

УДК 597.82:612.886

## Мозжечковый контроль деятельности нейронов медиальной ретикулярной формации

Л.Р. Манвелян, А.М. Насоян, Д.О. Терзян,  
А.В. Маргарян

*Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА,  
лаборатория физиологии центральной нервной системы  
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22*

*Ключевые слова:* медиальная ретикулярная формация, аурикулярная область коры мозжечка

Наиболее древняя система надсегментарного контроля управления движениями организма представлена ретикуло-спинальным трактом [9]. Известно, что латеральное вестибулярное ядро (ЛВЯ) происходит из ретикулярной формации (РФ) [16, 20, 22, 25]. В экспериментах на миногах показана важная роль ретикуло-спинальных нейронов в медиации вестибулярных влияний на спинальные моторные механизмы [22, 25, 27]. У амфибий, первых представителей четвероногих, отмеченные нейроны расположены в медиальных зонах РФ продолговатого мозга [25]. Имеются веские доказательства, что импульсы, поступающие из вестибулярных ядер на спинальные мотонейроны, могут быть опосредованы также и через ретикуло-спинальные нейроны [2, 12, 22-24]. В основном, вестибулярное влияние на мотонейроны каудального отдела спинного мозга передается посредством ретикуло-спинальных нейронов, локализованных в различных ромбэнцефалических ретикулярных – мезэнцефалических переднем, среднем и заднем ядрах [22].

Связи между мозжечком и ядром Дейтерса (ЛВЯ) очень выражены [1, 7, 9]. В исследованиях на высших позвоночных выявлено, что некоторые области коры мозжечка, оказывающие тормозное влияние на вестибулярные нейроны, проецируются в вестибулярные ядра.

Ранее на тепло- и холоднокровных было показано тормозное влияние аурикулярной области коры мозжечка на мотонейроны вестибулярного ядерного комплекса (ВЯК) [4, 15]. У млекопитающих тормозные мозжечковые влияния выявлены и на нейронах РФ [5, 13]. Однако подобные исследования у низших позвоночных, таких как лягушка, отсутствуют. Есть мнение о сходстве мозжечково-ретикулярных связей у лягушки и млекопитающих [2, 28].

Ретикуло-спинальные нейроны наравне с вестибулярными, активность которых контролирует аурикулярная область мозжечка, также имеют важное значение в регуляции движениями организма. Исходя из вышеизложенного, представляет интерес исследовать влияние аурикулярной области мозжечка на ретикулярные нейроны, что и явилось целью настоящей работы.

## Материал и методы

Эксперименты выполнены на 93 озерных лягушках (*Rana ridibunda*) обоих полов по описанной ранее методике изолированного перфузируемого мозга, разработанной в лаборатории центральной нервной системы (ЦНС) [6]. Животных глубоко наркотизировали раствором MS-222 (3-aminobenzoic acid ethyl ester; Sigma) (0.2 г/кг), вскрывали грудную клетку и обнажали сердце. Через его желудочек в дугу аорты вводили канюлю с целью перфузии раствором Рингера для холоднокровных, насыщенным карбогеном (96% CO<sub>2</sub> и 4% O<sub>2</sub>) и охлажденным до 10-18 °С. Череп вскрывали с дорсальной стороны. Электрическое раздражение передней ветви VIII нерва осуществлялось одиночными прямоугольными ударами постоянного тока (0.1-0.2 мс; 0.05-0.4 мА) посредством серебряных всасывающих электродов. Краниотомией обнажался мозжечок. Под визуальным контролем на поверхность аурикулярной области мозжечка осторожно прикладывались серебряные биполярные шариковые электроды [19]. Для электрического раздражения вышеотмеченной области мозжечка применялись те же параметры тока, что и в отношении передней ветви VIII нерва. С целью внутриклеточного отведения электрической активности нейронов медиальной ретикулярной формации (МРФ) использовались сточенные стеклянные микроэлектроды, заполненные раствором 2М лимоннокислого калия, с сопротивлением 10-20 МΩ (рис. 1).

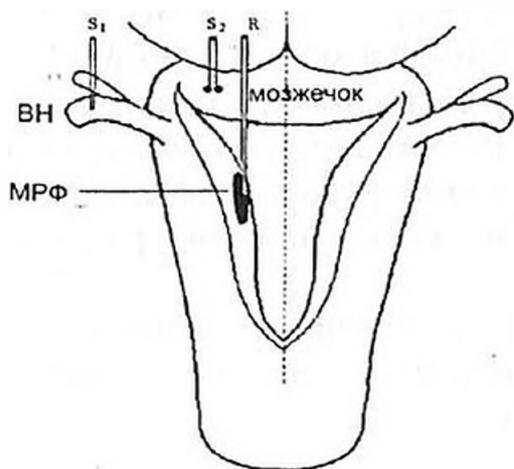


Рис. 1. Схематическое изображение расположения отводящего электрода, регистрирующего активность нейронов медиальной ретикулярной формации (МРФ) (R), а также электродов, раздражающих вестибулярный нерв (ВН) (S<sub>1</sub>) и аурикулярную область коры мозжечка (S<sub>2</sub>). Затемненная область – зона отведения потенциалов на стимуляцию вышеотмеченных образований

Наилучший эффект отведения потенциалов нейронов МРФ в ответ на раздражение вестибулярного нерва наблюдался, когда электрод вводи-

ли в область дна четвертого желудочка, на 1.5-2.0 мм каудальнее входа вестибулярного нерва в ствол мозга, на 200-500 $\mu$  латеральнее средней линии и погружали на глубину 500-1000 $\mu$  от дорсальной поверхности [2, 10, 11] (рис. 1). По завершении экспериментов спинной мозг разрушался. Проводился компьютерный анализ данных. Пробеги луча осциллографа сохранялись в компьютере для последующей обработки посредством аналого-цифровой конвертации. Приведены среднеарифметические стандартные отклонения показателей.

## Результаты и обсуждение

Внутриклеточная активность зарегистрирована в 175 ретикулярных нейронах. Электрическое раздражение вестибулярного нерва вызывало химически передаваемые возбуждающие постсинаптические потенциалы (ВПСП). Нейроны МРФ идентифицировались на основании ВПСП (рис. 2, А – а1, б1; Б – а1, б1), возникающих в ответ на раздражение ипсилатерального (по отношению к вестибулярному ядру) вестибулярного нерва и синаптической активации тех же нейронов, при стимуляции аурикулярной области коры мозжечка. На раздражение мозжечка отвечали лишь 30% идентифицированных нейронов МРФ. Известно, что нейроны МРФ амфибии обильно снабжаются вестибулярными волокнами [20, 21]. Как было упомянуто выше, вестибулярные афференты влияют на нейроны МРФ также через интернейроны, локализованные в ВЯК [22]. Одиночное раздражение аурикулярной области коры мозжечка вызывало тормозные постсинаптические потенциалы (ТПСП). На основании временных характеристик исследованных ответов мы условно разделили зарегистрированные ТПСП на две группы: коротко- и длиннолатентные.

В первую группу вошли 56 нейронов, скрытый период которых составлял 1.65-3.0 мс (в ср.  $2.56 \pm 0.33$  мс;  $n=56$ ) (рис. 2, А – а2, б2; рис. 3). Время нарастания амплитуды ТПСП до максимума – в среднем  $3.72 \pm 0.93$  мс (2.1-6.15 мс;  $n=52$ ) и достигало 0.57-3.3 мВ (в ср.  $1.58 \pm 0.58$  мВ;  $n=52$ ). Общая длительность колебалась в пределах 7.46-22.5 мс (в ср.  $11.6 \pm 3.16$  мс;  $n=55$ ) (рис. 2, А – а2, б2; рис. 3). Продолжительность скрытого периода ТПСП и время нарастания амплитуды до максимума испытывали незначительные изменения при различной интенсивности раздражения коры мозжечка. Вышеотмеченные показатели дали основание рассматривать данные ТПСП как моносинаптические.

На млекопитающих морфологически и электрофизиологически показана прямая связь мозжечка с РФ [8], тогда как аналогичные данные в отношении лягушек в литературе отсутствуют.

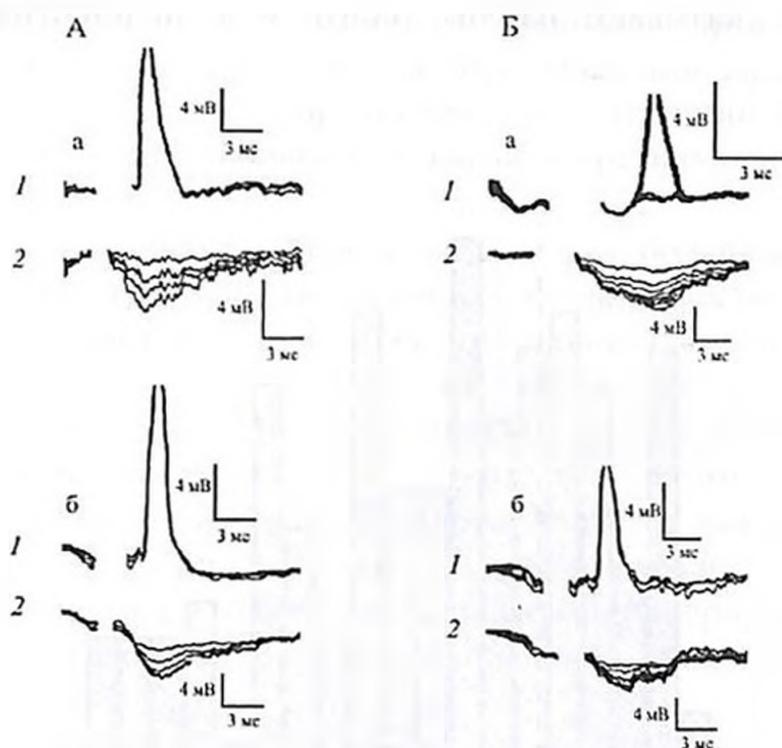


Рис. 2. Постсинаптические потенциалы четырех нейронов медиальной ретикулярной формации в ответ на раздражение ипсилатеральной аурикулярной области коры мозжечка;

А–а2, б2– моносинаптические; Б–а2, б2– полисинаптические ТПСР при различной интенсивности стимуляции ипсилатеральной аурикулярной области коры мозжечка;

А–а1, б1; Б–а1, б1– ВПСР тех же нейронов медиальной ретикулярной формации на раздражение передней ветви вестибулярного нерва с целью их идентификации

Известно, что синаптическая задержка в ЦНС амфибий имеет величину порядка 1 мс [18]. Это позволяет полагать, что коротколатентные ТПСР генерировались моносинаптически в нейронах РФ, предположительно прямой активацией аксонов клеток Пуркинье, проецирующихся в МРФ, по аналогии с существующей прямой связью клеток Пуркинье с ВЯК [3, 17].

Во вторую группу были включены 119 ретикулярных нейронов, в которых стимуляция аурикулярной области коры мозжечка вызывала ТПСР с более длительным и нестабильным скрытым периодом (рис. 2, Б – а2, б2; рис. 3). Они характеризовались четким укорочением скрытых периодов и времени нарастания амплитуды ТПСР до максимума при увеличении интенсивности стимуляции. Их скрытый период колебался в пределах 3.04–6.0 мс (в ср.  $4.2 \pm 0.8$  мс;  $n=119$ ). Длительность времени нарастания амплитуды до максимума составляла в среднем  $5.16 \pm 1.24$  мс (2.22–8 мс;  $n=87$ ). Амплитуда достигала максимума в среднем  $1.8 \pm 0.62$  мВ (0.63–3.5 мВ;  $n=92$ ). Общая длительность данных ТПСР была в пределах 8.18–27.8 мс (в ср.  $15.5 \pm 4.6$  мс;  $n=112$ ) (рис. 2, Б–а2, б2; рис. 3). Зависимость зарегистрированных ТПСР от интенсивности стимуляции и их временные

характеристики указывают на ди-, олиго- и полисинаптическое происхождение.

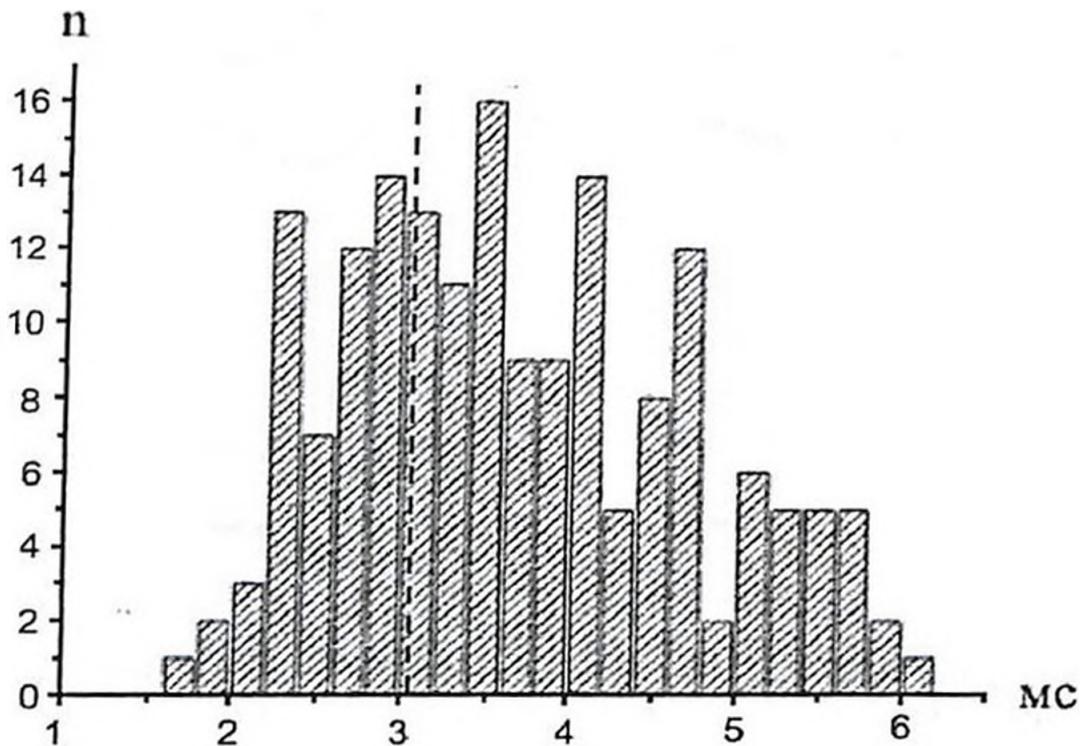


Рис. 3. Гистограмма распределения моно- и полисинаптических ТПСР нейронов медиальной ретикулярной формации в ответ на раздражение ипсилатеральной аурикулярной области коры мозжечка.

Прерывистая линия разделяет моно- и полисинаптические ответы.

По оси абсцисс – время (мс); по оси ординат – количество исследованных нейронов (n)

Выявлено, что длиннолатентные ТПСР, вызванные слабой стимуляцией поверхности мозжечка, постепенно укорачивались по времени при увеличении интенсивности стимуляции, т. е. при пространственной суммации входов параллельных волокон к дендритам клеток Пуркинье [14, 18, 19]. Мы полагаем, что описанные ди-, олиго- и полисинаптические ТПСР возникали не прямой, а косвенной активацией клеток Пуркинье [18, 26] через параллельные волокна, по аналогии с таковыми, зарегистрированными в ВЯК, в ответ на раздражение аурикулярной области коры мозжечка [3, 17].

Скрытый период ТПСР нейронов зависит не только от интенсивности стимуляции, но и от локализации раздражающего электрода, поскольку некоторые вестибулярные нейроны отвечают моносинаптически при очень слабой стимуляции, а другим – необходим сильный стимул. Маленькие размеры мозжечка лягушки и близость аурикулярной дольки от ножки мозжечка не дают возможности точно определить месторасположение мозжечково-вестибулярных клеток Пуркинье. Частота появления

отмеченных ТПСР снижалась при перемещении раздражающего электрода ближе к средней линии мозжечка [19]. Учитывая зарегистрированные нами ТПСР, можно сделать предположение о наличии вышеописанного механизма также и в отношении мозжечково-ретикулярных взаимоотношений.

Полученные результаты свидетельствуют о большом сходстве функциональной корреляции вестибулярного входа с вестибуло-спинальной системой у лягушки и более высших позвоночных, в том числе млекопитающих [28]. Вышеизложенное свидетельствует об активном участии и взаимодействии ретикуло- и вестибуло-спинальных систем в двигательном спино-бульбарном рефлексе [2, 24]. Таким образом, мы полагаем, что РФ ствола мозга, подобно ядру Дейтерса, является важным реле в организации моторного контроля. Мозжечок активно вовлекается в регуляцию позы и движения самого различного характера, кооперируясь помимо вестибуло-спинальной также с ретикуло-спинальной системой ствола мозга.

*Поступила 23.02.16*

### Միջակա ցանցաձև գոյացության նեյրոնների գործունեության ուղեղիկային վերահսկումը

Լ. Ռ. Մանվելյան, Ա. Մ. Նասոյան, Դ. Օ. Թերզյան,  
Ա. Վ. Մարգարյան

Գորտի պերֆուզացվող ուղեղի պատրաստուկի վրա ուսումնասիրվել են միջակա ցանցաձև գոյացության (ՄՅԳ) նեյրոնների ներբջջային պոտենցիալները՝ ի պատասխան ուղեղիկի կեղևի համակողմ աուրիկուլյար հատվածի գրգռման: Բացահայտված է, որ Պուրկինյեյի բջիջների գրգռումն ՄՅԳ նեյրոններում առաջացնում է մոնո- և պոլիսինապտիկ արգելակիչ հետսինապտիկ պոտենցիալներ (ԱՀՄՊ): Կատարված հետազոտությունների հիման վրա կարելի է եզրակացնել, որ ուղեղաբնի ցանցաձև գոյացությունը, Դեյտերսի կորիզի նման, հանդիսանում է շարժողական ակտի կազմակերպման կարևոր ռեյե: Գորտի ուղեղիկը, ինչպես և բարձրակարգ կենդանիների մոտ, մասնակցում է բարդ շարժողական ակտերի օպտիմալ կատարմանը:

## Cerebellar control of the activity of medial reticular formation neurons

L.R. Manvelyan, A.M. Nasoyan, D.O. Terzyan, A.V. Margaryan

In experiments on the perfused frog brainstem the intracellular potentials of neurons of the medial reticular formation (MRF) in response to stimulation of ipsilateral auricular lobe of the cerebellar cortex were studied. It was established that stimulation of Purkinje cells evoked mono- and polysynaptic inhibitory postsynaptic potentials (IPSP) in MRF neurons. On the basis of studies one can conclude that RF of brainstem, like Deiters nucleus, is an important relay in organization of motor control. Frog's cerebellum participates in optimal execution of complex motor actions as well as in higher vertebrates.

### Литература

1. Гранит Р. (*Granit R.*). Основы регуляции движений. М., 1973.
2. Манвелян Л. Р., Арутюнян Э. Ю., Насоян А. М. Роль медиальной ретикулярной формации в реализации вестибулярных функций. В сб. статей, посвящ. памяти чл.-корр. РАН, акад. НАН РА В. В. Фанарджяна. СПб., 2005, с. 5-13.
3. Манвелян Л. Р., Насоян А. М., Терзян Д. О. О некоторых особенностях влияния коры мозжечка на деятельность вестибулярного ядерного комплекса лягушки. В сб.: Физиологические механизмы регуляции деятельности организма. Междунар. юбил. конф., посвящ. 130-летию акад. Л. А. Орбели. Ереван, 2012, с. 189-194.
4. Манвелян Л. Р., Насоян А. М., Терзян Д. О. Синаптическая организация вестибулярных афферентных входов в вестибулярный ядерный комплекс лягушки. ДАН Армении, 2013, т. 113, 2, с. 217-223.
5. Наумова Т. С. Физиология ретикулярной формации. М., 1963.
6. Погосян В. И., Фанарджян В. В., Манвелян Л. Р. Микроэлектродное исследование вестибулярных нейронов в изолированном перфузируемом мозгу лягушки *Rana ridibunda*. Журн. эвол. биох. и физиол., 1997, т. 5, с. 164-173.
7. Фанарджян В. В. Избранные главы нейрофизиологии. Ереван, 2002.
8. Фанарджян В. В., Саркисян В. А. Пространственная организация тормозного контроля активности вестибуло-спинальных нейронов ядра Дейтерса клетками Пуркиньи коры передней доли мозжечка. Нейрофизиология, 1979, т. 11, с. 54-64.
9. Шаповалов А. И. Нейроны и синапсы супраспинальных моторных систем. Л., 1975.
10. Шаповалов А. И., Ширяев Б. И. Ретикулоспинальные и проприоспинальные моносинаптические влияния на мотонейроны лягушки. Нейрофизиология, 1973, т. 5, 2, с. 164-173.
11. Abbie A. A., Adey W. R. Motor mechanism of the anural brain. J. Comp. Neurol., 1950, v. 92: 242-291.
12. Andersson S., Gernandt B. E. Ventral root discharge in response to vestibular and proprioceptive stimulation. J. Neurophysiol., 1956, v. 19: 524-543.
13. Brodal A., Pompeano O. The vestibular nuclei in the cat. J. Anat., 1957, v. 91 (4): 438-454.
14. Hillman D. E. Light and electron microscopical study of the relationships between the cerebellum and the vestibular organ of the frog. Exp. Brain Res., 1969, v. 9 (1): 1-15.
15. Ito M., Yoshida M. The cerebellar-evoked monosynaptic inhibition of Deiters' neurons. Experimentia (Basel), 1964, v. 20: 515-516.
16. Kappers A. C. U., Huber G. C., Crosby E. C. The Comparative Anatomy of the Nervous System of Vertebrates, Including Man. New York: Hafner, 1960.

17. *Llinás R., Bloedel J. R., Hillman D. E.* Functional Characterization of Neuronal Circuitry of Frog Cerebellar Cortex. *J. Neurophysiol.*, 1969, v. 32: 847-870.
18. *Llinás R., Precht W.* The Inhibitory Vestibular Efferent System and its Relation to the Cerebellum in the Frog. *Exp. Brain Res.*, 1969, v. 9 (1): 16-29.
19. *Magherini P. C., Giretti M. L., Precht W.* Cerebellar Control of Vestibular Neurons of the frog. *Arch.*, 1975, v. 356: 99-109.
20. *Matesz C., Kulik A., Bácskai T.* Ascending and Descending Projections of the Lateral-Vestibular Nucleus in the Frog *Rana esculenta*. *J. Comp. Neurol.*, 2002, v. 444 (1): 115-128.
21. *Matesz C., Kovalicz G., Veress G., Deák A., et al.* Vestibulotrigeminal pathways in the frog, *Rana esculenta*. *Brain Res. Bull.*, 2008, v. 75: 371-374.
22. *Orlovsky G. N., Delyagina T. G., Wallen P.* Vestibular control of swimming in lamprey. *Brain Res.*, 1992, v. 90 (3): 479-488.
23. *Peterson B. W., Fillion M., Fempel L. P., Abzug G.* Responses of medial reticular neurons to stimulation of the vestibular nerve. *Exp. Brain Res.*, 1975, v. 22: 335-350.
24. *Rovainen C. M.* Electrophysiology of vestibulospinal and vestibuloreticulospinal systems in lampreys. *J. Neurophysiol.*, 1979, v. 42: 745-766.
25. *Rovainen C. M., Johnson P. A., Roach E. S., Monkovsky J. A.* Projections of individual axons in lamprey spinal cord determinate by tracing through serial sections. *J. Comp. Neurol.*, 1973, v. 149 (2): 193-202.
26. *Sarkisian V. H.* Input-output relations of Deiters lateral vestibulospinal neurons with different structures of the brain. *Arch. Italian Biology*, 2000, v. 138: 295-353.
27. *Wickelgren W.* Physiological and anatomical characteristics of reticulospinal neurons in lamprey. *J. Physiol., London*, 1977, v. 270: 89-114.
28. *Wilson V. J., Melvill Jones G.* Mammalian Vestibular Physiology. New York: Plenum, 1979.