

УДК 577

## Մեյներտի հիմնային կորիզի նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրությունը ձվարանների երկկողմանի հեռացման պայմաններում

Կ.Վ.Սիմոնյան

*ԳԱԱ Լ.Ս.Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտ  
0028, Երևան, Օրբելի եղբ. փ., 22*

*Բանալի բառեր.* օվարիումէկտոմիա, դեմենցիա, Մեյներտի հիմնային  
կորիզ, նեյրոնի սեպային ակտիվություն, նյարդադե-  
գեներացիա

Օվարիումէկտոմիան (ՕՎՄ)՝ սեռահաս առնետների ձվարան-  
ների երկկողմանի հեռացումը, հանդիսանում է կանանց օրգանիզմի  
ծերացման հետ կապված մենոպաուզալ շրջան իմիտացիա անող  
փորձարարական մոդել: Բժշկագիտության մեջ արդիական են հա-  
մարվում ՕՎՄ-ով հարուցված նյարդադեգեներատիվ պաթոլոգիաների  
և դրանց կանխարգելման և պրոֆիլակտիկային ուղղված հետազոտու-  
թյունները: Մարդկանց և կենդանիների մի շարք նյարդամիջնորդային  
համակարգերում՝ ացետիլխոլինային, կատեխոլամինային, սերոտո-  
նինային և գամա-ամինոկարազաթթվային (ԳԱԿԹ)՝ էստրոգենի  
էֆեկտները պայմանավորված են կարգավորող դերով [3]: Արդի  
ուսումնասիրություններում նշվում է, որ ՕՎՄ առաջացնում է հիշո-  
ղության, ուսուցման և վարքային խանգարումներ: Մասնավորապես  
հիպոկամպում և կեղևում նկարագրված է ՕՎՄ-ի հետևանքով ացե-  
տիլխոլինէրազային ակտիվության բարձրացում [12], ինչպես նաև  
դենդրիտների խտության նվազում, սինապտիկ կազմակերպման,  
կապերի և պլաստիկականության խանգարումներ [5]: Սերոտոնիներ-  
գիկ համակարգում ՕՎՄ-ի ազդեցությունը կրում է ընդհանրացված  
բնույթ, իսկ ԳԱԿԹ-երգիկ համակարգում դիտվում է ցնցումային  
ակտիվության դրսևորում [13]:

ԿՆՀ-ի բջջային և սինապսային կազմավորումը որոշվում է ոչ  
միայն գենետիկական կարգավորմամբ, այլև արտաքին միջավայրի  
վերգենետիկական ազդեցությամբ: Հորմոնները, նեյրոփոխադրիչները,  
նեյրոպեպտիդները և նեյրոնային ծագման աճի (NGF) ու սնուցման  
գործոնները (BDNF) ազդում են որպես զարգացման ազդանշաններ:

Այդ մոլեկուլները ներգրավված են բջջի ռեպլիկացիայի, վերապրման և տարբերակման այնպիսի ասպարեզներում, ինչպիսին են՝ նեյրիտների և դենդրիտների աճը, սինապսների ձևավորումը և նեյրոփոխադրիչների ընտրությունը: Նեյրոնային շրջանակների զարգացումը և կազմավորումը վերահսկվում է նյարդահումորալ ֆունկցիաների լայն սպեկտրով, իսկ իմացական ֆունկցիան մշտապես գտնվում է սեռական հորմոնների (մասնավորապես էստրոգենի) ազդեցության ներքո [6]: Էնդոգեն էստրոգենի կորուստը հետմենոպաուզալ կանանց մոտ բնականոն ծերացման ընթացքում համահարաբերվում է մտավոր խանգարման հետ [14]:

Տվյալ ուսումնասիրության նպատակն է ԿՆՀ-ում՝ Մեյներտի հիմնային կորիզում, սինապտիկ փոխանցելիության փոփոխությունների էլեկտրաֆիզիոլոգիական ցուցանիշների գնահատումը առնետների երկկողմանի ՕՎՄ-ի պայմաններում:

### Նյութը և մեթոդները

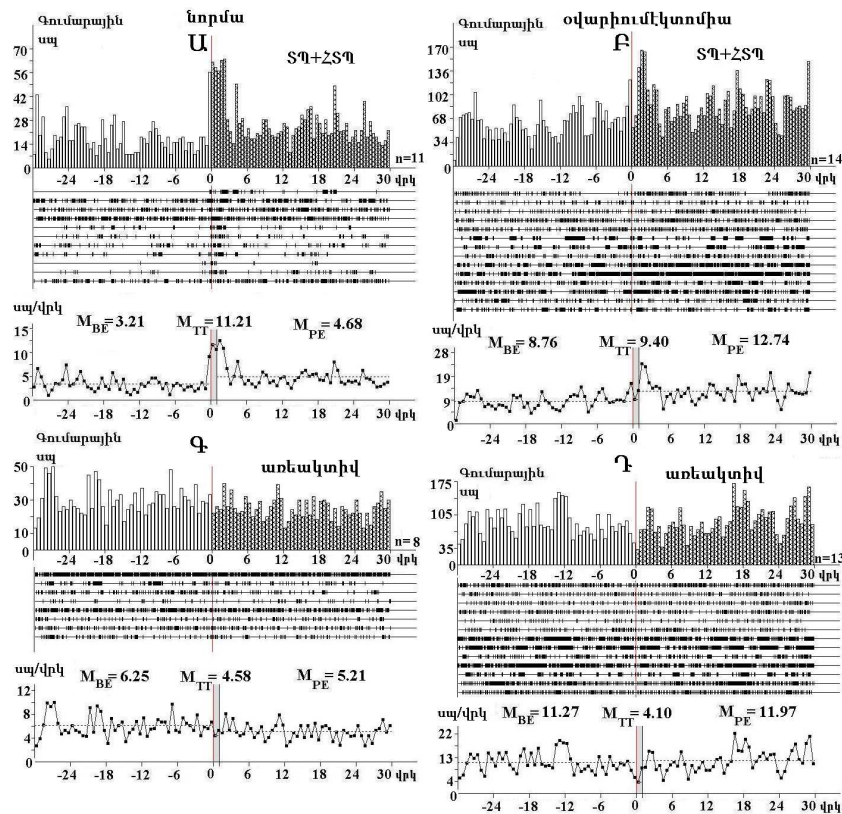
Ուսումնասիրությունները իրականացվել են էգ ալբինո առնետների ( $n=6$ ) վրա ( $220 \pm 20$  գ): Նեմբուտալային անզգայացման պայմաններում ( $35$  մգ/կգ, ն/փ) իրականացվել է ձվարանների երկկողմանի հեռացում: Էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրություններում ՕՎՄ-ից  $6$  շաբաթ անց իրականացվել է Մեյներտի կորիզի առանձին նեյրոնների ( $n = 254$ ) ֆոնային և հարուցված սեպային ակտիվության արտաբջջային գրանցում հիպոկամպի իպսիլատերալ CA1 դաշտի բարձր հաճախականության գրգռման (ԲՀԳ) պայմաններում: Սուր *in vivo* փորձերում կենդանիները ստացել են  $1\%$  դիթիլին ( $25$  մգ/կգ, ն/փ) և տեղափոխվել են արհեստական շնչառության փուլ: Առնետի մեկուսացված գլխուղեղի մոդել ստանալու նպատակով ողնուղեղը (կրծքային T2-T3 հատվածներ) հատվել է տեղային նոկլայինային անզգայացման պայմաններում: Գրգռող, գլանաձև, երկբևեռ էլեկտրոդը ներմուծվել է հիպոկամպի մեջ հետևյալ ստերեոտաքսիկ [10] կոորդինատներով՝ AP  $-3.5$ , L  $\pm 2.0$ , DV  $+ 4.0$  մմ, իսկ գրանցող ապակյա  $1$  մկմ ծայրով միկրոէլեկտրոդը, որը լցված է  $2$  M NaCl-ի լուծույթով, բազմակի իջեցվել է Մեյներտի կորիզի մեջ AP  $-1.08$ , L  $\pm 3$ , DV  $+7.4$  մմ կոորդինատներով: ԲՀԳ ( $100$  Հց  $1$  վրկ տևողությամբ) իրականացվել է  $0.16 - 0.18$  Ա ուղղանկյունային հոսանքի միջոցով: On-line ռեժիմում սեպային պոտենցիալները՝ տատանասահմանային դիսկրիմինատորի միջոցով ընտրվելուց հետո, ենթարկվել են ծրագրային վիճակագրական բազմամակարդակ վերլուծության (Վ.Ս.Կամենեցկու մշակմամբ): Իրականացվել է առանձին նեյրոնների նախա- և հետխթանիչ սեպային

ակտիվությունների տեղաբաշխում իրական ժամանակի մեջ (60 վրկ) և դրանց գնահատման հիման վրա կառուցվել են գումարային և միջին հաճախականության հիստոգրամներ, որոնցում տարբերակվում են նախա-, հետիսթանիչ ժամանակահատվածները՝ ներառյալ ԲՀԳ ժամանակահատվածի տեսանիզացիան: Վերլուծության նպատակն է որոշել միջսեպային ինտերվալների տարբերության վիճակագրական հավաստիությունը նախա- և հետիսթանիչ ժամանակահատվածներում: Այս խնդրի լուծման նպատակով կառուցվել են միջսեպային ինտերվալների հիստոգրամներ, որոշվել են բաշխման հիմնական չափանիշները՝ միջին արժեքները, մոդաները, մասնատումները և հաճախականությունները: Ստյոդենտի t-չափանիշները համարվում են երկու անկախ ընտրանիների միասեռության ավանդական ստուգման մեթոդ: Վիճակագրական գնահատումների հուսալիության բարձրացման նպատակով օգտագործվում է նաև Վիլկոքսոնի երկընտրանքային չափանիշների ստուգման ոչպարամետրային մեթոդը [1], որը հաշվարկում է տվյալ չափանիշների ասիմպոտիկ նորմալությունը և թույլ է տալիս հաշված արժեքները համեմատել աղյուսյակային ստանդարտ, նորմալ բաշխման արժեքների հետ (0.05, 0.01, և 0.001):

### Արդյունքները և դրանց քննարկումը

Թիվ 1Ա նկարում ներկայացված է Մեյներտի կորիզի առանձին բջիջների ֆոնային և հիպոկամպի բարձր հաճախականությամբ զրգոմամբ հրահրված հետիսթանիչ դրդիչ՝ ՏՊ+ՀՏՊ ակտիվության մաթեմատիկական վերլուծության արդյունքները գումարային պերիստիմուլային հիստոգրամների և միջին հաճախականության դիագրամների ձևով: Նորմայում սպայկային ակտիվության միջին հաճախականության արժեքը տեսանիզացիայի ժամանակահատվածում (MTT) 3.5 անգամ (11.21 : 3.21 սպ/վրկ) գերազանցում է նախաստիմուլային միջին հաճախականության արժեքը, այլ կերպ ասած՝ հիպոկամպի ԲՀԳ Մեյներտի կորիզում հրահրում է 3.5 անգամ պոտենցիացված դրդիչ պատասխաններ: ՕՎՄ խմբում նույնանման պայմաններում գրանցվել են 1.07 անգամ (9.40 : 8.76 սպ/վրկ) պոտենցիացված դրդիչ պատասխաններ (նկ. 1Բ): Հետտեսանիկ ժամանակահատվածի դրդիչ պատասխանները պոտենցիացված են համապատասխանաբար 1.46 անգամ (4.68 : 3.21 սպ/վրկ) և 1.45 անգամ (12.74 : 8.76 սպ/վրկ): Հետստիմուլային դրդիչ պատասխաններ դրսևորող բջիջների մասնաբաժինը նորմայում կազմել է 42.85%, իսկ ՕՎՄ-ից 6 շաբաթ անց 24.1% (նկ. 3): Հատկանշական է, որ ՕՎՄ խմբի առավել բարձր ֆոնային ակտի-

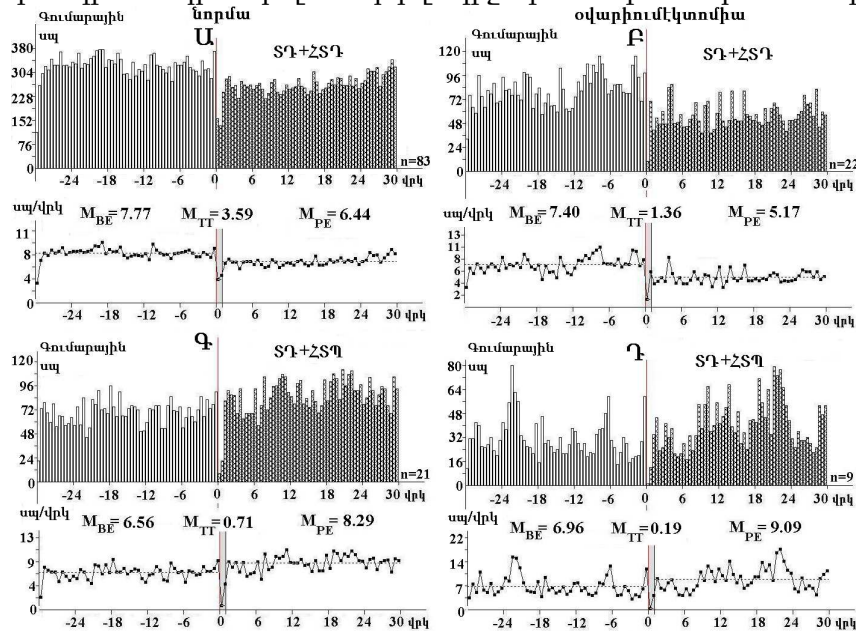
վություն (11.27 սպ/վրկ) դրսևորող Մեյներտի կորիզի բջիջները չեն պատասխանում հիպոկամպի ԲՀԳ, այսինքն առեակտիվ են (նկ. 1Դ), և այդպիսի նեյրոնների քանակը կազմել է 22.4 %, մինչդեռ այդպիսիները նորմալում՝ 4% (նկ. 3):



Նկար 1. Մեյներտի կորիզի նյարդաբջիջների սեպային ակտիվության գումարային պերիստիմուլային հիստոգրամներ (վերևում), կառուցված ռաստրի ձևով, ներկայացված առանձին բջիջների ֆոնային (ձախից) և հիպոկամպի բարձր հաճախականությամբ զրգոմամբ հրահրված հետստիմուլային (աջից) դրդիչ՝ ՏՊ+ՀՏՊ ակտիվության (Ա, Բ) և առեակտիվության (Գ, Դ) հիման վրա և նրանց իսկ միջին հաճախականության դիագրամներ (ներքևում) բնականոն (Ա, Գ) և օվարիուսկտոմիայի (Բ, Դ) պայմաններում:  $M_{BE}$ ,  $M_{TT}$ ,  $M_{PE}$ ՝ միջին հաճախականության թվային արժեքները նախա, ստիմուլային և հետստիմուլային ժամանակահատվածներում համապատասխանաբար:

Կրճատումներ՝ սպ (սեպ), վրկ (վարկյան), BE (before event), TT (time tetanization), PE (post event), n - զրանցված նյարդաբջիջների քանակ:

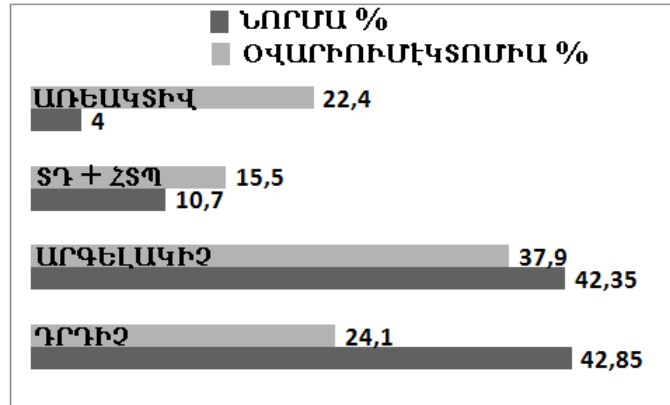
Թիվ 2 նկարում ներկայացված է Մեյներտի կորիզի այն բջիջների սպայկային ակտիվության վերլուծությունը, որոնք ի պատասխան հիպոկամպի ԲՀԳ դրսևորել են արգելակիչ պատասխաններ տետանի-



Նկար 2. Մեյներտի կորիզի նյարդաբջիջների սեպային ակտիվության գումարային պերիստիմուլային հիստոգրամներ (վերևում), կառուցված ռաստրի ձևով, ներկայացված առանձին բջիջների ֆոնային (ձախից) և հիպոկամպի բարձր հաճախականությամբ գրգռմամբ հրահրված հետստիմուլային (աջից) արգելակիչ՝ ՏՂ+ՀՏՂ (Ս, Բ) և արգելակիչ+դրդիչ՝ ՏՂ+ՀՏՊ ակտիվության (Գ, Դ) հիման վրա և նրանց իսկ միջին հաճախականության դիագրամներ (ներքևում) բնականոն (Ս, Գ) և օվարիումէկտոմիայի (Բ, Դ) պայմաններում: MBE, MTT, MPE՝ միջին հաճախականության թվային արժեքները նախա, ստիմուլային և հետստիմուլային ժամանակահատվածներում համապատասխանաբար: Կրճատումներ՝ սպ (սեպ), վրկ (վայրկյան), BE (before event), TT (time tetanization), PE (post event), n - գրանցված նյարդաբջիջների քանակ:

գացիայի (ՏՂ) և ՀՏՂ կամ ՀՏՊ հետտետանիկ ժամանակահատվածներում: Նորմայում ՏՂ+ՀՏՂ ակտիվությունը դրսևորող բջիջների MTT արժեքը 2.16 անգամ (7.77 : 3.59 սպ/վրկ) նվազել է նախաստիմուլային ժամանակահատվածի միջին հաճախականության արժեքից (նկ. 2Ս), մինչդեռ այդպիսիները ՕՎՄ խմբում նվազել են 5.4 անգամ (7.40 : 1.36 սպ/վրկ) (նկ. 2Բ), իսկ MPE արժեքների իջեցումը համապատասխանաբար՝ 1.2 (7.77 : 6.44 սպ/վրկ) և 1.4 (7.40 : 5.17 սպ/վրկ) անգամ: Հետստիմուլային արգելակիչ պատասխաններ դրսևորող

բջիջների մասնաբաժինը նորմայում կազմել է 42.35%, իսկ ՕՎՋ-ից 6 շաբաթ անց՝ 37.9% (նկ. 3):



Նկար 3. Արգելակիչ, դրդիչ, առեակտիվ և ՏԴ + ՀՏՊ պատասխանների մասնաբաժինը (արտահայտված %-ով) նորմայում և օվարիումեկտոմիայի պայմաններում:

Հարկ է նշել, որ տետանիզացիայի և հետտետանիկ ժամանակահատվածներում հակադիր տիպի պատասխաններ (ՏԴ+ՀՏՊ) դրսևորող նեյրոնների զանգվածը նվազագույնն է և՛ բնականոն և՛ ՕՎՋ-ի պայմաններում՝ 10.7 և 15.5 % համապատասխանաբար (նկ. 3), սակայն ՏԴ արտահայտվածությունը առավելագույնն է և համապատասխանաբար կազմում է հաճախականության 9.2 (6.56 : 0.71 սպ/վրկ) և 36.6 (6.96 : 0.19 սպ/վրկ) անգամ իջեցում (նկ. 2Գ և Դ): Վերջիններիս ՀՏՊ արտահայտված է հավասարաչափ ինչպես նորմայում (1.26 անգամ), այնպես էլ ՕՎՋ խմբում (1.3 անգամ):

Այսպիսով, համեմատական վերլուծությունը բացահայտում է, որ ՕՎՋ խմբում կտրուկ աճել է առեակտիվ բջիջների մասնաբաժինը, իսկ նվազագույն փոփոխություններ տեղի են ունեցել արգելակիչ պատասխաններ դրսևորող բջիջների չափաբաժնում: Կարգավորելով ակտիվություն-կախյալ պրոցեսները՝ ացետիլխոլինէսթերազային ռեցեպտորները մասնակցում են սինապտիկ պլաստիկականության հիմնարար գործընթացներում: Մասնավորապես, նիկոտինացետիլխոլինային ռեցեպտորները գլյուտամատային սինապսներում թեթևացնում են երկարատև դեպրեսիան և պոտենցիացիան [4]:

Երկար տարիներ հայտնի են էստրոգենի արագ ազդեցությունները նեյրոնային դրդունակության գործընթացում: Եվ միայն վերջին ժամանակներում է բացահայտվել էստրոգենի ազդեցության երկրնաբանքային բնույթը, որը ներառում է էստրոգենային ռեցեպտորների փոխազդեցությունը երկրորդային փոխադրիչների համակարգի և նոր

տիպի էստրոգենային ռեցեպտորների հետ [9]: Էստրոգենի ոչ գենոմային ազդեցությունների բազմազանությունը ներառում է՝ արագ ներգործությունը նեյրոնային և հիպոֆիզի բջիջների դրդունակության վրա, ցիկլիկ ադենոզին մոնոֆոսֆատի և պրոտեինկինազային ուղիների ակտիվացումը ինսուլինանման աճի գործոն-1-ի թիրախ ռեցեպտորներում, ինչպես նաև G-պրոտեին-կախյալ խթանումը և ներագդեցությունը  $Ca^{2+}$ -անցուղիների,  $Ca^{2+}$  հոսանքների և  $Ca^{2+}$  ներհոսքի վրա և վերջապես, նեյրոնների պաշտպանությունը էկզոգեն թույների և ազատ ռադիկալների վնասումներից [7, 8]:

Էստրոգենի ազդեցությունը խոլիներգիկ, նորադրեներգիկ և հիպոթալամուսի դոֆամիներգիկ համակարգերում որպես օրենք իրականացվում է հայտնի կորիզային ներբջջային  $ER\alpha$  և  $ER\beta$  ռեցեպտորներով: Էստրոգենի էֆեկտները հիպոկամպում միջնորդավորվում են ինչպես ացետիլխոլինի, այնպես էլ BDNF-ի միջոցով:  $\beta$ -էստրադիոլը խթանում է հիպոկամպի սինապտոգենեզը՝ բարձրացնելով BDNF ձերբագատումը աստամավոր գալարի հատիկավոր բջիջներում [11]: Հետմենոպաուզային շրջանի կանանց մոտ էստրոգենի մակարդակի տատանումները կարող են առաջացնել երկարատև խանգարումներ Մեյներտի հիմնային կորիզի խոլիներգիկ նեյրոններում՝ հանգեցնելով խոլինացետիլտրանսֆերազա ֆերմենտի (ChAT) ակտիվության իջեցման և BDNF-ի արտահայտվածության նվազման: Էստրոգեն փոխարինող թերապիան կարող է կանխարգելել այդ պրոցեսները՝ բարձրացնելով ChAT-ի ակտիվությունը և նպաստելով ացետիլխոլինի ձերբագատմանը, ինչպես նաև երկարացնելով խոլիներգիկ նեյրոնների վերապրումը [15]: Մասնավորապես, զգալիորեն բարձրացնելով հիպոկամպի CA1 դաշտում, կեղևում, նշահամալիրում, Մեյներտի կորիզում BDNF-ի արտահայտվածությունը, էստրոգեն փոխարինող թերապիան կարգավորում է NGF-ի և NGF-ընկալիչների միջև փոխազդեցությունը, ինչով և պայմանավորված է դրա նյարդապաշտպանիչ կիրառումը [2]:

*Поступила 25.03.11*

## **Электрофизиологическое исследование нейронов базального ядра Мейнерта в условиях двусторонней овариоэктомии**

**К.В.Симонян**

Двусторонняя овариоэктомия ассоциирована с повышенным риском когнитивных нарушений и деменций. Базальное ядро Мейнерта переднего мозга содержит холинергические нейроны, проецируемые в гиппокамп и

участвующие в фундаментальных аспектах синаптической пластичности. Эстроген связывается с рецепторами с высоким сродством к эстрогену в нейронах переднего мозга в таких структурах, как базальное ядро Мейнерта и гиппокамп. Сравнительный анализ наших электрофизиологических данных выявил, что через 6 недель после овариоэктомии у крыс зарегистрированы минимальные изменения в тормозных ответах клеток ядра Мейнерта, а также резкое повышение числа ареактивных клеток.

### **Electrophysiological studies of basal nucleus of Meynert in conditions of bilateral ovariectomy**

**K.V. Simonyan**

Bilateral ovariectomy is associated with an increased risk of cognitive impairment and dementia. The basal forebrain contains cholinergic neurons that project to hippocampus and participate in fundamental aspects of synaptic plasticity. Estrogen binds to high-affinity estrogen receptors within neurons of forebrain regions, such as the basal forebrain and hippocampus. The comparative analysis of our electrophysiological data shows that after 6 weeks of ovariectomy in rats there were recorded minimal changes in inhibitory responses by cells of nucleus of Meynert. The share of areactive cells was sharply increased.

### **Գրականություն**

1. Орлов А.И. Прикладная статистика. М., 2004.
2. Cardona Gomez G.P., Mendez P., Don Carlos L.L. et al. Interactions of estrogens and insulin like growth factor I in the brain, implications for neuroprotection J. Brain Res. Brain Res. Rev., 2001, 37, p.320-334.
3. Gasbarri A., Pompili A., Tavares M.C., Tomaz C. Estrogen and Cognitive Functions. Expert Rev. Endocrinol. Metab., 2009, 5(5), p.507-520.
4. Ge S., Dani J.A. Nicotinic acetylcholine receptors at glutamate synapses facilitate long-term depression or potentiation. Journal of Neuroscience, 2005, 25, p.6084-6091.
5. Jameie S.B. Ovariectomy reduces the dendritic spine density of the dorsal raphe neurons in the adult rat. Arch. Iranian Med., 2004, 7 (2), p.122 -127.
6. Kawata M. Roles of steroid hormones and their receptors in structural organization in the nervous system. Neurosci. Res., 1995, 24, p. 1-46.
7. Kelly M.J., Levin E.R. Rapid actions of plasma membrane estrogen receptors. Trends Endocrinol. Metab., 2001,12, p.152-156.
8. Lee S.J, McEwen B.S. Neurotrophic and neuroprotective actions of estrogens and their therapeutic implications. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 2001, 41, p.569-591.
9. McEwen B. Estrogen actions throughout the brain. Recent Progress in Hormone Research, 2002, 57, p.357-384.
10. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, Academic Press, 5th ed., 2005.

11. *Sato K., Akaishi T., Matsuki N., Ohno Y., Nakazawa K.* Beta-estradiol induces synaptogenesis in the hippocampus by enhancing brain-derived neurotrophic factor release from dentate gyrus granule cells. *Brain Res.*, 2007, 1150, p.108-120.
12. *Siomara C. Monteiro, Cristiane Matté, Daniela Delwing and Angela T.S. Wyse* Ovariectomy increases Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase, acetylcholinesterase and catalase in rat hippocampus. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2005, 236, p. 9-16.
13. *Tominaga K., Yamauchi A., Shuto H., Niizeki M., Makino K., Oishi R. and Kataoka Y.* Ovariectomy aggravates convulsions and hippocampal  $\gamma$ -aminobutyric acid inhibition induced by cyclosporin A in rats. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 30, p. 243-249.
14. *Zec R.F., Trivedi M.A.* The effects of estrogen replacement therapy on neuropsychological functioning in postmenopausal women with and without dementia: A critical and theoretical review. *Neuropsychol. Rev.*, 2002, 12, p.65–109.
15. *Zong-Jun Guo, Du Fang.* Effect of estrogen on both sides and cut off the dome umbrella Long Haima castrated rats brain-derived neurotrophic factor expression. *Journal of Psychiatry*, 2005, 38 (2), p. 113-116.