

## Сравнительный анализ фоновой импульсной активности нейронов голубого пятна у контрольных и паратиреопривных крыс

Э. А. Мирзоян

*Кафедра физиологии ЕГМУ им. М. Гераци  
0025, Ереван, ул. Корюна, 2*

*Ключевые слова:* околощитовидные железы, голубое пятно, паратгормон

В последние десятилетия увеличился интерес к проблеме взаимодействия различных систем в реализации стресс-реакций, вызванных всевозможными причинами. В связи с этим изучение механизмов функционального взаимодействия таких важнейших систем адаптации, коими являются норадренергическая и эндокринная системы, приобретает доминирующее значение.

Благодаря множественным связям с различными структурами мозга, голубое пятно (ГП) оказывает значительное влияние на их функционирование [5,7-10]. Основным медиатором ГП является норадреналин, синтез и выработка которого осуществляются при участии аденيلاتциклазы и  $Ca^{2+}$  [3,11]. Многогранность норадренергического контроля позволяет заключить, что система, его осуществляющая, тесно связана и с эндокринной системой, где одну из ключевых ролей играет кальцийрегулирующий комплекс. Посредством  $\beta$ -адренергических рецепторов катехоламинергические системы способствуют активации околощитовидных желез (ОЩЖ), тем самым вовлекая их в общий регуляторный процесс со стороны нервной системы [1]. Литературных данных, указывающих на взаимосвязь между кальцийрегулирующей и норадренергической системами, немного, однако следует полагать, что она осуществляется самым тесным образом [6, 11]. Основными регуляторами метаболизма кальция и фосфора в организме являются паратгормон, тиреокальцитонин и кальцитриол (гормонально-активная форма витамина  $D_3$ ), синтезируемые щитовидно-паращитовидным комплексом и почками. Также имеются литературные подтверждения о влиянии схожего с паратгормоном (ПТГ) пептида ТИР39 на активность нейронов ГП [6]. Данные работы не отражают прямых связей между ГП и системой паратгормон-тиреокальцитонин-кальций, но могут быть полезными

для понимания косвенных взаимосвязей между ними.

Для выявления функциональных взаимовлияний кальцийрегулирующей и норадренергической систем мозга в представленной работе была поставлена задача исследовать фоновую импульсную активность (ФИА) нейронов ГП в условиях паратиреопривной гипокальциемии у крыс.

## Материал и методы

Исследования были проведены на белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г. Эксперименты были разбиты на два этапа: на первом этапе проводилось исследование ФИА на контрольных крысах, во втором – на крысах с хирургически удаленными ОЩЖ. После операции крысы содержались в изолированных условиях в течение 3-5 суток с оценкой клинической картины, после чего брались на электрофизиологические эксперименты. Электрофизиологические исследования проводились на 3-5-е сутки после операции при обязательном развитии у крыс характерных для гипофункции ОЩЖ двигательных нарушений. ОЩЖ удалялись хирургическим путем с использованием коагулятора. Для сравнения, после проведения эксперимента, определялся уровень общего и ионизированного кальция в крови. Так, у контрольных крыс уровень общего  $\text{Ca}^{2+}$  составлял от 1,77 до 2,4 мМ/л, а уровень ионизированного  $\text{Ca}^{2+}$  – от 0,25 до 0,5 мМ/л. У паратиреоэктомированных животных уровень общего  $\text{Ca}^{2+}$  был от 0,5 до 0,45 мМ/л, тогда как уровень ионизированного  $\text{Ca}^{2+}$  не превышал 0,05 мМ/л. Как контрольных, так и крыс, подвергнутых паратиреоидэктомии, наркотизировали уретаном дозой 1,2 г на 1 кг (внутрибрюшинно). Для экстраклеточного отведения ФИА нейронов ГП применяли стеклянные микроэлектроды с диаметром кончика порядка 1 мкм, заполненных 2-молярным раствором NaCl. Координаты ГП определялись согласно стереотаксическому атласу [5]. После экспериментов проводился гистологический контроль попадания микроэлектрода в соответствующую структуру мозга. Анализ ФИА нейронов ГП проводился с помощью пакета разработанных программ. Определялись группы нейронов, обладающих регулярным, промежуточным по степени регулярности, нерегулярным и нестационарным характером ФИА. Выделялись также четыре динамических типа ФИА: 1 – случайная последовательность длительности межимпульсных интервалов; 2 – пачечно-групповая активность; 3 – локальное изменение частоты разрядов; 4 – монотонное изменение частоты разрядов. Для стационарных нейронов строились гистограммы межимпульсных интервалов (ГМИ), по форме которых определялись моно-, би- и полимодальные нейроны. Согласно значениям средней частоты ФИА нейронов, все стационарные клетки были условно разделены на три группы: нейроны с низкой

(менее 5 Гц), средней (5–10 Гц) и высокой (более 10 Гц) частотой разрядов. Наряду с этим вычисляли среднее значение частоты (F) импульсации нейронов. Для оценки достоверности изменений в распределениях нейронов по степени регулярности ФИА, динамическим типам импульсной активности, модальности ГМИ и распределений нейронов по частотным интервалам в различных сериях экспериментов использовали критерий  $\chi^2$ . Достоверность изменения частоты разрядов нейронов ГП в различных сериях проведенных исследований оценивалась согласно критерию Стьюдента (таблица).

Таблица

*Достоверность отличия показателей фоновой импульсной активности нейронов исследованных структур мозга в различных сериях экспериментов*

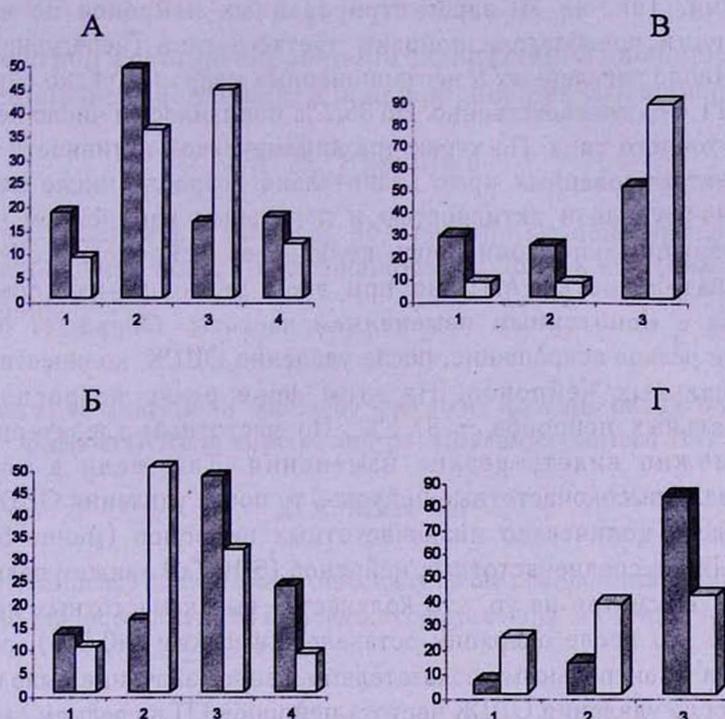
Серии экспериментов	Критерий $\chi^2$				Критерий Стьюдента						
	A	B	B	Г	F	CV	As	Ex	Mo	P	I
Lc – Lc-pr	0,001	0,001	0,001	0,005	-	+	+	+	+	+	5

*Примечание:* А – распределение по степени регулярности; Б – распределение по динамическим типам; В – распределение по модальности гистограмм межимпульсных интервалов; Г – распределение по частотным интервалам; F – средняя частота разрядов нейронов; CV – коэффициент вариации межимпульсных интервалов; As – асимметрия гистограммы межимпульсных интервалов; Ex – эксцесс гистограммы межимпульсных интервалов; Mo – мода гистограммы межимпульсных интервалов; P – вероятность моды гистограммы межимпульсных интервалов; I – индекс отличия фоновой импульсной активности сравниваемых серий экспериментов.

Достоверность отличия распределений А – Г оценивалась согласно критерию  $\chi^2$ , достоверность отличия статистических показателей F, CV, As, Ex, Mo и P оценивалась согласно критерию Стьюдента. В случае достоверного отличия распределений А – Г в соответствующих ячейках таблицы указан уровень его значимости. Достоверное увеличение или уменьшение статистических показателей при уровне значимости  $P < 0.05$  отмечено знаком «+» или «-» соответственно, статистически недостоверные изменения показателей фоновой активности – прочерком или символом "0".

## Результаты и обсуждение

Согласно полученным результатам [2], в норме в ГП контрольных животных преобладают нейроны с промежуточной по степени регулярности активностью ФИА – 48,7%, из 94 зарегистрированных нейронов (рис.). Примерно в равной степени представлены регулярные, нестационарные и нерегулярные нейроны – 18,1; 17 и 16,2% соответственно. По характеру динамической активности в ГП преобладают нейроны с локальными и монотонными изменениями частоты разрядов – 47.9 и



Усредненные показатели фоновой импульсной активности нейронов голубого пятна контрольных (серые столбцы) и паратиреопривных (белые столбцы) крыс.

А. Распределение по степени регулярности: 1—регулярные; 2—промежуточные по степени регулярности; 3—нерегулярные; 4—нестационарные.

Б. Распределение по динамическим типам активности: 1—случайная последовательность межимпульсных интервалов; 2—пачечная или групповая активность; 3—локальное изменение частоты; 4—монотонное изменение частоты разрядов.

В. Распределение по модальности: 1—мономодальные; 2—бимодальные; 3—поли-модальные.

Г. Распределение по частоте: 1—низкочастотные; 2—среднечастотные; 3—высо-кочастотные

23.3% соответственно. Сравнительно меньше нейронов с пачечно-груп-повым характером импульсации и случайным следованием МИ — 16 и 12.8% соответственно. В норме в ГП преобладают полимодальные ней-роны — 50%, моно- и бимодальные клетки составляют 26,9 и 23,1% соответственно. В распределении нейронов ГП по частотным интервалам высоко-, средне- и низкочастотные нейроны составляют 82,1, 12,5 и 5,1% соответственно. Средняя частота разрядов нейронов ГП состав-ляет 24,9 Гц.

Как видно из приведенных данных (рис., табл.), после парати-реоидэктомии по вышеотмеченным показателям произошли достоверные

изменения. Так, из 70 зарегистрированных нейронов по степени регулярности преобладали нейроны третьего типа (нерегулярные) – 44,3%. Число регулярных и нестационарных нейронов резко снизилось до 8,5 и 11,4 % соответственно. До 35,7% понизилось и число нейронов промежуточного типа. По характеру динамической активности у паратиреоидэктомированных крыс значительно возросло число нейронов с пачечно-групповой активностью и локальным изменением частоты МИ. Незначительно понизилось количество нейронов с случайной последовательностью МИ, но при этом резко понизилось число нейронов с монотонным изменением частоты. Обращает на себя внимание резкое сокращение, после удаления ОЩЖ, количества моно- и бимодальных нейронов. На этом фоне резко возросло число полимодальных нейронов – 87,1%. По частотным характеристикам также можно видеть резкие изменения. Так, если в контроле преобладали высокочастотные нейроны, то после удаления ОЩЖ резко увеличилось количество низкочастотных нейронов (менее 5 Гц) – 22,6%. Число среднечастотных нейронов (5-10 Гц) также увеличилось – 37,1%. Несмотря на то, что количество высокочастотных нейронов (более 15 Гц) после операции оставалось высоким (40,3%), однако в сравнении с контрольными показателями, данное значение было намного ниже. После удаления ОЩЖ частота нейронов ГП в среднем составила  $12,9 \pm 1$  Гц.

Таким образом, можно заключить, что вышеотмеченные данные указывают на существенное изменение функциональной активности норадренергической системы мозга в условиях недостаточности кальцийрегулирующей системы. Резкое увеличение низкочастотной активности может служить показателем роли ионизированного кальция в функционировании ГП. Согласно классическим данным,  $Ca^{2+}$  формирует нейрональную активность путем активации биохимических каскадов как на мембране, так и внутри клетки. В первом случае  $Ca^{2+}$  приводит к деполяризации мембраны, во втором – к активации синтеза медиаторов, к примеру, норадреналина. Возможно, в условиях дефицита  $Ca^{2+}$  происходит нарушение синтеза медиатора нейронов ГП норадреналина, с дальнейшим понижением активности. С другой стороны, понижение уровня ПТГ может привести к снижению частоты импульсов со стороны других структур-афферентов к нейронам ГП, что в итоге также должно сказаться на частоте нейронов этого центра. В этих условиях также возможны подключения адаптационных механизмов со стороны афферентов ГП в виде дополнительных связей, что также может объяснять столь резкое увеличение полимодальных ответов.

*Поступила 21.05.10*

**Կապույտ բժի ֆոնային ազդակային ակտիվության համեմատական վերլուծությունը վերահսկիչ և պարաթիրեոպրիվ առնետների մոտ**

Է. Ա. Միրզոյան

Ուսումնասիրվել է կապույտ բժի ֆոնային ազդակային ակտիվությունը առնետների մոտ ինչպես նորմայում, այնպես և հարվահազեղձերի հեռացումից հետո:

**Comparative analysis of the locus coeruleus neurons background impulse activity in control and parathyroidectomized rats**

Е. А. Mirzoyan

The influence of the parathyroidectomy on the neurons background impulse activity in the locus coeruleus as a noradrenergic regulatory center, was investigated.

**Литература**

1. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Эндокринология, М., 2000.
2. Худавердян Д. Н., Асратян А. А., Вардересян И. В., Ханбабян М. В., Саркисян Р. Ш., Мушегян Г. Х. Анализ фоновой импульсной активности нейронов голубого пятна крысы. Нейрофизиология /Neurophysiology, 2000, т. 32, 4, с.308-313.
3. Худавердян Д.Н., Тер-Маркосян А.С. Система паратгормон-кальций в регуляции функциональной активности нейрона, Ереван, 1999.
4. Abad-Álegria F. Estereotaxis troncoencefalica. Trab. Inst. Cajal Invest. Biol., 1971, V. 63, N 1, p. 193-224
5. Aston-Jones G, Shipley M.T. et al. The locus coeruleus, A5 and A7 noradrenergic cell groups. In: The Rat Nervous System, Paxinos G, ed. New York: Academic Press, 1995, p. 183-214.
6. Dobolyi A., Palkovits M., Bodna I. and Usdin T. B. Neurons containing tuberoinfundibular peptide of 39 residues project to limbic, endocrine, auditory and spinal areas in rat. Neuroscience (122), 2003, 1093-1105.
7. Foote S.L., Bloom F.E. et al. Nucleus locus coeruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. Physiol. Rev., 1983, 63(3):844-914.
8. Horvath T.L., Peyron C. et al. Strong hypocretin (orexin) innervation of the locus coeruleus activates noradrenergic cells. J. Comp. Neurol., 1999, 415:145-159.
9. Morrison J., Foote S. Noradrenergic and serotonergic innervation of cortical, thalamic and tectal visual structures in old and new world monkeys. J. Comp. Neurol., 1986, 243:117-128.
10. Pollard H., Llorens-Cortes C. et al. Histamine and histidine decarboxylase in brain stem nuclei: distribution and decrease after lesions. Brain Res., 1978, 157(1):178-181.
11. Yoshinaka Murai, Hitoshi Ishibashi, Susumu Koyama and Norio Akaike : Ca<sup>2+</sup>-Activated K<sup>+</sup> Currents in Rat Locus Coeruleus Neurons Induced by Experimental Ischemia, Anoxia, and Hypoglycemia. J. Neurophysiol., 1997, 78:2674-2681.