

УДК 616.858.036.865

**Храмцов Д. М.**

## **МОДУЛЯЦІЯ ВНУТРІШНЬОСТРІАРНОЇ НЕЙРОТРАНСМІСІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПІСЛЯТРАВМАТИЧНОМУ ПАРКІНСОНІЗМІ**

Державний заклад «Луганський державний медичний університет»

*Мета роботи - дослідження змін характерних для паркінсонічного синдрому (ПС) поведінкових симптомів за умов експериментального відтворення моделі післятравматичного паркінсонічного синдрому (ППС). Досліди виконані на щурах за умов хронічного експерименту з дотриманням основних вимог патофізіологічного експерименту. Показано, що за умов різних моделей експериментального ПС співставними були показники ініціації рухів, горизонтальної та вертикальної рухової активності, м'язової ригідності. Доведено, що, в разі модуляції внутрішньостріарної (в/стр) нейротрансмісії можлива корекція рухових та м'язових порушень в щурів із ППС. Пригнічення активності в/стр холінергічної та активація дофамінергічної нейротрансмісії спричиняють усунення проявів ППС. Модуляція в/стр холін- та дофамінергічної нейротрансмісії підтверджує їх патогенетичне значення за умов ПС, що є експериментальним підґрунтям доцільності тестування клінічної ефективності схем комплексної патогенетичної терапії ППС.*

Ключові слова: післятравматичний паркінсонічний синдром, стріатум, нейротрансмісія, ацетилхолін, дофамін, патогенетично обґрунтована терапія

Робота виконана в межах НДР кафедри неврології з нейрохірургією ДЗ «Луганський державний медичний університет» «Динаміка нейровегетативних розладів у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС в резидуальному періоді» (№ держреєстрації 0106V001145).

### **Вступ**

Актуальність всебічного дослідження пов'язаних з черепно-мозковою травмою (ЧМТ) проблем та індукованих нею наслідків не викликає сумнівів через поліморфність клінічних проявів цього захворювання, стертість клінічної картини, залучення до його розвитку низки патофізіологічних механізмів, значну кількість ускладнень, тривалий термін їх маніфестації, незадовільну ефективність комплексного лікування [1, 5, 8]. Кількість хворих із ЧМТ щорічно зростає [10, 12], що підштовхнуло нас до клінічного виявлення прошарку хворих із розвитком післятравматичного паркінсонічного синдрому (ППС), діагностика та лікування яких є складною зважаючи на низку проблем медичного та суто суб'єктивного характеру.

Згідно уявлень академіка Г. М. Крижановського про комплексну патогенетичну терапію нейропатологічних синдромів [7], було проведено низку дослідів, спрямованих, по-перше, на розробку та подальше дослідження адекватної моделі ППС [9], по-друге, на вивчення патофізіологічних механізмів вказаної патології [11]. Зважаючи на провідну роль хвостатих ядер [13] та патогенетичне значення порушення нігро-стріарної дофамінергічної нейротрансмісії при паркінсонічному синдромі (ПС) [2], важливим є дослідження модуляції внутрішньостріарної (в/стр) нейротрансмісії.

*Мета роботи - дослідження змін характерних для ПС поведінкових симптомів за умов експериментального відтворення моделі ППС.*

### **Матеріал та методи дослідження**

Досліди були проведені за умов хронічного експерименту на щурах із дотриманням вимог стосовно використання лабораторних тварин у експериментальних дослідженнях (Конвенція Ради Європи, 1986; Закон України від

21.02.2006, №3447-IV). Методи знеболення та позбавлення життя тварин за дослідних умов були такими, які узгоджуються з «Правилами виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затвердженими наказом МОЗ України.

Для відтворення експериментального ПС застосовували такі моделі, згідно чого щури були розподілені на групи. 1 група – щури, яким тричі (одноразово на добу) вводили резерпін («Gedeon Richter», Угорщина; 20 мг/кг, в/очер, n=10). 2 група – щури, яким кризь завчасно стереотаксично імплантовані канюлі білатерально в хвостаті ядра вводили розчин каїнової кислоти [«Sigma», США; 20 нг в 2 мкл розчину фосфатного буферу (pH=7.4), n=10]. 3 група – щури, яким кризь завчасно стереотаксично імплантовані канюлі білатерально в компактну частину чорної речовини вводили розчин 6-гідроксидофаміну [«Sigma», США; 15мг/кг, 4 мкл 0.1% розчину аскорбінової кислоти («Gedeon Richter», Угорщина)]. 4 група – щури (n=10), яким наносили механічну ЧМТ за методикою, викладеною в роботі [14]. Виділяли контрольну групу щурів (n=6), результати яких порівнювали з тими, що були отримані в групах №№1-4. Щурів 1-ї групи брали до експериментів через 3 доби з початку введення резерпіну, 2-ї групи – через 1 добу, 3-ї групи – через 14 діб, 4-ї групи – через 10 тижнів [2].

В окремих серіях досліджень щурам із ППС в/стр стереотаксично вводили агоністи та антагоністи холінергічної, дофамінергічної та ГАМК-ергічної нейромедіаторних систем, відповідно до чого виділяли такі групи: 1 група – інтактні щури (n=6), 2 група – щури із ППС (n=10), 3 група – щури із ППС + карбахол (100 нг, n=8), 4 група – щури із ППС + скополамін (500 нг, n=8), 5 група – щури із ППС + апоморфін (250 нг, n=8), 6 група – щури із ППС + галоперидол (500 нг, n=8), 7 група – щури із ППС + мусцимол (2.0 нг, n=8), 8 група –

щурів із ППС + пікротоксин (50 нг, n=8).

В щурів реєстрували ініціацію рухів – термін, який був потрібний для покриття щурами відстані, рівної довжині його тулубу [3]. Горизонтальну та вертикальну рухову активність тварин протягом 2 хв. визначали в тесті «відкритого поля», підраховуючи кількість квадратів, що їх пересікав кожен щур, та кількість вертикальних стійок, відповідно [4]. М'язову ригідність визначали в грамах за ступенем опору м'язів задньої лапи щурів, яких було зафіксовано в плексигласових боксах, при їх згинанні та розгинанні.

Отримані дані обчислювали статистично. В якості критерію вірогідності обирали  $P < 0.05$ .

**Результати та їх обговорення**

За умов різних моделей експериментального ПС співставними були показники ініціації рухів, які коливались в межах від  $12.1 \pm 1.7$  сек до  $26.8 \pm 3.2$  сек в групах №№2 та 4, відповідно, та суттєво перевищували такі показники в щурів контрольної групи ( $P < 0.001$ , Рис. 1, А). Рухова активність щурів за цих умов характеризувалася

розвитком гіпо- та акінезії що підтверджувалося 17-22-разовим зменшенням пересічених квадратів та 14-33-разовим зменшенням кількості вертикальних стійок в тесті «відкрите поле» ( $P < 0.001$ , Рис. 1, Б, В). Показники м'язової ригідності також були співставними та в 2.0-2.6 разів перевищували відповідні контрольні дані ( $P < 0.001$ , Рис. 1, Г).

У щурів з ППС з пригніченням в/стр холінергічної нейротрансмісії ініціація рухів відбувалася через  $5.2 \pm 0.6$  сек, що було в 4.7 разів швидше порівняно з такими показниками у щурів із ППС ( $P < 0.01$ , табл). За цих умов щури пересікали в середньому  $9.4 \pm 1.1$  квадратів та робили  $2.2 \pm 0.3$  вертикальні стійки, що було в 9 та в 7 разів, відповідно, більше, ніж у щурів із ППС ( $P < 0.01$ ). Опір м'язів на розгинання в щурів цієї групи дорівнював  $2.7 \pm 0.3$  г, що було на 27% менше, ніж у щурів із ППС без введення скополаміну ( $P < 0.05$ ).

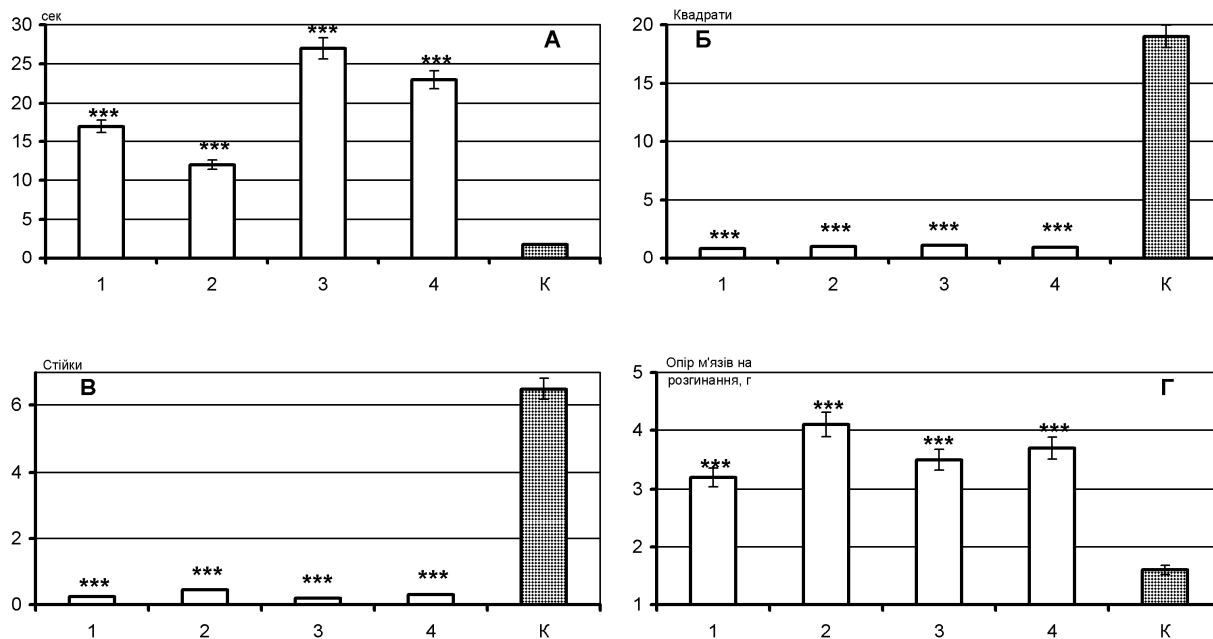


Рис. 1. Показники ініціації рухів, кількість пересічених квадратів, вертикальних стійок та м'язової ригідності (фрагменти А-Г) за умов різних моделей експериментального паркінсонічного синдрому. За віссю абсцис – групи щурів відповідно до їх опису в розділі «Матеріал та методи дослідження».

Примітки: \*\*\* -  $P < 0.001$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з контрольними.

Показники ініціації рухів у щурів з ППС з активацією в/стр дофамінергічної нейромедіаторної системи становили  $3.4 \pm 0.4$  сек, що було в 7.1 разів швидше порівняно з такими показниками у щурів із ППС ( $P < 0.001$ ). Щури цієї групи пересікали в середньому  $16.1 \pm 3.2$  квадратів та робили  $3.4 \pm 0.4$  вертикальні стійки, що було, відповідно, в 16 ( $P < 0.001$ ) та в 11 разів ( $P < 0.01$ ) більше, ніж у щурів із ППС. Опір м'язів на розгинання в щурів цієї групи становив  $2.3 \pm 0.4$  г, що було на 38%

менше, ніж у щурів із ППС без введення апоморфину ( $P < 0.05$ , табл..).

Досліджувані показники в щурів із ППС за умов активації холінергічної та пригнічення активності дофамінергічної систем стріатуму введенням карбахолу та галоперидолу, відповідно, а також при модуляції в/стр ГАМК-ергічної нейротрансмісії значно відрізнялися від контрольних ( $P < 0.001$ ) та не відрізнялися від таких у щурів із ППС ( $P > 0.05$ , табл..).

Таблиця

Вплив модуляції активності внутрішньостриарних холінергічної, дофамінергічної та ГАМК-ергічної нейротрансмітерних систем на показники післятравматичного паркінсонічного

Групи тварин	Досліджувані показники післятравматичного паркінсонічного синдрому, (M±m)			
	Ініціація рухів, сек	Пересічені квадрати	Вертикальні стійки	Ригідність (опір м'язів на розгинання, г)
Контроль, n=6	1,8±0,2	19,7±2,1	6,5±0,4	1,6±0,2
ППС, n=10	24,2±2,7 ***	1,0±0,1 ***	0,3±0,1 ***	3,7±0,4 ***
ППС+ карбахол, n=8	25,1±3,0 ***	0,9±0,2 ***	0,2±0,1 ***	3,6±0,3 ***
ППС+ скополамін, n=8	5,2±0,6 ##	9,4±1,1 * ##	2,2±0,3 * ##	2,7±0,3 * #
ППС+ апоморфін, n=8	3,4±0,4 ###	16,1±3,2 ###	3,4±0,4 * ##	2,3±0,4 #
ППС+ галоперидол, n=8	27,6±3,1 ***	0,8±0,1 ***	0,1±0,1 ***	4,1±0,4 ***
ППС+ мусцимол, n=8	22,8±3,1 ***	1,1±0,2 ***	0,2±0,2 ***	3,9±0,3 ***
ППС+ пікротоксин, n=8	24,5±2,5 ***	0,7±0,2 ***	0,2±0,2 ***	3,6±0,4 ***

Примітки: \* - P<0,05, \*\*\* - P<0,001 – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з відповідними показниками в контрольній групі спостережень;

# - P<0,05, ## - P<0,01, ### - P<0,001 - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з відповідними показниками в групі щурів із відтвореним післятравматичним паркінсонічним синдромом.

Таким чином, отримані результати можна поєднати у два блоки. По-перше, доведена адекватність обраної моделі ППС відповідному патологічному стану через те, що за умов всіх обраних моделей досліджувані показники були співставними та свідчили про розвиток в щурів акінезії та м'язової ригідності. Застосовані моделі ПС висвітлювали основні патогенетичні механізми захворювання – дегенерацію нігро-стріарної дофамінергічної нейрореперечі [2, 15] (системне введення резерпіну для незворотнього виснаження катехоламінергічних систем мозку та введення нейротоксину в компакту частину чорної речовини) та активацію кортико-стріарного глутаматергічного шляху (в/стр введення малих доз каїнової кислоти, агоністу рецепторів збуджувачих амінокислот) [6, 7]. Другий блок дослідження довів, що в разі модуляції в/стр нейротрансмісії можлива корекція рухових та м'язових порушень в щурів із ППС. Так, нормалізація показників рухової активності та ригідності м'язів при пригніченні активності холінергічної та активації дофамінергічної в/стр нейротрансмісії, висвітлюючи їх патогенетичне значення за умов досліджуваної патології, узгоджується з основними положеннями теорії генераторних, системних та детермінантних механізмів нейропатологічних синдромів, згідно з якою активація кортико-стріарного глутаматергічного шляху та наступна активація в/стр ацетилхолінергічної системи спричиняють формування в стріатумі генератора патологічно підсиленого збудження, який проявляється у вигляді різних поведінкових змін, характерних для ПС [2].

Аналогічні поведінкові ефекти, які ми спостерігали при активації в/стр дофамінергічної нейрореперечі, також пояснюються в межах зазначеної вище теорії. Ми є прибічниками думки академіка Г. М. Крижановського та його концепції про комплексне патогенетичне лікування нейропатологічних синдромів, які характеризуються гі-

перактивністю окремих утворень головного мозку, в якій провідне місце займає уявлення про те, що кожен елемент подібної терапевтичної схеми має впливати на окрему ланку патогенезу захворювання [6, 7]. Показане усунення проявів ППС за умов модуляції активності в/стр холінергічної та дофамінергічної нейротрансмісії свідчить про їх важливе патогенетичне значення при вторинному паркінсонізмі, що слід, безумовно, враховувати при клінічній апробації експериментально доведених схем лікування.

#### Висновки:

1. Експериментальна модель ППС є адекватною відповідному патологічному стану та відтворює основні моторні та м'язові порушення, які є характерними для ПС.
2. Пригнічення активності в/стр холінергічної та активація дофамінергічної нейротрансмісії спричиняють усунення проявів ППС.
3. Модуляція в/стр холінергічної та дофамінергічної нейрореперечі підтверджує їх патогенетичне значення за умов ПС, що є експериментальним підґрунтям доцільності тестування клінічної ефективності схем комплексної патогенетичної терапії ППС, з акцентом виявлені зміни функціональної активності в/стр холінергічної та дофамінергічної нейромедіаторних систем.

#### Література

1. Бадалян Л.О. Неврологические аспекты закрытой черепно-мозговой травмы / Л.О. Бадалян // Вестн. АМН СССР. – 1984. – Т.12. – С.12-16.
2. Болезнь Паркинсона (этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика) / [Г.Н.Крыжановский, И.Н.Карабань, С. В. Магаева и др.]. – М. : Медицина, 2002. – 372 с.
3. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – М. : Высшая школа, 1991. – 400 с.
4. Лазаренко Н. С. Вероятностные характеристики поведения крыс условиях "открытого поля" / Н. С.Лазаренко, Е. С.Петров, И. О.Забродин, В. Г. А.артанян // Журн. высш. нерв. деят. – 1982. – Т. 32, №6. – С. 1096-1103.
5. Доброхотова Т. А. Нейротравматология : справочник / Т. А. Доброхотова, А. Н. Коновалов, Л. Б. Лихтерман, А. А. Потапов. – М. : Вазар-Ферро, 1994. – С. 84- 86.

6. Компенсаторные и восстановительные процессы при паркинсонизме / Г. Н. Крыжановский, И. Н. Карабань, С. В. Магаева, Н. В. Карабань. – К. : Институт геронтологии АМН Украины, 1995. – 192 с.
7. Крыжановский Г. Н. Детерминантные структуры в патологии нервной системы / Крыжановский Г. Н. – М. : Медицина, 1980. – 358 с.
8. Курако Ю. Л. Легкая закрытая черепно-мозговая травма / Ю. Л. Курако, В. В. Букина. – К. : Здоров'я, 1989. – 136 с.
9. Мироненко Т. В. Формирование паркинсонического синдрома после легкой черепно-мозговой травмы. Патофизиологические механизмы / Т. В. Мироненко, Д. Н. Храмцов // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2012. - № 2 (28). – С. 108-110.
10. Коновалов А. Н. Клиническое руководство по черепно-мозговой травме / А. Н. Коновалов, Л. Б. Лихтерман, А. А. Потапов. – М. : Антидор, 2001. – С. 230-271.
11. Храмцов Д. М. Зміна вираженості екстрапірамідних порушень в щурів при паркінсонічному синдромі при модуляції активності моноамінергічних нейромедіаторних систем / Д. М. Храмцов // Український медичний альманах. – 2010. – Т. 13, № 4. – С. 162-165.
12. Parreira J.G. Comparative analysis of injuries observed in motorcycle riders involved in traffic accidents and victims of other blunt trauma mechanisms / J.G. Parreira, F. Gregorut, J.A. Perlingeiro [et al.] // Rev. Assoc. Med. Bras. – 2012. – V. 58, № 1. – P. 76-81.
13. Obeso J.A. Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease / J.A. Obeso, M.C. Rodríguez-Oroz, B. Benitez-Temino [et al.] // Mov. Disord. – 2008. – V. 23. – P. 548-559.
14. Lighthall J. W. Controlled cortical impact: a new experimental brain injury model / J. W. Lighthall // J. Neurotrauma. – 1988. – V. 5. – P. 1-15.
15. Costa C. Mechanisms underlying the impairment of hippocampal long-term potentiation and memory in experimental Parkinson's disease / C. Costa, C. Sgobio, S. Siliquini [et al.] // Brain. – 2012. – V. 135, № 6. – P. 1884-1899.

### Реферат

#### МОДУЛЯЦИЯ ВНУТРИСТРИАРНОЙ НЕЙРОТРАНСМИССИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ПАРКИНСОНИЗМЕ

Храмцов Д. Н.

Ключевые слова: посттравматический паркинсонический синдром, стриатум, нейротрансмиссия, ацетилхолин, дофамин, патогенетически обоснованная терапия

Цель работы - исследование изменений, характерных для паркинсонического синдрома (ПС), поведенческих симптомов при экспериментальном воспроизведении посттравматического паркинсонического синдрома (ППС). Опыты выполнены на крысах в условиях хронического эксперимента с соблюдением основных требований патофизиологического эксперимента. Показано, что в условиях разных моделей экспериментального ПС сопоставимыми были показатели инициации движений, горизонтальной и вертикальной двигательной активности, мышечной ригидности. Доказано, что, в случае модуляции внутристриарной (в/стр) нейротрансмиссии возможна коррекция двигательных и мышечных нарушений у крыс с ППС. Подавление активности в/стр холинергической и активация дофаминергической нейротрансмиссии устраняют проявления ППС. Модуляция в/стр холин- и дофаминергической нейротрансмиссии подтверждает их патогенетическое значение при ПС, что является экспериментальным обоснованием целесообразности тестирования клинической эффективности схем комплексной патогенетической терапии ППС.

### Summary

#### INTRASTRIATAL NEUROTRANSMISSION MODULATION IN MODELED POSTTRAUMATIC PARKINSONIAN SYNDROME

Khrantsov D. N.

Key words: post-traumatic parkinsonian syndrome, striatum, neurotransmission, acetylcholine, dopamine, pathogenetically proved therapy

This work was aimed to investigate behavioral changes typical for parkinsonian syndrome (PS) in conditions of experimental post-traumatic parkinsonian syndrome (PPS). Rats were undergone the chronic experimental conditions according to basic requirements of the pathophysiological experiment. The indices of movement initiation, horizontal and vertical motor activities, muscle rigidity were shown to be identical in conditions of different PS experimental models. It was proven that under modulation of intrastriatal neurotransmission the correction of both motor and muscular impairments in rats with PPS might be effective. Intrastriatal cholinergic neurotransmission suppression and dopaminergic neurotransmission activation resulted in PPS symptoms elimination. The data showed that intrastriatal cholin- and dopaminergic neurotransmission modulation confirmed their pathogenetic importance in condition of PS and served as an experimental background for PPS pathogenetically proved therapeutic schemes.