

С.Г. Саркисян*, В.А. Чавушян**, С.М. Минасян*

ЭФФЕКТЫ ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ СТИМУЛЯЦИИ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ ЯДЕР НА НЕЙРОНЫ ЯДРА СОЛИТАРНОГО ТРАКТА В УСЛОВИЯХ ОДНОСТОРОННЕЙ ДЕЛАБИРИНТАЦИИ И ВВЕДЕНИЯ ГИПОТАЛАМИЧЕСКОГО ПРОЛИН БОГАТОГО ПЕПТИДА

*Кафедра физиологии человека и животных, Ереванский государственный университет, Ереван, Армения e-mail: susannasarkisyan@gmail.com

**Лаборатория физиологии компенсации функций ЦНС, Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА, Ереван, Армения

DOI:10.18454/ASY.2018.12.96.001

Ключевые слова: ядро солитарного тракта, делабиринтация, одиночная нейрональная активность, высокочастотная стимуляция, паравентрикулярное и супраоптическое ядра гипоталамуса, пролин богатый пептид

THE EFFECTS OF THE HIGH-FREQUENCY STIMULATION OF HYPOTHALAMIC NUCLEI ON THE ACTIVE OF THE NUCLEUS OF THE SOLITARY TRACT DURING OF UNILATERAL LABYRINTECTOMY AND INJECTION OF HYPOTHALAMIC PROLINE-RICH PEPTIDE

S.H. Sarkissian, V.A. Chavushyan, S.M. Minasyan

Key words: nucleus traktus solitarius, labyrinthectomy, single neuronal activity, high-frequency stimulation, hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei, proline-rich peptide (PRP-1).

Односторонняя делабиринтация являлось изучение (ОД) приводит к нарушению нейропротекторных возможностей центральных механизмов контроля гипоталамического пролином бульбарно-вегетативной системы, в богатого пептида (ПБП-1), том числе к изменению гипоталамо- продуцируемого гипоталамическими бульбарных взаимоотношений. В СОЯ и ПВЯ ядрами [9], в условиях свою очередь, центральные односторонней делабиринтации на нейропластические изменения (в примере высокочастотной частности супраоптического (СОЯ) и стимуляции (ВЧС) СОЯ, ПВЯ и паравентрикулярного (ПВЯ) ядер) экстраклеточной регистрации могут рассматриваться в качестве спайковой активности одиночных существенного нейронов ядра солитарного тракта патофизиологического компонента в (ЯСТ).

Материалы и методы.
Наркотизированные (нембутал 40 мг/кг, в/б) крысы линии Альбино

(250±30г) подвергались правосторонней ОД по методу А.В. Мокроусовой (электрокоагуляция постоянным током 8.0-8.5 мА в течение 2 мин [1]. Спустя 2 дня после ОД экспериментальным животным вводили ПБП-1 (в/м 0,05 мг/кг, два раза). Экстраклеточную регистрацию и анализ проводили спустя 17 дней после операции ОД. Исследования на лабиринтированных животных проведены для изучения протекторного эффекта ПБП-1 в процессе вестибулярной компенсации. В остром эксперименте животные под уретановым наркозом (1,2 г/кг, в/м) обездвиживали 1% дитилином (25 мг/кг, в/б) и переводили на искусственное дыхание. Раздражение ПВЯ и СОЯ осуществляли биполярными концентрическими электродами с межэлектродным расстоянием 0,5-0,8 мм, диаметром кончика 30 мкм. Стереотаксически ориентированный стеклянный микроэлектрод с кончиком 1–2 мкм, заполненный 2М раствором NaCl, вводили в ЯСТ для регистрации импульсной вызванной активности одиночных нейронов при ВЧС ПВЯ и СОЯ с ипсилатеральной (и) и контралатеральной (к) стороны (прямоугольными толчками тока длительностью 0.05 мс, амплитудой 0,12 - 0,18 мВ и частотой 100 Гц на протяжении 1 сек). Отводящий и раздражающий электроды вводили согласно стереотаксическим координатам по атласу Паксиноса и

Вотсона [14]. Электрофизиологическую регистрацию импульсного потока производили до (фоновая активность) и после ВЧС раздражения на базе on-line программного многоуровневого статистического анализа на основе перистимульных временных гистограмм – РЕТН (peri-event-time-histogram). На основе развернутой картины распределения спайков в реальном времени программный модуль дает возможность построения кумулятивных (число спайков) и частотных гистограмм (спайк/сек) с вычислением средней частоты спайков ($M \pm SD$). Для определения статистической достоверности различий в длительности межспайковых интервалов до и после действия стимула использовался непараметрический критерий проверки однородности двух независимых выборок — двухвыборочный критерий Вилкоксона-Манна-Уитни (Wilcoxon-Mann-Whitney test). Так как число регистрируемых спайков было достаточно велико (до нескольких сотен спайков за 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), показывает, что в результате ВЧС для большинства выборок спайкинга нейрональной активности имеется статистически значимое изменение как минимум с уровнем значимости 0.05. Анализированный спайковый поток выводился в виде: перистимульных временных гистограмм – РЕТН (peri-eventtimehistogram), кумулятивной гистограммы числа спайков и гистограммы частоты с вычислением средней частоты спайков ($M \pm SD$). Анализ обеспечивал также построение комплексных усредненных и суммированных гистограмм РЕТН, кумулятивных и частотных на основе гистограмм спайкинга сравниваемых множеств нейронов.

Результаты и их обсуждение

В *in-vivo* электрофизиологических изучениях исследованы характер реакций 63 одиночных нейронов ЯСТ на ВЧС переднегипоталамических ядер при ОД и ведения ПБП-1. Среди 63 нейронов ЯСТ, из которых 30 единиц зарегистрированы с поврежденной (делабиринтированной) и 33 с интактной стороны. На поврежденной стороне было зарегистрировано 30 нейронов ЯСТ, из коих ареактивными были только 2 единицы на стимуляцию СОЯ, а на интактной стороне было зарегистрировано 33

ответоспособных нейрона (ареактивные единицы отсутствовали). Из числа ответоспособных нейронов ЯСТ (28 единиц) делабиринтированной стороны на стимуляцию к-ПВЯ и и-СОЯ выявлен мономодальный характер только к первому раздражителю в 6,6% нейронов, а остальные нейроны проявляли бимодальный характер ответов (отвечали на ВЧС стимуляцию обеих гипоталамических ядер). Большинство бимодальных единиц (50,0%) обладали однонаправленными возбуждательными / ингибиторными эффектами. Разнонаправленными реакции были представлены у 13 единиц (43,4%). Из 33 реактивных нейронов интактной стороны ЯСТ на стимуляцию и-ПВЯ и к-СОЯ мономодальными реакции не выявлены, а 33 нейрона (51,5%) были бимодальными с преобладанием однонаправленных эффектов и только 16 единиц (48,5%) проявляли разнонаправленные эффекты. Анализ характера реакций нейронов правостороннего ЯСТ на ВЧС стимуляцию к-ПВЯ и и-СОЯ выявил: а) одинаковый процентный баланс посттетанической депрессии (ПТД) - по 53,4%, тетанической депрессии + посттетанической потенциации (ТД+ПТП) – по 26,7%; б) незначительную долю единиц (6,6%), проявляющих возбуждательный ответ на время ВЧС (тетаническая

потенциация-ТП) и постстимульное время (ПТП) – 3,3%; в) в нейронах левостороннего ЯСТ (интактная сторона) при стимуляции и-ПВЯ и к-СОЯ тетаническая потенциация зарегистрирована в соответственно 36,4% и 27,3%, ТП+ПТП зарегистрировано соответственно в 42,4% и 48,5% нейронов, ТП+ПТД – соответственно в 9,1 % и 12,1% нейронов, ПТП+ПТД – соответственно в 9,1% и 3,0 % и ПТП – в 3,0% и 9,1% нейронов.

Гипоталамический пролин-богатый нейропептид ПБП-1 – иммуномодулятор широкого профиля действия [7, 8]. Выявлен целый ряд важных его свойств: торможение проапоптотических каспаз 3 и 9, активация каспаз 2 и 6 [9]; стимуляция иммунокомпетентных клеток (Т, В и

макрофагов) [6]; участие в механизмах экспрессии интерлейкинов (TNF, IL-1, IL-6) в фибробластах, макрофагах и астроцитах [10]; активация образования IL-1, IL-6, TNF α и регуляция миелопоеза [9]; нейропротекция против многих токсических продуктов, вырабатываемых в организме, мощное антимикробное и антивирусное действие [10, 3, 4]; нейротрофическое действие на биосинтез глиального фибриллярного кислого белка GFAP в астроцитах *in-vitro*, сравнимое с действием нейротрофинов (BDNF и GDNF) [5]; универсальная нейропротекция против неспецифической нейродегенерации [9].

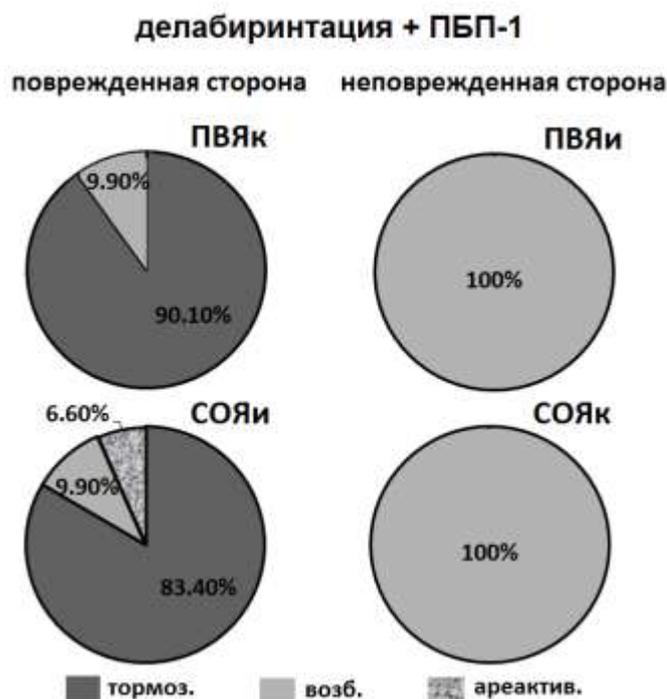


Рисунок 1. Долевое соотношение (в %) тормозных, возбудительных и ареактивных типов ответов нейронов ЯСТ поврежденной и неповрежденной стороны на двустороннюю ВЧС

гипоталамических ядер после ОД, сочетанной с введением ПБП-1. Сокращения: ПВЯи – паравентрикулярное ядро ипсилатеральной стороны, ПВЯк – то же контралатеральной стороны, СОЯи – супраоптическое ядро ипсилатеральной стороны по отношению к регистрирующему электроду, СОЯк – то же контралатеральной стороны; тормоз. – тормозный тип ответов, возб. – возбуждательный тип ответов, ареактив. – ареактивность

Согласно существующим представлениям, травматическое повреждение и ишемия приводит к истощению АТФ в клетке и массивному инфлюксу кальция вследствие нарушения функции кальциевого насоса, увеличению проницаемости клеточных мембран для ионов кальция и выходу кальция из внутриклеточных депо, что вызывает деполяризацию нервных окончаний и выброс из них возбуждающих нейротрансмиттеров, в частности, глутамата. Глутамат, активируя постсинаптические рецептор - канал комплексы, вызывает приток в клетку ионов Na^+ , деполяризацию и еще большее поступление Ca^{2+} через ионные каналы [12]. Следствием перегрузки клетки кальцием является ее повреждение, обусловленное активацией фосфолипаз, протеаз и нуклеаз, ведущее, соответственно, к нарушению целостности клеточных мембран, фосфорилирования и синтеза белков и экспрессии генома, лизису структурных белков клетки. В последнее время все большее внимание уделяется изучению реакции глиальных клеток на повреждающий фактор (травму, ишемию, кровоизлияние) с развитием дисбаланса цитокинов, локальной воспалительной реакции на уровне ЦНС, ведущей к повреждению нейронов, гематоэнцефалического барьера и нарушениям микроциркуляции. Механизм содействующий нейропротекции путем дифференциации нейрональных и астроглиальных новогенерированных клеток включает ГАМК входы и ГАМК_A-рецепторную локализацию на нейрональных стволовых клетках [15]. Выявленное нами доминирование тормозных ответов в нейронах ЯСТ на стороне повреждения спустя 17 дней после ОД и применения ПБП-1, по-видимому есть результат регуляции ГАМК_A-рецепторной системы афферентных путей ЯСТ от гипоталамических ядер. Представленные результаты согласуются с данными о влиянии ПБП на активность системы нейромедиаторных аминокислот глутамин - глутамат-ГАМК [11]. Установление баланса возбуждение/торможение – ключевой фактор синаптической интеграции в процессе компенсации и развития [16]. Возможный путь нейропластичности - коррекция

дисбаланса возбуждающих и тормозных нейротрансмиттерных систем на пре- и постсинаптическом уровнях [13], выявленная нами на примере кратковременной синаптической пластичности в нейронах ЯСТ после ОД [2] и протекторная активация естественных тормозных процессов под воздействием гипоталамического нейропептида.

Литература

1. Мокроусова А.В. Делабиринтация белых крыс методом электрокоагуляции. Рос. Физ. Жур. СССР 1980. т. 66, N 4, с. 599-602.
2. Саркисян*С.Г. Даниелян**М.А., Ча вушян**В.А., Минасян*С.М. Эффект высокочастотной стимуляции при изучении проекций паравентрикулярного и супраоптического ядер гипоталамуса к ядру солитарного тракта в норме и в условиях односторонней лабиринтэктомии. Конфер. «функциональная асимметрия, нейропластичность и нейродегенерация» состоится 15-16 декабря 2016г. Москва с.229-236
3. Aprikian V.S., Galoyan A.A. Hypothalamic polypeptide protects mice from lethal challenge with Gram-negative bacteria. Neurokhimia (RAS and NAS RA). 2000, V.17, No.1, P.60-63.
4. Aprikian V.S., Galoyan K.A., Galoyan A.A. Hypothalamic polypeptides a new family of immunomodulators. J. Neurochemistry. 1999, V. 72, S68D.
5. Chekhonin V., Gurina O., Ruabukin I., Savchenko E., Galoyan A.A. In: Proceed. of the Intern. Conf. on Bioch. and Molec.-Biol. Aspects of the Brain Immune System. Sep, 15-19, Yerevan-Tsakhkadzor, P. 140-145. Ed. Galoyan A., Encilclopedia Armenica, Armenia 2001.
6. Galoyan A.A. Biochemistry of novel cardioactive hormones and immunomodulators of the functional system neurosecretory hypothalamus – Endocrine Heart. Nauka Publishers, M., 1997, 242 p.
7. Galoyan A.A. Neurochemistry of Brain neuroendocrine immune system: signal molecules. Neurochemical. Research. 2001a, V. 25, P. 1343-1355.
8. Galoyan A.A. Biochemistry of novel cardioactive hormones and immunomodulators of the functional system neurosecretory hypothalamus – Endocrine Heart. Nauka Publishers, M., 1997, 242 p.
9. Galoyan A.A. Neurochemistry of Brain neuroendocrine immune system: signal molecules. Neurochemical. Research. 2001a, V. 25, P. 1343-1355.
10. Galoyan A.A. Neurochemistry of brain neuroendocrine immune system: sygnal molecules. In: Proceed. of the Intern. Conf. on Bioch. And Molec.-Biol. Aspects of the Brain Immune System. Sep, 15-19, Yerevan-Tsakhkadzor, P. 22-34. Ed. Galoyan A., Encilclopedia Armenica, Armenia, 2001b.

11. Hambartsumyan DK, Vardanyan FG, Gevondyan KA, Kamalyan RG, Galoyan AA. The influence of proline-rich peptide on the activity of the system of neuromediator amino acids of glutamine-glutamate-GABA (in Russian). *Neurochemical Journal (Moscow)* 2003;20: 145–52.
12. Lipton S.A., Rosenberg P.A. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *N Engl J Med.* 1994 Mar 3; 330(9);613-22
13. McDonnell M.D., Graham B.P. Phase changes in neuronal postsynaptic spiking due to short term plasticity. *PLoS Comput Biol.* 2017 Sep 22;13(9):e1005634.
14. Paxinos G, Watson Ch. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.* // 5th Edition. New York: Academic Press. 2005; P.367.
15. Stewart R. R., Hoge G. J., Zigova T., and Luskin, M. B. (2002). Neural progenitor cells of the neonatal rat anterior subventricular zone express functional GABA(A) receptors. *J. Neurobiol.* 50, 305–322.
16. Turrigiano G.G., Nelson S.B. Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2004, 5:97107.
- 17.