областями мозга и соседними нейронами, то есть для сохранения межклеточных контактов. По сравнению с моделью БП наблюдается повышение фосфатазной активности в цитоплазме и ядре клеток, что говорит об активации обменных процессов, направленных на поддержание нарушаемого в результате ротеноновой интоксикации гомеостаза организма.

Полученные данные позволяют заключить, что змеиный яд NNO и Меланин играют определенную нейропротекторную роль, ускоряя компенсаторное восстановление в центральной нервной системе на фоне развивающихся нейродегенеративных изменений, присущих БП.

ВЫВОДЫ

1. В нейронах SNc на модели БП возбуждающие эффекты повысились, по сравнению с уровнем нормы, в то время как депрессорные эффекты полностью отсутствовали. Вместе с сильно повышенной частотой импульсной активности это служит доказательством нейродегенеративного повреждения. В нейронах SNr на модели БП показано понижение депрессорных и возбуждающих эффектов, а также сильное повышение частоты импульсной активности, что достоверно свидетельствует в пользу ранних проявлений нейродегенерации.
2. В нейронах SNc, с использованием Меланина на модели БП, имело место восстановление депрессорных эффектов с превышением уровней нормы и резкое снижение возбуждающих эффектов, доходящее до уровней нормы. Частота импульсной активности в нейронах SNc понизилась в результате применения Меланина. В нейронах SNr с использованием Меланина также имелось очевидное повышение депрессорных эффектов до уровня нормы, при этом возбуждающие эффекты остались пониженными. Частота импульсной активности в нейронах SNc и SNr сильно понизилась. Отмеченное позволяет считать очевидным протекторный эффект Меланина.
3. В нейронах SNc на модели БП, в условиях применения яда NNO, депрессорные эффекты восстановились, а возбуждающие – резко снизились до уровня нормы. В нейронах SNr в условиях применения яда NNO депрессорные эффекты повысились, не достигнув уровня нормы. Возбуждающие эффекты не претерпели существенных изменений по сравнению с уровнем при БП. Частота импульсной активности в нейронах SNc и SNr понизилась. Иными словами, очевидна протекция NNO.
4. Представляется возможным поставить под сомнение утверждаемый факт позднего вовлечения кортико-нигральной (в частности, к SNr от M1) проекции при БП, с неизбежными психическими отклонениями, поскольку очевидно раннее вовлечение SNr в патологию, но с привлечением естественной компенсации, оттягивающей ее нейродегенеративное повреждение.
5. Морфогистохимические изменения нейронов SNc и SNr на модели БП, вызванной интоксикацией rotenоном, характеризуются структурно-метаболической дисфункцией - резкими морфологическими изменениями внутриклеточных структур, свидетельствующими о грубых метаболических нарушениях. На модели БП в условиях протекции ядами NNO и бактериальным меланином получены положительные изменения с повышением метаболизма, характеризующим клеточное выживание, с сохранением и нормализацией структуры, усилением Са-зависимого фосфорилирования и предотвращением нейродегенерации.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Даниелян М.А., Хачатрян Л.М., Карапетян К.В., Назарян О.А., Погосян М.В., Аветисян З.А., Саркисян Дж.С. Влияние меланина на морфофункциональное состояние нейронов чёрной субстанции на модели болезни Паркинсона. *Мед.наука Армении*, 2020; 60(2): 28-37 (LX(2): <https://arar.sci.am/dlibra/publication/286558/edition/263135/content>)
2. Хачатрян Л.М., Погосян М.В., Даниелян М.А., Саркисян Дж.С. О соотношении возбуждающих и депрессорных процессов в корковой проекции к ретикулярному отделу чёрной субстанции на модели болезни Паркинсона *Доклады Академии наук Армении*. (Представлено чл.-кор. НАН РА Манвеляном). 2021; 121(3): 219-225. <https://arar.sci.am/dlibra/publication/307493/edition/282334/content>
3. Даниелян М.А., Погосян М.В., Карапетян К.В., Хачатрян В.П., Назарян О.А., Хачатрян Л.М., Аветисян З.А., Саркисян Дж.С. Изучение синаптической активности чёрной субстанции на модели болезни Паркинсона в условиях протекторного воздействия

- бактериального меланина. *Медицинская наука Армении НАН РА*. 2021; LXI(4): 27-38. <https://arar.sci.am/dlibra/publication/322648/edition/295701/content>
4. Хачатрян Л.М. Изменение соотношения возбудительных и тормонных синаптических процессов в кортико-нигральной проекции на модели болезни Паркинсона с протекцией ядом *Naja Naja oxiana*. *Медицинская наука Армении НАН РА*. т. LXI N 1 2021; 36-44. <https://arar.sci.am/dlibra/publication/295097/edition/270833/content>
 5. Хачатрян Л.М. Микроэлектрофизиологическое изучение соотношения возбудительных и тормозных синаптических процессов в кортико-нигральной проекции у интактных крыс. *Медицинская наука Армении НАН РА* т. LVIII № 2 2018; 29-39. <https://arar.sci.am/dlibra/publication/102920/edition/93630/content>
 6. Poghosyan M.V., Khachatryan L., Avetisyan Z.A., Sarkissian J.S. Correlation of cognitive functions with loss of memory and motor skill under participation of depressor protective mechanisms. Computer science and information technologies. CSIT *Proceedings of the conference*. Sept 25-29, Yerevan, Armenia. 2017: 108-110.
 7. Погосян М.В., Хачатрян Л.М., Даниелян М.А., Аветисян З.А., Саркисян Дж.С. Микроэлектрофизиологическое изучение соотношения возбудительных и тормозных синаптических процессов в кортико-нигральной проекции на модели болезни Паркинсона. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*, 2020; 106(3): 301-314. <https://doi.org/10.31857/S0869813920030073>
 8. Хачатрян Л.М., Даниелян М.А., Назарян О.А., Погосян М.В., Аветисян З.А., Саркисян Дж.С. Влияние бактериального меланина на морфофункциональное состояние мозга крыс на ротоносовой модели болезни Паркинсона. *Материалы межд. науч. конф. «Фундаментальные и прикладные науки-медицине», журнал «Новости медико-биологических наук»*, 2021; 21(3): 117-118.
 9. Хачатрян Л.М., Погосян М.В., Даниелян М.А., Аветисян З.А., инасян А.Л., Степанян А.Ю., Саркисян Дж.С. Микроэлектрофизиологическое изучение соотношения возбудительных и тормозных синаптических процессов в кортико-нигральной проекции к SNc на модели болезни Паркинсона. *Медицинская наука Армении НАН РА* т. LXII, № 1 2022; 83-90. DOI:10.54503/0514-7484-2022-61.1-3-83

ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ ԼՈՒԻՍԵՆ ՄԱՌԼԵՆԻ

ՊԱՐԿԻՆՍՈՆԻ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ ՍՈՂԵԼԻ ՎՐԱ ՄԻԶԻՆԱՍԻԱԿԱՆ ԿՈՐԲԱՅԻ ԹՈՒՅՆԻ ԵՎ ՄԵԼԱՆԻՆԻ ՊԱՇՏՊԱՆԻՉ ԱՉԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ ՍԵՎ ԼՅՈՒԹԻ ՆԵՅՐՈՆՆԵՐԻ ՍԻՆԱՊՏԱՅԻՆ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԸ ԿՈՐՏԻԿՈՆԻԳՐԱԼ

ՊՐՈՑԵՎՑԻԱՅԻՆ

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Աշխատանքի նպատակն է հանդիսացել ուսումնասիրել առաջնային շարժիչ կեղևի (M1) ներգրավվածությունը Պարկինսոնի հիվանդության (ՊՀ) դեպքում, ինչպես նաև բացահայտել SNr-M1 կապի արտահայտվածությունը: Որպես բնական պրոտեկտորներ կիրառվել են բակտերիալ մելանինը և միջինասիական կոբրայի թույլը, գնահատվել է նրանց ազդեցության արդյունավետությունը ՊՀ դեպքում: Թվով 37 սպիտակ ոչ գծային արու առնետների վրա (250գ) իրականացվել են ուսումնասիրություններ, մասնավորապես առաջնային շարժիչ կեղևի (M1) բարձր հաճախականությամբ խթանման պայմաններում (ԲՀԽ) (100 Հց/րկ) կատարվել են Substantia Nigra pars compacta - SNc (374 նեյրոն, n=18) և Substantia Nigra pars reticulata - SNr (414 նեյրոն, n=19) մեկական նեյրոնների իմպուլսային ակտիվության գրանցումներ՝ Նորմայում, Պարկինսոնի հիվանդության ռոտենոնային մոդելի վրա,

ինչպես նաև նույն մոդելի վրա՝ բակտերիալ մելանինի (ԲՄ) և միջինասիական կոբրայի թույնի (NNO) նյարդապաշտպան ազդեցության պայմաններում:

Նորմայում (ինտակտ առնետներ) SNr նեյրոններում արգելակող և դրդող հետխթանային դրսևորումներն ակնհայտորեն գերազանցել են SNc նեյրոնների նույնատիպ ակտիվությանը, որը վկայում է SNr-կեղև և SNr-կեղևն արդյունքային ավելի մեծ արտահայտվածության մասին՝ SNc-կեղև համեմատությամբ: Բացի այդ, ՊՅ դեպքում SNc նեյրոնների արգելակող էֆֆեկտներն ավելի շատ են խաթարվել SNr նեյրոնների համեմատությամբ՝ ձևավորելով դրդող էֆֆեկտների ավելի մեծ արտահայտվածություն, որը փաստում է ՊՅ դեպքում SNc-ի գերիշխող ներգրավվածությունը: ՊՅ մոդելի վրա SNc նեյրոններում արգելակող էֆֆեկտներ չեն գրանցվել, իսկ դրդողները գերազանցել են ինտակտ կենդանիների նմանատիպ ցուցանիշներին: Իմպուլսային ակտիվության հաճախականությունը նորմայի համեմատությամբ կտրուկ բարձրացել է: ՊՅ մոդելի SNr նեյրոններում արգելակող և դրդող էֆֆեկտների մակարդակները նորմայի համեմատությամբ նվազել են, իսկ հաճախականությունը կտրուկ բարձրացել է: Վերջինս վկայում է էքսայթոտոքսիկության առկայության մասին, որը հանգեցնում է նեյրոդեգեներացիայի և բջիջների մահվան: ՊՅ մոդելի վրա SNr նեյրոններում, նորմայի համեմատությամբ, գրանցվել են արգելակող էֆֆեկտների նվազում, միաժամանակ նվազել են նաև դրդող էֆֆեկտները: Սա փաստում է SNr նեյրոնների էքսայթոտոքսիկության նկատմամբ դրսևորած համեմատաբար կայունությունը:

Բակտերիալ մելանինի կիրառման դեպքում SNc նեյրոններում վերականգնվել են արգելակող էֆֆեկտները մինչև նորմա, իսկ դրդողները՝ կտրուկ նվազել: ԲՄ կիրառման պայմաններում SNr նեյրոններում ցուցաբերվել է արգելակող էֆֆեկտների աճ մինչև նորմա, մինչդեռ դրդող էֆֆեկտներն էական փոփոխություն չեն կրել: Տվյալ արդյունքն ակնկալելի էր, քանի որ SNr նեյրոնները ՊՅ նկատմամբ ավելի կայուն են: SNr նեյրոնների իմպուլսային ակտիվության հաճախականությունը կտրուկ նվազել է ՊՅ մոդելի համեմատությամբ: SNc նեյրոններում արգելակող էֆֆեկտների վերականգնումը, ինչպես նաև SNr նեյրոններում իմպուլսային ակտիվության հաճախականության նվազումը վկայում է բակտերիալ մելանինի էքսայթոտոքսիկությանն արդյունավետ հակազդեցության մասին:

ՊՅ մոդելի վրա NNO թույնի կիրառման պայմաններում SNc նեյրոններում արգելակող էֆֆեկտները վերականգնվել են և մոտեցել նորմային: Իմպուլսային ակտիվության հաճախականությունը վերականգնվել է և հասել նորմայի արգելակող էֆֆեկտներում, իսկ դրդող էֆֆեկտներում, ՊՅ մոդելի համեմատությամբ, կտրուկ նվազել են: Այսպիսով, ՊՅ մոդելի վրա NNO թույնի ցուցաբերած պրոտեկտոր ազդեցության արդյունքում դրսևորվել է էքսայթոտոքսիկությանն արդյունավետ հակազդեցություն: ՊՅ մոդելի վրա NNO թույնի կիրառման դեպքում SNr նեյրոններում արգելակող էֆֆեկտների որոշ բարձրացում է դիտվել, իսկ դրդող էֆֆեկտները նվազել են: Ընդհանուր առմամբ, ախտաբանական շեղման համեմատությամբ, արգելակող էֆֆեկտները դրսևորել են ավելի բարձր ցուցանիշներ, իսկ դրդողները՝ ավելի ցածր: Սա վկայում է NNO թույնի պրոտեկտոր ազդեցության մասին: SNr նեյրոններում արգելակող էֆֆեկտների հաճախականությունը նվազել է, ինչը դրդողներում կրել է ավելի կտրուկ բնույթ: Այսինքն, NNO թույնը էքսայթոտոքսիկությանն ակնհայտորեն է հակազդել:

ՊՅ ռոտոնոնային մոդելի վրա SNc և SNr նեյրոնների մորֆոֆիստոքսիական փոփոխությունները բնութագրվում են կառուցվածքային և մետաբոլիկ դիսֆունկցիայով, ներքջային կառուցվածքների մորֆոլոգիական փոփոխություններով, որոնք հանգեցնում են մետաբոլիկ կոպիտ խախտումների: ՊՅ մոդելի վրա NNO թույնի և ԲՄ պրոտեկտոր ազդեցության պայմաններում դիտվել են դրական փոփոխություններ՝ մետաբոլիզմի ակտիվացում, բջիջների նորմալ կառուցվածքի և կենսունակության պահպանում, ցիտոպլազմայում դիտվել է ֆոսֆատազային

ակտիվության բարձրացում: Այսպիսով, կիրառված ագենտները՝ NNO և ԲՄ, ցուցաբերել են նյարդապաշտպան ազդեցություն և կանխել նեյրոդեգեներացիան:

Համաձայն գրականության տվյալների՝ ՊՀ զարգացման վաղ փուլում M1-SNr պրոյեկցիայում, ի հակադրություն M1-SNc, չպետք է դիտվեր որևէ փոփոխություն: Սակայն հետազոտության արդյունքում ստացված տվյալներն ապացուցում են հակառակը, այսինքն՝ SNc և SNr նեյրոնները միաժամանակ են ներգրավվում հիվանդության ախտաբանական գործընթացում, մինչդեռ SNc նեյրոններում նեյրոդեգեներացիան ընթանում է ավելի ինտենսիվ:

KHACHATRYAN L.M.

**SYNAPTIC PROCESSES OF NEURONS OF THE SUBSTANTIA NIGRA IN THE
CORTICONIGRAL PROJECTION ON THE MODEL OF PARKINSON'S DISEASE
UNDER THE CONDITIONS OF THE PROTECTIVE EFFECT OF THE CENTRAL ASIAN
COBRA VENOM AND MELANIN
SUMMARY**

The aim of the research was to expose the degree of the involvement of the projection of the primary motor cortex (M1) in the reticular department of the substantia nigra (SNr) in Parkinson's disease (PD), in comparison with the projection to the compact department of the substantia nigra (SNc). As well as the search for new, more effective natural neuroprotective agents for the treatment of Parkinson's disease. Bacterial Melanin and the venom of the Central Asian cobra are used as natural protectors against PD and their effectation is estimated. 37 non-linear rats (250 gr.) were used. The pulse activity of single neurons Substantia Nigra pars compacta SNc (374 neurons, n=18) and Substantia Nigra pars reticulata - SNr (414 neurons, n=19) under the high frequency stimulation (HFS) (100Hz, 1 s) was studied in norm, using a model of Parkinson's disease (PD), and on PD model under conditions of Melanin protection and with the protection of the venom of the Central Asian cobra (NNO) protection.

In intact animals SNr neurons, depressor and excitatory effects were sharply prevailing over those in SNc neurons, which indicates a greater severity of cortical projection to SNr. Moreover, in the PD conditions, a greater vulnerability of the depressor effects of SNc neurons in comparison with SNr was revealed, with the formation of more pronounced excitatory effects, which indicates a greater involvement of SNc in PD.

In the SNc neurons in the PD model, depressor effects were completely absent, and excitatory effects exceeded those in the norm. The frequency of pulse activity significantly exceeded the intact. In the SNr neurons in the PD model, the levels of depressor and excitatory effects were below intact. The frequency showed a powerful excess relative to the intact level. This indicates excitotoxicity accompanied by neurodegenerative damage and death of neurons.

In the PD model, depressor reactions persist in SNr neurons, while both depressor and excitatory reactions decrease as compared to intact, which also indicates a lower susceptibility of SNr neurons to excitotoxicity.

With the use of Melanin in SNc neurons, there was a restoration of depressor effects, to levels above intact, and a sharp decrease in excitatory effects. In SNr neurons, when exposed to Melanin, an increase in depressor effects to normal levels was shown, while the excitatory effects did not undergo noticeable changes, which was to be expected due to the lower susceptibility of SNr to PD. The frequency of the impulse activity of SNr neurons decreased significantly compared to the frequency in PD. The restoration of depressor effects in SNc neurons, as well as a decrease in frequency in SNr neurons, makes it possible to consider the protective effect of Melanin directed against excitotoxicity obvious.

In SNc neurons on the PD model, under the conditions of the use of NNO venom, depressor effects recovered and approached the norm. Excessive excitatory effects on the PD model in SNc

neurons decreased sharply after the use of NNO. The frequency of impulse activity recovered to normal levels in depressor effects and decreased significantly in excitatory ones. In other words, as a result of the protective effect of NNO on PD models, successful counteraction to excitotoxicity is shown.

There was some excess of depressive effects in SNr neurons in the PD model with NNO exposure. The excitatory effects decreased. In general, depressor effects were higher than in pathology, and excitatory effects were lower. This indicates the protective effect of NNO. The frequency of SNr in neurons in depressor effects decreased sufficiently, and in excitatory effects was sharply reduced. In other words, an effective counteraction to NNO excitotoxicity is obvious.

Morphohistochemical changes of SNc and SNr neurons in the PD model caused by rotenone intoxication are characterized by structural and metabolic dysfunction - sharp morphological changes in intracellular structures, indicating gross metabolic disorders. On the PD model, under the protection of NNO poison and bacterial Melanin, positive changes were obtained with an increase in metabolism characterizing cellular survival, with preservation and normalization of the structure, increased phosphorylation in cytoplasm and prevention of neurodegeneration.

In conclusion, according to the literature data, in the early stage of PD development, which is actually the subject of this study, there should not have been any changes in the M1 - SNr projection under study, in contrast to that of SNc. There is every reason to believe that this position is erroneous. Thus, SNc and SNr are simultaneously involved in pathological processes, while neurodegeneration is faster in SNc.