

17. Levine N., Hull C., Buchwald N. Pallidal and entopeduncular responses to striatal, cortical, thalamic and sensory input // *Exp. Neurol.*— 1974.— 44, N 5.— P. 448—460.
18. McGeer P. L., McGeer E. G., Schreier U., Singh K. A glutamatergic corticostriatal path? // *Brain Res.*— 1977.— 128, N 1—2.— P. 363—373.
19. Ono K., Mori K., Baba H., Wada J. A. A role of the striatum in premotor cortical seizure development // *Ibid.*— 1987.— 935, N 2.— P. 84—90.
20. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in the stereotaxic coordinates.— New York. Acad. press, 1982.— P. 24.

Одес. мед. ин-т им. Н. И. Пирогова
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил в редакцию 15.12.88

УДК 612.826

Н. Н. Олешко

Влияние повреждения nigro-неостриатной дофаминергической системы нейротоксином МФТП на передачу кортикофугальной импульсации к нейронам хвостатого ядра

В ряде морфологических и электрофизиологических работ [11] показана конвергенция коркового и нигрального моносинаптических входов на одних и тех же нейронах неостриатума млекопитающих. На основании нейрохимических исследований высказывается также предположение о существовании nigro-неостриатных дофаминергических пресинаптических терминалей на многочисленных кортико-неостриатных волокнах [14]. Электрофизиологические данные о влиянии ДА-эргической nigro-неостриатной системы на передачу кортикофугальной импульсации к нейронам неостриатума, полученные как и упомянутые нейрохимические данные в опытах на крысах, неоднозначны. Приводятся факты тормозящего, облегчающего, модулирующего действия ДА-эргических синапсов на проведение импульсации из коры в неостриатум или отсутствия их влияния [1, 4, 6, 9 и др.].

В нашей работе с помощью нейротоксического вещества 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП), обладающего сравнительно высоким избирательным деструктивным воздействием на ДА-эргическую nigro-неостриатную систему млекопитающих [2, 3, 16], в том числе кошек [15], предпринята попытка исследовать влияние ДА-эргической системы на передачу импульсации из моторной зоны 1 (М1) к нейронам хвостатого ядра (ХЯ) — наиболее крупной части неостриатума у этого вида животных. Для решения поставленной задачи сравнивали реакции нейронов ХЯ на тестирующую стимуляцию М1 до и после обусловливающего раздражения компактной части черной субстанции (ЧС) в широком диапазоне интервалов между стимулами у контрольных животных и животных с дефицитом дофамина (ДА), вызванным системным введением МФТП.

Методика

Эксперименты проведены на кошках (самцах) массой 3,0—6,0 кг, предварительно наркотизированных внутримышечным введением кетамина (25 мг/кг) и затем обездвиженных внутривенным введением миорелаксина (2 мг/кг). Проведено две серии опытов.

В первой серии — у контрольных животных (10 кошек) при внеклеточном отведении исследовали реакции нейронов ХЯ на тестирующее раздражение М1 после кондиционирующей стимуляции ЧС. Отведение проводили на уровне А — 18,5 — А — 15,5, кондиционирующее раздражение — на уровне А — 8,0 — А — 5,0 согласно атласу [7]. Для раздражения ЧС применяли четыре электрода диаметром 0,12 мм (межэлектродное расстояние 0,1 мм), изолированные на всем протяжении за исключением торца

погружаемой части каждого электрода. Для стимуляции М1 использовали восемь-иглообразных электродов (межэлектродное расстояние 0,5 мм) с неизолированными кончиками, погруженными в глубину мозга до 2,0 мм от поверхности коры. При раздражении М1 силу стимулов подбирали так, чтобы вызвать в исследуемом нейроне реакции с индексом разряда не менее 0,7. Ответоспособность оценивали по двум показателям — числу ответов нейрона, нормализованному по числу предъявленных стимулов (О/С), и индексу разрядов, который представлял собой число вызванных потенциалов действия (ПД) в 10 последовательных ответах в пересчете на один стимул (ПД/С). Для стимуляции ЧС всегда применяли одиночное раздражение током (150 мкА). Во всех случаях на электроды подавали прямоугольные монофазные толчки тока длительностью 0,2 мс, а частота стимуляции была не выше 0,5 Гц. На фотопленке регистрировали 11—12 реакций нейрона на отдельные раздражения М1 и ЧС и их парные раздражения при интервалах между обуславливающим и тестирующим стимулами 10, 15, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 500, 600 и, в случае необходимости, 800 и 1 000 мс.

Во второй серии экспериментов (8 кошек) для исследования особенностей реакций нейронов ХЯ в ответ на раздражение М1 и ЧС на фоне дефицита в мозгу ДА проводили внеклеточную регистрацию реакций нейронов ХЯ так, как это описано выше, после предварительного, в течение 5 сут., внутримышечного введения животным 1 %-ного водного раствора МФТП по 5 мг/кг ежедневно. Животных брали в опыт через 2 сут после последнего введения препарата. Отведение электрической активности отдельных нейронов осуществляли стеклянными микроэлектродами, заполненными раствором ацетата калия (2 моль/л).

После окончания экспериментов во всех случаях проводили морфологический контроль областей стимуляции и отведения активности по электролитическим меткам. Результаты обрабатывали статистически с использованием критерия Фишера и критерия t Стьюдента.

Результаты

Эффект стимуляции М1 на реакции нейронов ХЯ. В дорсолатеральной части головки ХЯ зарегистрирована активность 67 нейронов у контрольных животных и 84 — у животных, получавших МФТП. У контрольных животных среди нейронов, которые реагировали на раздражение коры, наблюдали практически одинаковое соотношение числа

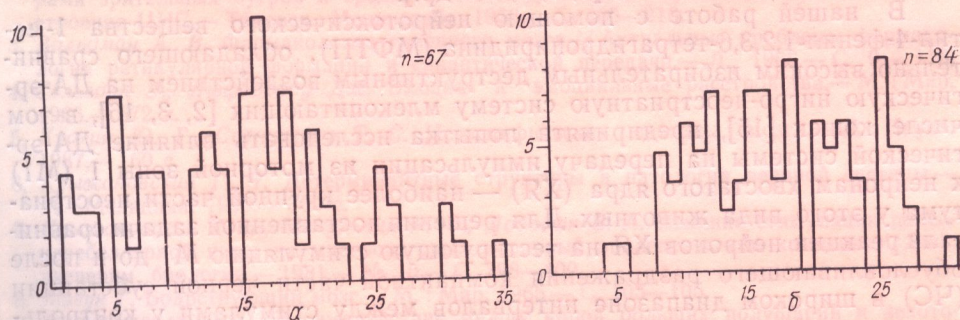


Рис. 1. Гистограмма распределения латентных периодов потенциалов действия, развивающихся в нейронах хвостатого ядра на стимуляцию М1, до (а) и после (б) введения МФТП.

По оси ординат — число нейронов, % общего числа; по оси абсцисс — время, мс.

фоновых активных и фоновых неактивных нейронов ХЯ (34 и 33 соответственно). После введения МФТП число фоновых активных нейронов по сравнению с фоновыми неактивными уменьшилось в 6 раз (12 и 72 соответственно).

Одиночное электрическое тестирующее раздражение М1 вызывает в нейронах ХЯ единичные или групповые ПД. Латентный период (ЛП) ответов 67 исследованных клеток у контрольных животных колебался от 1,8 до 35,0 мс (в среднем $14,7 \text{ мс} \pm 1,0 \text{ мс}$; рис. 1, а). У животных, получавших МФТП, ЛП ответов нейронов составлял от 4,5 до 30,5 мс

(в среднем $18,2 \text{ мс} \pm 0,7 \text{ мс}$; рис. 1, б). Это достоверное возрастание ЛП по сравнению с таковым в контроле ($P < 0,01$) происходит у животных, получавших МФТП, за счет исчезновения и уменьшения числа коротколатентных ответов, ЛП которых составляет до 4,5 и 8,0 мс соответственно. Действительно, при определении среднего значения ЛП ответов в диапазоне от 4,5 до 35,0 мс у контрольных животных он незначительно меньше, чем у опытных — $16,2 \text{ мс} \pm 0,9 \text{ мс}$ ($P < 0,1$).

Эффект стимуляции ЧС на реакции нейронов ХЯ. У контрольных животных одиночное раздражение ЧС вызывало появление ПД у

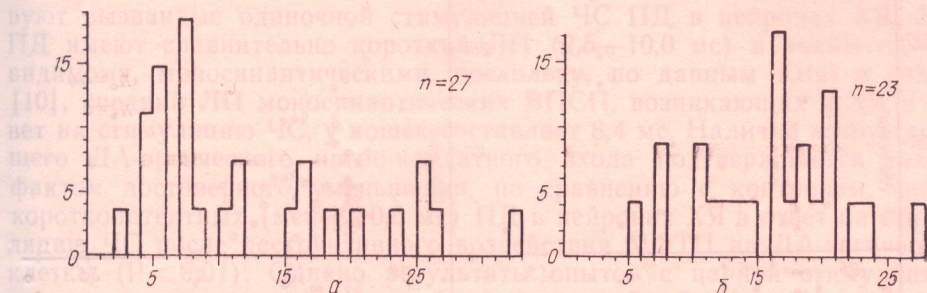


Рис. 2. Гистограмма распределения латентных периодов потенциалов действия, развивающихся в нейронах хвостатого ядра на стимуляцию черной субстанции, до (а) и после (б) введения МФТП.

Обозначения те же, что и на рис. 1.

40,3 % исследованных нейронов головки ХЯ (27 из 67), отвечавших на стимуляцию М1. При тех же условиях эксперимента в результате действия МФТП наблюдается тенденция ($P > 0,05$) к уменьшению числа реагирующих клеток на раздражение ЧС — 27,4 % общего числа исследованных клеток (23 из 84).

У контрольных животных ЛП ответов нейронов ХЯ на раздражение ЧС колебался от 2,5 до 32,5 мс (в среднем $12,3 \text{ мс} \pm 1,6 \text{ мс}$; рис. 2, а). Под влиянием МФТП, наряду с исчезновением ответов со сравнительно коротким ЛП (до 5,0 мс), уменьшилось общее число нейронов ХЯ, отвечавших на стимуляцию ЧС, ЛП которых до 10,0 мс ($P < 0,01$; рис. 2, б). Средний ЛП сохранившихся ответов клеток ХЯ несколько удлинился по сравнению с таковым в контроле и составил $15,8 \text{ мс} \pm 1,1 \text{ мс}$, но эти изменения были статистически недостоверны ($P < 0,1$).

Эффект обуславливающей стимуляции ЧС на реакции нейронов ХЯ, вызванные раздражением М1. Установлено, что обуславливающая стимуляция ЧС изменяет ответоспособность нейронов ХЯ на тестирующее раздражение М1 по показателям О/С и ПД/С в интервалах между стимулами 10—100 мс.

В контроле ответоспособность по показателю О/С снижалась (торможение) в 34,4 % случаев (23 нейрона), возрастала (облегчение) в 5,9 % (4 нейрона) и оставалась без изменений в 59,7 % (40 нейронов). Сходную картину наблюдали и у животных, подвергшихся действию МФТП: торможение отмечалось в 26,2 % случаев (22 нейрона), облегчение — 5,9 % (5 нейронов) и эффекта обуславливающей стимуляции ЧС не наблюдали в 67,9 % (57 нейронов; $P < 0,1$). Однако полное исчезновение ответоспособности в контроле наблюдали у 34,8 % (8 из 23) тормозящихся нейронов, а после введения МФТП — лишь у 4,5 % (1 из 22; $P < 0,05$). Обнаруженное полное торможение ответов нейронов ХЯ происходило у контрольных животных в диапазоне интервалов между стимулами 10,0—40,0 мс (в среднем $20,0 \text{ мс} \pm 3,7 \text{ мс}$) — 15,0—40,0 мс (в среднем $21,9 \text{ мс} \pm 3,1 \text{ мс}$), в условиях дефицита ДА — в одном интервале между стимулами 40,0 мс.

По сравнению с показателем О/С индекс ПД/С оказался более информативным в оценке изменений ответоспособности нейронов под влиянием МФТП. У животных с дефицитом ДА число нейронов ХЯ,

реагирующих возрастанием индекса ПД/С, увеличивается, а реагирующих снижением — уменьшается ($P < 0,05$; таблица). Так, в контроле соотношение числа нейронов, у которых индекс ПД/С снижается или, напротив, увеличивается, было почти одинаковым (30 и 28 соответственно) при 9 не реагирующих клетках на обуславливающее раздражение ЧС (рис. 3, а). После введения МФТП соотношение числа нейронов, отвечающих уменьшением или увеличением индекса ПД/С,

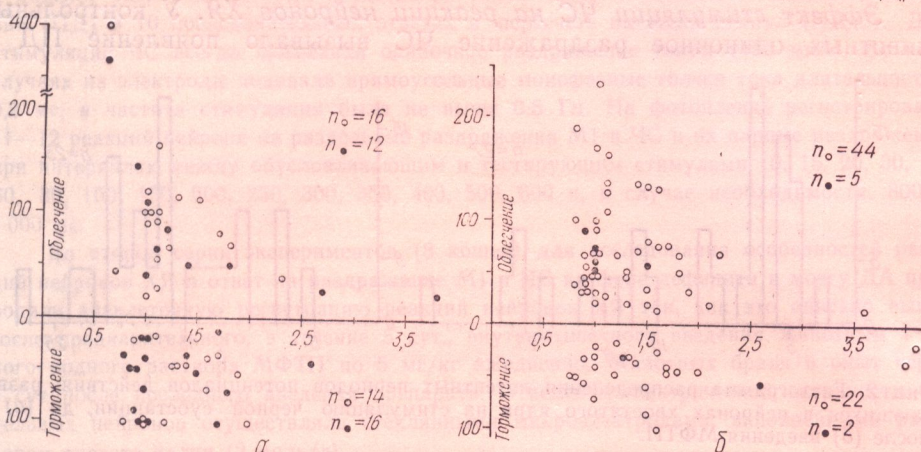


Рис. 3. Изменение индекса ПД/С (число потенциалов действия на один стимул) нейронов хвостатого ядра на тестирующее раздражение М1 после обуславливающей стимуляции черной субстанции до (а) и после (б) введения МФТП.

По оси абсцисс — абсолютные значения индекса ПД/С на изолированное раздражение М1; по оси ординат — относительные значения индекса ПД/С, %. Светлые кружочки — фоновонеактивные, темные — фоновоактивные нейроны.

в результате обуславливающей стимуляции ЧС изменяется — 24 и 49 клеток соответственно при 11 нейронах, не изменяющих свой индекс ПД/С (рис. 3, б).

По индексу ПД/С обнаружены достоверные различия эффекта обуславливающей стимуляции ЧС в зависимости от ЛП ответов нейронов ХЯ на тестирующее раздражение М1. Из общего числа тормозящихся нейронов в контроле 33,3 % (10 из 30) составляли клетки ХЯ, отвечающие на стимуляцию М1, ПД, ЛП которых составлял до 8,0 мс, а клетки, реагирующие облегчением, — лишь 10,7 % (3 из 28; $P < 0,05$). Средний же ЛП ответов нейронов ХЯ на тестирующую стимуляцию М1 составлял $14,4 \text{ мс} \pm 1,5 \text{ мс}$ в случае торможения и $15,8 \text{ мс} \pm 1,5 \text{ мс}$ — при облегчении тестирующего ответа после обуславливающего раздражения ЧС ($P < 0,1$).

Число реагирующих нейронов ХЯ (по индексу ПД/С в контроле и опыте) на тестирующее раздражение М1 после обуславливающей стимуляции ЧС

Серия эксперимента	Увеличение индекса ПД/С	Снижение индекса ПД/С	Без изменений индекса ПД/С
Контроль (без введения МФТП)	28	30	9
Опыт (после введения МФТП)	49*	24*	11

* $P < 0,05$ по сравнению с контролем.

После введения МФТП, как уже указывалось, число нейронов ХЯ, отвечающих коротким (до 8,0 мс) ЛП на стимуляцию М1, достоверно уменьшилось по сравнению с таковым в контроле. Средний ЛП сохранившихся тестируемых ответов у нейронов ХЯ, которые реагировали,

согласно индексу ПД/С, торможением либо облегчением на обуславливающее раздражение ЧС, существенно не отличался и составил $16,8 \pm 1,2$ и $18,8 \text{ мс} \pm 0,8 \text{ мс}$ соответственно.

Обсуждение

В результате проведенных исследований выявлено, что у интактных животных существует два качественно различных нигральных влияния на реакции нейронов ХЯ — возбуждающее и тормозящее.

О наличии возбуждающего нигро-неостриатного входа свидетельствуют вызванные одиночной стимуляцией ЧС ПД в нейронах ХЯ. Эти ПД имеют сравнительно короткий ЛП ($2,5\text{—}10,0 \text{ мс}$) и являются, по-видимому, моносинаптическими, поскольку, по данным Kitai и соавт. [10], средний ЛП моносинаптических ВПСП, возникающих в ХЯ в ответ на стимуляцию ЧС, у кошек составляет $8,4 \text{ мс}$. Наличие возбуждающего ДА-эргического нигро-каудатного входа подтверждается также фактом достоверного уменьшения, по сравнению с контролем, числа коротколатентных (менее $10,0 \text{ мс}$) ПД в нейронах ХЯ в ответ на стимуляцию ЧС после деструктивного воздействия МФТП на ДА-эргические клетки ($P < 0,01$). Однако результаты опытов с парной стимуляцией не позволяют сделать однозначный вывод об облегчающем влиянии нигро-неостриатной системы на реакции нейронов ХЯ.

Так, у контрольных животных, согласно индексу ПД/С, наблюдается практически одинаковое соотношение числа нейронов ХЯ, ответы которых на стимуляцию М1 под влиянием обуславливающего раздражения ЧС облегчались или подавлялись в интервалах между стимулами $10\text{—}100 \text{ мс}$. Вместе с тем у животных с дефицитом ДА при тех же условиях парной стимуляции обнаружено достоверное увеличение числа нейронов ХЯ, реагирующих облегчением вызванной активности. Более того, у животных под действием МФТП достоверно уменьшается не только число тормозящихся нейронов ХЯ, реагирующих подавлением вызванной активности на тестирующее раздражение М1 после обуславливающего раздражения ЧС, но и снижается эффективность этого торможения по индексу ПД/С (сравнить рис. 3, а и 3, б).

Таким образом, результаты опытов с парной стимуляцией указывают на наличие помимо облегчающего и существенного тормозящего влияния нигро-неостриатной системы на передачу кортикофугальной импульсации к нейронам ХЯ. Полученные результаты в опытах с применением МФТП позволяют сделать вывод, что тормозящее влияние нигро-каудатной системы осуществляется с участием ДА-, а облегчающее — за счет ДА- и не-ДА-эргических механизмов. Существование неизвестного по своей природе не-ДА-эргического нигро-неостриатного входа показано ранее в ряде нейрохимических работ [5, 17 и др.].

В опытах с одиночной и парной стимуляцией выявлена одна существенная особенность, связанная с длительностью ЛП ответов нейронов ХЯ на стимуляцию М1. В контроле обуславливающая стимуляция ЧС оказывает преимущественно тормозящее влияние на реакции нейронов ХЯ, отвечающих коротким (менее $8,0 \text{ мс}$) ЛП на тестирующее раздражение М1 ($P < 0,05$). В связи с этим значительный интерес представляет факт достоверного уменьшения ($P < 0,01$) под влиянием МФТП числа нейронов ХЯ, отвечающих на стимуляцию М1 также коротким (от $1,8$ до $8,0 \text{ мс}$) ЛП. По данным Johnson и соавт. [9], системное введение резерпина, истощающего запасы эндогенного ДА в мозгу, тоже сопровождается исчезновением коротколатентных ответов нейронов неостриата на стимуляцию сенсоримоторной коры у крыс.

Вышеприведенные результаты, с одной стороны, указывают на то, что тормозящее влияние нигро-неостриатной системы направлено прежде всего на передачу кортикофугальной импульсации по олигосинаптическим, скорее всего прямым, кортико-неостриатным связям. Часть этих связей образована, вероятно, пирамидными нейронами V слоя М1, дающими коллатерали в неостриатум. По данным Jinnai и Matsuda [8], ЛП антидромных ПД этих клеток на раздражение ХЯ у кошек составляет

в среднем 1,9 мс (0,7—5,6 мс). С другой стороны, достоверное уменьшение у животных с дефицитом ДА числа нейронов неостриатума, отвечающих на стимуляцию М1 коротким ЛП, свидетельствует о блокировании передачи импульсации по упомянутым кортико-неостриатным связям. Вполне вероятно, что в норме ДА оказывает непосредственное тормозящее влияние на высвобождение глутаматной кислоты кортико-неостриатными клетками посредством D_2 -пресинаптических рецепторов. Предполагают, что до 40 % этих рецепторов в неостриатуме локализованы на терминалях кортико-неостриатных нейронов [14]. В таком случае в условиях дефицита ДА и, следовательно, недостаточного торможения кортикофугальной импульсации к нейронам неостриатума возможно чрезмерное токсическое действие глутаматной кислоты [13] на нейроны неостриатума или на их глутаматные рецепторы.

В связи с высказанным предположением о протекторно-тормозящей роли ДА в передаче кортико-неостриатной импульсации обнаруженное нами существенное увеличение под влиянием МФТП числа фоновых активных нейронов, отвечающих на стимуляцию М1, можно объяснить снижением афферентации по заблокированным многочисленным моно- и олигосинаптическим кортико-неостриатным связям.

Что касается факта существования разнонаправленного, облегчающего и тормозящего, влияния nigro-неостриатной системы на передачу импульсации из коры в неостриатум, то, вероятно, это связано с наличием разного типа ДА-рецепторов и (или) их расположением в неостриатуме — на терминалях кортико-неостриатных клеток, на разных в функциональном отношении нейронах или на разных частях неостриатных нейронов. В последнее время появились указания на то, что фармакологически можно выделить по крайней мере два типа клеток в неостриатуме крыс, обладающих неодинаковыми электрофизиологическими характеристиками [12]. Одно из различий этих нейронов — разные по продолжительности ЛП ответов на стимуляцию коры, что наблюдалось и в проведенных нами исследованиях¹.

N. N. Oleshko

EFFECT OF THE DAMAGE IN NIGRO-STRIATUM DOPAMINERGIC SYSTEM BY NEUROTOXIN MFTP ON CORTICOFUGAL IMPULSATION TO CAUDATE NUCLEUS NEURONS

It is shown in acute experiments on cats (males) that the induced responses as action potentials (AP) by the latent period (LP) less than 8.0 ms in the caudate nucleus neurons (CN) to a single stimulation of the motor zone of the cortex (MI) are more frequently inhibited than facilitated after specifying single stimulation of the compact part of the black substance (BS) in the intervals between stimuli 10—100 ms. As a result of system multiple injection of MFTP neurotoxin during 5 days per 5 mg/kg the number of CN neurons responding to stimulation of MI, AP, LP less than 8.0 Usec and to stimulation of BS-LP less than 10.0 ms reliably decreases. A conclusion is made that dopaminergic nigro-striatum system exerts a protective action on the impulse transfer on monosynaptic connections from the cortex to striatum.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Годухин О. В. Модуляция синаптической передачи в мозге.— М.: Наука, 1987.— 160 с.
2. Крыжановский Г. Н., Атаджанов М. А., Загоревский В. А. и др. Экспериментальный паркинсонический синдром у крыс, вызванный 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1988.— 55, № 4.— С. 397—400.

¹ Автор выражает благодарность сотрудникам института М. П. Ильину и С. А. Таланову за техническую помощь в выполнении работы.