

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

**Նեղա Բեհնամ Դեհքորդի**

**ողնուղեղի և սև նյութի նեյրոններում պարկինսոնի հիվանդության մոդելի վրա դրոման և դեպրեսիայի հարաբերակցությունը *vipera raddei* թույնի ազդեցության ներքո**

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

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ –2016

---

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

**ՆԵԱ ԲԵՒԱՄ ԴԵՒԿՈՐԴԻ**

**СООТНОШЕНИЕ ВОЗБУЖДЕНИЯ И ДЕПРЕССИИ В СПИНАЛЬНЫХ НЕЙРОНАХ И НЕЙРОНАХ ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЯДА VIPERA RADDEI**

АВТОРЕФЕРАТ

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

ЕРЕВАН – 2016

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

Գիտական ղեկավար՝

կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆ. Ջ.Ս. Սարգսյան

Պաշտոնական  
ընդդիմախոսներ՝

կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆ. Վ.Հ. Սարգսյան  
կենս. գիտ. թեկնածու Է.Ա. Ավետիսյան

Առաջատար կազմակերպություն

Հայաստանի ազգային ագրարային  
համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2016 թ. դեկտեմբերի 16-ին ժամը 14<sup>00</sup>-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 ակադ. Լ.Ա.Օրբելու անվան Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում գրադարանում և [www.physiol.sci.am](http://www.physiol.sci.am) կայքում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքվել է 2016 թ. նոյեմբերի 15-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 биол. наук, проф. В.А. Сарксян  
кандидат биол. наук Э.А. Аветисян

Ведущая организация:

Национальный Аграрный Университет  
Армении

Защита диссертации состоится 16 декабря 2016г. в 14<sup>00</sup> ч. на заседании специализированного совета 023 по физиологии, в Институте физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА (0028, г. Ереван, ул. бр. Орбели 22).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА и на сайте [www.physiol.sci.am](http://www.physiol.sci.am)  
Автореферат разослан 15 ноября 2016г.

Ученый секретарь специализированного  
совета 023, кандидат биол. наук

Н.Э. Тадевосян

**ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

**Актуальность темы.** Продолжает быть актуальным поиск перспективной терапевтической стратегии для болезни Паркинсона (БП). Более того, в связи с достижениями последних лет, в основе данной патологии признано большим упущением уделение внимания лишь nigralной дегенерации с поражением substantia nigra compacta (SNc), что серьезно отразилось на потенциальной мишени терапевтических приложений при БП. В последние годы, выдвинут экстра nigralный аспект в развитии БП, связанный с ранним активным и избирательным вовлечением спинного мозга (СМ) в прогрессию болезни, с последующим продвижением нейродегенерации в каудо-ростральном направлении с привлечением SNc [Dickson D. et al., 2009; Lim S. et al., 2009; Knaryan V. et al., 2011]. В результате, при БП установлены немоторные симптомы в качестве ранних преклинических, связанные с дискретными ядрами СМ, а nigrostriатная дегенерация продолжает оставаться ответственной за поздние экстрапирамидные моторные признаки [Kalaitzakis M. et al., 2008]. Таким образом, согласно современным представлениям, в происхождении отдельных симптомов БП повинны дискретные ядра в СМ [Vivacqua G. et al., 2011]. Иными словами, недоаминаргические (ДА) симптомы (беспокойное поведение [Bodis-Wollner I., 2003], депрессия, нарушения сна, индуцируемые нижней частью ствола мозга и спинальными ганглиями [Langston J., 2006], предшествуют клеточной гибели в SNc [Braak H. et al., 2003]. Помимо того, последние данные позволяют отнести каудо-ростральную прогрессию БП к патологическим изменениям в СМ [Braak H. et al., 2003], выступающим в виде клеточной гибели, митохондриальной дисфункции, воспалительных реакций в глиальных клетках, в том числе и тяжелых моторных нарушений [Mendritzki S. et al., 2010]. В результате, СМ был предложен в качестве перспективного участка стимуляции для облегчения моторных симптомов при БП, к тому же менее инвазивного, в противоположность глубинной мозговой стимуляции. В частности, для снятия скованной походки у пациентов с БП была предложена стимуляция педункулопонтинного ядра [Pierantozzi M. et al., 2008]. Далее, показано восстановление локомоции посредством эпидуральной электрической стимуляции дорзальных столбов, обеспечивающая использование значительно низких доз L-DOPA [Fuentes R. et al., 2009], поскольку обычно используемые высокие дозы чреватые возникновением дополнительных двигательных отклонений. К тому же, в клинических испытаниях для облегчения моторных симптомов при БП признана комбинация ДА замещающей терапии и спинальной электрической стимуляции [Fuentes R. et al., 2010]. Тем не менее, механизмы нейродегенерации, сопутствующие БП продолжают оставаться сложными и во многом еще нуждающимися в дальнейшем исследовании. По крайней мере важно, что не только недостаток ДА нейронов в SNc ответственен за характерные моторные симптомы, подлежащие симптоматической терапии [Fahn S., Sulzer D. 2004; Sulzer D., Surmeier D., 2013].

К настоящему времени для оценки нейрохимических, иммуногистохимических, поведенческих и когнитивных манифестаций БП успешно используется ротеноновая модель, достигающая развития в течение 4 нед после интрацеребрального введения ротенона [Moreira C. et al., 2012]. В ряду пестицидов данный гербицид в развитии спорадической формы БП занимает ведущее место и признан в качестве модели, формирующей патологию сходную с БП у крыс [Abd-El Gawad H. et al., 2004]. Ротенон, будучи митохондриальным ядом, содействует оксидативному стрессу (ОС), посредством генерации реактивных форм кислорода, а также эксайтотоксичности, облегчением потенции NMDA токов в ДА нейронах SNc [Wu Y., Johnson S., 2011]. Даже кратковременное воздействие ротенона приводит к значительным сосудистым повреждениям с ишемической нейродегенерацией, тем самым содействуя как нейрональной, так и не-нейрональной патологии [Radad K. et al., 2013]. Как известно, в патогенезе нейродегенеративных болезней (НБ), в том числе БП, особая роль принадлежит

нейроглиальному взаимодействию. Доказан активный вклад глиальных клеток в возникновение и прогрессию БП [Stichel C. et al., 2007; Schmidt S. et al., 2011], в том числе олигодендроцитов [Shults C. et al., 2005; Yazawa I. et al., 2005]. Следует отметить также воспалительные изменения и реакцию микроглии, ответственные за гибель нейронов при БП [Qian L. et al., 2010]. Далее, при длительном воздействии ротенона усиливаются нейровоспалительные процессы чрез повышение плотности астроглиального P2X7 рецепторного тока [Gao X. et al., 2011]. В последние годы при НБ, в особенности БП, большое внимание уделяется отклонениям в динамических свойствах митохондрий, с последующим уменьшением нейритов перед клеточной гибелью [Arnold B. et al., 2011]. В качестве ингибитора митохондриального комплекса I, ротенон вызывает оксидативное повреждение в SNc, повышение количества астроцитов и микроглии с уменьшением ДА нейронов [Norazit A. et al., 2010]. Иными словами, митохондриальная дисфункция и ОС выступают в качестве патофизиологических механизмов, вовлекаемых как в ротеноновой модели, так и генетических формах БП [Tanner C. et al., 2011]. Наконец, при БП, на примере конвергентной модели когнитивной дисфункции, приобретает значение критический баланс соотношения ДА и Ach [Calabresi P. et al., 2006], а также превалирование холинергической активации.

Все возрастающую важность для нейропротекции приобретают яды животного происхождения, среди которых важное место занимают змеиные яды (ЗЯ). Интерес к ним обусловлен неограниченной перспективой использования токсинов и энзимов ЗЯ, в связи с их высокой избирательностью специфичностью и необратимостью эффектов, обуславливающих длительность действия, что, в свою очередь, определяет необходимость их сочетания с медикаментозными средствами [Bowman W., Sutherland G., 1986; Cook N., 1990]. К тому же, на основе дендротоксинов (DTX) аспидовых (семейства Elapidae), к которым относится NOX, созданы соединения, адаптивно контролирующие возбудимость поврежденных нейронов при нейродегенеративных заболеваниях (активаторами  $K^+$  каналов в качестве противосудорожных препаратов при эпилепсии) [Cook N., 1990; Rudy B. 1997], чем обеспечивается, как повышение их активности (избирательная блокада подтипов потенциал-зависимых  $K^+$  каналов при болезни Альцгеймера (БА), так и подавление. Помимо того, DTX триггируют повторный запуск в нейронах, содействуя высвобождению медиатора [Harvey A., 1997; 2001]. С другой стороны, характерно наличие в нейронах множественных проводимостей (типов)  $K^+$  каналов, чувствительных к DTX [Pelchen-Matthews A., Dolly J., 1989]. ЗЯ успешно продемонстрировали свою протекторную способность при неспецифической нейродегенерации, на примере гемисекции СМ, различных повреждений периферического нерва [Galoyan A. et al., 2010; Galoyan A. et al., 2001; Khalaji N. et al., 2013; Meliksetyan I. et al., 2011; Sarkissian J. et al., 2007 и др.].

**Цель и задачи исследования.** Целью исследования явилось изучение соотношения степени выраженности постстимульной потенциации и депрессии, при синаптической активации нейронов SNc на высокочастотную стимуляцию (ВЧС) Caudate Putamen (CPu), мотонейронов (МН) СМ на ВЧС SNc и МН СМ при ВЧС флексорного (G) и экстензорного (P) нервов задней конечности на ротеноновой модели БП и в условиях протекторного воздействия яда *Vipera Raddei* (VR), в динамике развития на 2 и 4 нед.

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

- нейронов SNc на ВЧС CPu у интактных;
- МН СМ в условиях ВЧС SNc у интактных;
- МН СМ при ВЧС P и G у интактных;
- нейронов SNc при ВЧС CPu на модели БП ко 2 и 4 нед;

- МН СМ при ВЧС SNc на модели БП ко 2 и 4 нед;
- МН СМ при ВЧС P, G на модели БП ко 2 и 4 нед;
- нейронов SNc при ВЧС CPu на модели БП, в условиях воздействия VR ко 2 и 4 нед;
- МН СМ при ВЧС SNc на модели БП ко 2 и 4 нед, в условиях воздействия VR ко 2 и 4 нед;
- МН СМ при ВЧС P и G на модели БП, в условиях воздействия VR ко 4 нед.

**Научная новизна.** В трех сериях экспериментов на модели БП (контроль) и в условиях воздействия яда VR в нейронах SNc на ВЧС CPu, в МН СМ на ВЧС SNc, P и G отводили тетаническую депрессию и потенциацию, сопровождаемую посттетаническими одно- и разнонаправленными реакциями, в динамике развития патологии и протекции на протяжении 2 и 4 нед, в сравнении с нормой. Согласно анализу диаграмм усредненной частоты спайков, выведенных на основе растров пре – и постстимульных проявлений спайковой активности, выявлено следующее. В нейронах SNc на ВЧС CPu ТД в сочетании с ТД ПТД в контроле и с VR на 2 нед достигла уровня выше такового на 4 нед, но ниже нормы. ТД в ТД ПТП для контроля и VR также характеризовалась высокими уровнями на 2 нед, но выше в контроле и намного меньше нормы. ТП в ТП ПТП опять была выше в контроле и меньше нормы. ТП в ТП ПТД, будучи почти одинаковой в контроле и с VR на 4 нед, также оказалась выше в контроле на 2 нед и не достигла нормы. В МН СМ на ВЧС SNc ТД в ТД ПТД на 2 нед при воздействии VR намного превысила контроль и даже вдвое - норму, но на 4 нед оказалась вдвое меньше контроля. ТД в ТД ПТП также на 2 нед воздействия VR достигла значения почти вдвое больше такового в контроле и больше нормы, но на 4 нед – приблизилась к контролю и оказалась почти вдвое меньше нормы. ТП в ТП ПТП, наоборот, ко 2 нед в контроле, будучи несколько меньше нормы, оказалась почти втрое больше такового с VR, а на 4 нед - меньше чем в контроле и намного меньше нормы. ТП в ТП ПТД на 2 нед влияния VR также оказалась вдвое меньше контроля (близкого к норме), а на 4 нед – меньше такового в контроле и более чем вдвое меньше нормы. В МН СМ при ВЧС P ТД в сочетании с ПТД на модели БП ко 2 нед достаточно превысила норму, но к 4 нед приблизилась к ней, а под воздействием яда VR на 4 нед резко снизилась ниже нормы и контроля. ТД в ТД ПТП близкая к норме на 2 нед, превысила ее к 4 нед, но к 4 нед воздействия яда резко снизилась. В МН СМ ТП в ТП ПТП при ВЧС P на модели БП, будучи близкой к норме ко 2 нед, на 4 нед - превысила ее, но в условиях воздействия яда к 4 нед значительно снизилась. ТП в ТП ПТД под влиянием яда оказалась более близкой к норме, колебаясь в незначительных пределах в контроле и норме. В МН СМ при ВЧС G ТД в ТД ПТД на модели БП ко 2 нед от близкой к норме намного превысила ее на 4 нед, а под воздействием яда на 4 нед резко снизилась. ТД в ТД ПТП на 2 и 4 нед, будучи намного выше нормы, под воздействием яда опять резко снизилась. ТП в ТП ПТП на модели БП к 4 нед намного превысила показатели таковой на 2 нед и в норме, а под воздействием яда еще более повысилась. Наконец, ТП в ТП ПТД как в контроле, так и под влиянием яда намного не достигла нормы. Иными словами, под воздействием яда ТП в ТП ПТП оказалась выше контроля и нормы, а в ТП ПТД - выше контроля, но намного ниже нормы. В заключение, протекторный эффект VR оказался более выраженным на уровне СМ.

**Научно–практическое значение.** Модель БП, индуцированная гербицидом ротеноном, будучи тяжелой двигательной и когнитивной спорадической патологией, представляется важной из-за неизбежной опасности употребления пестицидов и необходимости борьбы с ними. Результаты настоящей работы, с одной стороны, позволяют проникнуть в механизм сдвигов в соотношении возбудительных и депрессорных постстимульных синаптических проявлений, в динамике развития этой формы БП, с другой, в практическом плане оценивают возможность использования VR, успешно зарекомендовавшего себя в качестве эффективного протектора в отношении широкого спектра неспецифических НБ, в частности, при латеральной гемисекции СМ, перерезке и сдавлении периферического нерва.

**Апробация.** Материалы и основные положения диссертационной работы представлены на Всероссийской Межд. юбил. конф. «Физиологические механизмы регуляции деятельности организма», посвящ. 130-летию со дня рожд. акад. Л.А. Орбели, Ереван, 2012 и Всероссийской Конф. с межд. участием, посвященной «Современным направлениям исследований функциональной межполушарной асимметрии и пластичности мозга». Москва, 2012.

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

**Структура диссертации.** Диссертация изложена на 125 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследований, 3-х глав результатов собственных исследований, обсуждения, выводов и списка литературы, включающего 228 источников. Иллюстрирована 30 рисунками.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

На зрелых крысах самцах Альбино проводили четыре серии экспериментов (250±30г): интактных (n=5), после одностороннего введения ротенона (12 µг в 0.5 µл Димексида со скоростью 0.1 µл/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 яда VR (со следующего дня после введения ротенона 7 инъекций через день) и выдержанных 2 (n=2) и 4 (n=9) нед до острого эксперимента. Изучали активность МН поясничного отдела СМ на ВЧС экстензорного (n. Peroneus communis - P) и флексорного (n. Gastrocnemius - G) коллатеральных ответвлений седалищного нерва и SNc электродами, введенными по стереотаксическим координатам (AP-5.0; L±2.0; DV+7.5-8.0 мм). Изучали активность нейронов SNc на ВЧС СРu. При проведении экспериментов строго следовали «правилам ухода за лабораторными животными» (публикации НИИ № 85-23, 1985 год). Операции осуществляли на наркотизированных животных (пентобарбитал натрия 40 мг/кг в/б) в следующей очередной последовательности: фиксация черепа в стереотаксическом аппарате, краниотомия с удалением костей от брегмы до лямбды и отсепаровкой твердой мозговой оболочки, дорсальная ламинэктомия поясничного отдела позвоночника и отсепаровка P и G ответвлений седалищного нерва. Животных затем переводили на искусственное дыхание предварительно обездвигивая 1% дитиллином (25 мг/кг в/б). Отведение спайковой активности МН СМ и нейронов SNc производили стеклянными микроэлектродами (кончик 1-2 µМ), заполненных 2M раствором NaCl, которые вводили в передние рога серого вещества поясничных сегментов (L4-L5) в область МН СМ (VIII-IX пластины по Рекседу) и SNc. ВЧС (0,05мс, 0,10-0,16 мА, 100 Гц в течение 1 сек) P и G осуществляли биполярными серебряными электродами. Раздражали SNc и СРu (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, частота 100 Гц в течение 1 сек). Проводили программный математический анализ одиночной спайковой активности МН СМ и нейронов SNc (n=2371): в норме (n=374+105), на модели БП ко 2 (n=306+352) и 4 (n=388+162) нед и с введением VR на протяжении 2 (n=181 + 256) и 4 (n=174+73) нед спустя 4 нед. Спайковая активность регистрировалась в виде ТП и ТД (тетаническая депрессия и потенциация), сопровождаемых ПТП и ПТД (посттетаническая депрессия и потенциация). Постстимульные проявления активности анализировали on-line регистрацией и программным математическим анализом, позволяющим селекцию спайков амплитудной дискриминацией с выводом «растеров» 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, а также произвольно избранных испытаний в отдельном нейроне, 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 (Wilcoxon-Mann-Whitney test) [Орлов А., 2004], в качестве непараметрического, оценивающего однородность независимых двух выборок. Так как число регистрируемых спайков было достаточно велико (до нескольких сотен спайков за 10-20 секундней интервал после действия стимула), 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 (для различных испытаний), показывает, что в большинстве случаев спайкинга нейрональной активности при ВЧС статистически значимое изменение достигало как минимум уровня 0.05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### СООТНОШЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ДЕПРЕССОРНЫХ РЕАКЦИЙ В НЕЙРОНАХ SNC ПРИ ВЧС CPU НА РОТЕНОНОВОЙ МОДЕЛИ БП В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЯДА VR

Анализ импульсной активности одиночных нейронов SNC на ВЧС CPU в норме ( $n=105$ ), на модели БП ко 2 ( $n=352$ ) и 4 нед ( $n=162$ ) и под воздействием яда VR ко 2 ( $n=256$ ) и 4 нед ( $n=73$ ) выживания на основе усредненного количества спайков (PETH), с пересчетом в межимпульсные интервалы выявил следующее.

В нейронах SNC на ВЧС CPU ТД в постстимульной депрессорной последовательности на модели БП ко 2 нед выживания достигала 7-кратного увеличения, в сравнении с престимульным уровнем, а на 4 нед – уменьшалась до 3-кратного, в то время как в норме она исчислялась в пределах 8-кратного. В условиях воздействия яда VR через 2 и 4 нед ТД в той же последовательности достигала 5- и 3-кратного значения, соответственно опять ниже нормы, но с той же тенденцией снижения значения. Иными словами, применение яда VR не ознаменовалось особыми изменениями в величине тетанической депрессии, даже ниже чем в контроле, и опять не достигая нормы. ТД в депрессорно-возбудительной последовательности в указанных экспериментальных условиях исчислялась порядка 6- и 4-кратного против 5- и 1-кратного для контроля и условий применения VR ко 2- и 4-ой нед выживания, соответственно, по сравнению с 7-кратным в норме. Не исключено снижение показателей, в условиях как компенсаторных, так и с терапией, из-за возможного противостояния эксайтотоксичности. Что же касается возбудительных постстимульных проявлений активности нейронов SNC на ВЧС CPU, то было выявлено следующее. ТП в ТП ПТП на модели БП превышало престимульный уровень ко 2 нед 2.4-кратно, выше нормы (1.87-кратно), к 4 нед лишь 1.2-кратно, меньше нормы. В условиях применения VR на 2 нед ТП в ТП ПТП достигало лишь 1.37- и 1.5-кратного превышения престимульного уровня, ниже нормы (1.87), ко 2 и 4 нед, соответственно. ТП в ТП ПТД ко 2 и 4 нед, исчислялось в пределах 1.1- и 1.66-кратного превышения, ближе и выше нормы (1.28), а в условиях применения VR - в пределах 1.55- и 1.33-кратного превышения, соответственно, выше нормы (1.28). Таким образом, значения ТП в возбудительной и возбудительно-депрессорной последовательностях

колебались в небольших пределах и лишь в последней несколько выше нормы для контроля и обеих - для протекции.

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 нейронах SNc на ВЧС СРи, с указанием средних цифровых значений в реальном времени 20 сек до и после стимуляции, включая время ВЧС, получены значения, представленные в виде дисковых диаграмм для более наглядной оценки степени выраженности в частотном отображении (в %) экспериментальных данных на модели БП и в условиях воздействия яда VR в сравнении с нормой.

Постстимульная тетаническая депрессия в депрессорной последовательности в контроле и в условиях воздействия VR оказалась на 2 нед выше, чем на 4 нед и почти одинаковой величины, но ниже, чем в норме. Тетаническая депрессия в депрессорно-возбудительной последовательности также выявила более высокие показатели на 2 нед для контроля и при воздействии VR, но выше в контроле и намного меньше, чем в норме. Тетаническое возбуждение в возбудительной постстимульной последовательности также была выше в контроле, но меньше нормы. Наконец, тетаническое возбуждение в возбудительно-депрессорной последовательности, будучи почти одинаковыми в контроле и под воздействием VR, оказалось только выше в контроле и ближе к норме на 2 нед, в остальных же случаях также меньше, чем в норме.

### **ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ДЕПРЕССОРНЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В МН СМ ПРИ ВЧС SNc НА РОТЕНОНОВОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЯДА VR, В СРАВНЕНИИ С НОРМОЙ**

Анализ импульсной активности одиночных нейронов МН СМ при ВЧС SNc в норме (n=198), на модели БП ко 2 и 4 нед (n=117 и n=158, соответственно) и под воздействием яда VR ко 2 и 4 нед (n=181 и n=91, соответственно) выживания на основе усредненного количества спайков (РЕТН), с пересчетом в межимпульсные интервалы выявил следующее.

В МН СМ на модели БП события развивались в обратной последовательности. Ко 2 нед в контроле, по сравнению с 4 нед сроком выживания углубление депрессии превышало норму к 4 нед, достигая 6-кратного от 1.5-кратного ко 2 нед, в то время как в норме оно не превышало 3.33-кратной величины. При применении яда VR, наоборот, ко 2 нед, по сравнению с 4 нед выживания углубление ТД от 5-кратного достигало 1.6-кратного. Итак, при применении яда VR эффект прогрессивно снижался со временем, а значения ниже нормы, будучи выше в ранние сроки. ТД в депрессорно-возбудительной последовательности под воздействием яда был выше нормы ко 2 нед (порядка 4-кратного по сравнению с 3.33 кратным в норме), но снижался к 4 нед до 2-кратного, в то время как в контроле он не превышал 2-кратной величины в указанные сроки. Иными словами, в условиях применения яда, ТД будучи ко 2 нед несколько выше нормы, к 4 нед достигала лишь значения такового в контроле. В возбудительных постстимульных реакциях МН СМ отвечали на ВЧС SNc следующим образом. ТП в ТП ПТП на модели БП ко 2 нед достигала 4.3-кратного превышения, ближе к норме (4.22), к 4 нед – лишь 1.66-кратного, ниже нормы, а в условиях применения VR показатели ТП в обеих последовательностях оказались лишь в пределах 1.66 и 1.83, намного ниже нормы (4.22), как к 4 нед в контроле (1.66). Т.е., фактически отсутствовал эффект VR или был снижен, по-видимому, из-за эффективного противостояния эксайтотоксичности. Наконец, ТП в ТП ПТД ко 2 и 4 нед в контроле исчислялась порядка 2- и 1.1-кратного превышения, ближе и ниже

нормы (1.75), соответственно, фактически не претерпевая изменений и в случае применения VR, в пределах 1.4- и 1.11-кратного превышения, опять ниже нормы (1.75). И так и в случае возбuditельно-депрессорной постстимульной последовательности VR был инертен.

При оценке относительной степени выраженности вышеотмеченных депрессорных возбuditельных эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спайков, выведенных на основе растров пре – и постстимульных депрессорных, возбuditельных и разнонаправленных проявлений спайковой активности в МН СМ на ВЧС SNC, с указанием средних цифровых значений в реальном времени 20 сек до и после стимуляции, включая время ВЧС, получены значения, представленные в виде дисковых диаграмм для более наглядной оценки степени выраженности в частотном отображении (в %) экспериментальных данных на модели БП и в условиях воздействия яда VR, в сравнении с нормой.

Постстимульная тетаническая депрессия на 2 нед в условиях воздействия VR оказалась намного больше, чем под воздействием лишь Ротенона (3.15 раз) и вдвое больше нормы (2.16 раз), но на 4 нед в условиях воздействия VR вдвое меньше, чем под влиянием лишь Ротенона (2.16 раз). ТД в сочетании с ПТП также на 2 нед влияния VR оказалась почти вдвое больше (1.92 раз) такового в условиях воздействия только Ротенона больше нормы (1.47 раз), но на 4 нед воздействия VR несколько меньше такового под влиянием лишь Ротенона и почти вдвое меньше нормы. ТП в возбuditельной постстимульной последовательности, наоборот, ко 2 нед влияния Ротенона, будучи несколько меньше нормы, по сравнению с воздействием VR оказалась почти втрое больше, а на 4 нед влияния VR ТП опять оказалась меньше такового под воздействием лишь Ротенона (1.74 раз) и намного меньше нормы (4.78 раз). Наконец, ТП в ТП ПТД и здесь на 2 нед влияния VR была вдвое меньше в сравнении с таковым лишь Ротенона (близкого к норме), а на 4 нед – меньше такового под влиянием лишь Ротенона (1.76 раз) и более чем вдвое меньше нормы (2.6 раз).

### **СООТНОШЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ДЕПРЕССОРНЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В МН СМ ПРИ ВЧС Р И G НЕРВОВ ЗАДНЕЙ КОНЕЧНОСТИ НА РОТЕНОНОВОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЯДА VR, В СРАВНЕНИИ С НОРМОЙ**

Анализ импульсной активности одиночных МН СМ при ВЧС Р в норме (n=82), на модели БП (контроль) ко 2- (n=70) и 4 нед (n=115), при ВЧС G в норме (n=94), на модели БП ко 2- (n=119) и 4 (n=115) нед и под воздействием яда VR при ВЧС Р и G к 4 нед (n=83) выживания на основе усредненного количества спайков (РЕТН), с пересчетом в межимпульсные интервалы выявил следующее.

В МН СМ на ВЧС Р ТД на ротеноновой модели БП ко 2 нед выживания в постстимульной депрессорной последовательности достигала 4.0-кратного занижения уровня престимульной активности, достаточно выше нормы (2.5-кратного), а ТД в сочетании с возбuditельной посттетанической активностью исчислялась порядка 5.4-кратного увеличения, равного норме (5.33-кратного). На 4 нед ТД в ТД ПТД уменьшилась до 2.57-кратного, приблизившись к норме (2.5-кратного), а ТД в ТД ПТП фактически не изменилась снизившись лишь до 5.33-кратного, равного норме (5.33-кратного). В условиях воздействия яда VR ТД в ТД ПТД к 4 нед достигла 2-кратного занижения, несколько ниже нормы (2.5-кратного) и контроля (2.57-кратного), ТД в ТД ПТП исчислялась в пределах 2-кратного занижения, намного ниже нормы и контроля (5.33-кратного). Иными словами, воздействие яда VR в случае депрессорной последовательности приблизило ТД к норме и контролю, а депрессорно-возбuditельной – намного отдалило ее как от нормы, так и контроля.

В МН СМ на ВЧС G ТД на ротеноновой модели БП ко 2 нед выживания в

постстимульной депрессорной последовательности достигала 2.5-кратного занижения уровня престаимпульной активности, ниже нормы (3.0-кратного), а ТД в сочетании с возбудительной посттетанической активностью исчислялась порядка 4.0-кратного снижения, выше нормы (3.5-кратного). На 4 нед выживания ТД в ТД ПТД повысилась до 4.5-кратного, превысив норму (3.0-кратного), а ТД в ТД ПТП – не изменилась, оставшись на уровне 4.0-кратного занижения (выше нормы). В условиях воздействия яда VR ТД в ТД ПТД к 4 нед достигла 2-кратного занижения, ниже нормы (3-кратного) и намного ниже контроля (4.5-кратного), а ТД в ТД ПТП исчислялась в пределах 3-кратного занижения, несколько ниже нормы (3.5-кратного) и ниже контроля (4-кратного). Иными словами, воздействие яда VR привело к уменьшению ТД, с тенденцией приближения к норме.

Возбудительные постстимульные проявления активности МН СМ на ВЧС Р и G изменялись в следующих пределах. В МН СМ при ВЧС Р ко 2 нед на модели БП ТП в возбудительной последовательности превысила престаимпульный уровень в 3.85 раз, не достигнув нормы (4.33), а ТП в ТП ПТД на 2 нед исчислялась порядка 3.4-кратного превышения, превысив норму (2.8). На 4 нед ТП в ТП ПТП достигла лишь 4 кратного превышения, ближе к норме (4.33), а ТП в ТП ПТД – снизилась до 2.43-кратного превышения, уже ниже нормы (2.8). В условиях воздействия яда VR ТП в ТП ПТП на 4 нед достигла 4-кратного превышения, несколько ниже нормы (4.5-кратного) и равного контролю (4-кратного), а ТП в ТП ПТД – оказалась намного выше и нормы (2.8-кратного) и контроля (2.43-кратного). Таким образом, воздействие яда VR в возбудительной последовательности не привело к изменению ТП, а в возбудительно-депрессорной – к резкому превышению как в отношении нормы, так и контроля. В МН СМ на ВЧС G ТП в ТП ПТП на 2 и 4 нед исчислялась в пределах двух- и 2.75-кратного превышения, не достигнув нормы (2.93-кратного), а ТП в ТП ПТД лишь – 1.4- и 2-кратного превышения, намного меньше нормы (4.25-кратного). В условиях воздействия яда VR ТП в ТП ПТП значительно возросла (до 4.71-кратного), в сравнении как с нормой (2.93-кратного), так и контролем (2.75-кратного), а ТП в ТП ПТД достигла лишь 2.2-кратного превышения, намного ниже такового нормы (4.25-кратного) и близкого к контролю (2-кратного). Иными словами, под воздействием яда VR, в отличие от значений полученных на ВЧС Р в возбудительной последовательности имело место резкое превышение ТП по сравнению с нормой и контролем.

При оценке относительной степени выраженности вышеотмеченных депрессорных возбудительных эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спайков, выведенных на основе растров пре- и постстимульных депрессорных, возбудительных и разнонаправленных проявлений спайковой активности в МН СМ на ВЧС Р и G, с указанием средних цифровых значений в реальном времени 20 сек до и после стимуляции, включая время ВЧС, получены значения, представленные в виде дисковых диаграмм для более наглядной оценки степени выраженности в частотном отображении (в %) экспериментальных данных на модели БП и в условиях воздействия яда VR в сравнении с нормой.

Постстимульная тетаническая депрессия в МН СМ при ВЧС Р на модели БП в депрессорной последовательности ко 2 нед превысила норму, достигнув 3.72-кратного занижения престаимпульной активности против 2.5-кратного в норме, но к 4 нед снизилась, приблизившись к ней (в пределах 2.26-кратного против 2.5-кратного в норме), а в условиях воздействия яда VR на 4 нед ТД в ТД ПТД резко снизилась до 1.44 ниже всех предыдущих значений в норме и контроле. ТД в ТД ПТП, будучи в контроле ко 2 нед ближе к норме, на 4 нед выросла (порядка 2.63- и 3.2- против 2.4-кратного в норме, соответственно), но к 4 нед воздействия яда также снизилась до 1.45-кратного, как и в случае ТД в ТД ПТД. Выраженность ТП в возбудительной последовательности в МН СМ при ВЧС Р на модели БП ко 2 нед не отличалась от нормы, а на 4 нед превысила ее (в пределах 6- и 7.13-кратного, в сравнении с 6.08-кратным в норме), но в условиях воздействия яда к 4 нед снизилась до 3.93-кратного. ТП

в возбuditельно-депрессорной последовательности колебалась в незначительных пределах превышения (3.63- и 3.32-кратного в контроле на 2 и 4 нед, 3.88-кратного под воздействием яда на 4 нед, в сравнении с 4.03-кратного в норме). Иными словами, в условиях воздействия яда значение ТП в ТП ПТД оказалось более близким к норме. В МН СМ при ВЧС G ТД в ТД ПТД на модели БП ко 2 нед близкая к норме, к 4 нед намного превысила ее (порядка 2.03- и 4.67-кратного против 2.27-кратного в норме), а под воздействием яда на 4 нед резко снизилась до 1.6-кратного. ТД в ТД ПТП, будучи в пределах близких значений (4.0- и 4.48-кратного), но намного выше нормы (2.32- кратного) в условиях воздействия яда опять резко снизилась до 1.47-кратного, меньше чем в контроле и норме. ТП в возбuditельной последовательности на модели БП, достигнув к 4 нед значения намного выше, чем на 2 нед и в норме (порядка 6.3-кратного против 1.2- и 3.2-кратного, соответственно), под воздействием яда на 4 нед еще более повысилась до 8.73-кратного. Наконец, ТП в ТП ПТД как в контроле на 2 и 4 нед, так и под влиянием яда на 4 нед оказалась в пределах намного меньших, чем в норме (порядка 1.12-, 2.3- и 2.41-кратного против 5.3-кратного в норме). Иными словами, в условиях воздействия яда показатели ТП оказались выше, чем в контроле и норме в возбuditельной последовательности и выше, чем в контроле, но намного ниже, чем в норме – в возбuditельно-депрессорной.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Гипотеза о вовлечении СМ в течение паркинсоновой дегенерации подкреплена доказательством, что СМ - финальный координатор движения [Ray S. et al., 2000; Chera B. et al., 2002; 2004; Samantaray S. et al., 2008a]. В свою очередь, это было подтверждено на двух моделях БП, индуцированных нейротоксином МРТР [Samantaray S. et al., 2008b] и ротеноном [Samantaray S. et al., 2007] на основе исследования механизмов кальпаином ( $Ca^{2+}$  - активированной нейтральной протеазы, разрывающей структурно-функциональную целостность СМ при экспериментальном паркинсонизме) - опосредованной нейрональной гибели культуры МН, вслед за применением активных паркинсоновых токсинов [Samantaray S. et al., 2008c]. Результаты позволили полагать МН СМ в качестве потенциальной экстраингральной мишени нейродегенерации в патогенезе БП в ЦНС, и что торможением кальпаина калпептином можно добиться нейропротекции [Samantaray S. et al., 2006; Samantaray S. et al., 2006; 2008a]. Как было отмечено выше, исследование указанного каудо-рострального направления прогрессии БП у трансгенных мышей [Mendritzki S. et al., 2010] обнаружило клеточную гибель, митохондриальные альтерации и тяжелые воспалительные реакции в глиальных клетках СМ. Дополнительно обнаружили тяжелые моторные нарушения, которые очевидно относились к патологическим изменениям в СМ. В частности, соматическая боль - ранний симптом БП, по-видимому также является следствием дисрегуляции спинальных систем [Defazio G. et al. 2008]. Спинальная ДАергическая система опосредует L-DOPA ассоциированную боль у БП пациентов [Sage et al., 1990]. Более того, трансгенные мыши, перенесшие БП-индуцированные генные мутации, возбуждали более тяжелые патологические нарушения в глиальных клетках СМ, чем в мезенцефалоне, сходно с ситуацией в ранних проявлениях БП [Braak H. et al., 2003]. Наряду с неокортексом и стволом мозга, МН СМ А53Т мутантной мыши претерпевали, внутринеурональные инклюзии, митохондриальное повреждение, дегенерацию и апоптотическую гибель [Lee M. et al., 2002; Martin L. et al., 2006]. Впоследствии было показано, что глиальные клетки имеют активный вклад в инициацию или прогрессию БП [Schmidt S. et al., 2010; Stichel C. et al., 2007]. Также имеют активный вклад в нейродегенерацию олигодендроциты [Shults C. et al., 2005]. На основе недавних исследований на животных, СМ, как менее инвазивный, чем глубинная-мозговая стимуляция, предлагается в качестве перспективного участка стимуляции для облегчения

моторных симптомов при БП. Так, стимуляция педункулопонтинного ядра служит экспериментальной терапией для скованной (freezing) походки у пациентов с БП [Pierantozzi M. et al., 2008], скованная походка и дизавтономия (ортостатическая гипотензия и половая недостаточность) описана в качестве патологии в нисходящих путях педункулопонтинного ядра и интермедиолатеральных клеточных столбов СМ, поскольку контроль походки и автономной функции обеспечивается системами интегрированными в СМ – конечном пути выхода из центральных моторных систем [Pahapill P., Lozano A., 2000].

В настоящих трех сериях экспериментов экспериментов на крысах интактных, полухронических - на ротоновой модели БП (контроль) и в сочетании с протекцией VR (2 нед) спустя 2 и 4 нед регистрация активности одиночных SNc на ВЧС СРи, МН L4-L5 сегментов СМ при ВЧС SNc и на ВЧС флексорного (G), экстензорного (P) нервов задней конечности, *on-line* селекцией и программным математическим анализом, выявила формирование возбуждаемых и депрессорных ответов в виде тетанической депрессии и потенциации, комбинируемых в одно - (ТД ПТД, ТП ПТП) и разнонаправленные (ТД ПТП, ТП ПТД) посттетанические последовательности.

В первой серии экспериментов, посредством анализа усредненного количества спайков, с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты, в контроле в нейронах SNc на ВЧС СРи, ТД сопровождаемое ПТД, ко 2 нед приближалась к норме, спадая более чем вдвое – к 4 нед. С применением VR, сохранялась тенденция снижения ТД, но ниже нормы и даже контроля на 2 нед (5- и 2-кратного против 7- и 3-кратного в контроле, в сравнении с 8-кратным в норме). Таким образом, применение яда VR не ознаменовалось особыми изменениями в величине тетанической депрессии, даже ниже чем в контроле, и не достигая нормы. На модели БП ТД в ТД ПТП также ко 2 нед приближалась к норме, но на 4 нед – снижалась, а в условиях воздействия VR приближаясь к норме на 2 нед, значительно снижалась к 4 нед (5- и 1-кратного против 6- и 4-кратного в контроле, и 7-кратного в норме). Не исключено снижение показателей, в условиях как компенсаторных, так и с терапией, из-за возможного противостояния эксайтотоксичности. ТП в ТП ПТП в контроле на 2 нед превысила норму, но к 4 нед – снизилась, а под воздействием VR, будучи выше контроля на 4 нед, в указанные оба срока так и не превысила норму (1.37 и 1.5 против 2.4 и 1.2 в контроле, в сравнении с 1.87 в норме). ТП в ТП ПТД ко 2 и 4 нед оказалась ниже и выше нормы, соответственно, а в условиях протекции, как на 2, так и 4 нед - выше нормы (1.55- и 1.3 против 1.1- и 1.66 в контроле, в сравнении с 1.28 в норме). Иными словами, значения ТП в возбуждающей и возбуждающе-депрессорной последовательностях колебались в небольших пределах и лишь в последней несколько выше нормы для контроля и обеих - для протекции.

Согласно анализу диаграмм усредненной частоты спайков, выведенных на основе raster пре – и постстимульных проявлений спайковой активности и представленных в виде дисковых диаграмм для более наглядной оценки степени выраженности в частотном отображении (в %) экспериментальных данных на модели БП и в условиях воздействия яда VR, в сравнении с нормой, ТД в ТД ПТД на 2 нед в контроле и с VR достигла уровня выше такового на 4 нед и почти одинаковой величины, но ниже нормы (Рис. 1 А). ТД в ТД ПТП также характеризовалась высокими уровнями на 2 нед для контроля и VR, но выше в контроле и намного меньше нормы (Рис. 1 Б). ТП в ТП ПТП также была выше в контроле и меньше нормы (Рис. 1 В). ТП в ТП ПТД, будучи почти одинаковой в контроле и с протекцией, но опять выше в контроле и ближе к норме на 2 нед, в остальном также не достигла нормы (Рис. 1 Г).

Обратное имело место во второй серии экспериментов. При анализе усредненного количества спайков, с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты на модели БП в МН СМ при ВЧС SNc углубление ТД в ТД ПТД превысило норму лишь к 4 нед (1.5- и 6-кратно против 3.33-кратного в норме). При использовании яда VR, наоборот – превысило и

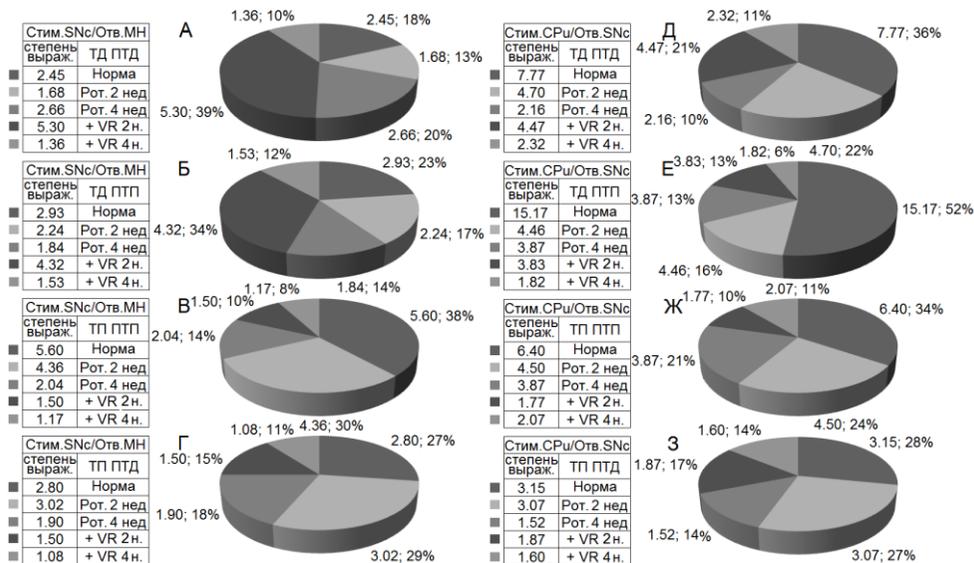


Рис. 1. Процентное соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) депрессорных и возбудительных одно- (А, В, Д, Ж) и разнонаправленных (Б, Г, Е, З) постстимульных эффектов в одиночных нейронах МН СМ при ВЧС SNc (А-Г) и нейронах SNc на ВЧС CPu (Д-З) 2 и 4 нед спустя после введения ротенона и в условиях воздействия яда VR. Обозначения: Стим. - Стимуляция, Отв. - Отведение, выраж. - выраженности, нед. и н. – неделя. Остальные обозначения в рисунке.

снизилось, соответственно (5- и 1.6-кратно против 3.33-кратного в норме). Таким образом, эффект VR прогрессивно спадал со временем, будучи выше в ранние сроки, достигал значения ниже нормы – в поздние. ТД в ТД ПТД под воздействием VR также была выше нормы ко 2 нед, но спадала к 4 нед (4- и 2-кратно против 3.33 кратного, соответственно), в то время как в контроле она не превышала 2-кратной величины в указанные сроки. Иными словами, ТД в условиях применения яда, будучи ко 2 нед несколько выше нормы, к 4 нед достигала лишь значения такового в контроле. ТП в ТП ППТ ко 2 нед достигало нормы (4.3-кратно против 4.22-кратного, соответственно), но к 4 нед снижалась (1.66), а в условиях применения VR ТП в ТП ППТ по 2 и 4 нед – исчислялась порядка намного ниже нормы (4.22) (лишь 1.66 и 1.83, т. е., как к 4 нед в контроле). Т.е., фактически отсутствовал эффект VR или был снижен, по-видимому из-за эффективного противостояния эксайтотоксичности. Наконец, ТП в ТП ПТД ко 2 и 4 нед в контроле определялась в пределах близких и ниже нормы (2- и 1.1-кратно против 1.75, соответственно), а в случае применения VR ТП, будучи в пределах 1.4- и 1.11-кратного превышения в указанные сроки, так и не достигла нормы, т.е VR не проявил особой активности.

Оценка относительной степени выраженности вышеотмеченных депрессорных и возбудительных эффектов, на примере диаграмм усредненной частоты спайков, представленных в виде дисковых диаграмм, выявила следующее. ТД в ТД ПТД на 2 нед в условиях воздействия VR намного превысила контроль (3.15 раз) и даже вдвое - норму (2.16 раз), но на 4 нед оказалась вдвое меньше контроля (2.16 раз) (Рис.1 Д). ТД в ТД ППТ также на 2 нед воздействия VR достигла значения почти вдвое больше (1.92 раз) такового в

контроле и больше нормы (1.47 раз), но на 4 нед воздействия VR - несколько меньше, чем в контроле и почти вдвое меньше нормы (Рис. 1 Е). ТП в ТП ПТП, наоборот, ко 2 нед в контроле, будучи несколько меньше нормы, по сравнению с воздействием VR оказалась почти втрое больше, а на 4 нед влияния VR ТП опять оказалась меньше такового в контроле (1.74 раз) и намного меньше нормы (4.78 раз) (Рис. 1 Ж). Наконец, ТП в ТП ПТД на 2 нед влияния VR также оказалась вдвое меньше контроля (близкого к норме), а на 4 нед – меньше такового в контроле (1.76 раз) и более чем вдвое меньше нормы (2.6 раз) (Рис. 1 З).

В третьей серии экспериментов при анализе усредненного количества спайков, с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты на модели БП в МН СМ при ВЧС Р ТД на ротоносовой модели БП ко 2 нед выживания в постстимульной депрессорной последовательности достигала достаточно высокого уровня занижения престоимельной активности (4.0-кратного против 2.5-кратного в норме), а ТД в сочетании с ПТП исчислялась в пределах нормы (5.4-кратного против 5.33-кратного в норме). На 4 нед ТД в ТД ПТД приблизилась к норме (уменьшившись до 2.57-кратного против 2.5-кратного в норме), а ТД в ТД ПТП выровнилась с нормой (в пределах 5.33-кратного). В условиях воздействия яда VR ТД в ТД ПТД к 4 нед приблизилась к норме и контролю (порядка 2-кратного против 2.5-кратного и 2.57-кратного, соответственно), но ТД в ТД ПТП оказалась намного ниже и нормы и контроля (в пределах лишь 2-кратного против 5.33-кратного). Таким образом, воздействие яда VR приблизило ТД к норме и контролю в депрессорной последовательности, а в депрессорно-возбудительной – значительно отдалило как от нормы, так и контроля.

В МН СМ на ВЧС Г ТД на ротоносовой модели БП ко 2 нед выживания в постстимульной депрессорной последовательности не достигала нормы (2.5-кратного занижения против 3.0-кратного в норме), а ТД в ТД ПТП превысила норму (достигнув 4.0-кратного занижения против 3.5-кратного). На 4 нед ТД в ТД ПТД и ТД ПТП превысила норму (порядка 4.5- и 4-кратного против 3.0- и 3.5-кратного). В условиях воздействия яда VR ТД в ТД ПТД к 4 нед не достигла нормы и оказалась намного ниже контроля (2-кратного против 3-кратного и 4.5-кратного), ТД в ТД ПТП также не достигла ни нормы, ни контроля (в пределах 3-кратного занижения против 3.5- и 4-кратного). Иными словами, в условиях воздействия яда VR наметилась тенденция приближения ТД к норме.

Возбудительные постстимульные реакции МН СМ на ВЧС Р и Г изменялись в следующих пределах. В МН СМ при ВЧС Р ко 2 нед на модели БП ТП в ТП ПТП превысила престоимельный уровень в 3.85 раз, не достигнув нормы (4.33), а ТП в ТП ПТД на 2 нед исчислялась порядка 3.4-кратного превышения, выше нормы (2.8). На 4 нед ТП в ТП ПТП почти достигла нормы (в пределах 4-кратного против 4.33), а ТП в ТП ПТД – оказалась ниже нормы (2.43- против 2.8-кратного). В условиях воздействия яда VR ТП в ТП ПТП на 4 нед почти достигла нормы (4- против 4.5-кратного) и оказалась равной контролю (4-кратного), а ТП в ТП ПТД – оказалась намного выше и нормы (2.8-кратного) и контроля (2.43-кратного). Иными словами, воздействие яда VR в возбудительной последовательности не привело к изменению ТП, а в возбудительно-депрессорной – к резкому превышению как в отношении нормы, так и контроля. В МН СМ на ВЧС Г ТП в ТП ПТП на 2 и 4 нед не достигла нормы (в пределах 2- и 2.75-кратного против 2.93-кратного), а ТП в ТП ПТД оказалась намного меньше нормы (1.4- и 2-кратного против 4.25-кратного). В условиях воздействия яда VR ТП в ТП ПТП значительно возросла (до 4.71-кратного против 2.93- и 2.75-кратного в норме и контроле), а ТП в ТП ПТД намного не достигла нормы 2.2-кратного против 4.25-кратного, но приблизилась к контролю (2-кратного). Таким образом, под воздействием яда VR при ВЧС Г, в отличие от полученных на ВЧС Р, наоборот, в возбудительной последовательности имело место резкое превышение ТП по сравнению как с нормой, так и контролем.

Относительная степень выраженности вышеотмеченных депрессорных и возбудительных эффектов в МН СМ при активации Р и Г, на примере диаграмм усредненной частоты

спайков, оказалась в следующих пределах. ТД в МН СМ при ВЧС Р на модели БП в ТД ПТД ко 2 нед, достигла 3.72-кратного занижения против 2.5-кратного в норме, но к 4 нед снизилась, приблизившись к ней (2.26-кратного против 2.5-кратного), а под воздействием яда VR на 4 нед ТД в ТД ПТД резко снизилась ниже нормы и контроля (до 1.44-кратного). ТД в ТД ПТП от значения близкого к норме на 2 нед превысила норму на 4 нед (порядка 2.63- и 3.2- против 2.4-кратного в норме), но к 4 нед воздействия яда еще более снизилась (до 1.45-кратного). Выраженность ТП в ТП ПТП в МН СМ при ВЧС Р на модели БП ко 2 нед приблизившись к норме, на 4 нед превысила ее (6- и 7.13-кратного, в сравнении с 6.08-кратным), но в условиях воздействия яда к 4 нед значительно снизилась (до 3.93-кратного). ТП в ТП ПТД колебаясь в незначительных пределах в контроле на 2 нед и 4 нед, под влиянием яда к 4 нед оказалась более близкой к норме (3.63-, 3.32- и 3.88-кратного, в сравнении с 4.03-кратным в норме).

В МН СМ при ВЧС Г ТД в ТД ПТД на модели БП ко 2 нед от близкой к норме намного превысила ее на 4 нед (а 2.03- и 4.67- против 2.27-кратного), а под воздействием яда на 4 нед резко снизилась (до 1.6-кратного). ТД в ТД ПТП на 2 и 4 нед, будучи намного выше нормы (4.0- и 4.48-против 2.32-кратного), под воздействием яда опять резко снизилась (до 1.47-кратного). ТП в ТП ПТП на модели БП к 4 нед намного превысила показатели таковой на 2 нед и в норме (6.3-кратного против 1.2- и 3.2-кратного), а под воздействием яда еще более повысилась (до 8.73-кратного). Наконец, ТП в ТП ПТД как в контроле на 2 и 4 нед, так и под влиянием яда на 4 нед намного не достигла нормы (1.12-, 2.3- и 2.41-кратного против 5.3-кратного). Таким образом, под воздействием яда ТП в ТП ПТП оказалась выше контроля и нормы, а в ТП ПТД - выше контроля, но намного ниже нормы.

Согласно достижениям последних лет, признано, что поскольку НБ возникают задолго до клинической манифестации, полагается ответственность компенсаторных механизмов за их сдерживание. Причем, активация компенсаторных механизмов не только способна сдерживать развитие патологического процесса, но может быть использована для профилактики и лечения. Компенсаторные механизмы включают повышение активности и гиперперфузию пораженных структур мозга, образование антител к  $\beta$ -амилоиду, синтез нейропротекторных белков, активацию систем антиоксидантной защиты и проокогенов, тормозящих нейрональный апоптоз, индукцию нейрогенеза, спраутирование терминалей нейронов, увеличение «плотности» рецепторов к нейромедиаторам. Даже процесс образования бляшек при БА может носить компенсаторную функцию, поскольку снижает уровень наиболее токсичных протофибрилл А $\beta$ . Однако, с возникновением клинических признаков компенсаторные механизмы, как правило, истощены. Это хорошо показано на примере БА, но в равной степени относится и к другим НБ. В частности, снижение ингибиции в гиппокампе крыс могло быть следствием селективной потери ГАМКергических нейронов или снижения выраженности ГАМК(А) рецепторов [Tsunashima K. et al., 1997]. К тому же, нейрогенез в зрелом мозге также находится под ГАМКергическим контролем и снижение функций ГАМК(А) рецепторов может служить всеобщим молекулярным субстратом для дефицита нейрогенеза в зрелом мозге [Earnheart J. et al., 2007]. В этом контексте, например, как глутаматэргическая, так и ГАМКергическая [Pedotti P. et al., 2008] нейрональная трансмиссия в гиппокампальных CA1/CA3 цепях, так и регулирование цитоскелетной структуры и микротубулярного транспорта подвержены воздействию DCLK (Doublecortin-Like Kinase) – гена. Продемонстрировано, что в этих условиях новообразованные мигрирующие клетки субгранулярной зоны проявляют экспрессию этого гена, соотносимого с нейрональной пластичностью [Schenk G. et al., 2007]. При этом поразительно, что у  $\delta$ CDCLK-short трансгенных мышей субединица  $\alpha 2$  GABAА рецепторов подвержена высокой степени даун-регуляции [Pedotti P. et al., 2008]. Представляет интерес тот факт, что гиппокамп способен в течение всей жизни генерировать новые нейроны,

регулировать пролиферацию и выживаемость новых нейронов, благодаря кортикостерону – наиболее мощному из содействующих этому факторов [Wossink J. et al., 2001]. Показано, что отсутствие кортикостерона приводит к атрофии дендритов гранулярных клеток зубчатой извилины, но это не является необходимым условием редуцирования ионных токов в соме [Wossink J. et al., 2001]. Известно далее, что связывание глюкокортикоидов с рецепторами ЦНС модулирует многие процессы - от нейротрансмиссии до рождения и гибели клетки. Примечательно, что характерный для гранулярных клеток кальциевый ток изменяется после адrenaлэктомии и эти изменения могут частично детерминировать выживаемость при апоптозе [Karst H., Joëls M., 2001]. Более того, новые нейроны развивают свойства функциональных нейронов, способность запускать потенциал действия и обретать синаптические входы с вовлечением в нейрональные сети [Galvan V., Bredesen D., 2007]. В заключение, согласно модели функциональной роли зрелого нейрогенеза в механизмах памяти: а) новые нейроны могут разрушить существующую нейрональную сеть с целью формирования новых синаптических кругов, с потерей предшествующей памяти; б) интеграция новых нейронов в нейрональную сеть, для замещения погибших, может обеспечить консолидацию памяти; и в) новые нейроны могут усиливать длительную потенциацию либо повышением числа синапсов, либо подавлением ГАМКэргических входов в перфорантный путь [Lu B., Chang J., 2005]. Дальнейшие изучения относительно модуляции индуцированных модификаций синаптической функции и пластичности нуждаются в оценке роли адаптивных изменений с учетом противоречивых данных [Small D., 2008].

В связи с увеличением НБ придается все большее значение вопросам нарушения взаимодействия нейромедиаторов в синхронизации работы нервных сетей. Показаны нарушения коммуникационных связей различных нейротрансмиттерных систем, в частности, между глутамат- и ГАМКергическими системами. Углубление депрессорных тетанических реакций, по-видимому, является следствием выдвигания их в качестве несущих протекторную нагрузку в начальной стадии восстановления. Согласно собственным данным, депрессорные реакции интенсивнее вовлекаются как при неспецифической (периферической, центральной) так и специфической нейродегенерации в различных отделах мозгах [Galoyan A. et al., 2008; 2010; Sarkissian J. et al., 2007 и др.]. Полагается выдвигание углубления депрессорных тетанических реакций, в качестве несущих протекторную нагрузку при нейродегенерациях различного происхождения в начальной стадии восстановления и, содействующих восстановлению исходного соотношения возбуждающих и депрессорных процессов. В настоящем исследовании следует оценить значение депрессорных тетанических проявлений активности МН СМ и SNc, лучше выраженных в начальной стадии восстановления. Поскольку в основе депрессии, лежит торможение, то представляет интерес возможность ее содействия протекции. В свою очередь, истинное торможение, в отличие от депрессии дисфасилитаторного происхождения, может быть различного происхождения. Как известно, депрессорные постстимульные проявления активности в виде ТД и ПТД опосредуют тормозные моноамины ГАМК или Глицин. Нами ранее протекторное назначение ГАМК показано в исследованиях по неспецифической нейродегенерации, в частности, в ядре Дейтерса (односторонняя лабиринтэктомия) [Galoyan A. et al., 2010; Khalaji N. et al., 2013], в СМ в условиях латеральной гемисекции [Саркисян Дж. и соавт. 2004; Galoyan A. et al., 2005; Галоян и соавт. 2007; Galoyan et al., 2007 ], на поврежденном периферическом нерве [Galoyan A. et al., 2001; Саркисян и соавт. 2003; 2005; Galoyan et al., 2005; Meliksetyan I. et al., 2011; Minasyan A. et al., 2011; Минасян и соавт., 2012], при специфической нейродегенерации в гиппокампе, амигдале и базальном ядре Мейнерта (на амилоидной модели БА) [Галоян А. и соавт. 2004; Galoyan A. et al., 2008; Yenkyan K. et al., 2011; Худавердян Д. и соавт. 2008; Мнацаканян В., 2010; Мнацаканян и соавт. 2009; Погосян и др. 2015; 2016] и при специфической нейродегенерации в СМ и SNc (на ртнотновой модели БП) [Погосян и др. 2012; 2014], в нейронах преимущественно ГАМК-

ергической природы, в которых интенсивно рано вовлекаемые депрессорные реакции сопровождают процесс восстановления до его завершения. Подтверждением предположения о универсальном протекторном назначении ГАМК-ергического торможения служат также литературные данные, свидетельствующие о том, что в некоторых системах в течение развития нервной системы ГАМК действует в качестве фактора, влияющего на различные признаки, включающие пролиферацию, миграцию, а также дифференциацию и созревание синапса, клеточную гибель и экспрессию рецептора ГАМК<sub>A</sub> [Owens D., Kriegstein A., 2002]. Согласно недавним данным, предположено, что ГАМК и глицин могут играть важную и возможно различную роль в развивающейся и зрелой центральной вестибулярной системе [Tighilet B., Lacom M., 2001]. В свою очередь, установлена решающая роль событий, опосредованных ГАМК рецептором в нейронах вестибулярных ядер при восстановлении функции после односторонней лабиринтэктомии, известном в качестве вестибулярной компенсации [Tighilet B., Lacom M., 2001; Giardino L. et al., 2002; Johnston A. et al., 2001; Yamanaka T. et al., 2000]. В подтверждение, современные изучения на клеточном и сетевом уровнях доказывают, что синаптическое торможение не может оцениваться лишь в качестве противостоящей синаптическому возбуждению и дополнительно обслуживает высоко специфические функции в нервной системе млекопитающих [Birke G., Draguhn A., 2010].

## ВЫВОДЫ

1. Согласно анализу диаграмм усредненной частоты спайков, выведенных на основе растеров пре – и постстимульных проявлений спайковой активности, выявлено, что в нейронах SNc на ВЧС СРи тетаническая дерессия в сочетании с депрессорной посттетанической последовательностью в контроле и с VR на 2 нед достигла уровня выше такового на 4 нед, но ниже нормы. ТД в ТД ПТП для контроля и VR также характеризовалась высокими уровнями на 2 нед, но выше в контроле и намного меньше нормы.

2. В нейронах SNc на ВЧС СРи тетаническая потенциация в возбудительной посттетанической последовательности также была выше на модели БП без VR, но меньше нормы. ТП в ТП ПТД, будучи почти одинаковой в контроле и с VR на 4 нед, но опять выше в контроле на 2 нед, также не достигла нормы.

3. В МН СМ ТД в ТД ПТД при ВЧС SNc на 2 нед при воздействии VR намного превысила контроль и даже вдвое - норму, но на 4 нед оказалась вдвое меньше контроля. ТД в ТД ПТП также на 2 нед воздействия VR достигла значения почти вдвое больше такового в контроле и больше нормы, но на 4 нед – приблизилась к контролю и оказалась почти вдвое меньше нормы.

4. В МН СМ на ВЧС SNc ТП в ТП ПТП, наоборот, ко 2 нед в контроле, будучи меньше нормы, оказалась почти втрое больше такового с VR, а на 4 нед – меньше чем в контроле и намного меньше нормы. ТП в ТП ПТД на 2 нед влияния VR также была вдвое меньше контроля (близкого к норме), а на 4 нед – меньше такового в контроле и более чем вдвое меньше нормы.

5. В МН СМ при ВЧС Р ТД в сочетании с ПТД на модели БП ко 2 нед достаточно превысила норму, но к 4 нед приблизилась к ней, а под воздействием яда VR на 4 нед резко снизилась ниже нормы и контроля. ТД в ТД ПТП в контроле, близкая к норме на 2 нед, превысила ее к 4 нед, но к 4 нед воздействия яда резко снизилась.

6. В МН СМ при ВЧС Р ТП в ТП ПТП на модели БП, будучи близкой к норме ко 2 нед, на 4 нед - превысила ее, но в условиях воздействия яда к 4 нед значительно снизилась. ТП в ТП ПТД под влиянием яда оказалась более близкой к норме, колебаясь в незначительных пределах в контроле и норме.

7. В МН СМ при ВЧС Г ТД в ТД ПТД на модели БП от близкой к норме ко 2 нед намного превысила ее на 4 нед, а под воздействием яда на 4 нед резко снизилась. ТД в ТД ПТП на 2 и 4 нед, будучи намного выше нормы, под воздействием яда опять резко снизилась. ТП в ТП ПТП на модели БП к 4 нед намного превысила показатели таковой на 2 нед и в норме, а под воздействием яда еще более повысилась.

8. В МН СМ при ВЧС Г ТП в ТП ПТП оказалась выше контроля и нормы, а в ТП ПТД - выше контроля, но намного ниже нормы.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1.Погосян М.В., Налбандян А.А., Бадалян Б.Ю., Бехнам Н.Д., Чавушян В.А., Авакян З.Э., Саркисян Дж.С. Возбудительные и тормозные синаптические процессы в нейронах спинного мозга на модели болезни Паркинсона, индуцированной ротеноном. «Современные направления исследований функциональной межполушарной асимметрии и пластичности мозга». Матер Всеросс. Конф. с межд. участием. Изд-во Росс. Акад. мед. Наук, Москва. 2012, С. 349-354.
- 2.Погосян М.В., Налбандян А.А., Бадалян Б.Ю., Бехнам Н.Д., 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*, Ереван. 2014, № 3(90), С. 4-12.
- 3.Бехнам Н.Д. Электрофизиологические проявления компенсаторных механизмов наротононовой модели болезни Паркинсона. *Вопросы теоретической и клинической медицины. Научно-практический журнал*, Ереван. 2016, Т. 19, № 4(107), С. 24-32.
- 4.Бехнам Н.Д., Погосян М.В., Восканян А.В., Минасян А.Л., Аветисян З.А., Мкртчян О.А., Саркисян Дж.С. Соотношение депрессорных и возбудительных синаптических процессов в нейронах черной субстанции на ротеноновой модели болезни Паркинсона в условиях протекции ядом *Viperag Raddei*. *Вопросы теоретической и клинической медицины. Научно-практический журнал*, Ереван. 2016, Том 19, №5(108), С. 3-9.
- 5.Погосян М.В., Бехнам Н.Д., Восканян А.В., Минасян А.Л., Аветисян З.А., Араджян Г.М., Мкртчян О.А., Варданян А.В., Цаканян К.В., Саркисян Дж.С. Синаптические процессы в мотонейронах спинного мозга при активации нервов задней конечности на ротеноновой модели болезни Паркинсона, в условиях воздействия яда *Viperag Raddei*. *Вопросы теоретической и клинической медицины. Научно-практический журнал*, Ереван. 2016, Т, 19, № 5(108), С. 21-31.
- 6.Бехнам Н.Д. Возбудительные и депрессорные синаптические процессы в мотонейронах спинного мозга при активации черной субстанции на ротеноновой модели болезни Паркинсона, в условиях воздействия яда *Viperag raddei*. *Вопросы теоретической и клинической медицины. Научно-практический журнал*, Ереван. 2016, Т, 19, № 6(110), С. 3 - 11.

## ՆԵՐԱ ԲԵՆՆԱՍ ԴԵԶԲՈՐԴԻ

### ՈՂՆՈՒՂԵՂԻ և Սև ՆՅՈՒԹԻ ՆԵՅՐՈՆՆԵՐՈՒՄ ՊԱՐԿԻՆՍՈՆԻ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ ՍՈՂԵԼԻ ՎՐԱ ԴՐՄԱՆ և ԴԵՊՐԵՍԻԱՅԻ ՀԱՐԱԲԵՐԱԿՑՈՒԹՅՈՒՆԸ VIPERA RADDEI ԹՈՒՑՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՆԵՐՔՈ

#### ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Գիտավորների երեք սերիաներում 28 հասուն արու առնետների՝ ինտակտների (n=5), կիսախրոնիկների “medial forebrain bundle” ռոտենոնի միակողմանի ներարկումից 2 (n=5) և 4 (n=7) շաբաթ, և VR համակարգային ներարկումից (ռոտենոնի ներարկման հաջորդ օրվանից սկսած 7 ներարկում՝ օրը մեջ), 2 (n=2) և 4 (n=9) շաբաթ անց մինչ սուր էքսպերիմենտը, ողնուղեղի L4-L5 սեգմենտների շարժիչ նեյրոնների (ՇՆ) ու Սև Նյուրթի substantia nigra compacta (SNc) (n=2371) նեյրոնների մեկական սպայկային ակտիվության *on-line* սելեկցիայով և մաթեմատիկական ծրագրային վերլուծությամբ SNc, հետին վերջույթների ծալիչ (G ) և առքերիչ (P) նյարդերի, caudate putamen (CPu) բարձր հաճախականության դրոմամբ (ԲՀԴ նորմայում (n=374+105), Պարկինսոնի հիվանդության (ՊՀ) ռոտենոնային մոդելի վրա (կոնտրոլից) 2 (n=306+352) և 4 (n=388+162) շաբաթներում, և VR ներարկմամբ 2 (n=181+256) և 4 (n=174+73) շաբաթվա ընթացքում, բացահայտվեց պատասխանների ձևավորում տետանիկ դեպրեսիայի և տետանիկ պոտենցիալիայի (ՏԴ, ՏՊ) տեսքով համակցված միակողմ (ՏԴ ՊՏԴ, ՏՊ ՊՏՊ) և տարակողմ (ՏԴ ՊՏՊ, ՏՊ ՊՏԴ) հետտետանիկ շարժերով: Սպայկերի միջինացված քանակի վերլուծությամբ միջինապուլսային ինտերվալների և հաճախականության վերահաշվարկով, ՊՀ մոդելի վրա SNc նեյրոններում CPu ԲՀԴ-ից, ՏԴ-ն ուղեկցող ՊՏԴ-ն, 2-րդ շաբաթում մոտեցել է նորմային՝ նվազելով կրկնակի անգամ 4-րդ շաբաթում: VR կիրառման պայմաններում պահպանվել է ՏԴ-ի իջեցման միտումը, սակայն նորմայից և նույնիսկ կոնտրոլից ցածր 2-րդ շաբաթում: Այսպիսով, VR թույնի կիրառումը չի հանգեցրել ՏԴ մեծության փոփոխության կոնտրոլից և նորմայից ցածր: ՊՀ մոդելի վրա ՏԴ-ն ՏԴ ՊՏՊ-ում նույնպես 2-րդ շաբաթում մոտեցել է նորմային, բայց 4-րդ շաբաթում նվազել է, իսկ VR ազդեցության ներքո մոտեցել է նորմային 2-րդ շաբաթում, բայց բավականին նվազել է 4-րդ շաբաթում: ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում ՊՀ մոդելի վրա 2-րդ շաբաթում գերազանցել է նորման, բայց 4-րդ շաբաթում նվազել է, իսկ VR ազդեցության տակ, լինելով կոնտրոլից բարձր 4-րդ շաբաթում, նշված ժամկետներում նորմայից չի մեծացել: ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում 2-րդ և 4-րդ շաբաթներում դրսևորվեց նորմայից ցածր և բարձր, համապատասխանաբար, իսկ պրոտեկցիայի պայմաններում, ինչպես 2-րդ, այնպես էլ 4-րդ շաբաթում՝ նորմայից բարձր: Հետևաբար, ՏՊ-ն միայն ՏՊ ՊՏՊ-ում ՊՀ մոդելի վրա արտահայտվել է նորմայից բարձր 4-րդ շաբաթում, իսկ պրոտեկցիայի դեպքում, ինչպես 2-րդ, այնպես էլ 4-րդ շաբաթում: Վերլուծության նույն տեսակում ՊՀ մոդելի վրա ողնուղեղի ՇՆ –ում SNc ԲՀԴ-ից ՏԴ-ի խորացումը ՏԴ ՊՏՊ-ում գերազանցել է նորման միայն 4-րդ շաբաթում: VR թույնի կիրառման դեպքում նկատվել է, որ ՏԴ-ն գերազանցել է նորման և նվազել է 2-րդ և 4-րդ շաբաթներում՝ համապատասխանաբար: Այսպիսով, VR ազդեցությունը շեշտակիորեն նվազել է ժամանակի ընթացքում, դրսևորվելով բարձր սկզբնական ժամանակահատվածում և հասել է նորմայից ցածր նշանակությունների ավելի ուշ շրջանում: ՏԴ-ն ՏԴ ՊՏՊ-ում VR ազդեցության տակ նույնպես եղել է նորմայից

բարձր 2-րդ, սակայն նվազել է 4-րդ շաբաթում, այն դեպքում, երբ կոնտրոլում այն չի գերազանցել կրկնակի մեծությունները տվյալ ժամկետներում: Այսինքն, ՏԳ-ն թույնի ներգործությամբ 2-րդ շաբաթում եղել է նորմայից աննշան բարձր, 4-րդ շաբաթում հասել է կոնտրոլի նախնականին: ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում 2-րդ շաբաթում հասել է նորմային, բայց 4-րդ շաբաթում իջել է, իսկ VR օգտագործման պայմաններում 2-րդ և 4-րդ շաբաթներում հաշվարկվել է նորմայից բավականին ցածր: Այսինքն, փաստորեն VR էֆեկտը բացակայել է կամ ցածր է եղել, ըստ երևույթին էքսպատտոքսիկության ազդեցիկ դիմակայման շնորհիվ: Եվ վերջապես, ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏԳ-ում 2-րդ և 4-րդ շաբաթներում կոնտրոլում հասել է նորմայի մակարդակին մոտ և դրանից ցածր, իսկ VR կիրառման պայմաններում այդպես էլ չի հասել նորմային: ՊՀ մոդելի վրա ողնուղեղի ՇՆ-ում P ԲՀԴ-ից 2-րդ շաբաթում ՏԳ-ն ՏԳ ՊՏԳ-ում հասել է նախաստիմուլային ակտիվության բավականին բարձր մակարդակի, իսկ ՊՏՊ համակցման հետ հաշվարկվել է նորմայի սահմաններում: 4-րդ շաբաթում ՏԳ-ն ՏԳ ՊՏԳ-ում մոտեցել է նորմային, իսկ ՏԳ ՊՏՊ-ում հավասարվել է նորմային: VR թույնի ներգործությամբ ՏԳ-ն ՏԳ ՊՏԳ-ում 4-րդ շաբաթում մոտեցել է նորմային և կոնտրոլին, բայց ՏԳ ՊՏՊ-ում դրսևորվել է բավականին ցածր թե նորմայից և թե կոնտրոլից: Այսպիսով, VR թույնի ազդեցությունը ՏԳ-ն մոտեցրել է նորմային և կոնտրոլին դեպրեսոր շարքում, իսկ դեպրեսոր-դրդումում՝ բավականին հեռացրել է ինչպես նորմայից, այնպես էլ կոնտրոլից: Ողնուղեղի ՇՆ-ում G ԲՀԴ-ից ՊՀ մոդելի վրա գոյատևման 2-րդ շաբաթում հետստիմուլային դեպրեսոր շարքում չի հասել նորմային, իսկ ՏԳ ՊՏՊ-ում գերազանցել է նորման: 4-րդ շաբաթում ՏԳ-ն ՏԳ ՊՏԳ-ում և ՊՏՊ-ում գերազանցել է նորման: VR թույնի ազդեցության ներքո ՏԳ-ն երկու դեպքերում չի հասել ոչ նորմային, ոչ կոնտրոլին: Ուստի, VR թույնի ազդեցության պայմաններում նկատվել է միայն ՏԳ-ի նորմային մոտեցման միտում: Ողնուղեղի ՇՆ-ում P ԲՀԴ-ից 2-րդ շաբաթվա մոտ ՊՀ մոդելի վրա ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում գերազանցել է նախաստիմուլային մակարդակը՝ չհասնելով նորմային, իսկ ՏՊ ՊՏԳ-ում 2-րդ շաբաթում հաշվարկվել է նորմայից բարձր կարգով: 4-րդ շաբաթում ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ի գրեթե հասել է նորմային, իսկ ՏՊ ՊՏԳ-ում դրսևորվել է նորմայից ցածր: VR թույնի ազդեցության պայմաններում 4-րդ շաբաթում ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում գրեթե հասել է նորմային և հավասարվել կոնտրոլին, իսկ ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏԳ-ի եղել է բավականին բարձր թե նորմայից, և թե կոնտրոլից: Այլ խոսքերով, VR թույնի ազդեցությունը դրդող շարքում չի հանգեցրել ՏՊ-ի փոփոխության, իսկ դրդող-դեպրեսորում՝ նրա կտրուկ մեծացման ինչպես նորմայի, այնպես էլ կոնտրոլի հետ համեմատած: Ողնուղեղի ՇՆ-ում G ԲՀԴ – ից ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում 2-րդ և 4-րդ շաբաթներում չի հասել նորմային, իսկ ՏՊ ՊՏԳ-ում դրսևորվել է բավականին փոքր նորմայից: VR թույնի ազդեցության ներքո ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում նշանակալիորեն մեծացել է, իսկ ՏՊ ՊՏԳ-ում չի հասել նորմային, բայց մոտեցել է կոնտրոլին: Այսպիսով, VR թույնի ազդեցությամբ G ԲՀԴ-ից, ի տարբերություն P ԲՀԴ տվյալների, դրդող շարքում առկա էր ՏՊ-ի մեծացում ինչպես նորմայի, այնպես էլ կոնտրոլի հետ համեմատած: Համաձայն սպայկերի միջինացված հաճախականության դիագրամների վերլուծության, գրանցված սպայկային ակտիվության նախաստիմուլային և հետստիմուլային ռաստերների հիման վրա, բացահայտվել է հետևյալը. SNc նեյրոններում CPu ԲՀԴ-ից ՏԳ-ն համակցված ՏԳ ՊՏԳ-ով կոնտրոլում և VR –ով 2-րդ շաբաթում հասել է նախանշվածին, սակայն եղել է նորմայից ցածր: ՏԳ-ն բնութագրվել է բարձր մակարդակներով 2-4-րդ շաբաթում, բայց բարձր կոնտրոլից և ավելի ցածր նորմայից: ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում բարձր էր կոնտրոլում և ցածր՝

նորմայից: Ողնուղեղի ՇՆ-ում ՏԴ-ն ՏԴ ՊՏԴ 2-րդ շաբաթում VR ազդեցությամբ բավականին գերազանցել է կոնտրոլը և նորման, բայց 4-րդ շաբաթում պարզվել է, որ կրկնակի ցածր է կոնտրոլից: ՏԴ-ն ՏԴ ՊՏՊ-ում նույնպես 2-րդ շաբաթում VR-ի ազդեցությամբ հասել է կոնտրոլին և բարձր է եղել նորմայից, բայց 4-րդ շաբաթում մոտեցել է կոնտրոլին և, հետևաբար, երկու անգամ ցածր նորմայից: ՏՊ-ն ՏՊՊՏՊ-ում, ընդհակառակը, 2-րդ շաբաթում, լինելով քիչ փոքր նորմայից, դարձավ գրեթե եռակի մեծ դրանից VR-ով, իսկ 4-րդ շաբաթում քիչ քան կոնտրոլում և բավականին քիչ նորմայից: ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏԴ-ում 2-րդ շաբաթում VR ազդեցությամբ նույնպես դրսևորվեց կրկնակի ցածր կոնտրոլից (մոտ նորմային), իսկ 4-րդ շաբաթում փոքր կոնտրոլում և ավելի քան երկու անգամ քիչ նորմայից: Ողնուղեղի ՇՆ-ում P ԲՀԴ-ից ՏԴ-ն համակցված ՊՏԴ-ով ՊՀ մոդելի վրա 2-րդ շաբաթում բավականին գերազանցել է նորման, բայց 4-րդ շաբաթում մոտեցել է նրան, իսկ VR թույնի ազդեցությամբ 4-րդ շաբաթում կտրուկ նվազել է նորմայից և դրսևորվել է կոնտրոլից ցածր: ՏԴ-ն ՏԴ ՊՏՊ-ում մոտ էր նորմային 2-րդ շաբաթում և գերազանցել է այն, բայց 4-րդ շաբաթում թույնի ազդեցությամբ կտրուկ նվազել է: Ողնուղեղի ՇՆ-ում ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում P ԲՀԴ-ից ՊՀ մոդելի վրա, լինելով մոտ նորմային 2-րդ շաբաթում, 4-րդ շաբաթում գերազանցել է այն, բայց թույնի ազդեցությամբ 4-րդ շաբաթում բավականին նվազել է: ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏԴ-ում թույնի ազդեցությամբ պարզվեց ավելի մոտ է նորմային, տատանվելով աննշան սահմաններում կոնտրոլում և նորմայում: Ողնուղեղի ՇՆ-ում G ԲՀԴ-ց ՏԴ-ն ՏԴ ՊՏԴ-ում ՊՀ մոդելի վրա 2-րդ շաբաթում լինելով մոտ նորմային, բավականին անցել է այն 4-րդ շաբաթում, իսկ թույնի ազդեցությամբ 4-րդ շաբաթում կտրուկ նվազել է: ՏԴ-ն ՏԴ ՊՏՊ-ում 2-րդ և 4-րդ շաբաթներում, լինելով բարձր նորմայից, թույնի ազդեցությամբ կրկին կտրուկ իջել է: ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում ՊՀ մոդելի վրա 4-րդ շաբաթում բավականին գերազանցել է այդպիսի ցուցանիշներին 2-րդ շաբաթում և նորմայում, իսկ թույնի ազդեցությամբ ավելի շատ է բարձրացել: Ուստի, ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏԴ-ում, ինչպես կոնտրոլում, այնպես էլ թույնի ազդեցությամբ չի հասել նորմային: Այսինքն, թույնի ազդեցությամբ ՏՊ-ն ՏՊ ՊՏՊ-ում կոնտրոլից և նորմայից բարձր է, իսկ ՏՊ ՊՏԴ-ում բարձր է կոնտրոլից, բայց բավականին ցածր է նորմայից:

**Neda Behnam Dehcordi**

### **The correlation of excitation and depression in spinal and substantia nigra neurons on the model of Parkinson`s disease under action of Vipera Raddei venom**

#### **SUMMARY**

In three experimental series on adult 28 rats intact (n=5), semichronic – after unilateral injection of rotenone in “medial forebrain bundle” on 2 (n=5) and 4 (n=7) weeks with systemic administration of VR venom (from next day after rotenone 7 injections through the day), later 2 (n=2) and 4 (n=9) weeks to acute experiment, by mean *on-line* selection mean of *on-line* selection and software mathematical analysis of single spike activity of motoneurons (MN) L4-L5 segments of spinal cord (SC) and neurons of substantia nigra compacta (SNc) (n=2371) under high frequency stimulation (HFS) SNc, flexor (G), extensor (P) nerves of hind limb and caudate putamen (CPu): in norm (n=374+105), on rotenone model of Parkinson`s disease (PD) - control up to 2 (n=306+352) and 4 (n=388+162) weeks and with systemic administration of VR venom throughout 2 (n=181 + 256) and 4 (n=174+73) weeks later 4 weeks, the formation responses as tetanic depression and potentiation (TD, TP), combined in uni-

(TD PTD, TP PTP) and multidirectional (TD PTP, TP PTD) posttetanic successions was revealed. On the base of averaged quantity of spikes (PETH Average), with recalculation in interimpulse intervals and frequencies in Hz (Frequency Average) on the model of PD in neurons of SNc at CPU HFS, TD accompanied by PTD, to 2 weeks was approaching the norm, declining more than doubled – to 4 weeks. With use of VR venom, continued downward trend of TD, but below the norm and even the control at 2 weeks. Thus, the use of VR venom has not led to changes in the size of the TD below the control and norm. On the model of PD TD in TD PTD also to 2 weeks approaching the norm, but on 4 weeks – decreased, and under action of VR approaching to norm on 2 weeks, significantly decreased to 4 weeks. TP in TP PTP on the model of PD to 2 weeks exceeded the norm, but to 4 weeks – decreased, and under action of VR, being above the control on 4 weeks, in specified times not exceeded the norm. TP in TP PTD to 2 and 4 weeks turned out to be below and above the norm, accordingly, and in condition of protection, as at 2 and 4 weeks – above the norm. In other word, TP only in TP PTD on the model of PD there was above the norm to 4 weeks, and under protection - as at 2 and 4 weeks. When the same type of analysis on the model of PD in SC MNs at SNc HFS deepening TD in TD PTD exceeded the norm only to 4 weeks. With use of VR venom, on the contrary – TD exceeded the norm and decreased to 2 and 4 weeks respectively. Thus, the effect of VR progressively decreased over time, being above in the early time, reached values below the norm – in later. TD in TD PTP under action of VR also was above the norm to 2 weeks, but decreased to 4 weeks, while its not exceeded 2-multiple values in mentioned times. In other word, TD in condition of venom use, being to 2 weeks some above the norm, to 4 weeks approached only the meaning of those in control. TP in TP PTP to 2 weeks approached the norm, but to 4 weeks decreased, and in condition of VR use on 2 and 4 weeks – calculated order is much below normal. I.e., in fact effect of VR absent or has been reduced, apparently because of the effective opposition to excitotoxicity. Finally, TP in TP PTP to 2 and 4 weeks in control determined within close and below the norm, and in the case of use VR – being increased in specified time, not reached the norm. On the model of PD in SC MNs at P HFS to 2 weeks TD in TD PTD approached enough high level of understatement of prestimulus activity, and in combination with PTP calculated within normal limits. On 4 weeks TD in TD PTD approaching normal, and in TD PTP equalized with norm. In condition of VR venom action TD in TD PTD to 4 weeks approachd to norm and control, but in TD PTP turned out to be below of both the norm and control. Thus, the VR venom action closer TD to norm and control in depressor succession, and in depressor-excitatory - significantly distanced of both from norm and control. In SC MNs at G HFS on the model of PD to 2 weeks survival TD in poststimulus depressor succession not reached the norm, and in TD PTP exceeded the norm. On 4 weeks TD in TD PTD and PTP exceeded the norm. In condition of VR venom action TD in both successions not reached either norm or the control. In other word, in condition of VR venom action aimed only the trend approximation TD to norm. In SC MNs at P HFS to 2 weeks on the model of PD TP in TP PTP exceeded prestimulus level, not reaching the norm, and in TP PTP on 2 weeks calculated over above the norm. On 4 weeks TP in TP PTP almost achieved norms, and in TP PTD – turned out to be below normal. In condition of VR venom action TP in TP PTP on 4 weeks almost achieved norms and is equal to the control, and TP in TP PTD – turned out to be much higher norms and control. In other words, the VR venom action in excitatory succession has not led to a change in the TP, and in excitatory-depressor – to drastically exceed of both in respect of norm and control. In SC MNs at G HFS TP in TP PTP on 2 and 4 weeks has not reached the norm, and in TP PTD has not reached the norm. In condition of VR venom action TP in TP PTP was significantly increased, and in TP PTD much has not reached the norm but approached the norm. Thus, under the influence of VR venom at G HFS, unlike derived at P HFS, on the contrary, in excitatory successions there has been a sharp excess TP compared of both with norm and control. According to analyses diagrams of averaged frequency of spikes, peristimulus histogram of sum spikes, produced on the base of raster of pre- and poststimulus manifestations of spike activity the following has been revealed. In neurons of SNc at CPU HFS TD combined with

TD PTD in control and with VR on 2 weeks reached the level above of those on 4 weeks, but below the norm. TD in TD PTP for control and VR also was characterized by high levels on 2 weeks, but on 2 нед, but above the control and a lot less norm. TP in TP PTP was again higher in control and less than normal. TP in TP PTP, being almost same in control and with VR on 4 weeks, also was higher in control at 2 weeks and has not reached the norm. In SC MNs TD in TD PTD on 2 weeks under action of VR far exceeded the control and even twice – the norm, but on 4 weeks turned out half the control. TD in TD PTP also on 2 weeks of VR action reached almost twice as many values in the control and above the norm, but on 4 weeks – approached the control and was almost twice less than normal. TP in TP PTP, in contrary, to 2 weeks in control, being some less than normal, turned out to be almost three times as many such with VR, and on 4 weeks - less than in control and a lot less norm. TP in TP PTD on 2 weeks of VR influence also turned out double less than control (close to the norm), and on 4 weeks – less in control and less than half the norm. In SC MNs at P HFS TD combined with PTD on the model of PD to 2 weeks enough exceeded the norm, but to 4 weeks approximated thereto, and under action of VR venom on 4 weeks declined sharply below the norm and control. TD in TD PTP close to the norm on 2 week's, exceeded it to 4 weeks, but in 4 weeks under venom action dramatically decreased. In SC MNs TP in TP PTP at P HFS on the model of PD, being close to norm on 2 weeks, on 4 weeks - exceeded its, but in condition of venom action to 4 weeks significantly decreased. TP in TP PTD under action of venom turned the closer to norm, ranging in minor limits in control and norm. In SC MNs at G HFS TD in TD PTD on the model of PD to 2 weeks from close to norm by far exceeded it at 4 week and under venom action on 4 weeks dramatically decreased. TD in TD PTD on 2 and 4 weeks, being much above normal, under venom action again sharply decreased. TP in TP PTP on the model of PD to 4 weeks far exceeded the indicators such by 2 weeks and in norm, and under venom action even more improved. Finally, TP in TP PTD of both in control and under venom action much has not reached the norm. In other words, under venom action TP in TP PTP turned out higher control and norm, and in TP PTD - above control, but much below normal.