

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

ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ ԿԱՐԻՆԵ ԱՎԵՏԻՍԻ

ՇԱՐԺՈՂԱԿԱՆ ԽԱՆԳԱՐՈՒՄՆԵՐԻ ՈՂՆՈՒՂԵՂԱՅԻՆ ՆՅՅՐՈՆԱՅԻՆ
ՄԵԽԱՆԻԶՄՆԵՐԸ ՊԱՐԱԹԻՐԵՈՒԴ ԱՆԲԱՎԱՐԱՐՈՒԹՅԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ

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

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2014

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

АВETИՏՅԱՆ ԿԱՐԻՆԵ ԱՎԵՏԻՏՈՎՆԱ

СПИНАЛЬНЫЕ НЕЙРОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДВИГАТЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ
ПАРАТИРЕОИДНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

АВТОРЕФЕРАТ

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

ԵՐԵՎԱՆ 2014

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

Գլխավորական ղեկավար՝ ՀՀ գիտության վաստակավոր գործիչ,
բ.գ.դ., պրոֆեսոր Դ.Ն.Խուրավերդյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կ.գ.դ. Ռ.Շ. Սարգսյան
ՀՀ գիտության վաստակավոր գործիչ,
բ.գ.դ., պրոֆեսոր Ա.Վ. Ազնաւրյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարան
Ատենախոսության պաշտպանությունը կայանալու է 2014թ. հունիսի 7-ին ժ.14⁰⁰-ին ՀՀ
ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում, Փորձարարական
կենսաբանության 042 մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, 0028, ք. Երևան, Օրբելի
եղբ. 22):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվ. Ֆիզիոլոգիայի
ինստիտուտի գրադարանում և www.molbiol.sci.am կայքում:
Սեղմագիրն առաքվել է 2014 թ. հունիսի 6-ին:

042 մասնագիտական խորհրդի գիտական
քարտուղար, կ.գ.թ.

 Գ. Մ. Սլրտյան

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

Научный руководитель: Заслуженный деятель науки РА,
д.м.н., профессор Д.Н. Худавердян

Официальные оппоненты: д.б.н. Р.Ш. Саркисян
Заслуженный деятель науки РА,
д.м.н., профессор А.В. Азнаурян

Ведущая организация: Национальный аграрный университет Армении

Защита диссертации состоится 7 июля 2014г. в 14⁰⁰ ч. на заседании специализированного
совета 042 Экспериментальной биологии, в Институте физиологии им. Л.А. Орбели
НАН РА (РА, 0028, г. Ереван, ул. бр. Орбели 22).

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

Автореферат разослан 6 июня 2014г.

Ученый секретарь специализированного совета 042,
к.б.н.

 Գ. Մ. Մկրտչյան

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Общеизвестна жизненно важная роль околожитовидных желез (ОЩЖ), гипофункция которых сопровождается специфическим нарушением кальций-фосфорного метаболизма с гипокальциемией и гиперфосфатемией, выраженными нейромоторными расстройствами в виде тетании и гибелью животных и людей после их тотального удаления. Как известно, Ca^{2+} выступает в роли универсального вторичного сигнала, регулирующего практически весь широкий спектр функций нейрона и возбудимых клеток [Bouschet T. & Henley J., 2005; Mattson M., 2007]. Ca^{2+} связываясь с кальмодулином в качестве вторичного мессенджера опосредует химическую и электрическую стимуляцию [Fujii S. et al., 2000; Mattson M., 2007]. В этом качестве Ca^{2+} показан регулирующим нейрональную генную экспрессию, синаптическую передачу, выработку энергии, мембранную возбудимость, синаптогенез и другие процессы, лежащие в основе обучения, памяти и выживания клетки. Поэтому даже умеренное нарушение его гомеостаза приводит к синаптической дисфункции, изменению возбудимости и пластичности нейронов, повреждению механизмов формирования обучения и памяти, развитию различных нейродегенеративных заболеваний [Худавердян Д., 1984; Сафарян Л. 1986; Feng Z. & Durand D., 2006; Kawamoto E. et al., 2012]. Наконец, демонстрация Ca^{2+} в качестве внешнего лиганда, совместно с молекулярным клонированием поверхностных Ca^{2+} -чувствительных рецепторов (CaSR), позволили считать его важным экстраклеточным первичным мессенджером [Bouschet T. & Henley J., 2005]. Все вышеуказанные Ca^{2+} -зависимые процессы находятся под специфическим контролем Ca^{2+} -регулирующей системы, где ключевую роль выполняет продуцируемый ОЩЖ паратиреоидный гормон (ПТГ). Кальций является важнейшим модулятором функциональной активности нейрона, выступающего в качестве мишени для действия гормона [Костюк П. и соавт., 1990; Худавердян Д. & Тер-Маркосян А., 1992; Khudaverdyan D. & Ter-Markosyan A., 2000].

Исходя из такого многообразия процессов с участием ПТГ, кальция и фосфора, становятся очевидными серьезные нарушения в деятельности различных систем организма при нарушении их метаболизма и регулирующих механизмов. Последнее, по данным Всемирной Организации Здравоохранения, является причиной развития около 300 болезней человека и животных (Хроника ВОЗ, 1963). Учитывая это, ВОЗ, еще в 1963 году, рекомендовала развернуть широкомасштабные исследования по всестороннему изучению и разработке соответствующих мер профилактики и лечения дисфункции ОЩЖ, а в 2003 году была проведена Первая Международная конференция, посвященная разработке программы дальнейших исследований в этом направлении [Bilezikian J. et al., 2011]. Среди таких нарушений особое место занимает синдром тетании, развивающийся после удаления ОЩЖ и приводящий, как правило, к смертельному исходу [Davis F. & Schauf C., 1976]. По существующим представлениям, его становление связывают с развивающейся при этом гипокальциемией, деполяризацией мембраны нервно-мышечных клеток, повышением их возбудимости и реактивности к различным эндо- и экзогенным воздействиям. Следует, однако, подчеркнуть, что подобная трактовка развития паратиреопривной тетании, хотя и не лишена оснований- априорна, поскольку

базируется на вышеприведенных теоретических представлениях о важной роли ионов кальция в формировании возбудимости и реактивности нервных и мышечных клеток и не подкреплена экспериментальными и клиническими исследованиями состояния этих процессов у животных и лиц с паратиреопривной тетанией.

Экспериментальное подтверждение причинно-следственной обусловленности метаболических и нейромоторных нарушений при паратиреоидной недостаточности получены в исследованиях Д.Н. Худавердяна и сотрудников [Худавердян Д., 1984; Сафарян Л., 1986; Асратян А., 1995 и др.] в которых показано, что синдром паратиреопривной тетании является следствием нарушения деятельности системы моторного контроля с резким усилением возбудительных и ослаблением тормозных процессов на сегментарном и супраспинальном уровнях, а также возрастанием эфферентного выхода из спинного мозга. О первостепенной роли центральных моторных структур в развитии тетании свидетельствуют также данные о блокировании тетанических сокращений мышц паратиреопривных животных после перерезки иннервирующих их моторных нервов [West R., 1935].

Однако, как в этих, так и в других исследованиях этой проблемы не изучались механизмы функционирования нейронных популяций системы моторного контроля, в частности, его эфферентного звена – интер- и мотонейронов спинного мозга и не установлена их роль в развитии тетании. Между тем, именно функциональным состоянием последних определяется возможность реализации центральных моторных посылкой, а соответственно, и формирования различных нейромоторных нарушений при той или иной патологии.

Цель и задачи исследования. Цель работы – проведение электрофизиологического и морфологического анализа функционального состояния мотонейронов (МН) спинного мозга (СМ) у животных с острой и латентной тетанией, вызванной удалением ОЦЖ.

В соответствии с поставленной целью в задачи исследования входило:

1. Сравнительное электрофизиологическое изучение техникой экстраклеточного отведения, частоты потока спайковой активности, соотношения тормозно-возбудительных процессов в МН СМ в условиях высокочастотной (ВЧС) стимуляции (50 и 100 Гц) экстензорного (п. Peroneus Communis-P) и флексорного (п. Gastrocnemius -G) ответвлений седалищного нерва (п. ischiadicus) у интактных крыс и у крыс с острой и хронической (латентной) тетанией;
2. Сравнительное электрофизиологическое исследование потока спайковой активности одиночных МН СМ в аналогичных условиях стимуляции флексорных и экстензорных нервов у крыс после предварительного многократного (ежедневно в течение 21-23 дней) внутримышечного введения физиологических концентраций ПТГ (10^{-9} М в 1 мл физ. раствора);
3. Сравнительное гистологическое исследование СМ и некоторых моторных структур мозга у интактных и паратиреоидэктомированных крыс.

Научная новизна. Впервые в сравнительных острых экспериментах на интактных и паратиреопривных крысах с острой и хронической тетанией, а также в условиях многократного парентерального введения интактным крысам физиологических

концентраций ПТГ, проведена регистрация активности одиночных МН СМ на ВЧС флексорного и экстензорного нервов задней конечности с on-line селекцией и программным математическим анализом возбудительных и депрессорных постстимульных проявлений спайковой активности с установлением причинно-следственной зависимости паратиреопривных двигательных расстройств от степени нарушения кальций-фосфорного метаболизма и соотношения тормозно-возбудительных процессов в МН СМ. Установлено резкое усиление постстимульных возбудительных проявлений активности МН СМ с ослаблением или полным исчезновением депрессорных реакций в период развития острой тетании (3-7 дни после удаления ОЩЖ) и ослабление возбудительных и некоторая стабилизация тормозных процессов у животных с хронической (латентной) тетанией (21-23 дни после удаления ОЩЖ). В этих условиях отмечалось некоторое недостоверное возрастание фоновой активности (ФА) МН СМ. В целом, несмотря на некоторую скачкообразность изменения соотношения разнонаправленных синаптических процессов в МН СМ от 3-7 до 21-23 дней, отмечалась общая и очевидная тенденция прогрессивного повышения возбуждения и снижения депрессии в период развития острой тетании и их относительная стабильность при хронической тетании, в то время как в норме пропорция постстимульной депрессии и возбуждения проявлялась в фактическом балансе.

Впервые обнаружено повышение ФА нейронов СМ в условиях длительного парентерального введения ПТГ, особо выраженное на 7-8 дни после введения. В целом, в различные сроки после введения ПТГ аналогично направленные изменения выявлены в проявлениях тетанической и посттетанической потенции и депрессии ответов как при активации флексорных, так и экстензорных нервов частотой в 50 и 100 Гц (набухание ядер, хроматолит, изменение формы и размера клеток и пр.).

Установлен неспецифический характер морфо-гистологических изменений, выявленных на уровне различных структур мозга (кора головного мозга, миндаля, гиппокамп, ядро Мейхарда, МН СМ у животных с паратиреопривной тетанией, за исключением специфической активации микроглии в области отхождения конского хвоста).

Научно-практическое значение. Учитывая смертельную опасность острой паратиреопривной тетании, связанную с нарушением кальций-фосфорного метаболизма, резким усилением возбудительных и ослаблением тормозных процессов в ЦНС, рекомендуется использование в период острой тетании заместительной терапии с введением ПТГ и кальция, а также лекарственных средств, направленно ослабляющих возбудительные процессы (седативные препараты) и усиливающих тормозные процессы в ЦНС (ГАМК и его производные). Это позволит перевести острую тетанию в относительно благоприятную стадию несмертельной латентной тетании, при которой, как известно из клинических наблюдений, включаются не до конца выясненные адаптивные механизмы стабилизации нарушенных двигательных и метаболических реакций, обеспечивающих жизнеспособность таких больных.

С учетом выявленной нами повышенной ответоспособностью МН СМ паратиреопривных животных на высокочастотные раздражения, а также, исходя из

клинических наблюдений о провокации тетании различными экзогенными воздействиями, рекомендуется максимально ограничить влияние на таких лиц различных экстероцептивных раздражений, особенно в период острой тетании и его перехода в латентную стадию развития.

Апробация работы. Материалы и основные положения диссертационной работы доложены на VI Международной конференции “Психофизиологические и висцеральные функции в норме и в патологии”, посвященной 170-летию кафедры Физиологии человека и животных и 100-летию школы электрофизиологии Киевского университета (Киев, 9-11 октября 2012г.), на VIII Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 220-летию со дня рождения академика К.М. Бэра “Механизмы функционирования висцеральных систем” (Санкт-Петербург, 25-28 сентября, 2013г.), на научных сессиях и заседаниях кафедры физиологии ЕрГМУ.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 работ.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 104 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследований, 3-х глав результатов собственных исследований, выводов и списка литературы, включающего 106 источников, иллюстрирована 26 рисунками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на интактных (n=5), подвергнутых хирургическому удалению окологлоточных желез – ПТЭ (n=12) и хронической инъекцией ПТГ (n=5) крысах-самцах Альбино (250±30г). Все процедуры совершали согласно “Правилам по уходу за лабораторными животными” (НИН публикация за № 85-23, пересмотренная в 1985 г.). О развитии паратиреоидной недостаточности судили по понижению уровня ионизированного кальция и повышению содержания неорганического фосфора в сыворотке крови, а также развитию двигательных расстройств. Содержание фосфора определяли фотоэлектрокалориметрическим методом с использованием тест-наборов фирмы «Фосфор» (Чехия), а ионизированного кальция - методом ионоселективного анализа на анализаторе “Microlyt 493” фирмы “KONE” (Финляндия). В серии с ПТЭ эксперименты проводили на 3-7 и 21-22 дни после развития острой и хронической тетании, соответственно. В серии с хронической инъекцией ПТГ производили ежедневное в/м введение ПТГ из расчета 1,0 мл 10⁻⁹М раствора и эксперименты производили спустя 7-8, 14 и 21-23 дня. В остром опыте после фиксации в стереотаксическом аппарате получали изолированный СМ перерезкой его на уровне Т2-Т3 под новокаиновой анестезией и обездвиживали 1% дигиталином (25 мг/кг, в/б), с переводом на искусственное дыхание. После дорсальной ламинэктомии пояснично-крестцового отдела СМ, стереотаксически ориентированные по атласу мозга [Raxinos G., Watson C., 2005] стеклянные микроэлектроды с диаметром кончика 1 мкм, заполненные 2М раствором NaCl, вживляли в передние рога серого вещества поясничных сегментов (L4-L5) в область МН СМ (VIII-IX пластины по Рекседу) для экстраклеточной регистрации фоновой и вызванной спайковой активности одиночных МН на ВЧС (0.05мс, 0.8-1.6 мА 50 и 100 Гц в течение 1 сек) биполярными серебрянными

электродами ипсилатерального экстензорного (Р) и флексорного (G) нервов задней конечности. В целом, зарегистрировано 53 нейрона у интактных крыс, 242 нейрона в условиях ПТЭ и 122 нейрона в условиях введения ПТГ. Для оценки возбудительных и депрессорных постстимульных эффектов использовали тетаническую потенциацию и депрессию частоты ответов МН с последующими посттетаническими проявлениями в виде посттетанической потенциации и депрессии. Оценку ранних и поздних постстимульных проявлений активности производили в режиме *on-line* селекции и программного математического анализа спайков. Использовали построения комплексных усредненных и суммированных перистимульных временных гистограмм - РЕТН, кумулятивных гистограмм числа спайков с разностной кривой и гистограмм частоты с вычислением средней частоты спайков. Анализ данных производили с помощью специальной программы (разработчик В.С. Каменецкий). В среднем в течение одной регистрации проводили до 10-15 постстимульных испытаний. Импульсный поток после селекции посредством амплитудного дискриминатора подвергали программному анализу с последующим выводом отдельных или усредненных по количеству испытаний перистимульных временных гистограмм, «растера» пре- и постстимульного спайкинга активности единичных нейронов. Последние распределяли в реальном времени и на их основе строили суммарные или усредненные гистограммы частоты с данными многоуровневой статистической обработки, дифференцированно для пре- и постстимульного времени, включая период ВЧС. Для избираемых сравниваемых групп спайкинга нейрональной активности программно строили усредненные перистимульные (РЕТН Average), кумулятивные (Cumulative Average) гистограммы и гистограммы частоты (Frequency Average). Анализ полученных данных производили по специально разработанному алгоритму. Целью анализа являлось определение статистической достоверности различий в длительности межспайковых интервалов до и после действия стимула. Для решения этой задачи строили гистограммы межспайковых интервалов, определяли основные параметры распределений: средние значения, моды, дисперсии, частоты. Традиционным методом проверки однородности двух независимых выборок являлся *t*-критерий Стьюдента. Для повышения надежности статистических оценок и достоверности различий в длительности межспайковых интервалов до и после действия стимула применяли также непараметрический метод проверки однородности двух независимых выборок – двухвыборочный критерий Вилкоксона–Манна–Уитни (Wilcoxon–Mann–Whitney test) [Орлов А., 2004]. Так как число регистрируемых спайков было достаточно велико (до нескольких сотен спайков за 10 -20 секундный интервал после действия стимула), использовалась разновидность указанного теста, учитывающая его асимптотическую нормальность – *z*-тест. Сравнение критических значений с табличными значениями нормального распределения при уровнях значимости 0.05, 0.01 и 0.001 (для различных испытаний), показывало, что в результате ВЧС для большинства выборок спайкинга нейрональной активности имелось статистически значимое изменение как минимум с уровнем значимости 0.05.

После завершения электрофизиологических экспериментов животные забивались (эвтаназия осуществлялась с соблюдением этических норм путем углубления наркоза) на

предмет определения патологии и нейропротекции методом выявления активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы (КФ). Указанный метод, разработанный [Меликсетян И., 2007] на базе метода Гомори, позволяет в определенной степени и в рамках поставленных задач и возможностей судить о морфо-гистохимических изменениях в мозгу.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МОТОНЕЙРОНОВ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС С ПАРАТИРЕОПРИВНОЙ ТЕТАНИЕЙ

В целом, зарегистрировано 295 нейронов СМ, из которых 53 нейрона у интактных крыс и 242 нейрона в условиях ПТЭ (180 при острой, а 62 - хронической тетании). Использовали РЕТН или перистимульные гистограммы, в которых по оси ординат отложены количество спайков за единицу времени, а по оси абсцисс-время, в пределах до 26 бин (бин=400 мс), где на тетанический эффект (ТП или ТД) приходится 1 сек, т.е. 2.5 бин, остальное время относится к посттетаническим постстимульным проявлениям (ПТП или ПТД).

Согласно РЕТН в норме, при ВЧС 50 Гц Г ТП превышала престимульный уровень в 7.83 раза, а при ВЧС 100 Гц – 3.3 раза; ТД же при ВЧС 50 Гц достигала 3-кратного занижения престимульного уровня, а при ВЧС 100 Гц – 4-кратного. При ВЧС 50 Гц Р ТП превышала престимульный уровень в 4.3 раза, а при ВЧС 100 Гц – 2.25 раза; ТД же при ВЧС 50 Гц достигала 4-кратного занижения престимульного уровня, а при ВЧС 100 Гц – 3-кратного.

На модели острой паратиреопривной тетании (к 4 и 5 дням испытаний), согласно РЕТН, при ВЧС 50 Гц Г ТП была то выше, то ниже нормы (к 3 и 7 дню), в то время как на ВЧС 100 Гц во все дни испытаний ТП была выше нормы. При ВЧС 50 Гц Р, наоборот, к 7 дню ТП нарастала до 1.6-кратного превышения нормы, в то время как на ВЧС 100 Гц ТП уже с 3 дня превышала норму. ТД на ВЧС 50 Гц Г, возрастала с 4 дня, превышая норму в 1.33 раза, а при ВЧС 100 Гц с 4 до 7 дня вдвое превышала норму. ТД при ВЧС 50 Гц Р уже с 4 дня превышала норму в 1.75 раз, а на ВЧС 100 Гц, будучи к 4 дню 3 раза выше нормы, снижалась до 2-кратного превышения нормы на 7 день (рис.1).

На модели хронической тетании (21-22 дни), согласно РЕТН, при ВЧС 50 Гц Г на 22 день ТП приближалась к норме, в то время как на ВЧС 100 Гц прогрессивно нарастала до 4.7-кратного ее превышения. При ВЧС 50 Гц Р, ТП нарастала до 1.6-кратного превышения нормы, а на ВЧС 100 Гц ТП нарастала к 22 дню, как и в случае Г, до 4.8-кратного ее превышения. ТД на ВЧС 50 Гц Г, к 21 дню достигала 2.3-кратного превышения нормы, т.е. занижения престимульного уровня активности, а при ВЧС 100 Гц к 21 дню спадала до 1.5 раз. ТД при ВЧС 50 Гц Р на 21 день, достигая 1.75-кратного ее превышения, к 22 дню приближалась к норме, а на ВЧС 100 Гц, будучи к 21 дню 1.5 раза ниже нормы, к 22 дню достигала нормы (рис.2).

Представлен анализ в норме пре- и постстимульных гистограмм суммы спайков и диаграммы усредненной частоты спайков МН СМ на ВЧС 50 и 100 Гц нервов Г и Р в

виде ТП и ТД, вместе с детальным анализом одного из произвольно взятых примеров испытаний, что может служить основанием для сравнения с изменениями пре- и постстимульных эффектов в условиях патологии.

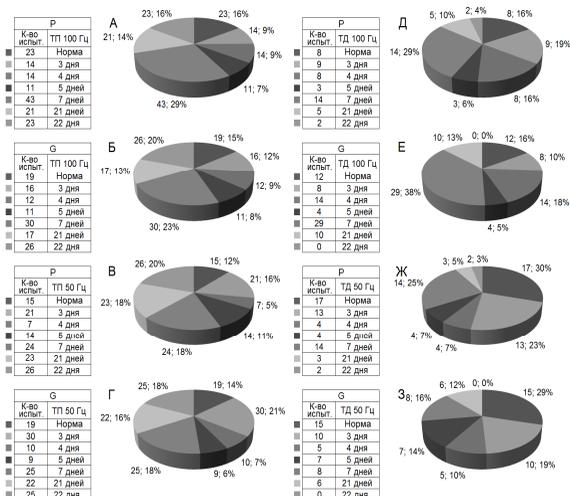


Рис.1. Процентное соотношение количества тетанических возбудительных (А-Г) и депрессорных (Д-З) эффектов в одиночных МН СМ на ВЧС 50 и 100 Гц экстензорного- Р (А, В, Д, Ж) и флексорного- G (Б, Г, Е, З) нервов во все дни испытаний после ПТЭ, в сравнении с нормой. Обозначения: к-во испыт. – количество испытаний.

Согласно частотному анализу получены соотношения пре- и постстимульных проявлений возбудительной и тормозной активности на примере аналогичных тетанических эффектов в условиях постоперационного гипопаратиреоза на 3-7 и 21 - 22 дни при ВЧС 50 и 100 Гц G и Р. Представляет интерес тот факт, что, с учетом результатов, представленных в указанных гистограммах, фоновая активность МН СМ на ВЧС G и Р, в зависимости от возбудительных и депрессорных постстимульных проявлений активности, выдавала диаметрально противоположные эффекты, в первом случае депрессорные, а во втором- возбудительные. В целом, в случае возбудительных постстимульных реакций, фоновая престимульная активность на ВЧС G, по сравнению с нормой, к 3 дню незначительно снижалась, затем нарастала и снова спадала, достигая к 22 дню уровня 1.0 -1.9 раз меньше нормы. На ВЧС же Р фоновая активность сначала повышалась, затем спадая, достигала к концу испытаний уровня в 1.1-1.4 раза ниже нормы. При наличии депрессорных эффектов, на ВЧС G, скачкообразно нарастая и спадая, к 21 дню активность превышала уровень нормы в 1.39-1.6 раз по сравнению с нормой, а в условиях стимуляции Р – в 1.1-2 раза. Что же касается значений постстимульных тетанических реакций, то на ВЧС 50 Гц G с 3 дня ТП нарастала, затем спадала, снова нарастала к 21 дню, достигая почти двухкратного превышения нормы на 22 день, в то время как на ВЧС 100 Гц во все дни испытаний, кроме 4 и 6 дней ТП была выше нормы, достигнув 4.5-кратного превышения нормы на 22 день. ТП на ВЧС 50 Гц Р, начиная с 7 дня нарастала до 2.36 раз выше нормы к 22 дню, а на ВЧС 100 Гц ТП уже с 3

дня превышала норму, скачкообразно нарастая до 22 дня (до 7.3 раз). ТД на ВЧС 50 Гц G, возрастала с 4 дня (1.87 раз выше нормы), затем резко спадала, не достигая нормы к 21 дню (3.6 раз меньше нормы), а на ВЧС 100 Гц ТД во все дни испытаний была ниже нормы, достигая к 21 дню самого низкого значения (порядка до 7.5-кратного занижения); более того, как при 50, так и 100 Гц ТД на 22 день полностью исчезала. ТД при ВЧС 50 Гц P во все дни испытаний была ниже нормы, достигая к 22 дню самого низкого значения (до 3.9 раз ниже нормы), а на ВЧС 100 Гц ТД к 4 дню превышала норму в 2.2 раза, затем резко снижалась, достигая к 22 дню 3.7-кратного занижения. Иными словами, в отношении изменения фоновой активности в после ПТЭ, вместо ожидаемого усиления возбуждения и снижения торможения, имело место обратное. Более четкие сдвиги активности регистрировались в постстимульном периоде, соответствующие ожидаемым результатам, сопровождающим ПТЭ.

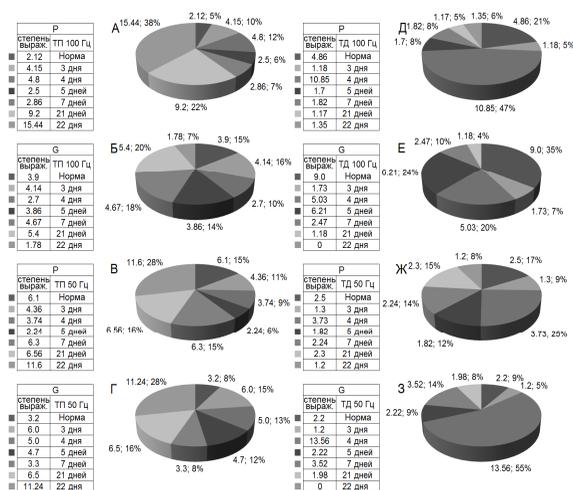


Рис.2. Процентное соотношение степени выраженности тетанических возбудительных (А-Г) и депрессорных (Д-З) эффектов в одиночных МН СМ на ВЧС 50 и 100 Гц экстензорного-Р (А, В, Д, Ж) и флексорного-Г (Б, Г, Е, З) нервов во все дни испытаний после ПТЭ, в сравнении с нормой. Обозначения: степень выраз. – степень выраженности.

Достаточно отметить несравненно высокие и характерные значения тетанических сдвигов после ПТЭ по сравнению с таковыми фоновыми. Что же касается посттетанических эффектов, в сравнении с уровнем фоновой активности, то на все дни испытаний ТП сопровождалась ПТП, достигающей значений порядка 1.6 к 21 и 1.2 к 22 дням при ВЧС G 50 Гц, а в те же дни при 100 Гц - 1.5 и 1.33 раз выше нормы, соответственно. Однако, при этом на ВЧС 50 и 100 Гц в различные сроки испытаний изменения были скачкообразными, нарастая до значений выше нормы на 3 и 6- 7 дни, соответственно. На ВЧС P, также скачкообразно ПТП после ТП, нарастая и спадая при 50 Гц, в сравнении с нормой, превышала ее к 21 и 22 дням до 1.68 и 1.9 раз, а при ВЧС 100 Гц на 22 день - 1.7 раз. Однако на 7 день при ВЧС 50 Гц и на 6 и 21 дни при ВЧС 100 Гц отводились ПТД. Таким образом, ПТП сопровождающая ТП, как правило, к концу

испытаний превышала таковую в норме. ТД при ВЧС 50 Гц G и P в норме сопровождалась ПТД. При этом ТД на ВЧС 50 и 100 Гц G к 21 дню сопровождалась ПТД, достигающей при 50 Гц 3-кратного превышения нормы. К тому же, на 22 день полностью исчезали как тетанические, так и посттетанические депрессорные реакции. При ВЧС 50 Гц P ТП переходила в ПТД на 21 день (2.9 раз выше нормы), а к 22 дню – в ПТП, при ВЧС 100 Гц на 21 день ТД переходила в ПТД, с стационаризацией активности – к 22 дню, в то время как в норме отводилась ПТП. В заключение, посттетанические депрессорные проявления активности к 21 дню достигали максимума, но к концу испытаний исчезали.

Несмотря на некоторую скачкообразность изменения соотношения ТП и ТД в стимуляции вышеотмеченных нервов от 3 до 22 дней после ПТЭ, в целом, намечалась очевидная тенденция прогрессивного снижения депрессии и повышения возбуждения, в то время как в норме, как правило, пропорция постстимульной депрессии и возбуждения проявлялась в фактическом балансе. Представляет интерес количественное соотношение возбуждательных и тормозных реакций в условиях стимуляции обоих нервов при 100 Гц. Уже в норме намечалась резкая разница между ТП и ТД, в пользу ТП, но сохранилась та же тенденция развития ТП, которая сводилась, как и в случае 50 Гц стимуляции P, к прогрессивному, но в данном случае значительному нарастанию ТП, который на 22 день достиг 4-кратного превышения нормы, но ТД при этом с 3 дня испытания уже превысила норму почти 5-кратно, затем, с той же тенденцией спадала, однако к концу испытаний достигла нормы. Что же касается тех же реакций в МН СМ на стимуляции G, то здесь также не отмечалось баланса ТП и ТД, как в случае 50 Гц. К тому же, скачкообразное нарастание ТП при активации обоих нервов привело к достижению нормы на 21 день, но на 22 день выявился резкий спад до 2.3 раз, ТД же колебаясь с незначительными отклонениями в пределах нормы, к концу испытаний спала до полного исчезновения. Не исключено, что разница в эффектах большей частотной мобилизации выявила меньшую приспособленность в связи с большей ранимостью эволюционно отстоящей флексорной структуры, что и следовало ожидать. Выраженность постстимульной усредненной частоты депрессии и возбуждения, в сравнении с престимульным уровнем, в указанных экспериментальных условиях определялась в следующих пределах: на стимуляцию P (50 Гц) намечался спад ТП до 4 дня, затем подъем до 22 дня, ТП при стимуляции G выявляла подъем на 3 день, спад до нормы на 7 день, затем снова подъем выше нормы, ТД на стимуляцию P - спадала на 3 день, максимально нарастала на 4 день, затем скачкообразно спала до уровня ниже нормы, ТД при стимуляции G – также спадала на 3 день, проявила максимальный подъем на 4 день, затем резкий спад ниже нормы. Иными словами, возбуждательные постстимульные проявления в случае стимуляции обоих нервов, по своей выраженности, в целом после спада достигали нормы и выше, депрессорные же – спадая на 3 день, выдавали максимальный подъем на 4 день, затем скачкообразно спадали до нормы и ниже. В условиях стимуляции 100 Гц ТП в МН СМ, активированная P, скачкообразно нарастала до максимума к концу испытаний, ТП же, вызванная G, скачкообразно росла до 21 дня, но резко спала на 22 день. ТД в МН СМ, активированная P, выявила спад на 3 день, максимальный подъем на 4 день, затем резкий спад ниже нормы, ТД, вызванная G,

проявила резкий спад на 3 день, максимальный подъем на 4 – 5 дни и снова резкий спад до 0 к 22 дню. Иными словами, ТП на стимуляцию обеих нервов скачкообразно нарастала до 21 дня испытаний, но с той разницей, что в случае а G завершалась резким спадом к 22 дню. ТД на стимуляцию Р на 4 день почти вдвое превысила норму, но затем так же резко пала ниже нормы. ТД при стимуляции G также на 4 и 5 дни испытаний достигла высоких значений, однако затем резко пала до 0. Провели сравнительный анализ показателей нейрональной активности МН СМ у интактных крыс и крыс с острой и хронической паратиреоидной недостаточностью. Как правило на 3-7 дни после паратиреоидэктомии развивалась острая тетания, при которой отмечалось достоверное понижение содержания ионизированного кальция в сыворотке крови до $0,491 \pm 0,01$ (против $2,744 \pm 0,07$ ммоль/л) и повышение уровня фосфора до $3,216 \pm 0,1$ (против $2,744 \pm 0,07$ ммоль/л). В случаях отсутствия острых проявлений паратиреоидной недостаточности, процесс переходил в латентную стадию, при которой, как правило, превалировали трофические (обменные) нарушения с относительной нормализацией кальций-фосфорного метаболизма ($Ca^{2+} - 0,903 \pm 0,05$ ммоль/л и $P - 2,30 \pm 0,04$ ммоль/л) и скрытыми двигательными расстройствами, проявляющимися при нанесении различных раздражений (световых, звуковых и др.).

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

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ СООТНОШЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЬНЫХ И ДЕПРЕССОРНЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В МОТОНЕЙРОНАХ СПИННОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ ПАРАТТРОМОНА

В целом, зарегистрировано 175 нейронов СМ, из коих 122 нейрона в условиях ежедневного системного введения ПТГ и 53 нейрона в норме.

Он-лайн регистрация и программный математический анализ импульсной активности выявил, что фоновая активность флексорных МН СМ в условиях введения ПТГ лишь на 7-8 дни превышала норму 1.8 раз, снижаясь к 14 дню и несколько превышая норму на 21-23 дни (лишь однократно), в то время как таковая экстензорного МН несколько превышала норму (1.2-кратно) и также снижаясь к 14 дню, фактически достигая уровня несколько выше нормы.

Анализ изменений величины превышения или снижения престаимпульного уровня фоновой активности (ТП и ТД, соответственно) усредненных перистимульных, кумулятивных гистограмм и таковых частоты на ВЧС (50 и 100 Гц) G и P в последовательности ТП ПТП и ТД ПТД выявил следующее. Согласно РЕТН на ВЧС G 50 Гц к 7-8 дням испытаний ТП 1.27 раз превышала норму, приближаясь к ней на 14 день и далее снижаясь на 21-23 дни до 1.33 раз. При ВЧС 100 Гц G на 7-8 дни ТП превышала норму в 1.4 раза, к 14 дню снижалась до 1.33 раз и к 21-23 дням превышала норму в 1.2

раза. На ВЧС 50 Гц Р к 7-8 дням ТП в 2.33 превышала норму, приближаясь к норме на 14 день и увеличиваясь до 1.5 раз на 21-23 дни (рис.3).

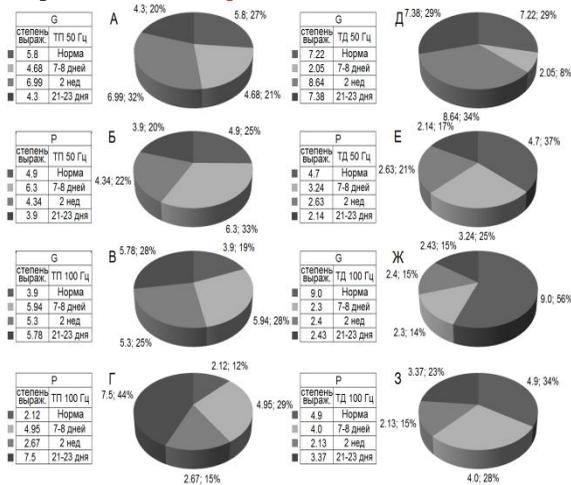


Рис. 3. Процентное соотношение степени выраженности тетанических возбудительных (А-Г) и депрессорных (Д-З) эффектов в одиночных МН СМ на ВЧС флексорного – G (А, В, Д, Ж) и экстензорного – Р (Б, Е, Г З) нервов в условиях хронической инъекции ПТП, по сравнению с нормой.

При ВЧС 100 Гц Р на все дни испытаний ТП была выше нормы в 3.1, 1.44 и 2.33 раза, соответственно. Иными словами, в сравнении с нормой, имело место резкое превышение уровня фоновой активности МН СМ на тетаническую стимуляцию обоих нервов. ТД на ВЧС 50 Гц G к 7-8 дням превышала норму в 1.5 раза, к 14 дню – снижалась, к 21-23 дням превышала норму в 1.66 раз. ТД при ВЧС 100 Гц G к 7-8 дням достигала уровня 1.12 раз выше нормы, на 14 день – сравнивалась с нормой и далее снижалась до 1.33 раз. При ВЧС 50 Гц Р ТД на 7-8 дни исчислялась в пределах 3–4.5–кратного снижения, т.е. приближенных к норме, затем ТД достигала 2.5–кратного и 3–кратного снижения на 14 и 21-23 дни испытаний, соответственно, т.е. не достигала нормы. Наконец, ТД при ВЧС 100 Гц Р на 7-8 дни превышала норму в 2.33 раз, на 14 день равнялось норме, а на 21-23 дни устанавливалось в 1.5 раза ниже нормы. Таким образом, наблюдалось резкое снижение тормозных процессов. Ранние тормозные постстимульные эффекты к концу испытаний, в случае активации G, лишь несколько превышали норму, а Р – наоборот, спадали. Наконец, ПТП при ВЧС 50 и 100 Гц обоих нервов, как правило, сопровождала ТП, в то время как ТД, как и в норме сопровождалась ПТД, и лишь на ВЧС 100 Гц, за исключением 14 дня, переходила в ПТП.

Согласно гистограммам суммы спайков и усредненной частоты (до и после стимуляции), ТП при активации G на 7-8 дни, будучи ниже нормы при ВЧС 50 Гц, достигала почти 6-кратного превышения нормы при ВЧС 100 Гц, на 14 день имелось превышение в пределах 1.2 и 5.3-кратного, а на 21-23 дни порядка 1.3–кратного занижения и 6-кратного превышения. ТД при ВЧС G 50 Гц достигала 3.6-кратного занижения и 1.2-кратного превышения – на 7-8 и 14 дни, соответственно, достигая нормы к 21-23 дням, в то время

как ТД на ВЧС 100 Гц на все дни испытаний была занижена в пределах близких к 4-кратному. При ВЧС 50 Гц Р ТП от 1.3-кратного завышения на 7-8 дни достигала 1.2-кратного занижения уже к 14 и последующим дням, в то время как при ВЧС 100 Гц на все дни испытаний превышение нормы ТП колебалось в пределах 1.3-3.6 раз. ТД нерва Р на все дни испытаний, как при ВЧС 50, так и 100 Гц не достигала нормы. Иными словами, имелось резкое снижение тормозных процессов. Однако, имело место параллельное, хотя и менее выраженное, не достигающее нормы, повышение депрессорных реакций, в частности на ВЧС 50 Гц G и ВЧС 100 Гц P к концу испытаний (рис. 4).

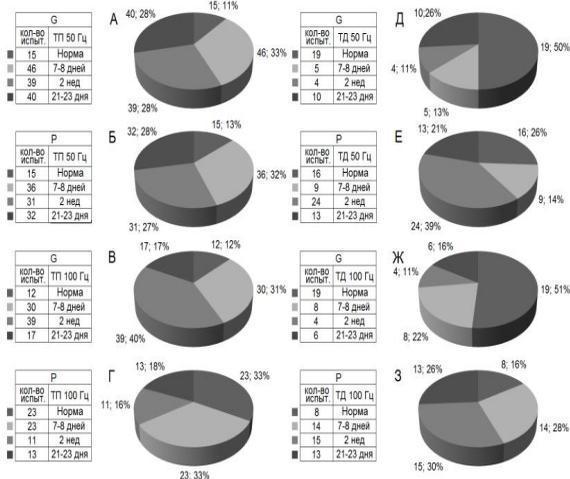


Рис. 4. Процентное соотношение количества тетанических возбудительных (А-Г) и депрессорных (Д-З) эффектов в одиночных МН СМ на ВЧС флексорного – G (А, В, Д, Ж) и экстензорного – P (Б, Е, Г З) нервов в условиях хронической инъекции ПТГ, по сравнению с нормой.

Для окончательного заключения, на основе соответствующих подсчетов по степени выраженности (рис.3, 4) разнонаправленных постстимульных депрессорных и возбудительных реакций, в сравнении с нормой, в вышеотмеченные сроки испытаний в условиях хронической инъекции ПТГ, составлены дисковые диаграммы процентного соотношения возбудительных и тормозных эффектов в МН СМ на ВЧС нервов G и P в разные сроки после регулярного в/мышечного введения ПТГ, подтверждающие вышеотмеченное заключение о резком снижении тормозных постстимульных тетанических и посттетанических проявлений активности и мощном повышении таковых возбудительных.

МОРФОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ В СТРУКТУРАХ МОЗГА У ПАРАТИРЕОПРИВНЫХ КРЫС

По сравнению с нормой в пирамидном слое коры больших полушарий мозга у ПТЭ крыс выявляется набухание ядер клеток, отсутствует реакция отростков, а в полиморфном слое коры мозга - изменение формы и размеров клеток.

Нейроны CA1 слоя и крупные пирамидные клетки гиппокампа интактной крысы выявляются с длинными отростками. В CA3 и CA1 слоях гиппокампа в условиях ПТЭ наблюдается округление тел нейронов с явлениями центрального хроматолиза. По сравнению с нормой, в условиях ПТЭ показан центральный хроматолиз в ядре Мейнерта и в амигдале. В горизонтальных срезах поясничного отдела СМ в норме МН выявляются с длинными отростками, а осадок фосфата свинца в виде гранул распределен в цитоплазме и отростках, причем наиболее интенсивно окрашивается цитоплазма вокруг ядра. В условиях ПТЭ обнаружено отсутствие реакции отростков, наличие МН схожих с таковыми интактных крыс и пикноморфные нейроны. К тому же, в данном отделе СМ встречаются как нейроны схожие с таковыми интактных крыс, хотя без выявления отростков, так и пикноморфные клетки, что присуще тяжелой форме поражения. На фронтальных срезах вблизи конского хвоста в условиях ПТЭ наблюдается активация микроглии, проявляющаяся в фагоцитарном поведении с целью удаления нейронального мусора от погибших нейронов и обнаружено скопление ядер глиальных клеток (сформированные микроглиальные узелки – нодули) вокруг дегенерированных МН, состоящее из микроглиальных фагоцитов. Микроглия трансформируется в макрофаги мозга, которые способны разрушить повреждённые клетки, патогены, клеточный мусор и присутствующие антигены, чтобы активировать Т-клетки, путешествующие через нервную систему [Raff M. et al. 1993]. Вероятно, реактивные глиоциты, меняя клеточную морфологию, предохраняют интактную ткань от инфекции. На фронтальных срезах поясничного отдела СМ обнаруживаются дегенерированные интернейроны, схожие с таковыми интактных крыс, и группы МН, у которых наблюдается тенденция к контактированию друг с другом посредством отростков. На фронтальных срезах поясничного отдела СМ после ПТЭ показана реакция расширенных сосудов микроциркуляторного русла, в белом веществе видны мигрирующие деформированные нервные клетки. Вокруг центрального канала показано скопление пикноморфных дегенерированных клеток. Представляют интерес результаты исследований последних лет в области гипопаратиреоза и связанных с ним патологических сдвигов в нервной, мышечной и костной системах. Как было отмечено выше, термин гипопаратиреоза отражает группу заболеваний в которых уровни экстраклеточного Ca^{2+} не могут быть поддержаны в пределах нормы из-за относительного или абсолютного дефицита ПТГ, что ведет к гипокальцемии и гиперфосфатемии, результирующей преимущественно в нервно-мышечную дисфункцию. Представляют интерес последние данные по изучению роли идиопатической гипокальцемии в миопатии и ее патогенеза гистологическим методом. В целом, пациенты с идиопатической гипокальцемией имели некоторые неспецифические гистологические изменения в скелетных мышцах, обратные взаимоотношения между сниженным уровнем плазменного Ca^{2+} и повышенным уровнем плазменных мышечных энзимов, которые были отнесены к гипокальцемии. К тому же, тяжесть изменений в мышцах зависит не только от ее степени, но и длительности гипокальцемии [Dai C. et al., 2012]. Вокруг центрального канала показано скопление пикноморфных дегенерированных клеток.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ПТГ, как установлено [Костюк П. и соавт. 1990; Khudaverdyan D. & Ter-Markosyan A., 2000] является важнейшим модулятором функциональной активности нейрона, выступающего в качестве мишени для действия гормона. Следует признать крайне важным, исследование функциональной активности нейронов при нарушении Ca^{2+} гомеостаза, вызванного нарушением синтеза ПТГ. Несмотря на множество исследований в области гипокальцемии, остаются окончательно неразрешенными механизмы резкого повышения возбудимости нейронов после ПТЭ, проявляющиеся как в фоновой, так и вызванной активности. Более того, нуждаются в детализации динамика развития указанных изменений не только в ближайшие, но и в поздние сроки после ПТЭ, а также нейронные механизмы указанных сегментарных нарушений. Предполагается возможность отнесения повышения частоты активности к возникновению таковой пейсмейкерной эндогенной, за пределами возможной синаптической ответсособности, с учетом электрических констант нейронов. Эти данные делают необходимым дальнейшее исследование роли нарушенного Ca^{2+} гомеостаза, а также ПТГ в клеточных механизмах формирования выявленных системных нарушений при тетании. Наконец, заслуживают внимания исследования указанных рефлекторных реакций и нейронных механизмов формирования в условиях латентной тетании (хронического гипопаратиреоза), что важно в плане их прикладной, клинической значимости. В связи с вышеизложенным, становится очевидной необходимость экстра- и внутриклеточного исследования функционального состояния нейронов СМ при тетании. Эти исследования, наряду с изучением эффектов ПТГ и Ca^{2+} на активность спинальных нейронов, позволят с одной стороны оценить роль ПТГ и нарушенного Ca^{2+} -фосфорного метаболизма в деятельности ЦНС, а с другой - раскрыть клеточные механизмы формирования сегментарных локомоторных нарушений при тетании. Таким образом, важная роль Ca^{2+} гомеостаза и регулирующих его механизмов в обеспечении нормальной деятельности нейронов, делает первостепенными исследования причин нарушений функционирования нейронов, в условиях Ca^{2+} дисгомеостаза.

В первой серии настоящих исследований у нормальных крыс и таковых с паратиреопривной (гипокальцемической) тетанией после ПТЭ получены возбуждающие и депрессорные постстимульные тетанические и посттетанические проявления активности МН СМ крыс на ВЧС экстензорного (Р) и флексорного (G) коллатеральных ответвлений седалищного нерва в норме и в динамике развития острой (3-7 дни) и хронической (21-22 дни) паратиреопривной тетании. Проведен сравнительный анализ ФА, тетанического и посттетанического повышения и снижения частоты ответов МН СМ. Производили on-line селекцию и программный анализ спайковой активности. Отводили тетаническую и посттетаническую потенциацию и депрессию. Использовали усредненные перистимульные гистограммы межспайковых интервалов, кумулятивные гистограммы числа спайков и гистограммы средней частоты. В целом, полученные результаты сводились к следующему. На 3-7 и 21-22 дни развития острой и хронической тетании, соответственно, регистрировали значительные сдвиги тетанической и посттетанической активности МН без значимых изменений в ФА. Наряду с резким усилением

постстимульных возбуждательных проявлений активности на ВЧС в период развития острой тетании, наблюдалось их относительное ослабление у животных с хронической тетанией. Одновременно отмечалось ослабление или полное исчезновение депрессорных реакций в период развития острой тетании, с их некоторой стабилизацией у животных с латентной тетанией. Сделано заключение о причинно-следственной зависимости двигательных расстройств при паратиреоидной недостаточности от нарушения соотношения тормозно-возбуждательных процессов в МН СМ. Иными словами, с развитием патологии отмечалось резкое возрастание возбуждательных и ослабление депрессорных эффектов, но к концу испытаний лишь депрессорные эффекты достигали нормы. ПТП и ПТД МН на ВЧС обеих нервов, как и в норме, сопровождали ТП во все сроки испытаний. ТД же МН на ВЧС G переходила в ПТП в ранние дни и ПТД – в поздние, а Р – в равной степени в оба срока, в то время как в норме ТД от обоих нервов переходили в ПТП на 100, а в ПТД – 50 Гц.

Обнаруженные изменения могут явиться следствием процессов, разыгрывающихся как на уровне мембранной проницаемости МН, так и механизмов их синаптической активации. Известно, что уменьшение ионов кальция в окружающей среде сопровождается нарушением мембранной проницаемости Na/Ca обменного механизма с выходом Ca^{2+} и входом Na в цитоплазму, в конечном счете приводящего к деполяризации клеточных мембран и повышению возбудимости клеток [Костюк П., 1986]. Принято считать, что подобный механизм лежит в основе гипервозбудимости нейронов и фибриллярных сокращений мышц при паратиреопривной гипокальцемической тетании. Исходя из этого не исключено, что обнаруженная нами активация возбуждательных феноменов (ТП и ПТП) в условиях тетании может быть связана с деполяризацией мембран МН, уменьшением уровня критической деполяризации, а соответственно и порога их возбуждения с повышением возбудимости и способностью к воспроизведению более высоких ритмов раздражений. С другой стороны, обнаруженное нами усиление ТП и ПТП может быть следствием активации синаптических процессов. На самом деле, как показано нами при паратиреопривной гипокальцемии [Худавердян Д., 1978], подобное наблюдается в условиях одиночных афферентных раздражений. Однако, обстоятельства изменяются в условиях ритмических афферентных посылок. Как установлено [Худавердян Д., 1978] методом тестирования моносинаптических реакций СМ, высокочастотное раздражение G и Р приводит к усилению их воспроизводимости пулами МН СМ. Подобный эффект в условиях паратиреоидной недостаточности является следствием перераспределения и накопления ионов кальция в митохондриях нейронов и пресинаптических окончаниях [Худавердян Д. и соавт., 1984; Тер-Маркосян А. и соавт., 1987] с их включением в механизмы синаптической активации при ритмических раздражениях.

Таким образом, выявленное нами в условиях острой и хронической паратиреопривной тетании усиление возбуждательных процессов в МН СМ, укладывается в механизмы таковых, разыгрывающихся при данной патологии. В заключение, следует признать, что несмотря на множество проведенных исследований, остаются неразрешенными механизмы резкого повышения возбудимости нейронов после ПТЭ. Более того, нуждаются в детализации особенности изменения функциональной активности нейронов двигательной системы в динамике развития паратиреопривной недостаточности. В настоящей работе

предпринято изучение функционального состояния МН СМ - конечного звена запуска моторных реакций – в условиях острой и хронической (латентной) паратиреопривной тетании.

Представляет интерес оценка соотношения степени выраженности и динамики нарастания во времени депрессорных и возбудительных реакций. Следует коротко остановиться на недавних изучениях в этом направлении. Нейрональная активность и пластичность нарушаются при изменении уровня Ca^{2+} сигнала эндоплазматического ретикулума (ЭР). Влиятельным механизмом синаптической пластичности является переключение длительной тетанической потенциации в депрессию – «switch LTP to LTD» - путем регулирования локальных запасов Ca^{2+} ЭР, что показано на примере инозитол трифосфатом-IP3 (inositol-1,4,5-trisphosphate) вызванной модуляции синаптической пластичности, посредством кратковременного повышения Ca^{2+} через потенциал-зависимые каналы [Stutzmann G. et al., 2004]. К тому же, Ca^{2+} ЭР обслуживает множество функций, включая модуляцию синаптических входов и пластичность [Fujii S. et al., 2000]. Ранее была описана ПТП ТПСП посредством аккумуляции Ca^{2+} в пресинаптических терминалях, что усиливает вероятность высвобождения ГАМК-везикул. При этом, использование баклофена, ингибитора пресинаптического проникновения Са через N и P/Q-типа электрогенные Ca^{2+} каналы (ЭКК), приводило к трехкратному повышению ПТП, в отличие от уменьшения Ca^{2+} , причиняющего неспецифическое снижение вхождения Ca^{2+} [Jensen K. et al., 1999]. Теми же авторами показан новый пресинаптический регуляторный механизм в быстрых синапсах ЦНС, связанный с вовлечением L-типа каналов. Продемонстрирована роль пресинаптических L-типа Ca^{2+} каналов в ГАМК-эргической синаптической передаче в культуре гиппокампальных нейронов, посредством патч-кламп регистрации моносинаптических ГАМК-эргических ТПСП. Причем, L-типа ЭКК не участвуют в низкочастотном синхронном высвобождении передатчика, но имеют вклад в аккумуляцию пресинаптического Ca^{2+} в течение высокочастотной активации, что помогает поддержать высвобождение везикул в течение тетанической стимуляции, а также усилить вероятность высвобождения медиатора в течение посттетанического периода с формированием ПТП [Jensen K. et al., 1999].

Показаны нарушения коммуникативных связей различных нейротрансмиттерных систем, в частности, между глутамат- и ГАМК-эргической системами. Углубление депрессорных тетанических реакций, по-видимому, является следствием выдвигания их в качестве несущих протекторную нагрузку в начальной стадии восстановления. Подтверждением предположения о универсальном протекторном назначении ГАМК-эргического торможения служат также данные, свидетельствующие о том, что в некоторых системах в течение развития нервной системы ГАМК действует в качестве фактора, влияющего на пролиферацию, миграцию, дифференциацию и созревание синапса, а также клеточную гибель и экспрессию рецептора ГАМК_A [Cuppini R. et al., 2002]. Полагается далее, что ГАМК и глицин могут играть важную и возможно изменяющуюся роль и в зрелой центральной вестибулярной системе [Owens D. & Kriegstein A., 2002]. В свою очередь, установлена решающая роль событий, опосредованных ГАМК рецептором в нейронах вестибулярных ядер, при восстановлении функции после односторонней лабиринтэктомии [Johnston A. et al., 2001; Tighilet B. & Lacour M., 2001; Giardino L. et al.,

2002]. Более того, современные изучения на клеточном и сетевом уровнях доказывают, 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]. Согласно последним данным, депрессорные реакции интенсивнее вовлекаются как при неспецифической (периферической, центральной) так и специфической нейродегенерации в различных отделах мозга [Саркисян Дж. и соавт., 2003; 2004; 2005; Sarkissian J. et al., 2007; Galoyan A. et al., 2008; 2010; Yenkovyan et al., 2011].

Таким образом, наряду с резким увеличением в условиях острой тетании возбудительных постстимульных проявлений активности в МН СМ, имело место ослабление депрессорных, которые в условиях латентной тетании обнаруживали тенденцию восстановления. Это свидетельствует о необходимости соответствующей фармакологической интервенции, с целью усиления протекторной активности депрессорных реакций и восстановления нормального соотношения постстимульных возбудительных и депрессорных реакций.

Во второй серии экспериментов с хроническим введением ПТГ получены возбудительные и депрессорные постстимульные тетанические и посттетанические проявления активности МН СМ на стимуляцию экстензорного и флексорного коллатеральных ответвлений седалищного нерва, в динамике развития гиперкальцемии после хронического системного введения ПТГ спустя 1-3 нед. В общем, полученные в настоящем исследовании результаты, в сравнении с нормой, сводились к следующему. Фоновая активность флексорных МН СМ в условиях введения ПТГ лишь на 7-8 дни превышала норму, снижаясь к 14 дню и несколько превышала норму на 21-23 дни, в то время как таковая экстензорного МН превышала норму и также снижаясь к 14 дню, фактически достигала уровня нормы и выше. ТП при ВЧС 50 Гц G, от превышения на 7-8 дни достигала занижения к 21-23 дням, в то время как ТП на ВЧС 100 Гц G, превышала норму к 7-8 дням в, настолько же снижалась к 14 дню и снова повышалась к 21-23 дням. При ВЧС 50 Гц P ТП, на все дни испытаний превышала норму, на ВЧС 100 Гц - снижалась, а также к концу испытаний на ВЧС 50 Гц. ТД при ВЧС 50 Гц G на 7-8 и 21-23 дни превышала норму, снижаясь к 14 дню, а на 100 Гц, будучи равной норме к 7-8 дням и ниже - к 14 дню, к 21-23 дням превышала норму. ТД на ВЧС 50 Гц P от незначительного превышения нормы к 7-8 дням, достигала занижения к 21-23 дням, в то время как при ВЧС 100 Гц от превышения нормы на 7-8 дни снижалась до на 21-23 дни. Иными словами, имелось резкое снижение тормозных процессов. Наконец, ПТП при ВЧС 50 и 100 Гц обеих нервов, как правило, сопровождала ТП, в то время как ТД, как и в норме сопровождалась ПТД, и лишь на ВЧС 100 Гц, за исключением 14 дня, переходила в ПТП.

Гиперпаратиреоз может также быть ятрогенного происхождения, обязанный усиленному потреблению неорганических фосфатов при наследственном гипофосфатемическом рахите или хроническом дефиците витамина D [Tonini G. et al., 2004]. Система витамина D-Са сложная система, включающая прекурсоры, активные метаболиты, ферменты и рецепторы. Эта система активирует отдельные молекулярные пути и опосредует множество функций. Более того, для классической роли в кальциевом и скелетном гомеостазе, витамин D участвует и в «не-кальциемических» эффектах в совокупности

проявлений защиты, воспаления, иммунности, и раковых процессах как рекогносцировали в *in vitro* и *in vivo* изучениях [Vuolo L. et al., 2012]. Предлагается терапия бифосфонатами, но не исключается рекомендация хирургии [Prete C. et al., 2005]. Изучена гиперкальциемией вызванная обратимая мозговая вазоконстрикция, сопровождаемая судорогами [Chen T. et al., 2004]. Представляет интерес, что при рассеянном склерозе показано периодическое определение потребления витамина D3, кальция, магния и измерение плазменного 25(OH)D, ПТГ, уровней Ca, Uca/Cr в качестве интегрального менеджмента [Barbara M. et al., 2012]. К тому же, пациенты с рассеянным склерозом, в силу недостаточности витамина D должны быть поддержаны применением умеренных его доз [Pierrot-Deseilligny C. et al., 2013]. Наконец, для редукции концентрации кальция крови при гиперкальциемии и для улучшения массы скелета при остеопорозе в качестве лечения признан кальцитонин. Имеются клинические сообщения о его аналгезическом эффекте. На овариэктомированных (OVX) крысах обнаружены одни и те же гормональные изменения как и у людей с постменопаузным остеопорозом. Применением иммуногистохимического изучения у OVX крыс исследовали антиноцицептивный эффект кальцитонина и пришли к заключению, что: 1) повышение c-Fos можно отнести к гиперальгезии. 2) кальцитонин имеет антиноцицептивный эффект как у OVX, так и шам крыс. 3) в антиноцицептивных свойства кальцитонина вовлекается центральная серотонинергическая система [Takayama B. et al., 2008].

Наконец, в третьей серии экспериментов с морфогистохимическим изучением изменений в структурах мозга у паратиреопривных крыс было обнаружено, что в коре головного мозга, гиппокампе, амигдале и ядре Мейнерта морфологическая картина является выражением ответной реакции на различные патологические воздействия экзо- и эндогенного происхождения и присуща неспецифическим нейрональным поражениям. В пирамидном слое коры мозга наблюдается набухание ядер клеток, отсутствует реакция отростков, в полиморфном слое - изменение формы и размеров клеток. В CA1 и CA3 обнаружено округление тел нейронов Поражение нейронов амигдалы и я. Мейнерта идет преимущественно по типу центрального хроматолиза. В поясничном отделе СМ обнаружены отсутствие реакции отростков, пикноморфные нейроны, присущие тяжелой форме поражения и реакция расширенных сосудов микроциркуляторного русла. Специфической является реакция нейронов СМ в области отхождения конского хвоста, заключающаяся в активации микроглии.

Ранее, в морфо-гистохимических и электронномикроскопических исследованиях проф. Д.Н. Худавердяна [Худавердян Д., 1984] были получены аналогичные изменения в межпозвоночных узлах и переднем роге СМ у кошек. Согласно морфо-гистохимическому анализу в больших и средних нейронах межпозвоночных узлов были выявлены явления центрального хроматолиза, периферическое распределение ядра, набухание, сморщивание и сателлитоз. Было показано преобладание нейронов с тотальным и краевым хроматолизом, эктопией ядра и ядрышка. Причем набухание, краевой хроматолиз, сморщивание и сателлитоз чаще проявлялись в больших нейронах, а в средних - центральный хроматолиз, периферическое расположение ядра и гиперхроматоз. Далее, при легкой степени тетании в межпозвоночных узлах имели место преобладание центрального хроматолиза и периферическое распределение ядра, при

тяжелой степени тетании – нарастание дистрофических и деструктивных процессов – увеличение количества клеток с тотальным и краевым хроматоллизом, сморщиванием и сателлитозом. Передних рогов СМ при легкой тетании выявлялись единичные гипертрофированные МН с крупными овальными ядрами цитоплазмой богатой РНК и аминокруппами, свидетельствующие о повышенном функциональном состоянии. При тяжелой тетании в крупных и мелких нейронах передних рогов СМ преобладали гипертрофированные, гиперимпрегнированные клеточные элементы с высоким содержанием рибонуклеотидов в цитоплазме и ядрышках. К тому же, в крупных клетках чаще выявлялись набухание, сморщивание и нейронофагия, а также явления дистрофии и деструкции в отростках в виде четковидных утолщений, фрагментов распада и исчезновения шиповидных выростов. Интернейроны оказались более устойчивыми. Наконец, электронномикроскопическое изучение гипертрофированных нейронов выявило активацию ядерного аппарата и цитоплазматических органелл, повышенную плотность и осмиофилию ядра с ядрышком, большое количество рибосом в цитоплазме и увеличение количества митохондрий вблизи ЭР. В заключение, результаты настоящего исследования согласуются с предыдущими данными полученными на кошках [Худавердян Д., 1984] и свидетельствуют о вовлечении сегментарного аппарата СМ в патогенез паратиреоприивной тетании.

ВЫВОДЫ

1. Обнаружена причинно-следственная зависимость двигательных расстройств при паратиреоидной недостаточности от нарушения соотношения тормозно-возбудительных процессов в МН СМ. При этом, наряду с резким усилением возбудительных процессов и ослаблением (снятием) тормозных в период острой тетании, наблюдалось их соответствующее ослабление и усиление (стабилизация) при хронической тетании.
2. Обнаружена скачкообразность изменения соотношения ТП и ТД в динамике развития разнонаправленных синаптических процессов в МН СМ от 3 до 22 дня после паратиреоидэктомии с прогрессивным снижением депрессии и повышением возбуждения в ранние сроки развития тетании и компенсаторной стабилизацией в поздние, в то время как в норме их соотношение проявлялось в фактическом балансе.
3. В условиях длительного в/м введения ПТГ феномен тетанической потенциации ответов МН СМ при раздражении флексорного нерва частотой 50 Гц усиливался на 7-8 дни и ослабевал к 21-23 дням, а при 100 Гц-превышал норму во все сроки исследования с некоторым снижением на 14 день. Тетаническая потенциация в ответ на раздражение экстензорного нерва частотой 50 и 100 Гц проявлялась усилением на 7-14 дни и ослаблением в конечные сроки введения гормона.
4. Фоновая активность флексорных и экстензорных МН СМ у животных с тетанией существенно не менялась, в то время как в условиях длительного, ежедневного в/м введения физиологических концентраций ПТГ (1.0 мл 10^{-9} М) характеризовалась повышением на 7-8 дни, снижением к 14 дню. На 21-23 день указанный показатель флексорных МН несколько возрастал, а у экстензорных – возвращался к норме.

5. Обнаруженные морфологические изменения в мозге у крыс с паратиреопривной тетанией в основном несут неспецифический характер (набухание ядер, изменение формы и размера клеток, хроматолиз), а в различных структурах мозга (кора, миндалина, ядро Мейнерта, гиппокамп) отличаются степенью их выраженности. Изменения на уровне поясничного отдела СМ характеризуются наличием пикноморфных клеток, расширением сосудов микроциркуляторного русла, характерных для тяжелых форм поражения ЦНС, а также специфической реакцией нейронных популяций в области конского хвоста в виде активации микроглии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Худавердян Д.Н., Аветисян К.А., Чавушян В.А., Саркисян Дж.С. Динамика изменения частоты одиночной активности нейронов спинного мозга у паратиреоидэктомированных крыс. Матер. VI Межд. конф. «Психофизиологические и висцеральные функции в норме и патологии», посв. 170-л каф. Физиологии чел. и жив. и 100-л школы электрофизиологии Киевского университета, Киев. 9-11 окт. 2012. с.41.
2. Худавердян Д.Н., Аветисян К.А., Чавушян В.А., Саркисян Дж.С. Динамика изменения частоты одиночной активности нейронов спинного мозга в условиях гиперпаратиреоза у крыс. Матер. VIII Всероссийская конф. с межд. участием, посв. 220-л со дня рожд. акад. К.М. Бэра, «Механизмы функционирования висцеральных систем», Санкт-Петербург, Россия, 25-28 сент. 2013. с.20.
3. Khudaverdyan D.N., Avetisyan K.A., Chavushyan V.A., Sarkisian V.H., Sarkissian J.S. Correlation of Excitatory and Depressive Synaptic Processes in Spinal Cord Motoneurons in Hypocalcemia Development Dynamics in Parathyroidectomized Rats // The New Armenian Medical Journal. 2013, v.7, № 1, p.52-70.
4. Аветисян К.А. Морфогистохимическое изучение изменений в структурах мозга у паратиреопривных крыс // Медицинская наука Армении. 2013, т. LIII, № 4, с.112-121.
5. Худавердян Д.Н., Аветисян К.А., Чавушян В.А., Саркисян Дж.С. Электрофизиологический анализ функционального состояния мотонейронов спинного мозга у крыс с паратиреопривной тетанией // Росс. Физиол. журн. им. Сеченова. 2014, №5, с.555-580.
6. Худавердян Д.Н., Аветисян К.А., Чавушян В.А., Саргсян В.А., Саркисян Дж.С. Динамика изменения соотношения возбудительных и депрессорных синаптических процессов в мотонейронах спинного мозга в условиях введения паратгормона у крыс// Вопросы теоретической и клинической медицины. 2014, т.16, №5, с.30-37.

ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ ԿԱՐԻՆԵ ԱՎԵՏԻՄԻ

ՇԱՐԺՈՂԱԿԱՆ ԽԱՆԳԱՐՈՒՄՆԵՐԻ ՈՂՆՈՒՂԵՂԱՅԻՆ ՆԵՅՐՈՆԱՅԻՆ ՍԵՆՍԱՆԻԶՄՆԵՐԸ ՊԱՐԱԹԻՐԵՈՒՂ ԱՆԲԱՎԱՐԱՐՈՒԹՅԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Իրականացվել են **կիսաքրոնիկական** փորձեր պարաթիրեոիդեկտոմիայի պայմաններում: 3-7 և 21-22 օր անց նովոկաինի ազդեցության տակ և դիտիլինով անշարժացման պայմաններում ստացվել է մեկուսացված ողնուղեղ (ՄՈ) հատելով այն T2-T3 մակարդակում: Կատարվել է ՄՈ-ի L4-L5 սեգմենտների շարժիչ նեյրոնների (ՇՆ) ակտիվության գրանցում ի պատասխան հետին վերջույթների ծալիչ (n. Gastrocnemius, G) և տարածիչ (n. Peroneus communis, P) նյարդերի բարձրահաճախ խթանման (ԲՀԽ, 1 վրկ): Գրանցվել են տետանիկ (ՏՊ, ՏԴ) և հետտետանիկ (ՀՏՊ, ՀՏԴ) պոտենցիալացիա և դեպրեսիա: Հետազոտակային ակտիվության վերլուծությունը իրականացվել է պարպումների on-line ընտրության և ծրագրային մշակման միջոցով: Օգտագործվել են միջպարպումային ինտերվալների միջին **փերի-իվենթ** ժամանակային հիստոգրամներ (PETH), պարպումների թվաքանակի կուտակային և միջին հաճախությունների հիստոգրամներ: Գրանցվել է 295 նեյրոն: Ծալիչ ՇՆ ֆոնային ակտիվությունը (ՖԱ) նվազել է 3-րդ օրը, իսկ 4-5 օրերից սկսած աստիճանաբար աճել է մինչև 1,5 անգամ, իսկ 22-րդ օրը սկսել է նվազել: Տարածիչ ՇՆ ֆոնային ակտիվությունը՝ աճելով 4-րդ օրից սկսած, նվազել է մինչև ելման արժեքը 22-րդ օրում: ՇՆ ՏՊ-ն G նյարդի 50Հց ԲՀԽ դեպքում մոտենում է նորմային (N), իսկ 100Հց-ի դեպքում ստուգման բոլոր օրերին ՏՊ-ն բարձր էր N-ից աստիճանաբար մեծանալով մինչև 4.7 անգամ: P նյարդի 50Հց ԲՀԽ դեպքում սկսած 7-րդ օրից ՇՆ ՏՊ-ն նորմայի համեմատ բարձրանում է մինչև 1.6 անգամ, իսկ 100Հց-ի դեպքում արդեն 3-րդ օրը գերազանցելով նորման աստիճանաբար աճում է մինչև 22-րդ օրը, ինչպես G նյարդի դեպքում: G նյարդի 50Հց ԲՀԽ դեպքում միայն 22-րդ օրը ՇՆ ՏՊ-ն մոտենում է նորմային, իսկ 100Հց դեպքում ստուգման բոլոր օրերին ՏՊ-ն բարձր էր նորմայից, աստիճանաբար ցուցաբերելով 4.7 անգամյա աճ: Ընդհանուր առմամբ պաթոլոգիայի խորացմանը զուգահեռ նկատվում է դրդիչ և արգելակիչ ազդեցությունների կտրուկ աճ, սակայն ստուգման վերջում միայն դեպրեսոր ազդեցություններն են հասնում նորմային: ՇՆ ՊՏՊ և ՊՏԴ երկու նյարդերի ԲՀԽ դեպքում ինչպես նորման ուղեկցում են ՏՊ բոլոր օրերին: ՇՆ ՏԴ G նյարդի ԲՀԽ դեպքում վերափոխվում է ՊՏՊ-ի սկզբնական օրերին և ՊՏԴ -ի վերջին օրերին, իսկ P նյարդի դեպքում բոլոր օրերին, մինչդեռ նորմայում ՏԴ երկու նյարդերի համար էլ վերափոխվում ՊՏՊ-ի 100 և ՊՏԴ-ի՝ 50 ՀՀց դեպքում:

Առնետների մոտ ՄՈ-ի ՇՆ-ի դրդող եւ ընկճող սինապսային պրոցեսների փոխհարաբերության փոփոխության դինամիկան պարաթիրոմի ներարկման պայմաններում ուսումնասիրելու համար կատարվել են կիսաքրոնիկական փորձեր՝ պարաթիրոմի համակարգված ներարկման պայմաններում: Առնետների մոտ դիթիլինային անշարժացման և նովոկայինային անզգայացման պայմաններում կատարվել է ողնուղեղի հատում կրծքային 2-3-րդ ողերի մակարդակում և ստացվել մեկուսացված ողնուղեղ: 7-8, 14 և 21-23 օրեր հետո կատարվել է ՄՈ-ի գոսկային 4-5

հատվածների ՇՆ-ի ակտիվության գրանցում՝ ԲՀԽ հետին վերջույթների G և P նյարդերը: Արտածվել են տետանիկ և հետտետանիկ ուժեղացում և ընկճում: Հետագրակային ակտիվության գրանցումը կատարվել է on-line ընտրողականությամբ և պոտենցիալների ծրագրային վերլուծությամբ: Օգտագործվել են միջպոտենցիալային ինտերվալների, պոտենցիալների քանակի գումարային և միջին հաճախականության միջինացված հիստոգրամները: Գրանցվել են 165 նեյրոններ: Պարաթորմոնի ներարկման պայմաններում ծալիչ ՇՆ-ի ՖԱ 7-8 օրերին գերազանցել է նորմային 1,8 անգամ՝ նվազման տենդենցով մինչև 14-րդ օրը, բայց այնուամենայնիվ մինչև 21-23 օրերը մնացել է նորմայից բարձր, այնինչ նույն ժամանակահատվածում տարածիչ նյարդի ԲՀԽ ՇՆ-ի ցուցանիշը 1,2 անգամ է գերազանցել N նվազման տենդենցով մինչև 14-րդ օրը, իսկ հետո կամ հավասարվել կամ մնացել է նորմայից բարձր: Ծալիչ նյարդի ԲՀԽ դեպքում (50Հց) գրանցվել է տետանիկ ուժեղացման 1,3 անգամ աճ մինչև 7-8 օրերը և նույնքան նվազում 21-23 օրերին: Մինչդեռ ԲՀԽ դեպքում (100 Հց) տետանիկ ուժեղացումը 7-8 օրերին նորմային գերազանցել է 1,4 անգամ, նույնքան նվազել է մինչև 14-րդ օրը և մինչև 21-23 օրերը աճել է 1,2 անգամ: Տարածիչ նյարդի ԲՀԽ դեպքում գերազանցել է նորմային փորձարկման բոլոր օրերին՝ 2,3-ից իջնելով 1,5 անգամ, իսկ 100Հց-ի պայմաններում՝ 3,1 անգամից մինչև 2,3 անգամ: Ծալիչ նյարդի 50Հց ԲՀԽ դեպքում տետանիկ ընկճումը 7-8 և 21-23 օրերին գերազանցել է նորմային համապատասխանաբար 1,5 և 1,6 անգամ՝ նվազման տենդենցով մինչև 14-րդ օրը, իսկ 100Հց -ի դեպքում եղել է հավասար նորմային 7-8 օրերին, ապա նվազել է մինչև 14-րդ օրը, իսկ 21-23-րդ օրերին գերազանցել է նորմային 1,2 անգամ: Տարածիչ նյարդի 50Հց -ով ԲՀԽ դեպքում նկատվում է տետանիկ ընկճման աննշան աճ մինչև 7-8-րդ օրը, 1,3 անգամ նորմայից իջնելով 21-23-րդ օրերին, իսկ 100Հց-ով 2,3 անգամ բարձրանում է նորմայից մինչև 7-8 օրը և 1,5 անգամ իջնում է 21-23 օրերին: Այլ կերպ ասած, տեղի է ունենում արգելակիչ պրոցեսների կտրուկ իջեցում: Վերջապես, երկու նյարդերը 50 և 100Հց ԲՀԽ դեպքում ստացված ՀՏՊ-ն հաջորդում է ՏՊ-ին, մինչդեռ ՏՊ-ն, ինչպես նորմայում, ուղեկցվում է ՀՏՊ-ով և միայն 100Հց ԲՀԽ դեպքում, բացառությամբ 14-րդ օրվա, փոխարկվում է ՀՏՊ-ի:

Հարվահանագերծված առնետների ուղեղի կառույցներում Ca^{2+} -կախյալ թթու ֆոսֆատազի ակտիվության հայտնաբերման մեթոդով կատարվել է ձևաբանական և հիստոքիմիական ուսումնասիրություն: Ուղեղի կեղևի բրգաձև շերտում նկատվում է բջիջների միջուկների ուռչեցում, պոլիմորֆ շերտում բջիջների ձևի և չափերի փոփոխություն, չկա էլուստների փոխազդեցություն: CA1 և CA3-ում հայտնաբերվել է նեյրոնների մարմինների կտրացում: Նշաձև և Մեյներտի կորիզների նեյրոնների վնասվածքները հիմնականում ընթանում են կենտրոնական քրոմատոլիզի տեսքով: ՄՈ-ի գոտկային հատվածում բացահայտվել է էլուստների ռեակցիայի բացակայություն, պլիկոմորֆ նեյրոններ, ԿՆՀ-ի ձիու պոչի շրջանում գրանցվել է նեյրոնային պուլերի սպեցիֆիկ ռեակցիա՝ միկրոգլիայի ակտիվացմամբ, որոնք բնորոշ են ծանր տեսակի վնասվածքներին:

AVETISYAN KARINE A.
SPINAL NEURONAL MECHANISMS OF MOTOR DISTURBANCE IN CONDITIONS
OF HYPOPARATHYROIDISM

SUMMARY

In normal rats and of those with parathyroprivous (hypocalcemic) tetany the comparative analysis of background activity (BA), tetanic and posttetanic increase and decrease of frequency of spinal cord (SC) motoneurons' (MNs) responses under high-frequency (50, 100Hz) stimulation (HFS) of flexor (G) and extensor (P) hind-limb nerves has been conducted. Semichronical experiments were conducted in conditions of bilateral parathyroidectomy purposely to reveal correlation of excitatory and depressive synaptic processes in SC MNs in the dynamics of development of hypocalcemia in parathyroidectomized rats. After 3-7 and 21-22 days was obtained an isolated SC by its transection at T2-T3 level under novocaine and immobilization by ditillinum. Registration of activity from MNs of the SC L4-L5 segments to high-frequency stimulation (HFS, 1s) of flexor (n. Gastrocnemius, G) and extensor (n. Peroneus communis, P) hind limb nerves was performed. Tetanic (TP, TD) and posttetanic (PTP, PTD) potentiation and depression were recorded. Analysis of post-stimulus activity was produced by on-line selection and program analysis of the spikes. The average **peri event** time histogram (PETH) of the interspike intervals, cumulative histograms of spikes number and average frequency histograms were used. 280 neurons were recorded. Background activity (BA) of the flexor MN decreased on the 3rd day and growing progressively from 4-5 days (up to 1.5 times) reached 1-fold underestimation on the 22nd day, while those of the extensors, growing on the 4th day, reduced to the same value on the 22nd day. At 50 Hz HFS of the nerve G only on the 22nd day TP of MN approaches norm (N), while to 100 Hz during all the days of testing TP was above N, progressively growing up to 4.7-fold exceed. To 50 Hz HFS of P nerve, starting from 7th day TP of MN increases up to 1.6-fold excess of N, while to 100 Hz already on the 3rd day exceed the N progressively growing on the 22nd day, as in case of nerve G. TD of MNs to 50 Hz HFS of nerve G, increasing from 4th day to 21st day reached 2.3-fold excess of N, and at 100 Hz already from 4th to 7th day twice exceeding N, and on the 21st day dropped up to 1.5 times. TD of MNs to 50 Hz HFS of P nerve, while on 4th and 21st days reaching 1.5-fold excess, but on the 22nd day approach the N and to 100 Hz, being on the 4th day 3 times higher than N, reduced up to two-fold exceed of N on the 7th day, reaching N on the 22nd day. In general, with the progress of pathology there was an abrupt increase of excitatory and depressor effects, but by the end of testing only depressor effects reach the N. PTP and PTD of MN to HFS of both nerves, as in the N, accompanied by TP in all the terms. TD of MNs to HFS of G nerve changed into the PTP in the early days and PTD - in late, and nerve P - equally in both terms, while in N TD from both nerves changed into PTP to 100, and into the PTD to 50 Hz. In conclusion, on the 3-7 and 21-22 days of acute and chronic tetany development, respectively, the significant tetanic and posttetanic changes of MNs activity without meaningful changes in BA was registered. Along with abrupt increase of excitatory manifestation of activity to HFS in the period of development acute tetany was observed their relative weakening in animals with chronic tetany. Simultaneously the weakening or total disappearance of depressor reaction, especially expressed in the period of acute tetany

development was noted. On causal dependence of the parathyroprivous convulsions due to disturbances of correlation of inhibitory-excitatory processes in SC MNs was concluded.

Aimed studies of dynamics of changes in the ratio of excitatory and depressor synaptic processes of the SC MNs in conditions of parathyroid hormone (PTH) injection in rats semichronic experiments were conducted when systemic PTH was administered daily. From the rats immobilized with ditillinum after 7-8, 14 and 21-23 days under novocaine by means of transection of SC on T2-T3 level an isolated SC was received. Registration of activity of the neurons of SC L4-L5 segments to HFS of G and P nerves of hindlimb was carried out. The tetanic and posttetanic potentiation and depression were recorded. Post-stimulus activity was analysed by on-line selection and computer analysis of spikes. Averaged PETH of interspike intervals, the cumulative histogram of the number of spikes and histograms of average frequency were used. 165 neurons were recorded. The BA of SC flexor MNs in conditions of PTH injection only on 7-8 days exceeded the norm 1.8 times, decreasing on the 14th day, somewhat exceeding the N on the 21-23 day, while those for extensor MNs it 1.2-fold exceeded the N, and also decreased on the 14th day, actually reaching the level of the N and higher. TP at 50 Hz HFS of G, from 1.3-fold excess on 7-8 day reached the 1.3-fold underestimation on 21-23 day, while the TP to 100 Hz HFS of G, exceeding the N on 7-8 day 1.4 times also decreased on the 14th day, and increased again 1.2 times after 21-23 day. To HFS 50 Hz of P during all the days of testing TP exceeded the N, decreasing from 2.3 to 1.5 times, and to HFS 100 Hz - from 3.1 to 2.3 times. TD to HFS 50 Hz of G on 7-8 and 21-23 days exceeded the N 1.5 and 1.6 times, decreasing by the 14th day, and to 100 Hz, being equal to the N on 7-8 days and less at 14th day, on 21 - 23 days exceed the N 1.2 times. TD to 50 Hz HFS of P from slightly exceed the N on 7-8 days, reached 1.3-fold underestimation on 21-23 days, while to HFS 100 Hz from 2.3-fold exceeding the N on 7-8 days decreased up to 1.5 times on 21-23 days. In other words, there was an abrupt decrease in inhibitory processes. Finally, the PTP to HFS 50 and 100 Hz of both nerves are usually accompanied by TP, while the TD, as in N accompanied by the PTD, and only to HFS 100 Hz, except for the 14th day, changed to PTP.

In parathyroprivus rat brain structures was conducted morphological and histochemical study through the method of detecting the activity of Ca^{2+} - dependent acidic phosphatase. In general, it was found out that in the cerebral cortex, hippocampus, amygdala and nucleus of Meynert the morphological pattern is the expression of response reaction to various pathological effects of exogenous and endogenous origin and inherent to non-specific neuronal lesions. In the pyramidal layer of the cerebral cortex swelling of the cell's nuclei, the absence of process reaction in the polymorphic layer - change of the shape and size of cells is observed. In the CA1 and CA3 neurons with round bodies was found. The affection of the neurons of amygdala and Meynert's nuclei goes mainly by the type of central chromatolysis. In the lumbar SC was revealed lack of response in processes, picnomorph neurons inherent to severe damage and the reactions of widened vessels of microvascular channel. The reaction is specific of neurons in the SC on the output of the cauda equina, which consists in the activation of microglia.

