

ISSN 0031-2991

Патологическая Физиология и экспериментальная терапия



В.В. ПАШУТИН

5 1989

Москва · Медицина ·

Т. Р. Кузьмина, В. И. Лукьяненко, И. Н. Январева

ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ КОРЫ МОЗЖЕЧКА ПРИ ГИПОКСИИ

Лаборатория структурно-функциональных адаптаций (зав.—доктор биол. наук В. П. Галанцев) Физиологического научно-исследовательского института им. А. А. Ухтомского Ленинградского университета

Имеющиеся в литературе данные об устойчивости мозжечка к недостатку кислорода фрагментарны, противоречивы и базируются в основном на патоморфологическом материале [1, 6, 7, 9, 10, 16, 18].

Задачей настоящего исследования было изучение динамики фоновых потенциалов действия нейронов коры мозжечка при кислородной недостаточности.

Методика. Опыты выполнены на взрослых кошках массой 2,5—4 кг, наркотизированных нембуталом (50 мг/кг) с применением местной анестезии (2 % раствор новокаина) в местах крепления головы животного в стереотаксическом приборе (СЭЖ-3). Объектом исследования была выбрана пятая долька коры червя мозжечка, имеющая непосредственное отношение к параметрам, изменением которых организм реагирует на недостаток кислорода. Через 3—4 ч после однократного введения нембутала с помощью стеклянных микроэлектродов с сопротивлением 3—15 МОм осуществлялось внеклеточное отведение фоновых потенциалов действия нейронов коры мозжечка. Для погружения микроэлектрода использовали шаговый двигатель с величиной шага 4 мкм. В опытах применяли дифференциальный усилитель с полосой пропускания до 10 кГц на основе полевых транзисторов КПС-104А и микросхемы КР 544 УД 1А, усилитель УБП1-02, катодный осциллограф ОК-21 и фоторегистратор ФОР-2. После введения микроэлектрода поверхность мозжечка заливали 3 % раствором агара. Индифферентный электрод фиксировали в костях черепа. Состояние гипоксии вызывали прекращением искусственного дыхания на 4—8 мин у обездвиженного 2 % раствором диплацина животного. В течение всего опыта регистрировали давление в бедренной артерии. Нормализацию функций животного осуществляли путем возобновления искусственного дыхания, проведения непрямого массажа и введения адреналина в случае необходимости. Идентификацию клеток Пуркинье среди исследованных нейронов производили по наличию в нейrogramме сложного разряда. Материалы обрабатывали статистически методом непрямых разностей. Эвтаназию животного осуществляли путем углубления наркоза.

Результаты и обсуждение. Из зарегистрированных нами 125 нейронов коры мозжечка большинство обладало фоновой активностью. По характеру распределения импульсов во времени встречались следующие типы фоновой

активности: нерегулярная, пачечная, групповая. Частота разрядов колебалась от 0,1 до 148 имп/с. По средней частоте разрядов в популяции исследованных нейронов достоверно ($p < 0,001$) выделялись крайние группы: низкочастотные ($1,5 \pm 0,2$ имп/с) и высокочастотные ($114,7 \pm 12,5$ имп/с) нейроны. Описываемый нами в нормоксических условиях характер фоновой импульсной активности нейронов коры мозжечка совпадает с данными литературы [3—5, 15].

Анализ материала показал, что исследуемые нейроны отвечали на гипоксическое воздействие фазной реакцией, заключающейся в чередовании фаз с низкой и высокой частотой спайков. Из общего числа нейронов 80 % реагировали на начало гипоксии урежением или полным угнетением импульсной активности, после чего у 76,1 % нейронов наблюдалась стадия активации, при которой частота фоновой импульсации была выше максимальной частоты потенциалов действия до гипоксии (рис. 1). Довольно часто в период развития гипоксии начинали работать ранее «молчавшие» нейроны. После стадии активации уменьшается как частота, так и амплитуда спайков вплоть до полного их прекращения. Такую же картину изменений фоновой импульсной активности показывают и идентифицированные по сложному разряду клетки Пуркинье (рис. 2). Артериальное давление в начале отключения искусственного дыхания повышалось, а затем постепенно снижалось до 20—30 мм рт. ст., а в ряде случаев — до нуля.

Важным показателем функциональной устойчивости нейронов к гипоксии является время прекращения импульсной активности. По средней величине времени прекращения активности нейроны коры червя мозжечка делятся на 2 достоверно ($p < 0,001$) различающиеся подгруппы. Нейроны

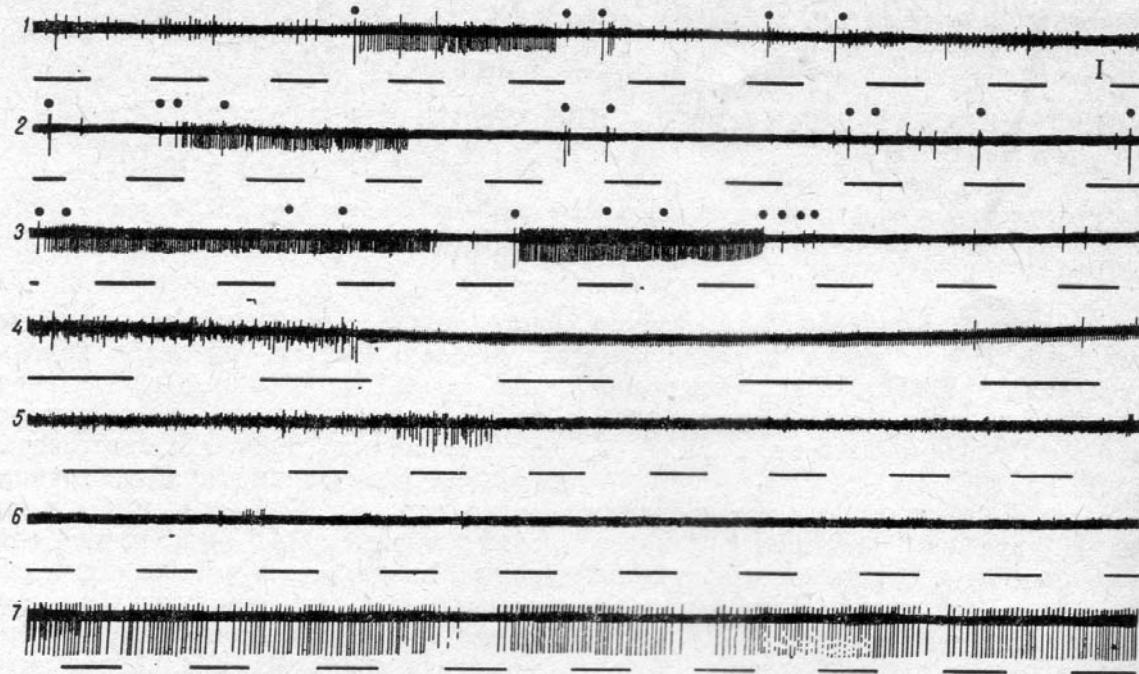


Рис. 1. Динамика фоновой импульсной активности нейронов коры червя при гипоксии (нейрограмма).

1 — норма, работает 2 нейрона, точками обозначены сложные разряды клетки Пуркинье, генерирующей групповой разряд; 2 — 73—83-я секунда асфиксии (с 20-й по 70-ю секунду отсутствовали групповые разряды), урежение и полное торможение активности неидентифицированного нейрона; 3 и 4 — соответственно 130—140-я и 166—171-я секунды асфиксии, учащение разрядов; 5, 6 — соответственно 189—198-я и 262—274-я секунды асфиксии, урежение и полное угнетение импульсной активности; 7—10-я секунда оживления, наблюдается постгипоксическая активация клетки Пуркинье. Отметка времени 1 с, калибровка 100 мкВ.

1-й подгруппы сохраняют импульсную активность в течение $350 \pm 31,3$ с, 2-й — в течение $157 \pm 12,2$ с. Долго сохраняющие импульсную активность нейроны червя на 62,5 % состоят из идентифицированных клеток Пуркинье. При отдельном рассмотрении времени прекращения импульсной активности у клеток Пуркинье червя можно выделить 2 достоверно ($p < 0,001$) различающиеся группы: со $164 \pm 17,2$ и $398 \pm 22,5$ с, которые мы обозначили соответственно КП1 и КП2. Если сравнить при одинаковой модели гипоксии сроки исчезновения фоновой импульсной активности нейронов коры мозжечка с ранее полученными нами данными по другим отделам головного мозга, то выявляется статистически достоверное ($p < 0,001$) более длительное сохранение фоновой активности у КП2 червя. Так, время сохранения импульсной активности при гипоксии составило у КП2 $398 \pm 22,5$ с, в дорсальном гиппокампе $252 \pm 26,0$ с, в мезэнцефалической ретикулярной формации $173 \pm 10,0$ с, в заднем гипotalамическом ядре $171 \pm 14,0$ с, у КП1 $164 \pm 17,2$ с, в передней лимбической коре $160 \pm 9,0$ с, в латеральном ядре

гипоталамуса $138 \pm 10,0$ с, в зрительной области коры $136 \pm 10,0$ с, в супраоптическом ядре гипоталамуса $135 \pm 9,0$ с и в сенсомоторной коре $82 \pm 7,0$ с. При реанимации животного восстановление импульсной активности наблюдалось у 63 % нейронов коры мозжечка, причем нередко оно было кратковременным. Время восстановления активности нейронов колебалось от 20 до 1440 с (в среднем 293 ± 63 с).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о способности клеток коры мозжечка в условиях гипоксии в течение длительного времени генерировать потенциалы действия. Наши данные о фазности реагирования и о достаточно высокой резистентности нейронов коры мозжечка к гипоксии подтверждаются работами Н. А. Агаджания и И. Г. Власовой [2] и И. Г. Власовой и соавт. [6], показавших в условиях культивирования и в переживающих срезах мозга более высокую резистентность к гипоксии клеток Пуркинье по сравнению с нейронами коры больших полушарий.

Фазные изменения импульсной активности клеток коры мозжечка, по нашему мнению [17], отражают сдви-

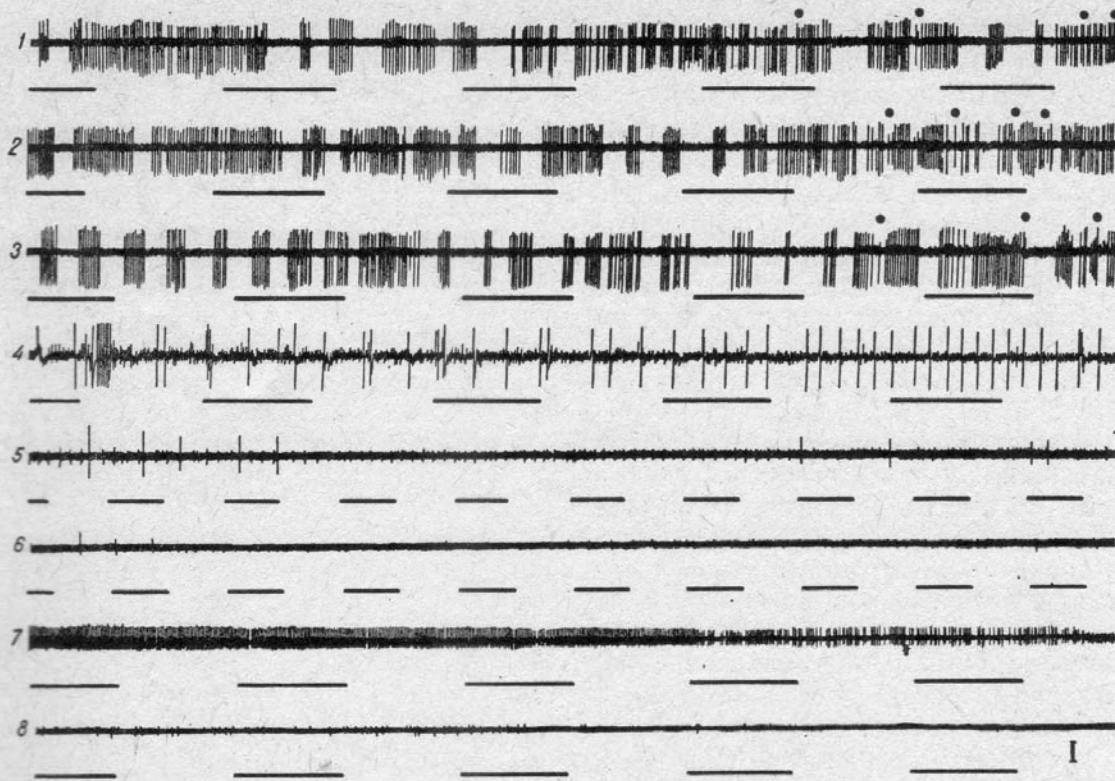


Рис. 2. Появление в ходе гипоксии разрядов у ранее «молчавшего» нейрона (нейрограмма).

1 — норма, точками обозначены сложные разряды клетки Пуркинье; 2 и 3 — соответственно 10—15-я и 30—35-я секунды асфиксии, незначительное учащение и распад импульсной активности на более короткие групповые разряды; 4 и 5 — соответственно 55—60-я и 70—80-я секунды асфиксии, регистрируется активность ранее «молчавшего» нейрона, 6 и 7 — 85—95-я и 150—155-я секунды асфиксии, урежение, угнетение и активация импульсов нейрона; 8 — 175—180-я секунда асфиксии — электрическое «молчание» коры мозжечка. Отметка времени 1 с, калибровка 100 мкВ.

ги мембранныго потенциала нейронов в ходе гипоксического воздействия, завершающиеся глубокой деполяризацией.

Вопрос об избирательном повреждении нейронов в одной популяции и в различных структурах головного мозга достаточно сложен и окончательно не выяснен. Из многообразия факторов, обусловливающих этот феномен, следует учитывать морфофункциональную, биохимическую гетерогенность структур и клеток, особенности микроциркуляции, исходное функциональное состояние [11, 14]. В связи с этим более длительное сохранение при гипоксии электрической активности нейронами коры мозжечка можно, по-видимому, объяснить меньшим, чем в коре больших полушарий, повреждением фосфолипидной структуры митохондриальной мембраны и меньшим накоплением свободных жирных кислот, которые могут быть ответственны за развитие необратимых изменений мозга [19, 20], а также значительным (в 6—7 раз) увеличе-

нием кровотока при гипоксии [12]. Что касается неоднородности популяции клеток Пуркинье по времени сохранения импульсной активности, то, сопоставив наши результаты с гистологическими данными для коры мозжечка в нормоксических и постреанимационных условиях [1, 10], мы пришли к выводу, что долго работающие при гипоксии клетки Пуркинье можно отнести к группе темных клеток, для которых характерна большая энергообеспеченность, чем у светлых клеток Пуркинье. Светлые клетки, по данным В. А. Неговского [10], первыми реагируют на гипоксическое воздействие, а сдвиги метаболизма темных нейронов происходят только в наиболее тяжелых для организма ситуациях. Электрофизиологические данные, свидетельствующие о значительной устойчивости к гипоксии клеток коры мозжечка, на первый взгляд, противоречат морфологическим данным о высокой ранимости клеток Пуркинье при кислородной недостаточности [7]. Но если принять во внимание хо-

рошо известный факт о том, что при дефиците кислорода находящиеся в возбужденном состоянии структуры головного мозга имеют впоследствии глубокие структурные изменения [10], то, по нашему мнению, между данным по электрогенезу и структурным изменениям нейронов противоречий нет. Вероятно, описываемые в постреанимационном периоде существенные структурные изменения клеток Пуркинье можно объяснить недостаточным в этот период кровоснабжением мозжечка, т. е. повреждение клеток вызвано вторичной тканевой гипоксией. В литературе имеются сведения о том, что наряду с клеточными аноксическими повреждениями развитию необратимых изменений головного мозга способствуют наблюдающиеся в постреанимационном периоде гемодинамические, гемокоагуляционные и метаболические расстройства. В частности, сосудистая непроходимость наиболее выражена в каудальных отделах мозга и прежде всего в мозжечке [13]. В подтверждение нашей точки зрения можно привести высказывание А. М. Гурвича [8] о том, что избирательное повреждение наиболее ранними отделами мозга специфично для периода рециркуляции, а в условиях прекращения кровообращения не обнаруживается. Далее, по данным В. А. Неговского [10], при коротком и легком гипоксическом воздействии не выявлены нейроны Пуркинье с ишемическими изменениями, а основным типом их изменений явилось набухание, что расценивается многими исследователями как признак активной работы нейрона. Следовательно, и электрофизиологические, и морфологические данные свидетельствуют о том, что в условиях гипоксии клетки коры мозжечка активно работают, обеспечивая регуляторные функции мозжечка. В заключение следует отметить, что полученный нами материал в будущем может быть использован для обсуждения вопроса о роли торможения в адаптивных процессах при гипоксии, так как исследованные клетки коры мозжечка по своей функции являются тормозящими.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аврущенко М. Ш. // Бюл. экспер. биол.—1982.—№ 1.—С. 8—11.
2. Агаджанян Н. А., Власова И. Г. // Современные представления о функциях мозжечка.— Ереван, 1984.— С. 85—93.
3. Аршавский Ю. И., Беркинблит М. Б., Гельфанд И. М. и др. // Биофизика.— 1971.— Т. 16, № 4.— С. 684—691.
4. Аршавский Ю. И., Гельфанд И. М., Орловский Г. Н. Мозжечок и управление ритмическими движениями.— М., 1984.
5. Братусь Н. В. // Физиология вегетативной нервной системы.— Л., 1981.— С. 372—397.
6. Власова И. Г., Лукьянова Л. Д., Агаджанян Н. А. // Физиол. журн. СССР.— 1986.— Т. 72, № 3.— С. 330—337.
7. Гурвич А. М., Романова Н. П., Мутускина Е. А. // Журн. высш. невр. деят.— 1971.— Т. 21, № 4.— С. 802—809.
8. Гурвич А. М. // Пат. физиол.— 1987.— № 3.— С. 14—18.
9. Миротворская Г. Н. // Современные проблемы реаниматологии.— М., 1980.— С. 68—74.
10. Неговский В. А. Очерки по реаниматологии.— М., 1986.
11. Неговский В. А., Гурвич А. М., Золотокрылова Е. С. Постреанимационная болезнь.— М., 1987.
12. Орбели Л. А. Избранные труды.— М.; Л., 1962.— Т. 2.— С. 213—226.
13. Пермяков Н. К., Хучуа А. В., Туманский В. А. Постреанимационная энцефалопатия.— М., 1986.
14. Самойлов М. О. Реакция нейронов мозга на гипоксию.— Л., 1985.
15. Фанарджян В. В., Григорьян Р. А. // Частная физиология нервной системы.— Л., 1983.— С. 112—170.
16. Хучуа А. В. // Изв. АН ГрузССР, сер. биол.— 1978.— Т. 4, № 4.— С. 315—321.
17. Январева И. Н., Копылов А. Г., Кузьмина Т. Р., Вислобоков А. И. // Физиол. журн. СССР.— 1984.— Т. 70, № 10.— С. 1394—1401.
18. Brown A. W., Brierley I. B. // Brit. J. exp. Path.— 1968.— Vol. 49, N 2.— P. 87—106.
19. Pastuszko A., Gromek A. // Bull. Acad. pol. Sci. Ser. Sci. Biol.— 1976.— Vol. 24, N 7.— P. 415—422.
20. Stroszhajder J., Gromek A., Lazarewicz J. // Neuropat. pol.— 1972.— Vol. 10, N 3.— P. 447—455.

Поступила 08.02.88

ELECTRICAL ACTIVITY OF CEREBELLAR CORTEX NEURONS IN HYPOXIA

T. R. Kuzmina, V. I. Lukyanenko, I. N. Yanvareva

The dynamics of impulse activity of the cerebellar cortex neurons demonstrated in acute experiments on nembutal-anesthetized and diplacnum-immobilized cats bore evidence that the cerebellum participates in the organism's response to hypoxia. The Purkinje cells proved to be more resistant to hypoxia than the neurons of the neopallium, archipallium, and some other structures of the brain stem.