

ОРИГІНАЛЬНІ СТАТТІ

УДК: 616.345.566-344.52:616.567-957.345-02

© Беликова М.В., Пастухова В.А., Луценко А.В., Лукьянцева Г.В., 2013

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ДОФАМИНА В СТРУКТУРАХ СТРИАТУМА СТАРЕЮЩИХ КРЫС ПРИ ЛЕВОСТОРОННЕЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДОФАМИНОВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ
Беликова М.В., Пастухова В.А., *Луценко А.В., Лукьянцева Г.В.

Национальный университет физического воспитания и спорта Украины; Контрактно-исследовательская организация «Линно-фарм-Украина»

Беликова М.В., Пастухова В.А., Луценко А.В., Лукьянцева Г.В. Особенности распределения дофамина в структурах стриатума стареющих крыс при левосторонней экспериментальной дофаминовой недостаточности // Украинський морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 2. – С. 41-43.

В статье представлены результаты исследования состояния дофаминергической медиаторной системы в стриатуме крыс различных возрастных групп и у крыс при левосторонней экспериментальной дофаминовой недостаточности (модель с 6-ГОДА). При исследовании количества дофамина в стриатуме получена информация о наличии асимметрии содержания дофамина в мозге молодых животных и уменьшении асимметрии в процессе старения. Левостороннее разрушение дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции существенно уменьшало количество дофамина в обоих полушариях мозга и приводило к утрате асимметрии распределения дофамина.

Ключевые слова: дофамин, медиатор, крыса

Беликова М.В., Пастухова В.А., Луценко О.В., Лук'янцева Г.В. Особливості розподілу дофаміну в структурах стриатума щурів протягом старіння та при експериментальній дофаміновій недостаточності // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 2. – С. 41-43.

В статті наведені результати дослідження стану дофамінової медиаторної системи в стриатумі щурів різних вікових груп і щурів, які мають експериментальну лівобічну дофамінову недостаточність (модель із 6-ГОДА). При дослідженні кількості дофаміну в тканині стриатума отримана інформація про наявність асиметрії вмісту дофаміну в мозку молодих тварин і про зменшення асиметрії в процесі старіння. Лівобічне руйнування дофамінергічних нейронів компактної частини чорної субстанції істотно зменшувало кількість дофаміну в обох півкулях мозку та призводило до втрати асиметрії розподілу дофаміну.

Ключові слова: дофамин, медиатор, щур

Belikova M.V., Pastuchova V.A., Lutsenko A.V., Lukyanceva G. V. Peculiarities of distribution of dopamine in the structures of the striatum caused by aging and experimental dopamine deficiency // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 2. – С. 41-43.

The article presents results of research of a condition of dopaminergic system mediator in the striatum of the rats of different age groups and in rats at left experimental dopamine deficiency (a model with a 6-HODA). Obtained data on the presence of asymmetries in the distribution of dopamine between the right and left hemispheres of the brain of young animals and reducing the severity of asymmetry in the process of aging. Left-hand the destruction of dopaminergic neurons in a compact part of the substantia significantly reduced the concentration of dopamine in both hemispheres of the brain and eliminated the asymmetry of the distribution of dopamine.

Key words: dophaminum, mediator, rat

В процессе старения количество дофаминергических нейронов в мозге уменьшается [1,7,5]. В течение длительного времени снижение синтеза дофамина компенсируется сохранившимися нервными клетками и не распознается. Позже могут возникать признаки дофаминовой недостаточности (ДН), проявляющиеся в двигательных, постуральных и вегетативных нарушениях [1]. Вопрос же о том, какое количество дофаминергических нейронов и дофамина (ДА) в структурах полосатого тела является критическим и приводит к проявлению признаков паркинсонизма остается открытым.

Материал и методы исследования. Исследования проводились на самцах крыс линии Вистар, составивших 3 группы: группа 1 – молодые животные в возрасте до 6 месяцев (n=12); группа 2 – старые животные в возрасте 22-24 месяца (n=12); группа 3 – старые животные в

возрасте 22-24 месяца с экспериментальной дофаминовой недостаточностью (ЭДАН) (n=6). ЭДАН создавалась путем левостороннего разрушения мезостриатной ДА-ергической системы, которое осуществляли стереотаксической инъекцией 8 мкг 6-гидроксидофамина (6-ГОДА, *Sigma*), растворенного в 4 мкл физиологического раствора с 0,1% аскорбиновой кислотой, в левый медиальный пучок переднего мозга [3].

Через неделю после введения 6-ГОДА у животных исследовали вращательные движения в контралатеральную сторону относительно оперированного полушария, которые вызывали введением дофаминомиметика апоморфина (АПО) - 0,1 % раствор, 0,5 мг/кг внутривentricularно. Вращательные движения животных после введения АПО служили тестом на степень дегенерации мезостриатной ДА-ергической системы. В опыт отбирали только тех животных, у

которых отмечали более 6 полных (на 360°) вращательных движений в минуту в течение первых 30 минут после введения АПО, что свидетельствовало о значительной степени дегенерации мезостриатной дофаминергической системы (гибель более 90% нейронов) [3].

Для изучения содержания ДА проводилось двухстороннее выделение стриатума у экспериментальных животных. Определение уровня ДА в стриатуме крыс проводили путем оценки флуоресценции его окисленной формы на спектрофотометре FMA ("Hitachi", Япония) по методу Jacobwith P.M. и Richardson J.S. [4]. Содержание дофамина в исследуемой структуре мозга животных выражалось в наномолях на 1 г ткани.

При проведении исследований на животных были выдержаны этические требования Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемые для научных целей (Страсбург, 1986 г.).

Полученные данные были обработаны методами вариационной статистики с помощью компьютерной программы "Statistica 8.0 for Windows".

Результаты и их обсуждение. Содержание ДА в стриатуме правого полушария мозга у молодых интактных животных было достоверно больше, чем в левом (на 30 %) (табл. 1), что соответствует сложившимся представлениям о функциональной асимметрии головного мозга [5, 6].

Таблица 1. Содержание дофамина в полушариях мозга крыс разного возраста и при ЭДАН.

Возраст животных	Содержание дофамина в левом стриатуме, нмоль/г	Содержание дофамина в правом стриатуме, нмоль/г
Молодые интактные крысы, 4-6 мес.	8,82 ± 0,65	11,52 ± 0,54*
Старые интактные крысы, 22-24 мес.	8,69 ± 0,49	10,13 ± 0,56*#
Старые крысы с ЭДАН, 22-24 мес.	7,00 ± 0,64 ##	7,13 ± 0,62##

Примечания: * - различия достоверны по сравнению с левым полушарием, $p < 0,05$; # - различия достоверны по сравнению с молодыми животными, $p < 0,05$; ## - различия достоверны по сравнению со старыми интактными животными, $p < 0,05$.

В процессе старения содержания ДА в исследуемых структурах уменьшается [2,4,7], причем, преимущественно в правом полушарии мозга (табл. 1). Так, если содержание ДА в левом полушарии мозга старых животных практически не отличалось от такового в мозге молодых животных, то в правом полушарии старых крыс этот показатель уменьшался на 12 % ($p < 0,05$). Вместе с тем, у старых животных количество ДА в правом стриатуме превышало его содержание в левом только на 16,6 % ($p < 0,05$), что существенно меньше различия распределения ДА между правым и левым полушариями у молодых животных (30 %). Таким образом, продемонстрировано уменьшение асимметрии распределения ДА у животных в процессе старения.

Следует заметить, что разрушение левого стриатума у старых животных с ЭДАН производилось в молодом возрасте. Для исследования содержания ДА в тканях полосатого тела крысы были взяты в возрасте 22-24 месяцев. Прошедший со времени операции период мог привести к частичному восстановлению структуры и функции поврежденных нейронов.

У старых животных с ЭДАН содержание ДА в левом стриатуме по сравнению с молодыми интактными животными снижалось на 20,6 % ($p < 0,05$), с интактными старыми – на 20,9 % ($p < 0,05$). Подобное уменьшение количества ДА в стриатуме при ЭДАН привело к практически полному уничтожению количественных различий между правым и левым полушариями мозга. Разница между старыми

интактными крысами и крысами с ЭДАН становится особенно очевидной при сравнении содержания ДА в правых полушариях мозга. У животных с ЭДАН содержание ДА в правом полушарии было на 30 % ниже относительно аналогичного показателя в правом полушарии интактных крыс [3, 5]. Полученный факт выглядит особо примечательным, учитывая, что у животных с ЭДАН были разрушены дофаминергические структуры только левого полушария. В правом же полушарии мозга, где разница между старыми интактными и оперированными животными оказалась наиболее существенной, 6-ГОДА в структуры головного мозга не вводился. Возможно, существующие между правым и левым полушариями большого мозга перекрестные связи опосредовали уменьшение продукции ДА в его интактных структурах, подчиняясь неким механизмам регуляции, навязанным организму при введении 6-ГОДА. Среди систем, тормозящих синтез дофамина в мозге здоровых старых животных можно рассматривать глутамат-, серотонин-, ГАМК – и П-ергическую системы.

В норме дофаминергическая нигростриатная система оказывает тормозное влияние на активность возбуждающих холинэргической и глутаматной систем [2,6,11]. В свою очередь, нейроны, продуцирующие ацетилхолин, серотонин, ГАМК, глутамат угнетают высвобождение дофамина нейронами стриатума. П-ергические нейроны наоборот, оказывают стимулирующее воздействие на синтез стриатного дофамина. Таким образом, дофаминергическая система находится под регулятор-

ным влиянием по принципу отрицательной обратной связи со стороны первых четырех систем и по принципу положительной обратной связи со стороны последней.

Очевидно, что непосредственно после одностороннего разрушения дофаминэргических структур головного мозга у экспериментальных животных должен возникать детерминантный очаг возбуждения в системах, антагонистических по отношению к разрушенным нейронам на стороне повреждения [1]. В создавшейся новой, патологической системе в мембранах дофаминэргических нейронов должна наступать десенситизация рецепторов к тем медиаторным системам, количество которых возросло. При этом возможность восприятия тормозных медиаторов возможно в основном в том полушарии, где сохранилось достаточно большое количество неповрежденных клеток, то есть, со стороны, противоположной повреждению. Поэтому угнетение дофаминсинтетической функции нейронов в итакном полушарии неизбежно.

Таким образом, представленные данные позволяют сделать следующие **выводы**:

1. У молодых животных существует исходная асимметрия в распределении ДА в структурах левого и правого полушарий мозга.

2. При старении содержание ДА в структурах nigro-стриатной системы уменьшается, причем, в основном за счет правого полушария. Установленный факт позволяет говорить о сглаживании асимметрии в распределении ДА между полушариями мозга.

3. Развитие ЭДАН приводит к полной утрате асимметрии в распределении ДА в полушариях мозга у старых животных. Несмотря на разрушение ДА-продуцирующих нейронов при введении 6-ГОДА в левое полушарие, снижение содержания ДА происходит преимущественно в правом полушарии мозга.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Крыжановский Г.Н. Детерминантные структуры в патологии нервной системы. Генераторные механизмы нейропатологических синдромов / Г.Н. Крыжановский // М.: Медицина, 1980. – 360с.
2. Крыжановский Г.Н. Компенсаторные и восстановительные процессы при паркинсонизме / Г.Н. Крыжановский, И.Н. Карабань, С.В. Магаева, Н.В. Карабань // Институт геронтологии АМН Украины, Киев, 1995. – 123 с.
3. Олешко Н.Н., Морфофункциональное исследование взаимодействия глутамат-, холин- и дофаминэргической систем в неостриатуме / Н.Н. Олешко // Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова – 1997. - №1-2. – С. 83.
4. Amano A. Age-related changes of dopamine, noradrenaline and adrenaline in adrenal glands of mice / A.Amano, M.Tsunoda, T.Aigaki, N.

Maruyama, A. Ishigami // Geriatr Gerontol Int. – 2013. - 13(2). – P. 490-4966.

5. Burns R.S. A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine/ R.S. Burns, C.C.Chieh, S.P.Markey, M.H.Ebert, D.M. Jacobowitz, I.J. Kopin // Proc Natl Acad Sci USA. – 1983. - № 80. - P. 4546–4550.

6. Chieh C.C. Role of dopamine autoxidation, hydroxyl radical generation, and calcium overload in underlying mechanisms involved in MPTP-induced parkinsonism/ C.C. Chieh, H. Miyake, M.T. Peng // Adv Neurol. – 1993. - №60. – P. 251–258.

7. Chotibut T. Dopamine transporter loss in 6-OHDA Parkinson's model is unmet by parallel reduction in dopamine uptake / T. Chotibut, D.M. Apple, R.Jefferys, M.F. Salvatore // PLoS One. – 2012. - 7(12). - e52322.

8. Davis G.C. Chronic parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues/ G.C.Davis, A.C.Williams, S.P.Markey, M.H.Ebert, E.D.Caine, C.M. Reichert, I.J.Kopin // Psychiat Res. – 1979. - №1. – P. 249–254.

9. Jacobwith P.M., Method for the rapid determination of norepinephrin, dopamine, serotonin, in the same brain region/ P.M.Jacobwith, J.S.Richardson// Pharmacol.Biochem. Behavior. – 1979. – V.8, № 5. – P. 515, 519.

10. Kostzewa R.M. Pharmacological action of 6-hydroxydopamine/ R.M.Kostzewa, D.M.Jacobowitz // Pharmacol Rev. – 1974. - №26. – P. 199–288.

11. Kwon I.H. Effects of berberine on 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity in PC12 cells and a rat model of Parkinson's disease/ I.H. Kwon, H.S.Choi, K.S. Shin, B.K. Lee, C.K. Lee, B.Y.Hwang, S.C. Lim, M.K. Lee // Neurosci Lett. – 2010. - 3;486(1). – P. 29-33.

Надійшла 23.01.2013 р.

Рецензент: проф. С.М.Федченко