

УДК 616.858

DOI: 10.54503/0514-7484-2026-66.1-32

## Изучение импульсной активности в нейронах базолатеральной амигдалы, активированных энторинальной корой на модели болезни Паркинсона, в условиях протекции меланином

А.С. Оганесян, М.В. Погосян, А.Ю. Степанян, Р.Ш. Саркисян,  
М.А. Даниелян, Дж.С. Саркисян

*Институт физиологии им. акад. Орбели НАН РА  
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22*

*Ключевые слова:* болезнь Паркинсона, базолатеральная амигдала, меланин, импульсная активность

### Введение

Болезнь Паркинсона (БП) остается тяжелым неврологическим заболеванием, которое на данный момент неизлечимо. Среди немоторных симптомов одним из важных являются депрессия и тревога. Одной из ключевых структур, задействованных в развитии данных симптомов, является базолатеральная амигдала (BLA). Исследования с использованием микродиализа на крысах показали, что при поведенческом возбуждении и стрессе в миндалевидном теле происходит повышенное высвобождение серотонина (5-гидрокситриптамина, 5-НТ) [1, 6]. Высвобождение 5-НТ в BLA способствует формированию памяти о страхе и ухудшает угасание у мышей, эффект, который подавляется введением коктейля из антагонистов рецепторов 5-НТ1А и 5-НТ2А [7]. Визуализирующие исследования на людях показали, что миндалевидное тело активируется стимулами, связанными с тревогой, и сверхактивируется у пациентов с тревожными расстройствами и расстройствами настроения. Тот факт, что длительное применение селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС) пациентами с депрессией нормализует активность миндалевидного тела и приводит к клиническому улучшению со временем, что согласуется с отсроченным проявлением клинической эффективности СИОЗС, убедительно свидетельствует о том, что одним из основных центров терапевтического действия СИОЗС является миндалевидное тело [3].

Влияние психологического стресса на высвобождение серотонина было изучено в базолатеральном миндалевидном ядре и префронтальной коре головного мозга у крыс, находящихся в сознании, при проведении микродиализа *in vivo*. Психологический стресс, в котором преобладали эмоциональные факторы, значительно повышал уровень внеклеточного 5-НТ в этих двух об-

ластях. Эти данные свидетельствуют о том, что активация серотонинергических нейронов в этих областях мозга участвует в эмоциональном и/или когнитивном состоянии животных. Более того, в миндалевидном теле увеличение высвобождения норадреналина (NA) после иммобилизационного стресса происходило только в латеральных и базолатеральных ядрах и было отменено диазепамом. Это соединение не оказывало никакого действия ни на центральное, ни на медиальное миндалевидное ядро [1].

Базолатеральный комплекс (BNC) является одной из основных мишеней мезолимбической дофаминовой системы (DA). Эти проекции, которые берут свое начало в вентральной тегментарной области и компактной части черной субстанции, играют важную роль в формировании миндалевидным телом как положительного, так и отталкивающего поведения. Таким образом, дофаминергические сигналы в BNC, которые активируются подкрепляющими стимулами, важны для обучения, связанного с вознаграждением, и обучения, связанного с лекарственными стимулами, которое вызывает рецидив поведения поиска наркотиков. С другой стороны, высвобождение DA во время стресса в BNC намного выше, чем в других мишенях мезолимбической системы DA, а дофаминергические проекции на BNC имеют решающее значение для формирования страха и других форм авersive поведения. Недавние исследования показывают, что нет совпадения между нейронами, проецирующими BLA, и нейронами, проецирующими прилежащее ядро, в вентральной тегментарной области, и что проекция BLA-DA имеет решающее значение для перехода мышей от non-REM – не быстрого сна (БДГ – быстрые движения глаз) к быстрому сну – REM (БДГ). Кроме того, при шизофрении задействованы дофаминергические афференты в миндалевидном теле, что связано с увеличением миндалевидного DA [3].

В настоящем исследовании изучено изменение возбудительных и депрессорных ответов нейронов базолатеральной амигдалы (BLA) при стимуляции энторинальной коры мозга (ENT). Указанные структуры задействованы в развитии немоторных симптомов БП. Оценивалась степень нарушения функции нейронов BLA на модели БП и последующее влияние бактериального меланина на функциональное состояние нейронов.

### Материал и методы

Проведены электрофизиологические исследования на 19 крысах линии Альбино (230г) в трех экспериментальных группах: интактных (n=7), на ротеноновой модели БП, индуцированной унилатеральным введением ротенона и выдержанных до опыта 4 нед. (n=6), на модели БП в условиях протекции меланином (14 инъекций через день, 1,25 мг/кг) (n=6). Введение ротенона осуществляли в условиях нембуталового наркоза (40 мг/кг, в/б, 12 мкг в 0,5 мкл димексида, со скоростью 1 мкл/мин) в *medial forebrain bundle* по координатам стереотаксического атласа (AP +0,2; L ±1,8; DV+8 мм) [4]. Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекоменда-

циями руководства ARRIVE [2]. В стереотаксическом аппарате производили трепанацию черепа от брегмы до лямбды и вскрывали твердую мозговую оболочку. Стекланные микроэлектроды с диаметром кончика 1-2 мкм, заполненные 2М NaCl, вводили в BLA согласно стереотаксическим координатам (AP -2,28; L  $\pm$ 5; DV 8,7 мм) для регистрации импульсной активности. Осуществляли высокочастотную стимуляцию (ВЧС) ипсилатеральной ENT посредством прямоугольных толчков тока длительностью – 0,05 мс, амплитудой 0,12–0,18 мВ, силой тока 0,32 мА и частотой 100 Гц в течение 1сек, согласно стереотаксическим координатам (AP -5,4; L  $\pm$ 6,5; DV 8,3 мм) (рис. 1). Регистрации производили на наркотизированных уретаном (1,2 г/кг, в/б), зафиксированных в стереотаксическом аппарате. Оценивалась частота потенциалов действия (ПД). Также оценивались изменения частоты ПД нейронов BLA в результате ВЧС энторинальной коры. Понижение частоты ПД в результате ВЧС оценивалось как депрессорный эффект – тетаническая депрессия (ТД), повышение частоты ПД оценивалось как возбудительный эффект – тетаническая потенциация (ТП). Активность проявлялась в виде ТД и ТП с последующей посттетанической депрессией (ПТД) и посттетанической потенциацией (ПТП).

Проводили анализ импульсной активности 302 нейронов. В ходе записей проводилась селекция спайков посредством амплитудной дискриминации. Строились raster-перистимульного спайкинга нейронов (PETH Average), гистограммы суммы и диаграммы усредненной частоты спайков (Frequency Average).

Использовались t-критерий Стьюдента (параметрический метод статистического анализа) и Манна-Уитни-Вилкоксона. Критические значения в сравнении с таковыми нормального распределения при уровнях значимости 0,05; 0,01 и 0,001 (для различных испытаний) показывают, что в большинстве случаев спайкинга нейрональной активности при ВЧС статистически значимое изменение достигало, как минимум, уровня 0,05.

### **Результаты и обсуждение**

Производили регистрацию импульсной активности нейронов BLA в норме (106 нейронов, n=7), на модели БП (93 нейрона, n=6), на модели БП с протекцией меланином (103 нейрона, n=6), с выдерживанием до 4 нед.

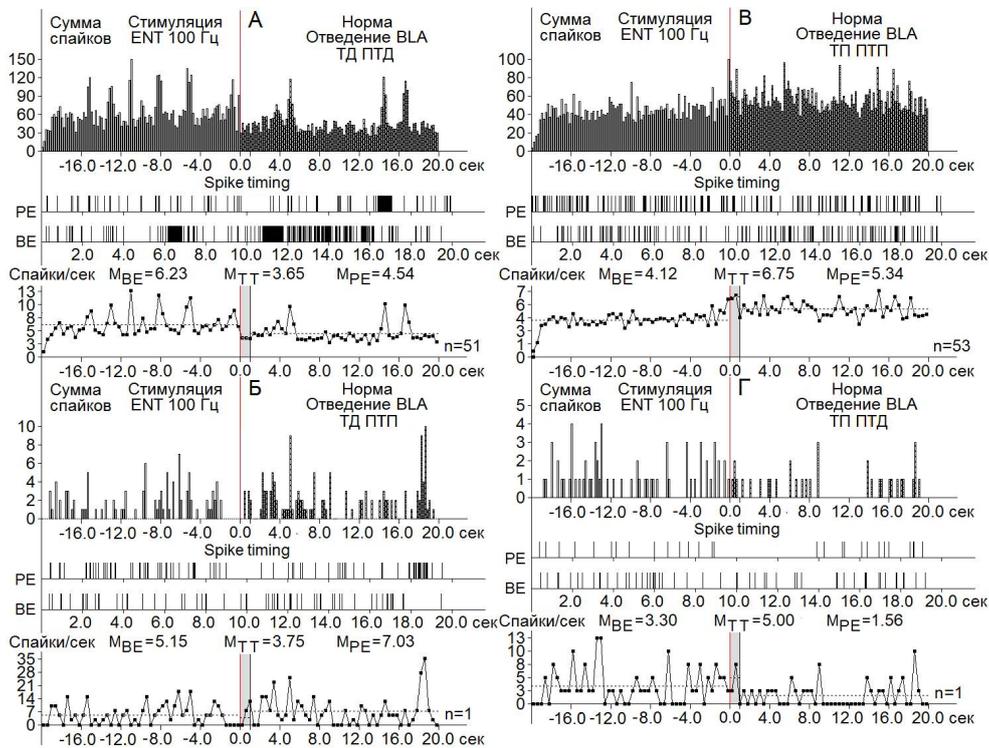


Рис. 1. А-Г – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных тетанических депрессорных проявлений активности ТД ПТД (А), в сочетании с посттетаническими возбудительными – ТД ПТП (Б), возбудительных – ТП ПТП (В), в сочетании с депрессорными (Г), нейронов VLA при ВЧС ENT норме, в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции). Диаграммы частоты спайков, представленных в гистограммах, с усредненными значениями (М) для временных отрезков до (BE – before event), на время тетанизации (ТТ – time tetanization) и после стимуляции (PE – post event). Растеры активности на А-Г – детальный анализ произвольно избранных одиночных нейронов из данной группы.

Справа от диаграмм – количество испытаний (n)

Усредненная частота ПД представлена в виде графиков, а также для более наглядного представления эффектов в виде дисковых диаграмм (в % и цифровом виде) на рис. 4 (на основе рис. 1–3).

В норме в нейронах VLA значения ТД в депрессорных (ТД ПТД) и депрессорно-возбудительных (ТД ПТП) эффектах достигали 1,70- и 1,37-кратного снижения (рис. 1; 4 А, Б). Значения ТП в возбудительных (ТП ПТП) и возбудительно-депрессорных (ТП ПТД) эффектах достигали 1,64- и 1,51-кратного превышения (рис. 1; 4 В, Г).

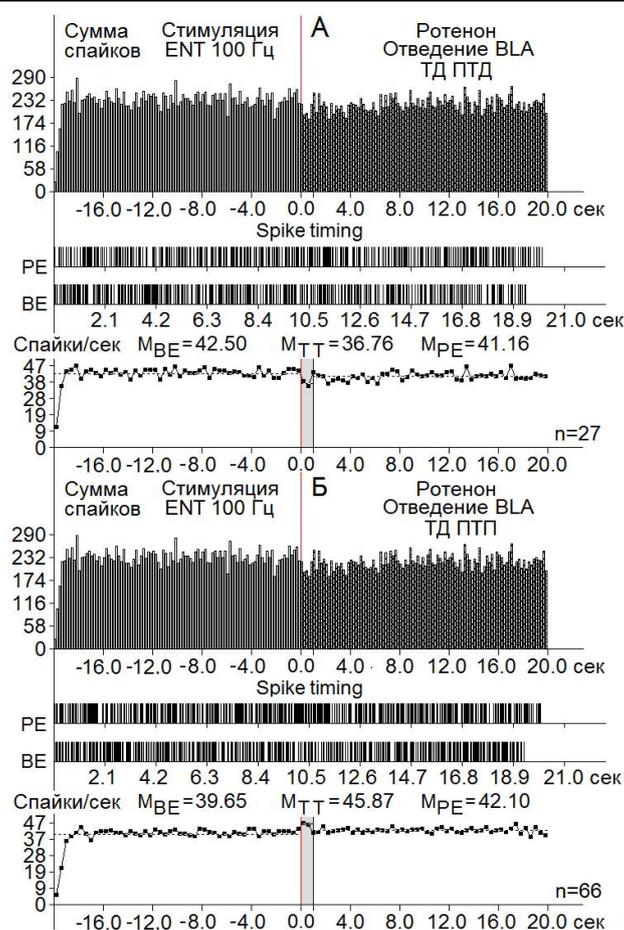


Рис. 2. А–Б – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных тетанических депрессорных проявлений активности ТД ПТД (А), возбудительных – ТП ПТП (Б), нейронов BLA при ВЧС ENT на модели БП вызванной ротеноном, в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции). Диаграммы частоты спайков, представленных в гистограммах, с усредненными значениями (М) для временных отрезков до (BE – before event), на время тетанизации (ТТ – time tetanization) и после стимуляции (PE – post event). Растеры активности на А–Б – детальный анализ произвольно избранных одиночных нейронов из данной группы. Справа от диаграмм – количество испытаний (n)

На модели БП значения ТД и ТП (1,15- и 1,15-кратное соответственно) несколько понизились в сравнении с нормой (1,70- и 1,64-кратное соответственно) (рис. 1; 2; 4 А-Г). Таким образом, зафиксировано ослабление возбудительных и депрессорных эффектов после интоксикации ротеноном.

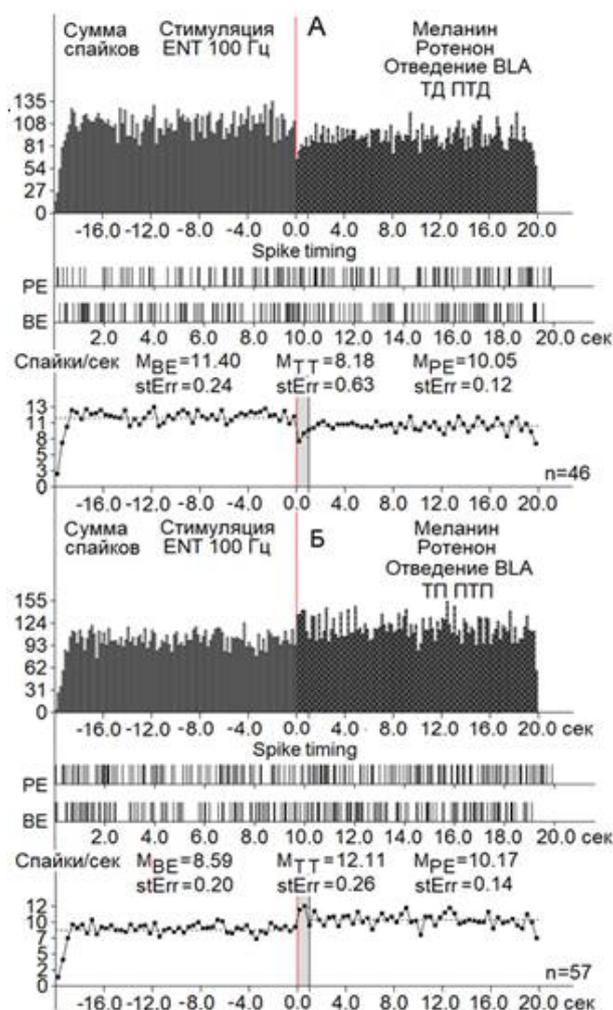


Рис. 3. А,Б – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных тетанических депрессорных проявлений активности ТД ПТД (А), возбудительных – ТП ПТП (Б), нейронов VLA при ВЧС ENT на модели БП с применением меланина, в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции). Диаграммы частоты спайков, представленных в гистограммах, с усредненными значениями (M) для временных отрезков до (BE – before event), на время тетанизации (ТТ – time tetanization) и после стимуляции (PE – post event)

На модели БП в условиях протекции меланином значения ТД и ТП исчислялись в пределах 1,39-кратного снижения и 1,40-кратного превышения частоты ПД (против 1,15- и 1,15-кратного соответственно, на модели БП) (рис. 1–3; 4, А-Г).

Таким образом, после применения меланина зафиксировано некоторое усиление депрессорных и возбуждательных эффектов, что позволяет проявить оптимизм в отношении меланина.

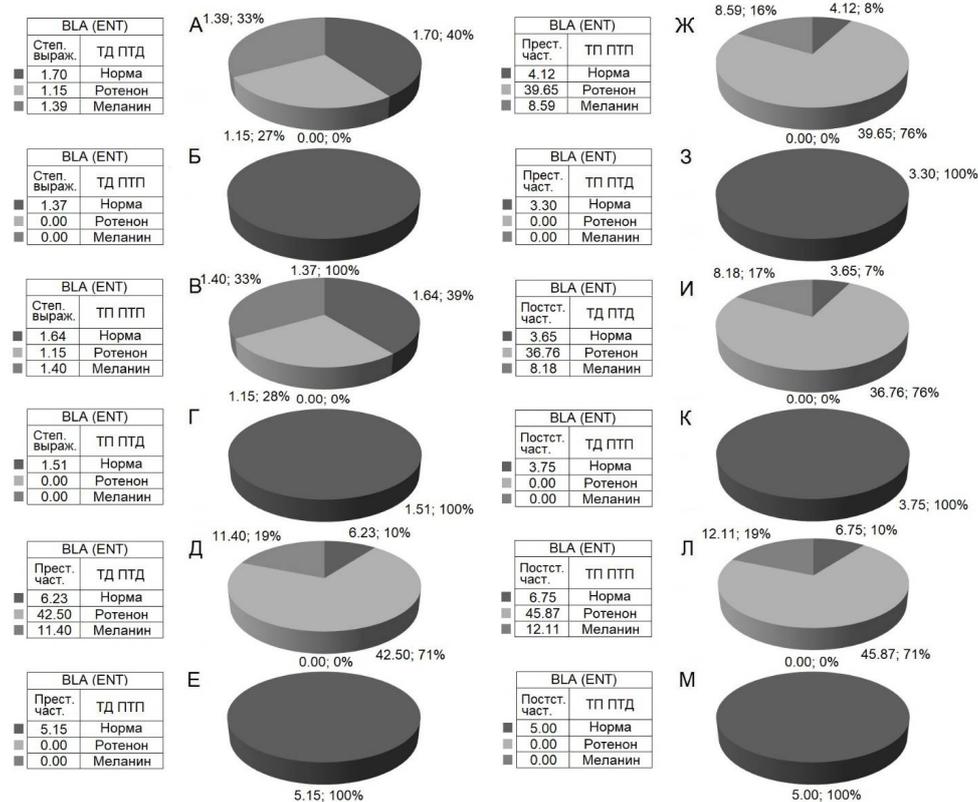


Рис. 4. А–М – соотношение степени выраженности (по усредненной частоте А–Г), депрессорных (ТД ПТД), депрессорно-возбуждательных (ТД ПТП), возбуждательных (ТП ПТП) и возбуждательно-депрессорных (ТП ПТД) эффектов в одиночных нейронах BLA при ВЧС ENT, а также частоты престаимпульной (Д–З) и постстимульной (И–М) активности, предшествующих и сопровождающих указанные проявления постстимульной активации, в норме, на модели БП и на модели БП с применением меланина. Обозначения: степ. выраж. – степень выраженности, прест. – престаимпульная, постст. – постстимульная

Интересная, к тому же более выраженная, картина была обнаружена при сравнении пре- и постстимульной частоты потенциалов действия нейронов BLA.

Престаимпульная частота ПД в депрессорных эффектах в норме достигала значений 6,23; 5,15, а на модели БП – 42,50 (рис. 1; 2; 4 Д, Е). В возбуждательных эффектах престаимпульная частота ПД достигала в норме 4,12; 3,30, а на модели БП – 39,65 (рис 1; 2; 4 Ж, З). Очевидно очень сильное повышение

частоты ПД на модели БП, в сравнении с нормой. Это говорит о сильных функциональных нарушениях, зафиксированных в нейронах BLA.

В условиях протекции меланином престаимульная частота ПД в депрессорных эффектах исчислялась в пределах 11,40. В возбуждательных эффектах престаимульная частота ПД оказалась 8,59. То есть престаимульная частота ПД сильно понижена в обоих эффектах по сравнению с уровнем на модели БП (рис. 1–2; 4 Д–З).

В норме постстимульная частота ПД нейронов BLA в депрессорных эффектах достигала 3,65; 3,75. В возбуждательных – 6,75 и 5,0. На модели БП – в депрессорных – 36,76; в возбуждательных – 45,87 (рис. 1; 2; 4 И–М). Иными словами, на модели БП постстимульная частота в депрессорных эффектах значительно превысила норму 10,07-кратно, а в возбуждательных – 6,80-кратно. Таким образом, в целом, имело место мощное повышение постстимульной частоты, свидетельствующее опять, как и в случае престаимульной частоты, о сильной возбудимости нервной ткани после интоксикации ротеноном (рис. 1; 2; 4 И–М). Известно, что миндалевидное тело, особенно базолатеральная миндалина, играет решающую роль в реакции на стресс и регуляции поведения, связанного с тревогой [5]. Стресс тесно связан с усилением передачи глутамата в BLA, что приводит к усиленным эмоциональным реакциям, в частности к тревоге. Исследования функциональной нейровизуализации на людях также продемонстрировали повышенную активность миндалевидного тела у людей с тревожностью. В ходе проведенных экспериментов также обнаружена повышенная возбудимость нейронов BLA на животных ротеноновых моделях БП. Далее, в условиях протекции меланином, произошло значительное снижение постстимульной частоты ПД на модели БП, в депрессорных и возбуждательных эффектах (4,49- и 2,17-кратное соответственно) с фактическим приближением к норме. Таким образом, необходимо дальнейшее изучение механизмов, с помощью которых обнаружен подобный феномен.

*Поступила 19.01.26*

**Պարկինսոնի հիվանդության մոդելում բազոլատերալ ամիգդալայի նեյրոնների գործունեության էլեկտրաֆիզիոլոգիական գնահատում էնտորինալ կեղևի ակտիվացման և մելանինի կիրառման պայմաններում**

**Ա.Ս. Հովհաննիսյան, Մ.Վ. Պողոսյան, Ա.Յու. Ստեփանյան,  
Ռ.Շ. Սարգսյան, Մ. Հ. Դանիելյան, Ջ.Ս. Սարգսյան**

Պարկինսոնի հիվանդությունն անբուժելի է: Դասական շարժողական խանգարումներից բացի, այն առաջացնում է նաև ճանաչողական, աֆեկտիվ

և քնի խանգարումներ, նաև վեգետատիվ ախտանիշների լայն շրջանակ: Ճանաչողական ֆունկցիաների վերահսկման մեջ ներգրավված կարևոր կառույցներից է բազոլատերալ ամիգդալան (BLA): Աշխատելու ընթացքում իրականացվել են բազոլատերալ ամիգդալայի առանձին նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտություններ Պարկինսոնի հիվանդության մոդելում՝ մելանինի կիրառմամբ: Ուսումնասիրվել են գործողության պոտենցիալների հաճախականության փոփոխությունները: ՊՀ մոդելներում դեպրեսորային և գրգռիչ ազդեցությունները նվազել են: Մելանինի կիրառման արդյունքում գրանցվել է երկու տեսակի էֆեկտների վերականգնում: ՊՀ մոդելում գործողության պոտենցիալների հաճախականությունը 7 անգամ բարձրացել է: Մելանինի կիրառումից հետո այդ հաճախականությունը նվազել է՝ գրեթե հասնելով բնականոն մակարդակի: Այսպիսով, մելանինը նպաստում է բազոլատերալ ամիգդալայի նեյրոնների ֆունկցիոնալ ցուցանիշների վերականգնմանը:

### **The Study of Pulse Activity in Basolateral Amygdala Neurons Activated by the Entorhinal Cortex in Parkinson's Disease Model Under Melanin Protection**

**A.S. Hovhannisyán, M.V. Poghosyan, H.Y. Stepanyan, R.Sh. Sargsyan, M.H. Danielyan, J.S. Sarkissian**

Parkinson's disease (PD) is an incurable disease. In addition to classical movement symptoms, cognitive, affective, sleep disorders, and a wide range of autonomic symptoms are also found in PD. One of the important structures involved in the control of cognitive functions is the basolateral amygdala (BLA). Single-unit records from BLA neurons were performed using melanin in a model of Parkinson's disease (PD). Changes in the frequency of action potentials were investigated. In PD models, depressor and excitatory effects decreased. After the application of melanin, the values of both types of effects were restored. On the PD model, the frequency of action potentials increased by 7 times. After the application of melanin, the frequency of action potentials decreased, almost reaching normal levels. Thus, melanin helps restore the functional parameters of basolateral amygdala neurons.

### **Литература**

1. Kawahara H., Yoshida M., Yokoo H., Nishi M., Tanaka M. Psychological stress increases serotonin release in the rat amygdala and prefrontal cortex assessed by in vivo microdialysis. *Neurosci Lett.*, 1993;12;162(1-2):81-4. doi: 10.1016/0304-3940(93)90565-3. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8121642/>.
2. Kikenny C., Browne W., Cuthill I.C., Emerson M., Altman D.G. Animal research: Reporting in vivo experiments: The ARRIVE guidelines 06 July 2010.

3. *McDonald AJ*. Functional neuroanatomy of monoaminergic systems in the basolateral nuclear complex of the amygdala: Neuronal targets, receptors, and circuits. *J Neurosci Res.*, 2023;101(9):1409-1432. doi: 10.1002/jnr.25201. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10524224/>.
4. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates Elsevier, Academic Press, 5th ed., 2005; p. 367.
5. *Roosendaal B., Barsegyan A., Lee S.* Adrenal stress hormones, amygdala activation, and memory for emotionally arousing experiences. *Prog Brain Res.*, 2008;167:79-97. doi: 10.1016/S0079-6123(07)67006-X.
6. *Rueter LE., Jacobs BL.* A microdialysis examination of serotonin release in the rat forebrain induced by behavioral/environmental manipulations. *Brain Res.*, 1996;739(1-2):57-69. doi: 10.1016/s0006-8993(96)00809-8. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8955925/>.
7. *Sengupta A., Holmes A. A.* Discrete Dorsal Raphe to Basal Amygdala 5-HT Circuit Calibrates Aversive Memory. *Neuron.*, 2019;103(3):489-505.e7. doi: 10.1016/j.neuron.2019.05.029. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6687558/>.