

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.821.6+612.822.6

Э. А. Оганесян, А. Б. Мелик-Мусян

**Влияние нейротоксического разрушения нижней оливы
на моторное обучение у крыс**

(Представлено академиком НАН Армении В.В.Фанарджяном 18/IV 1998)

В пластических преобразованиях центральной нервной системы особую роль играют мозжечок и нижняя олива (НО). Посредством своих эфферентов – лазающих волокон НО модифицирует эффективность синапсов параллельное волокно – клетка Пуркинье, обеспечивая “моторное обучение” в мозжечке (1,2). Наряду с этим НО снабжает мозжечок сигналами, указывающими на неадекватность выполнения двигательного акта. Повреждение НО 3-ацетилпиридином (3-АП) препятствует восстановлению моторных нарушений, вызванных односторонним лабиринтным повреждением (3). Показана роль НО в обучении сложным моторным навыкам (4).

В настоящей работе исследовалось влияние нейротоксического разрушения НО на выработку инструментального рефлекса на равновесие у взрослых крыс.

Опыты были выполнены на 19 нелинейных белых крысах массой 160- 240 г. Всех исследуемых крыс обучали инструментальному (оперантному) рефлексу балансировать и ходить на вращающемся (9 оборотов в 1 мин) горизонтальном бруске диаметром 2 см, закрепленном на высоте 90 см над мягкой подушкой. Максимальное время испытания составляло 5 мин. Критерием выполняемости рефлекса считалось время нахождения животного на вращающемся бруске не менее 250 с. Ежедневный эксперимент состоял из 10 испытаний (5). Химическое разрушение НО осуществляли, посредством введения 2%-ного раствора 3-АП. Через 3 ч после этого вводили гармалин и еще через 1,5 ч ниацинамид (3). Все вещества вводили внутривентрикулярно до и после выработки инструментальных рефлексов. Нами был предложен метод повторного введения 3-АП и гармалина (см. таблицу), так как введение по общепринятой методике доз 3-АП и гармалина (3) приводило к гибели животных. На протяжении всей работы параллельно проводилось неврологичес-

кое обследование двигательных расстройств у подопытных животных. По окончании опытов осуществлялся морфологический контроль степени разрушения НО. Экспериментальных животных забивали под глубоким нембуталовым наркозом (60-70 мг/кг). Извлеченный мозг фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине в течение 4 недель, с частой его сменой. Через 4 недели мозг нарезали на замораживающем микротоме на серийные срезы толщиной 45 мкм. Каждый третий или пятый срез окрашивали по методу Ниссля 0,1%-ным водным раствором толуидин блау.

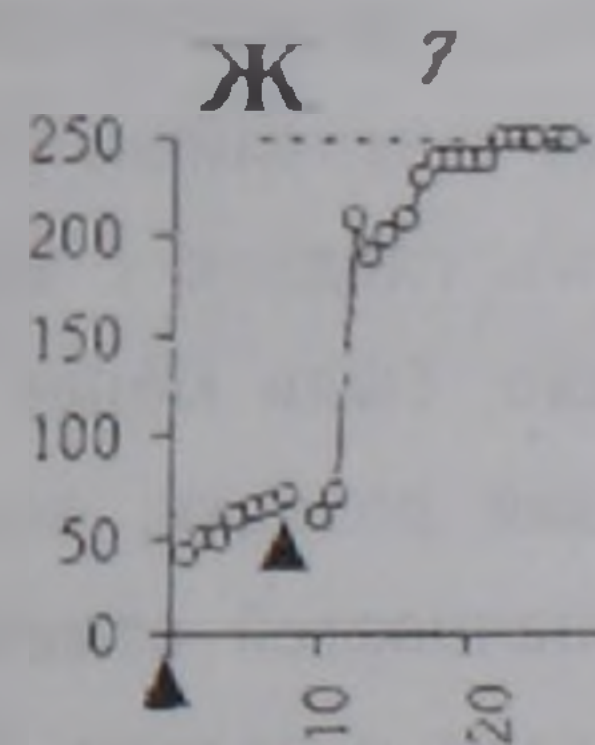
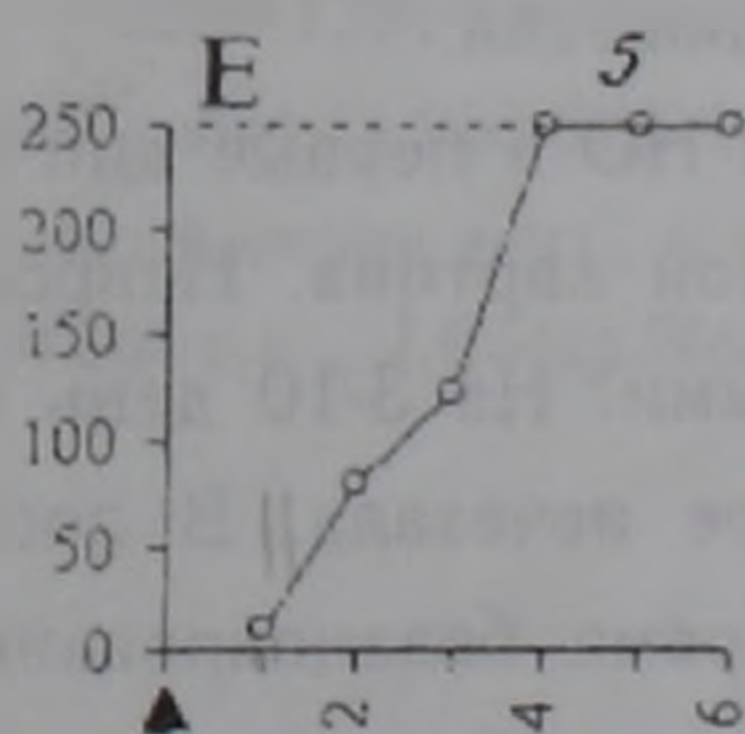
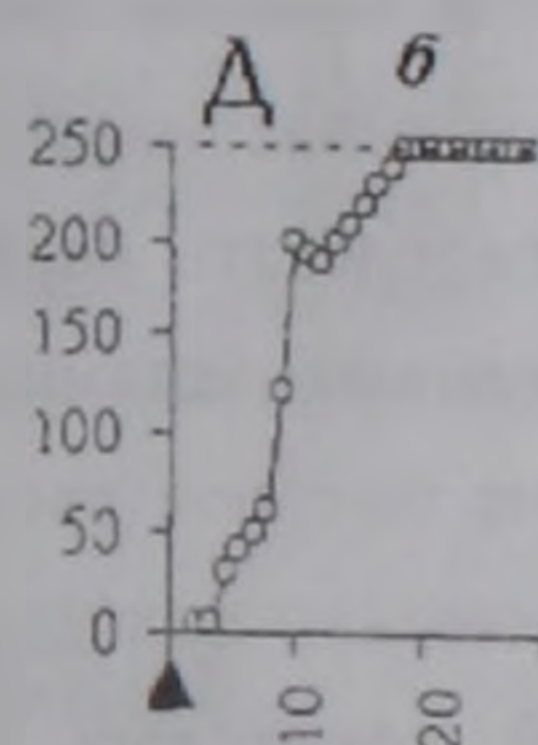
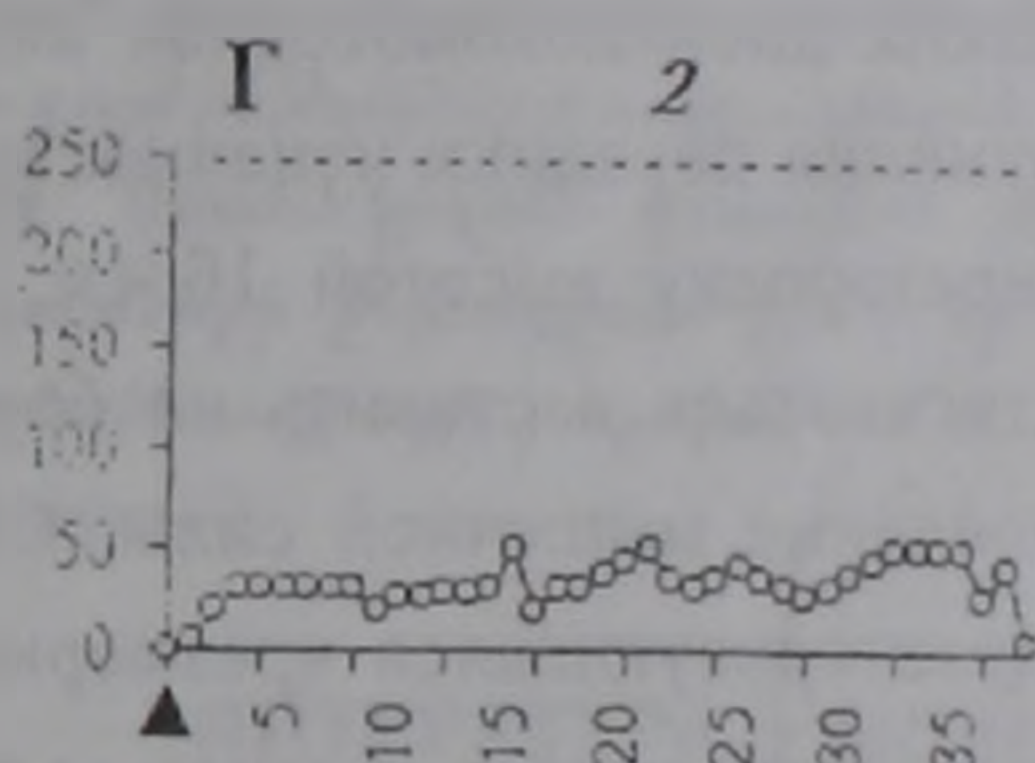
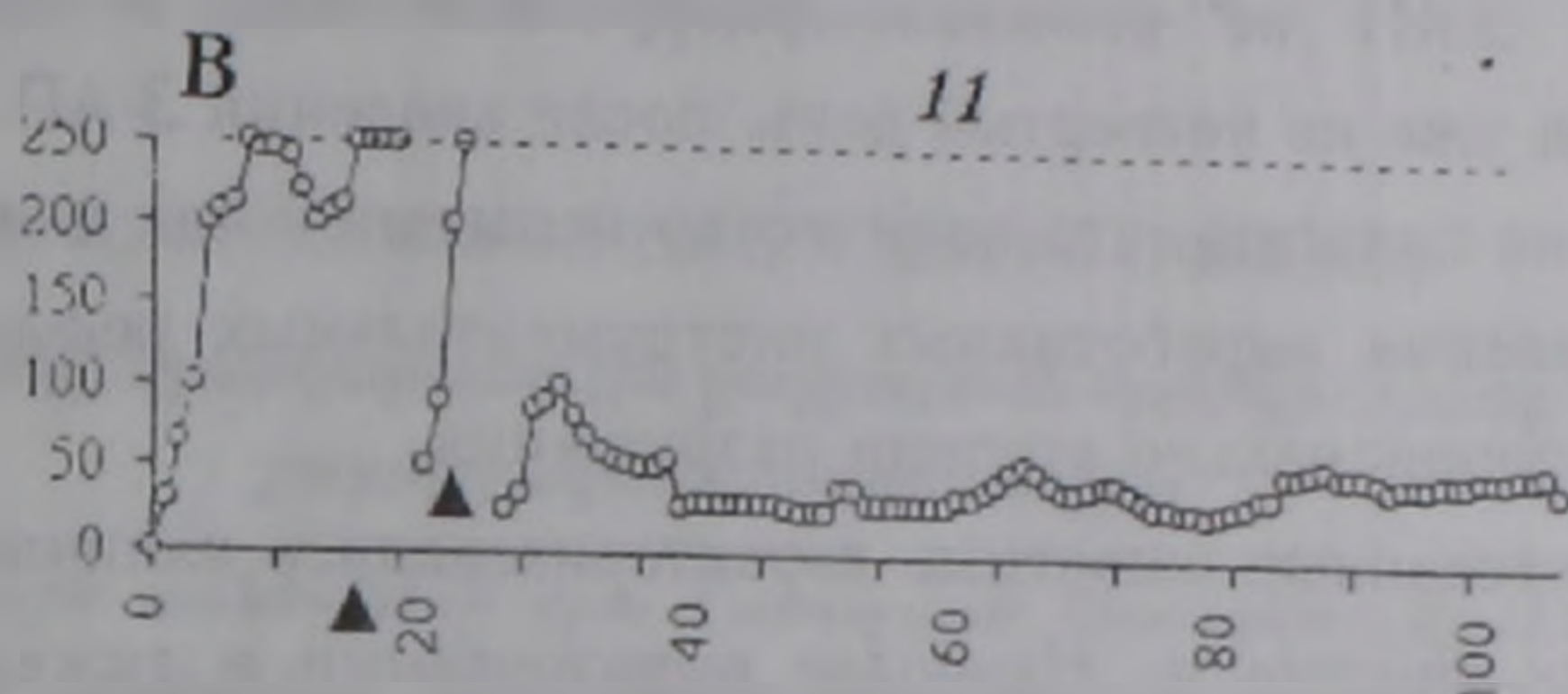
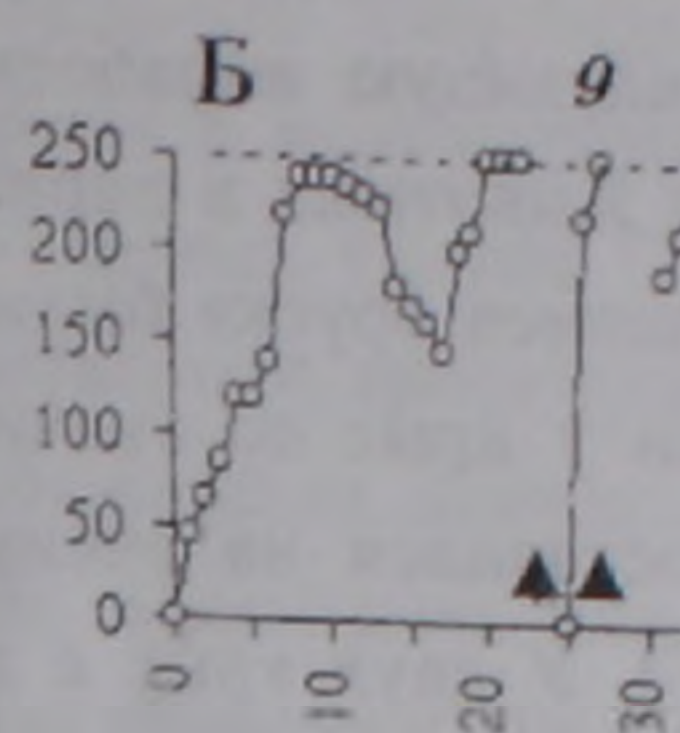
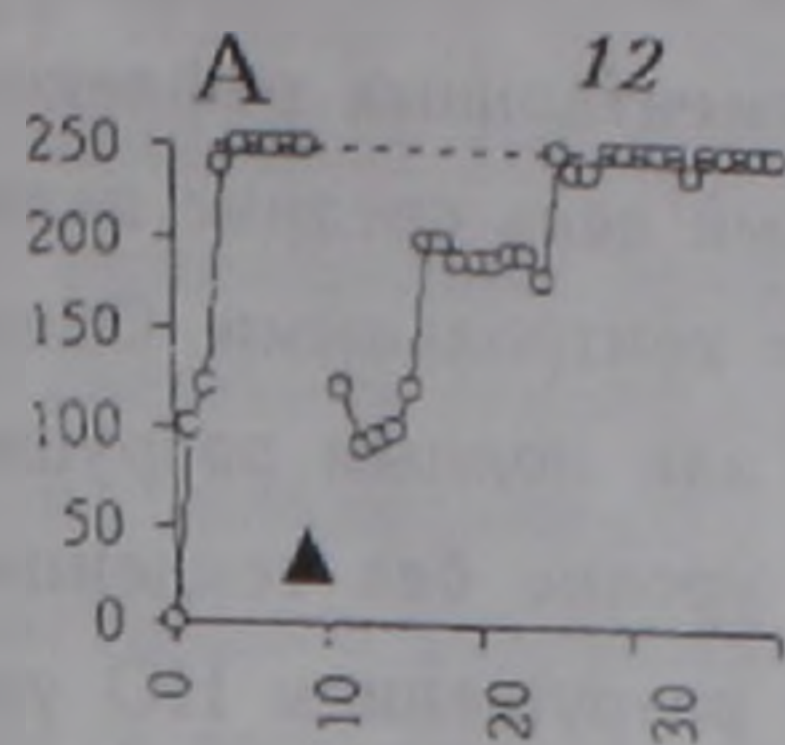
В первой серии экспериментов исследовалось влияние нейротоксического разрушения НО на выработанные инструментальные рефлексы. Под наблюдением находились 12 крыс, из которых у 10 прочный инструментальный рефлекс был образован на 3-6 день (рисунок, А), а у двух крыс – на 17 и 20 опытные дни (рисунок, В и Б). После формирования рефлекса животным вводили разные дозы З-АП. Нами были получены следующие результаты.

1. У четырех крыс введение З-АП приводило к исчезновению выработанного рефлекса, который не восстанавливался в течение 60-106 последующих опытных дней (рисунок, В). Морфологическое исследование показало полное разрушение НО у этих животных.

2. У восьми крыс после введения З-АП наблюдалось восстановление инструментального рефлекса, который у разных животных выявлялся в неодинаковой степени и в разное время (от 4 до 26 дней) после воздействия нейротоксина, что отражало степень разрушения нейронов НО (рисунок, А и Б).

Введение различных доз 3-ацетилпиридина и гармалина до и после выработки инструментальных рефлексов

Группа крыс	Количество крыс	Доза 3-ацетилпиридина, мг/кг	Доза гармалина, мг/кг
Разрушение нижней оливы после выработки рефлексов			
1	1	60	8,0
2	4	50	10,0
3	2	40	8,0
4	5	40 через 7-15 дней повторно 40	7,0 через 7-15 дней повторно 7,0–8,0
Разрушение нижней оливы до выработки рефлексов			
1	2	65	7,0 через 7-15 дней повторно 7,0–8,0
2	4	40	8,0
3	1	40 через 7-15 дней повторно 40	7,0 через 7-15 дней повторно 7,0–8,0



Эффекты разрушения нижней оливы после (А.Б.В) и до (Г.Д.Е.Ж) выработки инструментальных рефлексов у крыс. Показана различная динамика рефлексов в зависимости от степени разрушения нижней оливы. По горизонтали – опытные дни: по вертикали – среднее время (в секундах) нахождения животного на вращающемся бруске при 10 испытаниях. Штриховая линия на 250 с – критерий выполнимости рефлекса. Темный треугольник указывает время введения 3-ацетилпиридина.

Цифры над диаграммами – номера подопытных животных.

Во второй серии экспериментов исследовалось влияние разрушения НО на последующую выработку инструментальных рефлексов у 7 крыс. У большинства животных в первый опытный день средние величины нахождения на вращающемся бруске были сходны с контрольными. Однако при последующем обучении у крыс со значительным или полным разрушением НО этот показатель оставался на очень низком уровне без тенденции к улучшению (рисунок, Г). У двух крыс с неполным разрушением НО удалось выработать относительно прочный инструментальный рефлекс на 20-25 день (рисунок, Д и Ж). Контролем для этой серии опытов может служить крыса №5, у которой введение З-АП не вызывало разрушения НО и прочный рефлекс был выработан уже на четвертый день, после введения З-АП (рисунок, Е).

Можно полагать, что количество испытаний как для выработки, так и для восстановления выработанных инструментальных рефлексов после введения З-АП пропорционально степени разрушения.

Исследованные животные характеризовались наличием ряда четких неврологических симптомов. Наиболее выраженными и тяжелыми они были после полного разрушения НО. Эти крысы в первые дни после введения З-АП были пассивными, лежали с растянутыми конечностями, прижавшись брюхом и головой к полу. В течение нескольких дней локомоторная активность улучшилась, начинала восстанавливаться функция передних конечностей. Некоторым крысам удавалось перелезть через перегородку высотой 16 см, а также при захвате бруска передними лапами подтягиваться и ставить на брусок задние лапы, что указывает на быстрое восстановление мышечной силы. Свойственная для этих крыс атаксическая походка, характеризующаяся чрезмерной экстензией задних конечностей, появлялась у различных крыс в разные сроки после введения З-АП (8-30). Наблюдалось также мелкое дрожание задних лап при попытке балансировать на неподвижном или движущемся бруске. Отмечалось нарушение как статического, так и динамического равновесия.

У крыс с неполным разрушением НО в первые дни после введения З-АП наблюдалась сходная с вышеописанной картина. Неврологические расстройства, однако, были менее выраженными. На 3-10 день появлялась типичная атаксическая походка, которая вскоре исчезала. В последующем экстензия задних конечностей отмечалась во время балансирования на бруске, крысы соскальзывали и падали. Балансировка на бруске осуществлялась не за счет ходьбы, а прижатием тела к бруску и захватом его передними лапками. Через 10-15 дней наблюдалось постепенное удлинение времени их нахождения на вращающемся бруске.

Таким образом, проведенное исследование показало, что после нейрохимического разрушения НО у крыс возникает дефицит в моторной координации и равновесия. Отмеченные результаты совпадают с данными литературы, согласно которым разрушение НО препятствует обучению вестибулоокуляр-

ному рефлексу (2). Показано, что после субтотального повреждения НО аксоны оставшихся оливарных нейронов спраутируют в молекулярный слой коры мозжечка для реиннервации деафферентированных клеток Пуркинье (6). Последнее может составить основу для восстановления двигательной координации и равновесия, наблюдаемых у крыс, переживших длительный период времени после частичного разрушения НО. Не исключено, что длительное моторное обучение, в свою очередь, способствует развитию спраутинга оливо-мозжечковых волокон.

Институт физиологии им. Орбели НАН Армении

Է. Ա. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ա. Բ. ՄԵԼԻՔ-ՄՈՒՍՅԱՆ

Ներքին ձիթապտղի նյարդաթունային քայքայման ազդեցությունը առնետների շարժողական ուսուցման վրա

Սպիտակ ոչ-գծային առնետների վրա կատարված հետազոտություններում ցույց է տրվել, որ 3-աքետիլ պիրիդինով ներորոպայնային ներարկման հետևանքով առաջացած ներքին ձիթապտղի ներվաբջջիների լրիվ քայքայման դեպքում անհնարին է դառնում հավասարակշռման ինստրումենտալ ռեֆլեքսների, ինչպես մշակումը, այնպես էլ արդեն մշակված ռեֆլեքսների վերականգնումը: Շարժումների դեֆիցիտը և կոմպենսատորային-վերականգնողական գործընթացները ուղղակիորեն կախված են ներքին ձիթապտղի քայքայման աստիճանից: Մասնակիորեն վնասված ներքին ձիթապտղով առնետների մոտ երկարատև դիտարկումների ընթացքում (100 օր և ավելի) նկատվում է շարժողական խանգարումների կոմպենսացիայի բարելավում և ինստրումենտալ ռեֆլեքսների վերականգնում ու կայունացում:

ЛИТЕРАТУРА – ՓՐԱԿԱՆՈՒԹՈՒՆ

¹ D.Marr, J.Physiol. (London), v.202, №2, p.437-470 (1969). ² M.Ito, The Cerebellum and Neural Control, N.Y., Raven Press, 1984. ³ R.Llinas, K.Walton, D.E.Hillman e.a., Science, v 190, №4222, p.1230-1231 (1975). ⁴ L.Rondi-Reig, N.Delhaye-Bouchaud, J.Mariani e.a., Neuroscience, v.77, №4, p.955-963 (1997). ⁵ В.В.Фанарджян, Е.В.Папоян, О.В.Геворкян и др., Журн.высш.нервн.деят., т.43, №6, с.1210-1217 (1993). ⁶ F.Rossi, L.Wiklund, J.J.L.Van Der Want e.a., J.Comp.Neurol., v.308, №4, p.513-535 (1991).