А 03.00.09
4-125

ՀՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
Լ.Ա.ՕՐԲԵԼՈՒ ԱՆՎԱՆ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ՉԱՎՈՒՇՅԱՆ - ՊԱՊՅԱՆ ՎԵՐԳԻՆԵ ԱՆԴՐԱՆԻԿԻ

ԱՌՆՆՏՆԵՐԻ ՈՂՆՈՒՂՆԳԻ ՆԵՅՐՈՆՆԵՐԻ ԿԵՆՍԱԷԼԵԿՏՐԱԿԱՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ԴԵՔՍԱՄԵԹԱԶՈՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՏԱԿ ԱԴՐԵՆԱԼԷԿՏՈՄԻԱՅԻ և ՈՂՆՈՒՂՆԳԱՅԻՆ ՎՆԱՍՎԱԾՔՆԵՐԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Գ. 00.09- «Մարդու և կենդանիների ֆիզիոլոգիա» մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական
աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

Երևան-1999

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ
АРМЕНИЯ
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ им. акад. Л.А. ОРБЕЛИ

ЧАВУШЯН-ПАПЯН ВЕРГИНЕ АНДРАНИКОВНА

ИЗМЕНЕНИЯ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ СПИННОГО МОЗГА КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ ДЕКСАМЕТАЗОНА ПРИ АДРЕНАЛЭКТОМИ И СПИННОМОЗГОВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
03.00.09 – "Физиология человека и животных"

Ереван - 1999

© National Library of Armenia OCR by Portmind

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա.Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի Գիտական խորհրդի նիստում:

Գիտական ղեկավար՝ Կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր՝ Լ.Ա. ՄԱՏԻՆՅԱՆ

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ Բժշկական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր՝ Դ.Ն. ԽՈՒԴԱՎԵՐԴՅԱՆ
Կենսաբանական գիտությունների թեկնածու՝ Ա.Հ. ԲԱՆՏԻԿՅԱՆ

Առաջատար կազմակերպություն՝ Երևանի Պետական համալսարանի կենսաբանական ֆակուլտետ:

Պաշտպանությունը կայանալու է «9» դեկտեմբերի 1999 թ., ժ.13ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա.Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի 023 մասնագիտության և կենդանիների ֆիզիոլոգիայի մասնագիտական խորհրդի նիստում (375028 , Երևան ,Օրբելի եղբ. փ.,22) :
Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա.Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի գրադարանում

Սեղմագիրը առաքված է «9» նոյեմբերի 1999 թ.

Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար, բժշկական գիտությունների թեկնածու՝ Է.Գ. Կոստանյան

Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета Института физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА

Научный руководитель: Доктор биологических наук, профессор Л.А.Матинян

Официальные оппоненты: Доктор медицинских наук, профессор Д.Н.Худавердян

Ведущая организация: Биологический факультет ЕГУ

Защита состоится "9" декабря 1999 г. в 13 ч. на заседании специализированного совета 023 по физиологии человека и животных в Институте физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА (375028, ул. бр. Орбели, 22).
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА.

Автореферат разослан "9" ноября 1999 года

Ученый секретарь специализированного совета, кандидат медицинских наук Э.Г. Костанян

32.95-99

Актуальность проблемы. На протяжении многих лет изыскание средств и способов воздействия для функционального восстановления после спинномозговых (СМ) травм является одной из наиболее актуальной в биологии и медицине. Учитывая существенную роль гормонов коры надпочечников в регуляции гомеостаза в организме, их значение в адаптации к действию различных неблагоприятных факторов, экзогенные глюкокортикоиды (ГК) были рекомендованы в качестве фактора, обеспечивающего оптимальное гомеостатическое состояние в посттравматический период при СМ травмах. Однако, теоретическая разработка вопроса благотворного влияния ГК гормонов еще значительно отстает от клинических запросов.

Присутствие ГК рецепторов в СМ (Hall 1981; McEwen 1986) дало возможность объяснить механизм действия этих гормонов на СМ функции как в экспериментальном (Ogata 1993; Kiwerski 1993; Gonzalez 1994, Haghighi 1998), так и в клиническом (Hall 1993; Guney 1998; Koc 1999) лечении СМ повреждений. Однако актуальным остается изучение электрофизиологических особенностей влияния синтетического ГК гормона – дексаметазона (ДЕК) на нейроны поврежденного СМ.

На основании обнаруженных в последние годы категории важных регуляторов ЦНС выдвинута гипотеза (Schmitt 1984), основанная на двух взаимосвязанных концепциях: 1) Нейроны могут функционально регулироваться не только известными нейромедиаторами, но и, так называемыми, "информационными" веществами, среди которых стероидные гормоны. 2) Наряду с нейрональными сетями, которые формируют основу функциональной нейроанатомии и нейрофизиологии, и функционируют благодаря синаптическим связям, существует система, названная парасинаптической, в которой "информационные" вещества достигают специфических участков клеточных рецепторов посредством диффузии.

Поскольку ГК гормоны играют важную роль в функционально - структурном состоянии СМ при его повреждении и в компенсаторной приспособляемости (Матинян 1978), актуальным является изучение влияния ГК гормонотерапии на нейроны СМ: 1) в условиях гормональной недостаточности

© National Library of Armenia

(адреналэктомия - АЭК) и 2) на двух, патогенетически различающихся, моделях СМ повреждения – перерезка седалищного нерва и гемисекция.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы являлось электрофизиологическое исследование изменений биоэлектрической активности нейронов поясничного отдела СМ под действием ДЕК в норме, в условиях надпочечниковой недостаточности, после перерезки седалищного нерва и гемисекции, а также анализ механизмов действия ДЕК в поврежденном СМ. В данной работе поставлены следующие задачи:

1. Изучить у АЭК крыс влияние ДЕК на потенциалы передних корешков, экстраклеточные фокальные потенциалы (ФП), а также на фоновую активность (ФА) одиночных интернейронов (ИН) серого вещества поясничного отдела СМ.
2. Изучить влияние ДЕК после односторонней перерезки седалищного нерва в динамике на потенциалы передних корешков, ФП ИН и мотонейронов (МН), ФА одиночных ИН дорсальных рогов на поврежденной и неповрежденной стороне поясничного отдела СМ .
3. Изучить влияние ГК гормонотерапии после гемисекции на ФП ИН , ФА одиночных ИН дорсальных рогов серого вещества на поврежденной и неповрежденной стороне поясничного отдела СМ.

Научная новизна работы. Впервые на крысах исследованы электрофизиологические характеристики эффективности ДЕК относительно нейронов поврежденного СМ. Для объяснения механизмов действия ГК гормона исследованы изменения биоэлектрической активности нейронов СМ под действием ДЕК у АЭК крыс. Показано, что однократное введение ДЕК в остром опыте вызывает, спустя 3-5 минут, облегчение активности ИН и МН СМ, о чем свидетельствует усиление амплитуд ФП, увеличение средней частоты ФА, а также трансформация исходного ритма спонтанно разряжающихся ИН.

Впервые исследовано влияние ГК гормонотерапии в динамике на двух моделях СМ повреждения. Показано, что действие ДЕК сразу после односторонней перерезки седалищного нерва вызывает облегчение ФП дорсальных и вентральных рогов поясничного отдела СМ. ДЕК, вводимый в

течение первой послеоперационной недели после односторонней перерезки седалищного нерва более эффективен на поврежденной стороне СМ. В поздние сроки после перерезки нерва на поврежденной стороне СМ наблюдается выраженный облегчающий эффект в полисинаптических рефлекторных путях. В то же время на поврежденной стороне СМ значительно чаще встречаются ИН с "пачечным" типом ФА, а эффект гормонального воздействия выражается в подавлении "патологического", как можно полагать, пачечного типа ФА и увеличении количества клеток с ФА, представляющей собой последовательности одиночных импульсов.

Впервые показано, что после гемисекции, вызывающей угнетение как амплитуд ФП, так и урежение ФА ИН, введение ДЕК в первую послеоперационную неделю приводит к облегчению суммарной синаптической активности ИН, а также к восстановлению до нормы средних частот ФА исследуемых нейронов на поврежденной стороне СМ .

Научно-практическая ценность работы. Полученные данные имеют важное теоретическое значение для понимания нейрофизиологических механизмов спинномозговой пластичности. Они существенно восполняют имеющиеся пробелы в области электрофизиологических исследований роли ГК гормонов для функционального восстановления поврежденных нейрональных структур СМ. Полученные результаты могут быть учтены и в клинической практике, при изучении СМ травм различного происхождения, прогнозировании течения и исхода функционального восстановления у лиц с надпочечниковой недостаточностью. Выяснение электрофизиологических показателей нейроэндокринных механизмов формирования адаптивных реакций, надо полагать, будет способствовать целенаправленному поиску способов коррекции адаптивных реакций с целью оптимизации деятельности организма.

Апробация работы и публикации. Материалы диссертационной работы доложены: на научной сессии, посвященной 50-ти летию Института физиологии (Ереван 1993), на 5 съезде Армянского физиологического общества (Ереван 1994), на научной конференции НИИ курортологии и физической

© National Library of Armenia

медицины (Ереван 1995), на I и II заседаниях Армянского отделения IBRO (Ереван 1996, 1998), на научных семинарах лаборатории нейро-эндокринных взаимоотношений Института физиологии, а также представлены в виде тезисов на международном симпозиуме по ортопедии и реабилитации (Китай 1995), на 33 Международном конгрессе физиологических наук (Санкт-Петербург 1997), на 37-ом и 38-ом ежегодном международном научном симпозиуме по параплегии (Бразилия 1998, Копенгаген 1999).По теме диссертации опубликовано 14 работ.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 120 страницах, состоит из Введения , 5 глав, Выводов и Списка цитированной литературы (205 источников), иллюстрирована 37 рисунками.

Глава 2. Методы исследования

Исследования проведены на 180 крысах-самцах линии Вистар массой 200-300 гр., в условиях полухронического эксперимента. В стерильных условиях под нембуталхлоролозовым наркозом (30 мг/кг и 15 мг/кг, соответсвенно) производили:

-двустороннее удаление надпочечников с последующей однонедельной солевой диетой (0,8 % раствор NaCl);

- одностороннюю перерезку седалищного нерва с резекцией на протяжении 2-3 мм в верхней трети бедра и с перевязкой центрального отрезка нерва, для предотвращения его регенерации;

- латеральную гемисекцию СМ на L2-L3 поясничном уровнях.

АЭК животные одномоментно в остром опыте получали ДЕК в дозе 0,5 мг/кг, внутримышечно (Dexamethasone, "Галеника", Югославия). В группе животных с перерезкой седалищного нерва вводился ДЕК (0,5 мг/кг) в течение одной и трех послеоперационных недель; на острый эксперимент животных брали через одну и три недели после перерезки седалищного нерва. В группе крыс с гемисекцией ДЕК вводился в течение первой послеоперационной недели; на острый опыт животных брали через три недели.

Электрофизиологические исследования биоэлектрических показателей СМ деятельности проводились в остром эксперименте. Под эфирным наркозом крысу обездвиживали дитилином (ИТОХ, Армения, 2,5мг/кг 1% раствора) и переводили на искусственное дыхание, производили сечение СМ под новокаином с помощью ультразвукового ножа на Т2-Т3 спинальном уровне. После прочной фиксации в стереотаксическом приборе пояснично-крестцового отдела позвоночника производилась ламинэктомия данной области СМ. Исследовались потенциалы передних корешков поясничного отдела L4-L5 при раздражении соответствующих задних корешков биполярным серебряным электродом надпороговой силой при длительности стимула 0,05мс. Цифровые данные подвергались статистической обработке с использованием критерия Стьюдента.

Раздражение седалищного нерва крысы электрическими импульсами (2 порога, длительность 0,05 мс) вызывает в сером веществе поясничных сегментов L4-L5 СМ синаптические потенциалы (Eccles 1954), которые с помощью фокального отведения (шагом по 200 мкм) регистрировали стеклянными микроэлектродами с диаметром кончика 2-4 мкм, заполненнымиы 2М раствором NaCl, стереотаксически ориентированными в дорсовентральном направлении в соответствующие ламины серого вещества СМ по Рекседу. Высчитывались усредненные величины амплитуд ФП ИН и МН, выраженные в процентах с указанием их квадратических отклонений (Ойвин 1959).

Экстраклеточную ФА одиночных ИН в задних рогах серого вещества поясничного отдела L4-L5 отводили стеклянными микроэлектродами с диаметром кончика 1-2 мкм, заполненными 2М раствором NaCl. Регистрированные спайковые потенциалы подавались на вход высокоомного истокового повторителя, затем через усилитель – на осциллограф для визуального контроля. Параллельно спайковые потенциалы подавались на триггер Шмитта, формирующий прямоугольный стандартный импульс, который как эквивалент спайкового потенциала действия подавался на анализатор распределения межимпульсных интервалов и на катод осциллографа для засветки его луча (Chung S.H. 1974). В серии опытов (Глава 5) производился программный анализ ФА ИН, где производилась выборка спайков с помощью амплитудного дискриминатора, на основе которой строились

© National Library of Armenia

графики временного распределения межимпульсных интервалов, куммулятивные гистограммы импульсного потока до и после раздражения седалищного нерва, гистограммы межимпульсных интервалов в % к их общему количеству и сериальные коррелограммы (Григорян 1998).

После завершения физиологических исследований производилось гистологическое изучение СМ по методам Бильшовского, Мийягавы-Александровского и Кайзера.

Глава 3. Влияние ДЕК на биоэлектрическую активность нейронов СМ АЭК крыс

Для выяснения влияния ГК гормона на нейрональные элементы СМ в данной главе изучена биоэлектрическая активность нейронов поясничного отдела СМ в условиях исключения из организма эндогенных кортикостероидов, а также исследован характер действия экзогенного синтетического ГК – ДЕК на данные нейроны.

Биоэлектрическая активность нейронов СМ АЭК крыс. В данной серии экспериментов исследованы потенциалы передних корешков через 7 дней после удаления надпочечников. Если у интактных животных амплитуда моносинаптического компонента переднекорешкового потенциала ровнялась 500 мкВ, латентный период – 1,2 мс ($P<0,05$), то у АЭК она составляла 2,500 мкВ и 1,8 мс ($P<0,05$) соответственно. При раздражении заднего корешка стимулами с частотой следования 5 имп/с у АЭК крыс наблюдалось угнетение моносинаптического потенциала (МП) переднего корешка, а после снятия раздражения его амплитуда не восстанавливается до исходной величины, в то время как у интактных животных угнетение МП менее выражено и амплитуда потенциала после снятия раздражения превосходит исходный уровень. Раздражение задних корешков импульсами с частотой следования 500 имп/с в течение 15 с вызывает феномен постетанической потенциации МП как у интактных, так и у АЭК животных. У итактных животных амплитуда потенцированного на 50% МП через 60с возвращается к исходной величине, сохраняя ее в последующие минуты, а у АЭК – амплитуда потенцированного на 90% МП, начиная с 60 с после потенциации уменьшается, а в 30% опытов она

полностью подавляется, что, вероятно, является результатом меньшей лабильности МН АЭК крыс (Ноздрачев 1969).

Через 7 дней после АЭК наблюдается усиление всех компонентов ФП в области ИН и МН: афферентного пика, медленной отрицательной волны и длительного позитивного отклонения. Через три недели после АЭК регистрировали уменьшение амплитуды афферентного пика и медленного отрицательного компонента, в то время как медленное положительное отклонение ФП продолжало оставаться усиленным по сравнению с интактными животными. Недостаточность кортикостероидов, вызывающая усиление позитивного в верхних и негативного в нижних слоях медленного ФП, вероятно, свидетельствует об активации нервных элементов, ответственных за ограничение поступления в мозг афферентной информации, что предполагает возможность включение компенсаторного механизма пресинаптического торможения (Киприян 1987).

Исследование ФА показало, что если у интактных крыс средняя частота фоновых разрядов 30 отдельных ИН в задних и передних рогах СМ была ровна 40 имп/с, то в ранний и поздний сроки после АЭК в таком же количестве нейронов она составляла – 31 и 18 имп/с соответственно. Наблюдаемое в динамике урежение частоты фоновых разрядов, вероятно, является следствием нарушения определенных метаболических процессов в исследованных нейронах (Pevzner 1981; Andrew 1987).

Таким образом, в данной серии экспериментов нами было показано, что АЭК вызывает ряд существенных модулирующих воздействий на электрическую активность исследованных нейронов СМ.

Изменения электрической активности нейронов СМ АЭК крыс под действием ДЕК. Вводимый в остром опыте ДЕК через 3-5 минут вызывает увеличение величин усредненных амплитуд ФП в дорсальных рогах на 13-50 % ($P<0,01$) и в вентральных – на 70-100% ($P<0,001$), что свидетельствует о быстродействующем усиливающем влиянии ДЕК на ИН и МН исследуемой области СМ.

При исследовании 25 ИН в 90% нейронов ДЕК облегчал ФА, а остальные 10% не реагировали на введение гормона. Если у интактных крыс средняя частота фоновых разрядов 25

© National Library of Armenia

ИН составляла 9 имп/с, а у АЭК она снижалась до 6 имп/с (P<0,05), то при действии ДЕК она учащалась и ровнялась 20 имп/с (P<0,01). Влияние ДЕК проявлялось не только в увеличении исходной частоты разрядов, но и в изменении типа ответа нейрона: в "пачечно" разряжающихся нейронах в результате действия гормона увеличивалось количество импульсов в пачке, а ритмически разряжающийся нейрон трансформировал свою активность в импульсацию "залпового" типа.

Таким образом, показана эффективность ДЕК на системы афферентного входа и эфферентного выхода СМ у АЭК животных. Зарегистрированные облегчающие эффекты ДЕК на ФП в МН ядрах дополняют имеющиеся данные об эффектах усиления ГК моносинаптических ответов МН в передних корешках СМ при нормальном гормональном статусе (Киприян Т.К. 1974). Наблюдаемая в наших экспериментах трансформация аутогенной ритмической активности ИН позволяет предположить: во-первых, что в этих реакциях принимают участие ионы Ca^{2+} и цАМФ (Костюк 1981; Van Bohemen 1983 ; Andrew 1987) ; во-вторых, что реализация гормонального эффекта, вероятно, происходит в нейронах посредством метаболически зависимых ионных каналов. В литературе существование прямых эффектов стероидных гормонов на уровне ЦНС объясняется выраженной тропностью их к фосфолипидам клеточных мембран (Farese 1984). Известно также, что рецепторы ГК гормонов обнаружены в дорсальных и вентральных рогах серого вещества СМ (Duncan 1984; Weill 1986: Gonzalez 1990), а по региональной распространенности наибольшая концентрация их обнаружена в поясничном и грудном отделах СМ (DeNicola 1987).

Глава 4. Влияние ДЕК на электрическую активность нейронов СМ у крыс после перерезки седалищного нерва

С целью выяснения изменений биоэлектрической активности после пластических перестроек в СМ, вызванных перерезкой периферического нерва и эффективости ГК терапии на данной экспериментальной модели, исследовано влияние

ДЕК на электрическую активность нейронов СМ у крыс после односторонней перерезки седалищного нерва.

У интактных крыс, получавших ДЕК в течение одной недели, амплитуда МП переднекорешкового потенциала возрастает на 100% (P<0,01), а полисинаптические разряды подавляются на 60% (P<0,05). В группе животных с перерезкой седалищного нерва за одну неделю до острого опыта наблюдали повышение возбудимости моносинаптических рефлекторных дуг на поврежденной стороне СМ, выражающееся в уменьшении порога рефлекторной реакции (P<0,01) и увеличении амплитуды МП на 50% (P<0,01). Введение ДЕК в течение первой послеоперационной недели не вызывает достоверных изменений амплитуды и латентного периода МП на поврежденной стороне, а на неповрежденной стороне – приводит к усилению МП на 50 % относительно группы животных не получавших гормонотерапию. Амплитуда переднекорешковых полисинаптических компонентов после перерезки нерва уменьшена на 50% (P<0,05) относительно нормы как на поврежденной, так и на неповрежденной стороне СМ, а ДЕК не вызывает достоверных изменений их амплитуд.

Через 30-35 дней после перерезки нерва на поврежденной стороне СМ регистрировали переднекорешковые потенциалы, амплитуда которых составляла в среднем 273 мкВ , а латентный период варьировал от 4 до 7 мс (P<0,01), что свидетельствует об их полисинаптическом происхождении. В те же сроки на неповрежденной стороне регистрировали МП, амплитуда которого составляла 62 %, а полисинаптического – 49% по сравнению с нормой, принятой за 100% . Введение ДЕК в течение всего послеоперационного периода на поврежденной стороне приводит к повышению амплитуды полисинаптических потенциалов на 150% (P<0,05), а на неповрежденной стороне МП облегчаются на 70% (P<0,01), а полисинаптические - на 100% (P<0,05) .

При нанесении на задний корешок раздражения с частотой 500 имп/с в течение 15 сек в переднем корешке регистрировали посттетаническую потенциацию МП на 60% (P<0,01). У крыс с перерезкой седалищного нерва, в отличие от контрольных, на поврежденной стороне СМ наблюдается аналогичное усиление амплитуды МП на первой же минуте

© National Library of Armenia

после тетанизации с последующей тенденцией к спаду в течение 10 минут. У животных, получавших ДЕК после перерезки нерва, амплитуда потенцированного на 60% (P<0,01) МП сохраняется на протяжении 10 минут и далее.

Таким образом, введение ДЕК в первую послеоперационную неделю животным с перерезкой седалищного нерва повышает амплитуды разрядов в вентральных корешках на неповрежденной стороне. На стороне перерезки нерва, на фоне постденервационной гипервозбудимости, действие гормона не выявляется. В поздние же сроки после перерезки нерва ДЕК облегчает передачу возбуждения в полисинаптических путях на оперированной и интактной сторонах. Однако, подавленные в данные сроки МП на стороне перерезки нерва при действии ДЕК не восстанавливаются.

При исследовании ФП на поврежденной и неповрежденной стороне СМ через одну неделю после перерезки нерва, в области ИН наблюдается облегчение усредненных величин амплитуд этих потенциалов на 90% и 80% соответственно (P< 0,05). В группе животных, получавших ДЕК облегчение амплитуд ФП ИН составляет 20% (P<0,01) по сравнению с животными не получавшими гормон. Спустя 30-35 дней после перерезки нерва регистрировали угнетение на 60% (P< 0,05) усредненных величин амплитуд ФП ИН, в то время как на неповрежденной стороне таковые облегчены на 40% (P<0,05)по сравнению с нормой. Облегчающий эффект ДЕК в эти сроки более выражен на поврежденной стороне СМ и составляет 200% (P< 0,01), а на неповрежденной стороне 50% (P<0,01) по сравнению с животными не получавшими гормон.

В области МН в ранние сроки после травмы на поврежденной стороне усредненные амплитуды ФП подавлены и составляют 45% (P<0,01) от нормы; на неповрежденной стороне таковые не отличаются от нормы. Под действием ДЕК облегчение на поврежденной и неповрежденной сторонах СМ составляет 200% (P<0,01) и 15% (P<0,05), соответственно. В области МН спустя 30-35 дней после перерезки на поврежденной стороне усредненные амплитуды ФП подавлены и составляют 15% (P<0,01) от нормы; введение ДЕК вызывает их облегчение на 150 % (P<0,05). В те же сроки на неповрежденной стороне таковые не отличаются от

нормы, а действие гормона выражается в их облегчении лишь на 50 % (P<0,05).

Таким образом, полученные облегчающие эффекты ДЕК на величины усредненных амплитуд ФП ИН и МН более выражены на поврежденной стороне СМ.

При исследовании ФА ИН в норме в выборке из 50 нейронов во 2 и 3 ламинах по Рекседу средняя частота составляла 17 имп/с, а в 4-6 ламинах – 45 имп/с. Введение ДЕК в течение одной недели приводит к возрастанию относительного количества нейронов, имеющих низкую частоту ФА. Эффект перерезки нерва проявлялся также в изменении временной структуры разрядов нейронов: так на оперированной стороне значительно чаще встречались клетки с ФА, содержащей "пачки" импульсов. Вместе с тем после гормонального воздействия наблюдалось уменьшение числа ИН, имеющих "пачечный" тип ФА.

Таким образом, эксперименты данной серии показали: во-первых, что гормонотерапия увеличивает суммарную ФА нейронов во 2 и 3 ламинах по Рекседу, во-вторых, что эффект ДЕК у животных с перерезкой нерва выражается в уменьшении количества нейронов с "пачечной" ФА и увеличении количества нейронов с нормальным типом ФА. Учитывая эффект трансформации под влиянием ДЕК, данной, предположительно "патологической", активности ИН в нормальную ритмическую активность и, основываясь на литературные данные (Andrew 1987) можно предположить, что в механизмы модуляции исходного ритма исследуемых нейронов также активно вовлекаются ионы Ca^{2+} и цАМФ. Наши исследования показали, что введение ДЕК в физиологических дозах с момента нанесения травмы предотвращает патологические изменения, главным образом в ИН СМ, по-видимому, в результате восстановления определенных обменных процессов в нейронах. Возможно также, что выявленная нами повышенная чувствительность ИН дорсальных рогов к ГК есть проявление комплексных биофизических, нейрохимических и морфологических изменений, обусловливающих спинальную пластичность.

© National Library of Armenia

Глава 5. Влияние ДЕК на электрическую активность нейронов дорсального рога СМ после гемисекции

Известно, что из ряда ионов внеклеточного пространства СМ ионы K^+ и Ca^{2+} влияют на нейрональную возбудимость и синаптическую передачу (Nicholson 1979). В литературе описано понижение уровня внеклеточного Ca^{2+}, связанное с немедленной и продолжительной утечкой Ca^{2+} во внутриклеточное пространство во время острой фазы СМ повреждения (Stokes 1983), что является, по мнению автора, потенциальным механизмом, посредством которого продолжается патологический процесс.

С целью выяснения эффективности нейропротекторного гормона ДЕК относительно нейронов поврежденного СМ после гемисекции в данном разделе изучены изменения биоэлектрической активности ИН дорсальных рогов СМ. Исследование ФП после гемисекции показало уменьшение усредненных величин амплитуд на 40% ($P<0,01$) на поврежденной стороне и на 28% ($P<0,01$) на неповрежденной стороне СМ. Введение ДЕК приводит к облегчению подавленных усредненных амплитуд ФП ИН на 8% ($P<0,05$) на поврежденной и 20% ($P<0,01$) на неповрежденной стороне СМ.

Показана выраженная эффективность ДЕК при исследовании ФА ИН после гемисекции. Результаты программного анализа нейронального потока показали, что если средний межимпульсный интервал ФА в норме составлял 62 мс, то на поврежденной и неповрежденной сторонах СМ после гемисекции он ровнялся 103 мс и 36 мс, соответственно. При действии ДЕК показатели ФА на поврежденной стороне приблизились к норме и составили 60 мс. На основании суммарных гистограмм межимпульсных интервалов строились графики скользящей частоты с указанием величины средней частоты. Анализ характеристик импульсного потока показал, что средняя частота ФА на поврежденной стороне составляет 23 имп/с, а у получавших ДЕК - 32 имп/с , что соответствует показателям ФА у интактного животного.

Таким образом, показан возбуждающий эффект ДЕК на ФП и ФА одиночных ИН каудальнее места гемисекции.

Известно, что ключевую роль в нейрональном апоптозе играют дисбаланс ионов Ca^{2+}, формирование кислородных радикалов и индуцирование ими липидной пероксидации (Oliveira 1997; Castillo 1998; Martinou 1998; Tuzgen 1998). Известна также роль ГК в понижении активности свободных радикалов в мембране нервной клетки, а молекулярный механизм действия стероидов подразумевает включение гормонов в клеточную мембрану и блокаду распространения пероксидантных реакций (Hall 1993). Применяемая нами физиологическая доза ДЕК и длительность лечения, видимо, подавляет посттравматическую липидную пероксидацию, в результате чего происходит уменьшение внутриклеточной Ca^{2+} аккумуляции в близлежащих от гемисекции областях и частичное восстановление биоэлектрической активности в исследуемой нами области. Из литературы известно об участии цАМФ-Са-зависимых протеинкиназ в процессе фосфорилирования мембранных белков при действии паратгормона (Худавердян, Тер-Маркосян 1999). Костюк и др. (1984), исследуя метаболическую зависимость активности кальциевых каналов соматической мембраны нервной клетки, установили, что в отличие от других типов трансмембранных ионных токов, изменения кальциевых входящих токов зависят от уровня внутриклеточного цАМФ. Нами выдвинуто предположение о реализации гормонального эффекта ДЕК у животных с гемисекцией через систему "аденилатциклаза–цАМФ". Повышение амплитуд ФП, а также нормализация ФА ИН, возможно, является результатом проявления не только антиоксидантных, но и глюкокортикоидных свойств ДЕК.

Известно, что после повреждения СМ на уровне афферентных и эфферентных нейронов происходит ряд процессов, которые рассматриваются как проявление пластичности структур СМ (Bernstein 1973), и что развитие адаптивных реакций реализуется посредством внутриклеточных регуляторных систем (Самойлов 1995). Применяемый нами ДЕК после травм СМ оказывает стимулирующее действие на функционирование поврежденных нейронов СМ. Предполагается, что ДЕК повышает эффективность синаптической передачи путем увеличения количества ионов Ca^{2+}, пролонгирования деполярицации пресинаптических терминалей и увеличения

© National Library of Armenia

выброса медиатора. Большая выраженность эффектов ДЕК на поврежденной стороне СМ, очевидно, является результатом компенсаторной суперсенситивности к ГК, способствующей функциональному восстановлению у животных с травмированным СМ. Применяемый нами ДЕК в течение одной послеоперационной недели, посредством пролонгированного повышения содержания вторичных посредников, видимо, создает оптимальные условия, способствующие восстановлению нарушенных вследствие травмы определенных обменных процессов, сопряженных с электрической активностью нервной клетки.

ВЫВОДЫ

1. После АЭК вследствие угнетения электрической активности в полисинаптических путях, происходит увеличение числа МН, разряжающихся по моносинаптическим путям, что приводит к усилению амплитуд переднекорешковых МП. Результаты исследований с утомлением и потенциацией МП свидетельствуют о меньшей лабильности МН АЭК крыс. Исследование ФП после АЭК показало угнетение амплитуд суммарных ФП, за исключением медленного позитивного в верхних и негативного в нижних ламинах серого вещества СМ.
2. Однократное введение ГК гормона – ДЕК (0,5 мг/кг) в остром опыте АЭК крысам вызывает, спустя 3-5 минут, усиление амплитуд ФП в области ИН и МН. Исследования ФА одиночных ИН в дорсальных рогах СМ АЭК крыс под действием ДЕК показало не только увеличение средней частоты ФА нейронов, но и трансформацию исходного ритма разрядов.
3. Перерезка седалищного нерва приводит к постденервационной гипервозбудимости на поврежденной стороне СМ в первую послеоперационную неделю. ДЕК, на этом фоне не вызывает каких-либо существенных изменений. В те же сроки на неповрежденной стороне СМ введение ДЕК приводит к облегчению амплитуды МП. Полисинаптические потенциалы при действии ДЕК не претерпевают изменений. В поздние сроки (30-35 дней) после перерезки нерва на поврежденной стороне СМ не регистрируются МП. ДЕК, вводимый в течение всего послеоперационного периода, не восстанавливает МП, в то же время наблюдается значительное облегчение возбуждения в

полисинаптических рефлекторных путях. В эти же сроки на неповрежденной стороне моно- и полисинаптический потенциалы сохраняются, а действие ДЕК выражается в облегчении их амплитуд.
4. Сравнительный анализ результатов исследования феномена посттетанической потенциации (ПТП) МП показал: 1) После перерезки седалищного нерва на поврежденной стороне СМ уменьшается продолжительность ПТП по сравнению с нормой. 2) На стороне перерезки нерва, у крыс, получавших ДЕК удлиняется продолжительность ПТП, по сравнению с не получавшими гормон животными. Увеличение длительности облегчения амплитуды МП свидетельствует о повышении эффективности синаптической передачи после действия ДЕК .
5. В ранние сроки после перерезки седалищного нерва эффект ДЕК на ФП ИН маловыражен. В поздние сроки, хронически вводимый ДЕК, вызывает увеличение ФП ИН на поврежденной стороне СМ на 200%, а на неповрежденной – 50% по сравнению с животными не получавшими ДЕК.
6. В ранние и поздние сроки после травмы более выражен облегчающий эффект ДЕК на ФП МН на поврежденной стороне СМ. Однако, если в ранние сроки ФП МН при действии ДЕК на поврежденной стороне восстанавливаются до нормы, то в поздние сроки восстановления до нормы не наблюдается.
7. После перерезки седалищного нерва средняя частота ФА ИН на поврежденной и неповрежденной стороне СМ уменьшается за счет преобладания низкочастотно разряжающихся нейронов. В то же время на поврежденной стороне значительно чаще встречаются ИН с "пачечным" типом ФА. Введение ДЕК приводит: во-первых, к увеличению суммарной частоты ФА нейронов во 2-4 ламинах серого вещества; во-вторых - к уменьшению числа нейронов с "пачечным" типом разрядов.
8. Через 3 недели, подавленные вследствие гемисекции амплитуды ФП ИН на поврежденной и неповрежденной сторонах СМ, под действием ДЕК облегчаются. Гормонотерапия более эффективна при регистрации изменений средних частот ФА одиночных ИН в задних рогах на поврежденной стороне СМ.

© National Library of Armenia

Список опубликованных по теме работ

1. Киприян Т.К., Андреасян А.С., Чавушян В.А. Биоэлектрическая активность нейронов спинного мозга адреналэктомированных крыс . ДАН Арм ССР , 1983, LXXVII 2 , с. 84-88 .
2. Киприян Т.К., Чавушян В.А. Изменения электрической активности нейронов спинного мозга адреналэктомированных крыс под действием гормонов коры надпочечников. Нейрофизиология, 1989, 21(2), с. 233-238 .
3. Чавушян В.А., Андреасян А.С. Влияние дексаметазона на биоэлектрическую активность нейронов спинного мозга у крыс с перерезкой седалищного нерва . Мат. Научной сессии, посвященной 50-летию Института физиологии, 1993 , с.33.
4. Чавушян В.А., Матинян Л.А., Андреасян А.С., Киприян Т.К. Влияние дексаметазона на электрическую активность нейронов спинного мозга у крыс с перерезкой седалищного нерва . Нейрофизиология, 1995, 27(1), с.26-31.
5. Matinian L.A., Andreasian A.S., Alaverdian A.G., Nahapetian Kh.H., Kiprian T.K., Chavushian V.A. To Rehabilitation Mechanisms and its stimulation in the Spinal Cord Injuries . В сборнике: International Symposium and Exhibition on Orlopedic and Paralysis Sequalae Rehabilitation, 1995, Beijing, China.
6. МатинянЛ.А., Андреасян А.С., Аллавердян А.Г., Нагапетян Х.О., Киприян Т.К., Чавушян В.А К механизмам реабилитации и ее стимуляции при повреждениях спинного мозга . В сб.: Актуальные проблемы клинической медицины, Ереван 1996 г. , с. 49-50 .
7. Kiprian T.K., Matinian L.A., Chavushian V.A., Andreasian A.S. Rapid action of corticosteroid hormones on the electrical activity of rat's spinal cord neurones . В сб.: XXXIII International Congress of Physiological Sciences. St.Peterburg, Russia 1997, P007.12 .
8. Matinian L.A., Allaverdian A.G., Nahapetian Kh.H., Andreasian A.S., Kiprian T.K., Chavushian V.A. To plasticity mechanisms in injuries of the spinal cord . В сб.: 37th Annual Scientific Meeting of the International Medical Society of Paraplegia , Brazil , 1998 .

9. Cavushian V.A. Dexamethasone influence on the electrical activity of spinal cjrd neurons in rats with hemisection . Second Conference of the Armenian IBRO Assotiation, Yerevan 1998, p. 48 .
10. Чавушян В.А., Матинян Л.А., Киприян Т.К., Хачатрян Т.С. Влияние дексаметазона на электрическую активность нейронов в поврежденной рефлекторной дуге спинного мозга. Медицинская Наука Армении 1998, XXXVIII (3-4), с.23-29 .
11. Sarkissian J.S., Kiprian T.K., Grigorian Y.Kh., Sarkissian E.J., Amirian S.V., ChavushianV.A. On influence of Vipera raddei venom on the activity of the rats spinal cord neurons in norm and pathology . "Вестник" МАНЭБ 1999 , 15(3), с. 127-132 .
12. Чавушян В.А. Влияние дексаметазона на электрическую активность спинномозговых нейронов у крыс после гемисекции. Вопросы теоретической и клинической медицины 1999, т.2 , N2(9), с. 58-61 .
13. Chavushian V.A., Kiprian T.K., Sarkissian J.S., Galoyan A.A., Matinian L.A., Andreasian A.S., Khachatrian T.S. Changes of the injured rats spinal cord neurons electrical activity under action of dexamethasone and hypothalamic neuropeptide . В сб.: 38th Annual Scientific Meeting of International Medical Society of Paraplegia, Copenhagen, Denmark 1999.
14. Galoyan A.A., Kipriyan T.K., Sarkissian J.S., Sarkissian E.J., Grigorian Y.Kh., Andreasian A.S., Chavushian V.A. The protection of snake venom neuronal injury by hypothalamic neurohormone. J.Neurochem. Research. 1999, (in press) .

© National Library of Armenia

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Ցույց է տրվել, որ ֆիզիոլոգիական դոզայով (0,5 մգ/կգ) դեքսամեթազոնի (ԴԵՔ) միանվագ ներարկումը աղրենալէտոմիայի (ԱԷԿ) պայմաններում 3-5 բոպեի ընթացքում հանգեցրել է ողնուղեղային ներդիր և շարժիչ նեյրոնների (ՆՆ և ԾՆ) ֆոկալ պոտենցիալների (ՖՊ) միջին մեծության հավաստի ավելացմանը: ԴԵՔ-ի ակտիվությունը ԱԷԿ-ի պայմաններում հանգեցրել է ոչ միայն ողնուղեղի ետին եղջյուրների ՆՆ առանձին միավորների ինքնածին ակտիվության միջին հաճախության բարձրացմանը,, ինչպես նաև նրանց նախնական պարպման ռիթմի փոփոխությանը:

Բացահայտվել է, որ նստային նյարդի միակողմ հատումից 30-35 օր անց ԴԵՔ -ի հեշտացնող ազդեցությունը համեմատաբար լավ արտահայտված է առջևի արմատիկի պոտենցիալների բազմասինապսային բաղադրիչի նկատմամբ:

Ցույց է տրվել, որ ԴԵՔ -ի ներարկումը առաջին հետվիրահատական շրջանում հանգեցրել է ողնուղեղի ՆՆ և ԾՆ ՖՊ -ի միջին մեծության հավաստի ավելացմանը: ԴԵՔ-ի արդյունավետության առավել արտահայտվածություն նկատվում է վնասված կողմի ՆՆ շրջանում: Սակայն, նստային նյարդի հատումից 30-35 օր անց ԾՆ շրջանում պոտենցիալների միջին մեծությունը ԴԵՔ-ի ներարկումից հետո չի հասնում ելակետային մակարդակին:

Բացահայտվել է ողնուղեղի վնասված կողմի ՆՆ ինքնածին ակտիվության ռիթմի փոփոխություն ԴԵՔ-ի օգտագործման հետևանքով՝ խմբային ակտիվություն ունեցող միավորների քանակի պակասեցում ողնուղեղի 2-4 թիթեղներում:

Բացահայտվել է, որ ԴԵՔ -ի օգտագործումը առաջին հետվիրահատական շրջանում՝ հեմիսեկցիայից 3 շաբաթ անց , հանգեցրել է ՆՆ հարուցված սինապսային պոտենցիալների միջին մեծության և ֆոնային միջին հաճախության բարձրացման: Ծրագրային վերլուծությունը ցույց է տվել իմպուլսային հոսքի վիճակագրական ցուցանիշների մոտեցում բնականոնին ԴԵՔ -ի ազդեցության տակ:

Այսպիսով, ԴԵՔ -ի նյարդափոփոխիչ և նյարդապաշտպանողական արդյունավետությունը վնասված ողնուղեղի նեյրոնների նկատմամբ, ըստ երևույթին, պայմանավորված է երկրորդական մեսսենջերների քանակի երկարատև ավելացմամբ, որը լավագույն պայմաններ է ստեղծում խախտված ներբջջային նյութափոխանակությունը վերականգնելու համար :

© National Library of Armenia

15.05.2014

Տպագրված է ՀՀ ԲՈՀ-ի պատվերով

Հանձնված է տպագրության 05.11.99 թ: Պատվեր 216: Տպաքանակ 60:

Տպագրված է «Դավիթ» կոոպերատիվի տպարանում:
Երևան, Տերյան 72:

© National Library of Armenia

© National Library of Armenia