

# СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЗЖЕЧКОВОГО КОНТРОЛЯ НЕЙРОНОВ ВЕСТИБУЛЯРНОГО ЯДЕРНОГО КОМПЛЕКСА И МЕДИАЛЬНОЙ РЕТИКУЛЯРНОЙ ФОРМАЦИИ ЛЯГУШКИ

Манвелян Л.Р.<sup>1</sup>, Терзян Д.О.<sup>2</sup>, Маргарян А.В.<sup>3</sup>, Григорян М.Л.<sup>4</sup>

Email: Manvelyan1148@scientifictext.ru

<sup>1</sup>Манвелян Левон Рафаэлович – доктор биологических наук, член-корреспондент  
Национальной академии наук Республики Армения;

<sup>2</sup>Терзян Диана Ониковна – кандидат биологических наук, научный сотрудник;

<sup>3</sup>Маргарян Анна Вазгеновна – младший научный сотрудник;

<sup>4</sup>Григорян Мариам Левоновна – младший научный сотрудник,

лаборатория физиологии центральной нервной системы,

Институт физиологии им. Л.А. Орбели

Национальной академии наук Республики Армения,

г. Ереван, Республика Армения

**Аннотация:** на препарате перфузируемого мозга лягушки методом внутриклеточного отведения исследовались потенциалы нейронов вестибулярного ядерного комплекса (ВЯК) и медиальной ретикулярной формации (МРФ), в ответ на стимуляцию аурикулярной области коры мозжечка. Одиночная стимуляция клеток Пуркинье вызывала моно- и полисинаптические тормозные постсинаптические потенциалы (ТПСП) в нейронах ВЯК и МРФ. Данные ТПСП генерировались в нейронах ВЯК и МРФ прямой и косвенной активацией аксонов клеток Пуркинье.

**Ключевые слова:** вестибулярный ядерный комплекс, ретикулярная формация, аурикулярная область коры мозжечка.

## COMPARATIVE ELECTROPHYSIOLOGICAL ANALYSIS OF THE CEREBELLAR CONTROL OF THE VESTIBULAR NUCLEAR COMPLEX AND MEDIAL RETICULAR FORMATION NEURONS IN FROG

Manvelyan L.R.<sup>1</sup>, Terzyan D.O.<sup>2</sup>, Margaryan A.V.<sup>3</sup>, Grigoryan M.L.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Manvelyan Levon Rafaelovich - Doctor of Sciences in Biology, Corresponding Member  
OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF REPUBLIC OF ARMENIA;

<sup>2</sup>Terzyan Diana Onikovna – PhD in Biology, Researcher;

<sup>3</sup>Margaryan Anna Vazgenovna - Junior Researcher;

<sup>4</sup>Grigoryan Mariam Levonovna - Junior Researcher,

LABORATORY OF PHYSIOLOGY OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM,

INSTITUTE OF PHYSIOLOGY AFT. L. A. ORBELI

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE

YEREVAN, REPUBLIC OF ARMENIA

**Abstract:** on the perfused brain preparation in frog by the method of intracellular abduction in response to stimulation of auricular area of the cerebellar cortex were studied potentials of the vestibular nuclear complex (VNC) and the medial reticular formation (MRF) neurons. Single stimulation of Purkinje cells caused mono- and polysynaptic inhibitory postsynaptic potentials (IPSP) in VNC and MRF neurons. These IPSPs were generated in VNC and MRF neurons by direct and indirect activation of Purkinje cells axons.

**Keywords:** vestibular nuclear complex, reticular formation, auricular lobe of cerebellar cortex.

УДК: 612.8.02

Одной из важнейших функций центральной нервной системы является управление движениями организма, которая осуществляется координированным действием различных центров мозга, влияющих на мотонейроны. Бесхвостые, находясь на раннем этапе эволюционного развития, обладают наименее дифференцированными моторными структурами среди существующих четвероногих.

ВЯК у амфибий локализован в продолговатом мозге, от уровня мозжечка до обекса. Он включает четыре парных ядра: верхнее, латеральное (соответствующее ядру Дейтерса у млекопитающих), медиальное и нисходящее. Известно, что латеральное вестибулярное ядро (ЛВЯ) происходит из ретикулярной формации (РФ) [1]. Импульсы, поступающие из вестибулярных ядер на спинальные мотонейроны, могут быть опосредованы через ретикуло-спинальные нейроны [2]. РФ является одной из фундаментальных систем мозга и развита у всех позвоночных, а ретикуло-спинальный тракт представляет собой наиболее древнюю церебро-спинальную систему.

В связи с вышеизложенным, важно изучить функциональные взаимоотношения в цепочке ВЯК-МРФ, аурикулярная область коры мозжечка-ВЯК, а также в системе аурикулярная область коры мозжечка-МРФ. У млекопитающих были обнаружены тормозные мозжечковые влияния на нейроны РФ. Эти влияния опосредуются вполне определенными церебелло-ретикулярными путями. Такие исследования у низших позвоночных как лягушка отсутствуют. Существует мнение о сходстве мозжечково-ретикулярных связей у лягушки и более высших позвоночных, в том числе и млекопитающих [2].

В данной работе нами проведено электрофизиологическое изучение ортодромных потенциалов нейронов ВЯК и МРФ, возникающих в ответ на раздражение аурикулярной области коры мозжечка лягушки.

**Методы исследования.** Эксперименты проведены на озерных лягушках (*Rana ridibunda*) обоего пола по методике изолированного перфузируемого мозга [3]. Животные подвергались наркозу внутривенным введением 0.1-0.2% раствора MS-222 (0.2 г/кг). Электрическое раздражение передней ветви VIII нерва осуществлялось одиночными ударами постоянного тока (0.1-0.2 мс; 0.05-0.4 мА) серебряными вводящими электродами. Под визуальным контролем на поверхность аурикулярной области осторожно прикладывались биполярные шариковые электроды, с теми же параметрами тока, что и в отношении передней ветви VIII нерва. С целью внутриклеточного отведения электрической активности нейронов ВЯК и МРФ использовались сточенные стеклянные микроэлектроды, заполненные раствором 2М лимоннокислого калия, с сопротивлением 15-20 МΩ. В ответ на раздражение вестибулярного нерва наилучший эффект отведения потенциалов нейронов ВЯК наблюдался в большей степени из ЛВЯ (70%), а в случае нейронов МРФ, в области дна четвертого желудочка, на 1.5-2.0 мм каудальнее входа вестибулярного нерва в ствол мозга, на 200-500μм латеральнее средней линии на глубине 500-1000μм от дорсальной поверхности. Проводился компьютерный анализ данных.

**Результаты.** Связи между мозжечком и ЛВЯ настолько тесны и специфичны, что позволяют рассматривать последнее как ядро мозжечка, вынесенное в продолговатый мозг. У низших позвоночных вестибулярные волокна составляют основной источник афферентов к аурикулярной области коры мозжечка. Известно, что нейроны МРФ амфибии обильно снабжаются вестибулярными волокнами [4]. Вестибулярные афференты влияют на нейроны МРФ также через интернейроны, локализованные в ВЯК [2]. Нами проведен электрофизиологический анализ влияния стимуляции аурикулярной области коры мозжечка на нейроны ВЯК и МРФ методом внутриклеточной регистрации потенциалов.

Нейроны ВЯК и МРФ идентифицировались на основании возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП), возникающих в ответ на раздражение ипсилатерального вестибулярного нерва и ответов тех же нейронов, при стимуляции аурикулярной области коры мозжечка. Вестибулярные нейроны, тормозящиеся в ответ на раздражение аурикулярной области коры мозжечка, локализовались в тех областях ВЯК, в которых регистрировались четко выраженные ВПСП на стимуляцию ипсилатерального вестибулярного нерва – в большей степени ЛВЯ (70%) [5; 6].

Лишь 30% идентифицированных нейронов МРФ отвечали на стимуляцию мозжечка [6].

Учитывая временные характеристики исследованных ответов, мы разделили зарегистрированные ТПСР на две группы: коротко- и длиннотентные.

Одиночное раздражение аурикулярной области коры мозжечка в 110 вестибулярных нейронах вызывало ТПСР со скрытым периодом 1.54-2.92 мс (в ср.  $2.26 \pm 0.39$  мс;  $n=110$ ) (Рис. 1. А 2, Б 2; Рис. 3 А).

В первую группу нейронов МРФ вошли 56 нейронов, скрытый период которых составлял 1.65-3.0 мс (в ср.  $2.56 \pm 0.33$  мс;  $n=56$ ) (Рис. 1. В 2, Г 2; Рис. 3 А).

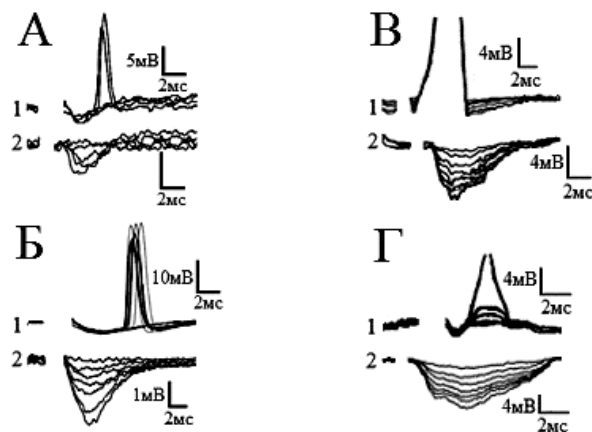


Рис. 1. Постсинаптические потенциалы двух вестибулярных (А, Б) и двух нейронов медиальной ретикулярной формации (В, Г) на раздражение аурикулярной области мозжечка. А 2, Б 2, В 2, Г 2 – моносинаптические ТПСР. А 1,

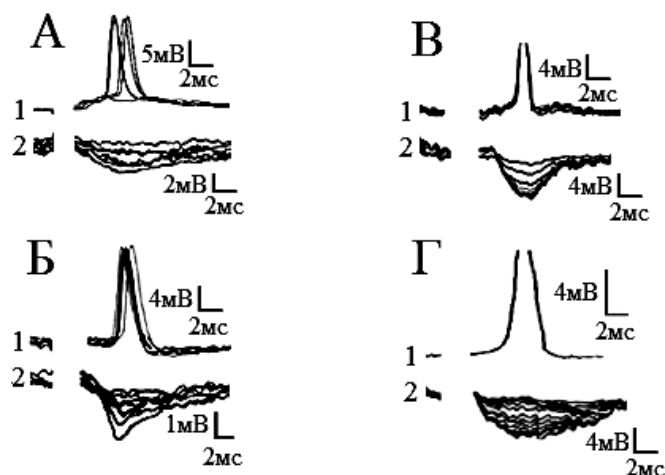
*Б 1, В 1, Г 1 – ВПСП тех же нейронов на раздражение передней ветви вестибулярного нерва с целью идентификации*

Продолжительность скрытого периода ТПСП и время нарастания амплитуды до максимума в обоих случаях изменялись незначительно при различных интенсивностях раздражения коры мозжечка. Так как синаптическая

задержка в ЦНС амфибий имеет величину порядка 1мс, это дало основание рассматривать зарегистрированные ТПСП как моносинаптические,

генерирующиеся в нейронах ВЯК и МРФ прямой активацией аксонов клеток Пуркинью, проецирующихся в вестибулярные ядра [5; 6].

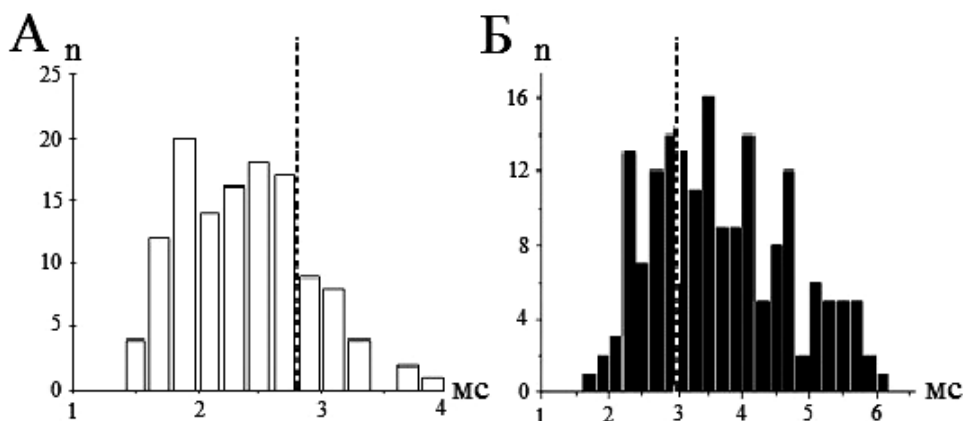
Во второй группе нейроны ВЯК и МРФ отличались большей величиной и нестабильностью временных характеристик на стимуляцию аурикулярной области коры мозжечка.



*Рис. 2. Постсинаптические потенциалы двух вестибулярных (А, Б) и двух нейронов медиальной ретикулярной формации (В, Г) на раздражение аурикулярной области мозжечка. А 2, Б 2, В 2, Г 2 – полисинаптические ТПСП. А 1, Б 1, В 1, Г 1 – ВПСП тех же нейронов на раздражение передней ветви вестибулярного нерва с целью идентификации*

В 15 нейронах ВЯК в ответ на раздражение аурикулярной области коры мозжечка зарегистрированы ТПСП, со скрытым периодом в пределах 3-3.89 мс (в ср.  $3.25 \pm 0.27$  мс;  $n=15$ ) при различной интенсивности стимуляции (Рис. 2. А 2, Б 2; Рис. 3 Б).

В 119 ретикулярных нейронах стимуляция аурикулярной области коры мозжечка вызывала ТПСП в пределах 3.04-6.0 мс (в ср.  $4.2 \pm 0.8$  мс;  $n=119$ ) при различной интенсивности стимуляции (Рис. 2. А 2, Б 2; Рис. 3 Б).



*Рис. 3. Гистограмма распределения моно- и полисинаптических ТПСП, вестибулярных (А) и нейронов медиальной ретикулярной формации (Б) в ответ на раздражение ипсилатеральной аурикулярной области коры мозжечка. Прерывистая линия разделяет моно- и полисинаптические ответы*

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

Длительность времени нарастания ТПСП до максимума четко укорачивалась при увеличении интенсивности стимуляции аурикулярной области коры мозжечка. Временные характеристики

исследованных ТПСП указывают на их полисинаптическое происхождение [5; 6], что можно объяснить косвенной активацией клеток Пуркинье через параллельные волокна.

Скрытый период вышеописанных коротко- и длиннотентных ТПСП может зависеть не только от интенсивности стимуляции, но и от локализации раздражающего электрода. При перемещении раздражающего электрода ближе к средней линии мозжечка количество регистрируемых ТПСП в нейронах ВЯК и МРФ уменьшалось. Это указывает на то, что аурикулярная область мозжечка у лягушки, как и у высших позвоночных, посылает аксоны клеток Пуркинье в нейроны ВЯК и МРФ. Важно отметить, что нейроны ВЯК и МРФ, тормозящиеся в ответ на раздражение аурикулярной области коры мозжечка, локализовались в тех областях ВЯК и МРФ, в которых регистрировались четко выраженные ВПСП на стимуляцию ипсилатерального вестибулярного нерва.

**Обсуждение.** Природа полисинаптических ответов предполагает взаимодействие нейронов в пределах вестибулярных ядер (наличие промежуточных нейронов в ВЯК) или вовлечение нервных кругов, охватывающих другие структуры ствола мозга.

Часть вестибулярных и нейронов МРФ, тормозящихся клетками Пуркинье, посылает свои аксоны в спинной мозг. Поскольку стимуляция аурикулярной области коры мозжечка моно- и полисинаптически тормозит указанные нейроны, можно полагать, что мозжечок у лягушки, как и у высших позвоночных, участвует в модуляции вестибуло-окулярных рефлексов.

Таким образом, мозжечок анализирует все возбуждающие сигналы, поступающие к ядру Дейтерса и к МРФ, чем предотвращается любая возможная неадекватность в двигательном проявлении и обеспечивается оптимальное исполнение любого сложного моторного акта. Мозжечок активно вовлекается в регуляцию позы и движения самого различного характера, кооперируясь со всеми звеньями экстрапирамидной системы ствола мозга. Мы полагаем, что вышеотмеченные функции мозжечка амфибий схожи с таковыми млекопитающих.

#### *Список литературы / References*

1. *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. P. 115-128.
2. *Dityatev A.E., Chmykhova N.M., Dityateva G.V., Babalian A.L., Kleinle J., Clamann P.H.* Structural and physiological properties of connections between individual reticulospinal axons and lumbar motoneurons of the frog. // *J. Comp. Neurol.*, 2001. V. 430. №3. P. 433-447.
3. *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.
4. *Matesz C., Kovalicz G., Veress G., Deák A., Rácz E, Bácskai T.* Vestibulotrigeminal pathways in the frog, *Rana esculenta*. // *Brain Res. Bull.*, 2008. V. 75. P. 371-374.
5. *Terzyan D.O., Margaryan A.V., Grigoryan M.L., Manvelyan L.R.* Electrophysiological analyze of the potentials of medial reticular formation neurons' to stimulation of the cerebellar auricular lobe in frog. // *The New Armenian Medical Journal*, 2017. V. 11. №3. P. 41.
6. *Манвелян Л.Р., Насоян А.М., Терзян Д.О., Маргарян А.В.* Нейронные механизмы мозжечково-ретикулярной проекционной системы лягушки. // *ДАН РА*, 2016. Т. 116. №1. С. 76-82.