

УДК 612.82/83:577.1:611-018.8

О.Г. Берченко, Е.И. Усменцева

ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины», г. Харьков

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЭКСТРАПИРАМИДНЫХ ФУНКЦИЙ У КРЫС ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ДОФАМИНСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ ТКАНИ МОЗГА

В эксперименте на крысах с электролитическим разрушением *substantia nigra* исследованы нарушения двигательного поведения и содержания катехоламинов в структурах мозга и плазме крови. Показаны эффекты восстановления движений и уровня дофамина в хвостатом ядре и снижения соотношения адреналина и норадреналина к дофамину под влиянием нейротрансплантации эмбриональных тканей.

Ключевые слова: двигательные нарушения, эмбриональные ткани, катехоламины, трансплантация.

Согласно современным представлениям, развитие экстрапирамидных нарушений при дегенеративной патологии мозга (болезнь Паркинсона) вызвано нарушениями нейромедиаторного обмена. Ключевая роль в этих процессах принадлежит нарушению трансмиссии дофамина в нигростриальной системе, усиливающейся с возрастом. Недостаточность синтеза дофамина в *substantia nigra* (SN) приводит к повышению активности ферментов катаболизма моноамина, гиперактивации глутаматных рецепторов, усилению проницаемости мембран к ионам кальция и их накоплению в дофаминовом нейроне, вызывая его повреждение и гибель [1, 2]. Замедление или прекращение прогрессирования дальнейшей гибели дофаминергических нейронов, восстановление их числа и функции возможно при помощи нейротрансплантации либо введения нейротрофических факторов. В последние годы уделяется внимание трансплантации кусочков эмбриональной ткани мозга в связи с их высоким уровнем приживаемости и минимальной травматизацией нейронов и их отростков [3–5].

Целью настоящего исследования явилось исследование влияния внутримозговой трансплантации эмбриональной дофаминпродуцирующей ткани на динамику восстановления двигательных функций и содержа-

ние биогенных моноаминов при моделировании экстрапирамидной патологии.

Материал и методы. Исследования проведены на 30 крысах-самцах зрелого (8-месячного) возраста массой от 300 до 370 г, разделённых на три группы по 10 особей в каждой: 1-я группа (контроль) – интактные, 2-я – с разрушением SN, 3-я – с разрушением SN и внутримозговой трансплантацией эмбриональной ткани, продуцирующей дофамин. Экстрапирамидные нарушения моделировали путём одностороннего повреждения SN (слева) электрическим током от 3 до 5 мкА в течение 15 с. Спустя 30 дней после разрушения SN животным в области хвостатого ядра проводили стереотаксическую операцию трансплантации эмбриональной дофаминпродуцирующей ткани 19–20-дневного срока гестации [6]. Оценку экстрапирамидных нарушений и их восстановление осуществляли с применением ротационного теста при внутривентрикулярном введении крысам амфетамина в дозе 5 мг/кг массы тела [7]. Двигательные и эмоциональные реакции крыс исследовали с помощью теста «Open field»: регистрировали следующие показатели: латентный период первого пересечения квадрата, латентный период выхода в центр, количество пересечённых периферических и центральных квадратов, вертикальную активность (коли-

© О.Г. Берченко, Е.И. Усменцева, 2012

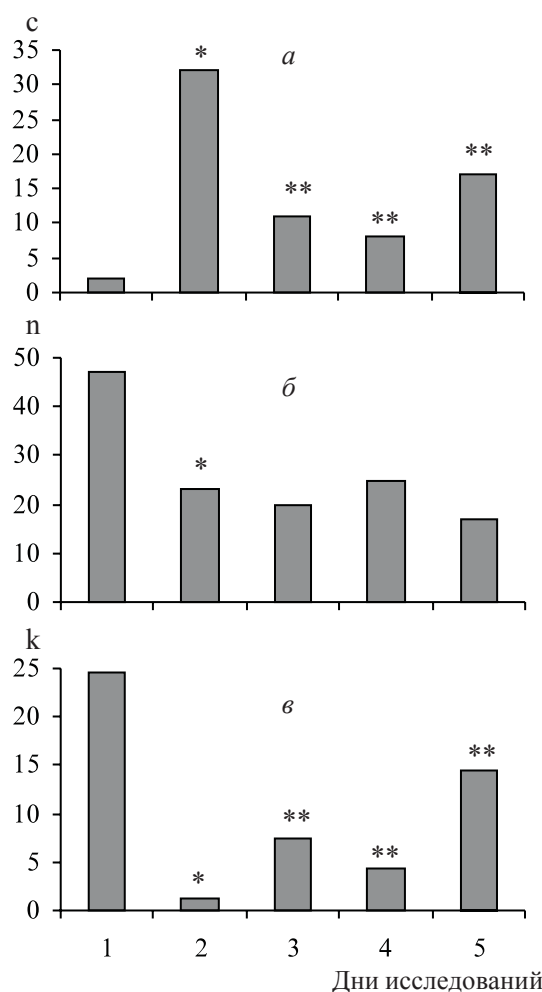
чество вертикальных стоек), груминг, ориентировочно-исследовательские, эмоциональные и вегетативные реакции [8]. Рассчитывали коэффициенты активности [9].

Содержание катехоламинов – адреналина (А), норадреналина (НА) и дофамина (ДА) – определяли в плазме крови и гомогенатах тканей мозга (хвостатое ядро и гипоталамус) твёрдофазным конкурентным иммуноферментным методом на микропланшетах с помощью тест-систем 3 Cat Elisa (LDN, Германия). Оптическую плотность в образцах измеряли на ИФА-ридере (Stat Fax 2100, США) при длине волны 405 нм.

Полученные данные статистически обработали.

Результаты и их обсуждение. Одностороннее электролитическое разрушение SN у 95 % животных приводило к нарушению статокинетических рефлексов – поздней асимметрии в виде наклона головы в сторону, горбовидного изгиба позвоночника и реакции приподнятого хвоста. Животные были заторможенными, нерешительными в осуществлении двигательного акта, топтались на месте либо совершали круговые движения (которые часто прерывались паузами). В ответ на введение амфетамина на 9-й день после разрушения SN количество вращательных движений за 60 с составляло от 4 до 6, а с 17-го по 30-й день двигательный дефицит усиливался. Эти данные согласуются с результатами наших предыдущих исследований [5] и свидетельствуют о гибели на повреждённой стороне от 50 до 70 % дофаминпродуцирующих нейронов. Следует подчеркнуть, что клинические проявления симптомов болезни Паркинсона отмечались при гибели от 70 до 80 % нейронов в стриатуме и 50 % – в компактной части SN [10]. Исследование поведения этих крыс в тесте «Open field» выявило достоверное повышение латентного периода первого пересечения квадрата в сравнении с показателями фона.

Коэффициент активности, горизонтальная и вертикальная активность крыс достоверно ($p < 0,05$) снижались на 17-й и 30-й день после разрушения SN (рисунок). Отмечались вертикальные стойки с упором передних лапок крыс в стенку, что можно рассматривать как проявление адаптивного компонента. Разрушение SN приводило у животных к сниже-



Динамика значений латентных периодов возникновения движения (а), горизонтальной активности (б) и коэффициентов активности (в) у крыс с разрушением *substantia nigra* и после нейротрансплантации:

1 – фон; 2 – на 30-й день после разрушения SN; 3, 4, 5 – на 14, 21 и 30-й дни после нейротрансплантации. * $p < 0,05$ – в сравнении с фоном, ** $p < 0,05$ – в сравнении с разрушением SN

нию ориентировочно-исследовательских реакций, проявлениям тревоги и страха, снижению груминга.

Исследование поведения животных с разрушением SN и имплантацией в хвостатое ядро эмбриональной мозговой ткани, продуцирующей дофамин, позволило выявить в течение 30 дней наблюдений положительную динамику в восстановлении статокинетических рефлексов, двигательных программ целенаправленных поведенческих актов, ориентировочно-исследовательских и эмоциональных реакций. Выраженная положительная

динамика эффектов нейротрансплантации наблюдалась на 14, 21 и 30-й день после имплантации мозговой ткани. Тестирование животных в «открытом поле» выявило достоверное ($p < 0,05$) снижение латентного периода первого пересечения квадрата, повышение коэффициента активности в сравнении с их значениями после разрушения SN (рисунок). В этот период отмечалось повышение уровня ориентировочно-исследовательской реакции и положительного груминга. Введение амфетамина у этих крыс не вызывало вращательных движений. Иногда отмечались редуцированные вращательные движения в виде незначительного поворота тела вокруг оси.

Результаты биохимических исследований свидетельствуют, что содержание адреналина в плазме крови опытных крыс колебалось в пределах нормы. После разрушения SN концентрация норадреналина в плазме крови возрастала на 43 % сравнительно с показателями интактных животных, трансплантация способствовала восстановлению concentra-

ции норадреналина практически до уровня контрольных значений (табл. 1).

Уровень дофамина в плазме крови крыс с разрушением SN уменьшался в 5 раз по сравнению с его уровнем у интактных животных, в то время как нейротрансплантация вызывала повышение его уровня, но значения не достигали контрольных показателей.

У крыс с разрушением SN и трансплантацией эмбриональной ткани на фоне разрушения SN не выявлено достоверных изменений содержания адреналина и норадреналина в хвостом ядре и адреналина в гипоталамусе. Содержание дофамина в хвостом ядре животных с разрушением SN существенно снижалось. Под влиянием трансплантации происходило его повышение до уровня контрольных показателей и отмечалась тенденция к нормализации значений коэффициента суммарного отношения адреналина и норадреналина к дофамину.

Снижение концентрации норадреналина в гипоталамусе животных, вызванное транс-

Таблица 1. Содержание катехоламинов и соотношение их концентраций в плазме крови, хвостом ядре и гипоталамусе крыс ($n=6$)

Катехоламины и их соотношение	Структура мозга	Группы		
		1-я	2-я	3-я
А, пмоль/л	Плазма	21,3±3,9	19,4±3,3	18,3±2,3
	Хвостатое ядро	76,2±22,1	99,9±6,9	81,6±6,9
	Гипоталамус	74,1±14,1	80,1±6,7	92,5±11,8
НА, пмоль/л	Плазма	39,9±2,7	57,1±6,5	45,7±5,4
	Хвостатое ядро	332,4±75,7	307,6±73,1	368,7±103,1
	Гипоталамус	651,7±55,1	567,0±67,5	426,1±70,9* [#]
ДА, пмоль/л	Плазма	197,2±24,1	39,4±10,9*	72,1±10,9* [#]
	Хвостатое ядро	1815,5±374,6	662,7±150,8*	2345,8±550,8 [#]
	Гипоталамус	1034,2±139,1	994,1±139,2	1097,5±102,1
А/НА	Плазма	0,53±0,07	0,34±0,09	0,40±0,09
	Хвостатое ядро	0,25±0,07	0,45±0,15	0,30±0,08
	Гипоталамус	0,11±0,02	0,15±0,03	0,24±0,05*
А + НА/ДА	Плазма	0,31±0,09	1,94±0,29*	0,89±0,15* [#]
	Хвостатое ядро	0,23±0,04	0,60±0,14*	0,27±0,11 [#]
	Гипоталамус	0,71±0,09	0,68±0,12	0,49±0,08 [^]

Примечание. 1. Плазма ($n=6$); хвостатое ядро и гипоталамус, нг/г ткани.

2. $p < 0,05$: изменения достоверны: * по сравнению с нормой, [#] по сравнению с разрушением; [^] $p < 0,1$ – тенденция к достоверности различий по сравнению с нормой.

плантацией, приводило к повышению коэффициента соотношения адреналина к норадреналину и снижению коэффициента суммы адреналина и норадреналина к дофамину (табл. 1).

Следовательно, трансплантация эмбриональной мозговой дофаминсинтезирующей ткани в хвостатое ядро крысам с электролитическим повреждением SN способствовала повышению содержания дофамина и нормализации коэффициента соотношения норадреналина и адреналина к дофамину в хвостатом ядре.

Корреляционным анализом изменений соотношения адреналина к дофамину и норадреналина к дофамину в мозге интактных животных выявлены умеренные связи в обмене этих нейромедиаторов (табл. 2). В хвостатом ядре крыс с разрушением SN обнаружена заметная степень тесноты связи между содержанием адреналина и дофамина, после трансплантации степень этой взаимосвязи возрастала. Изменения соотношения между содержанием адреналина к норадреналину и норадреналина к дофамину в хвостатом ядре животных 3-й группы имели реципрокный характер. Сдвиги в обмене адреналина и дофамина этих крыс были параллельны и однонаправленны (табл. 2). В гипоталамусе интактных животных процес-

сы обмена всех нейромедиаторов имели высокую или заметную степень связи. Разрушение SN приводило к умеренному снижению связи между обменом адреналина и дофамина, после трансплантации степень связи носила также умеренный характер. Сдвиги в обмене адреналина и норадреналина, а также норадреналина и дофамина не коррелируют между собой, то есть изменения в этих процессах протекают независимо один от другого. Корреляционные связи между изменениями соотношения дофамина в плазме крови и хвостатом ядре также имели умеренную степень проявления тесноты сдвигов (табл. 3). У этих животных зафиксирована достаточно высокая степень тесноты связи между показателями дофамина в плазме крови и гипоталамусе, но изменения при этом носили разнонаправленный характер. Сдвиги между процессами обмена дофамина в хвостатом ядре и гипоталамусе имели умеренную степень связи. У животных с разрушением SN выявлена реципрокность изменений в нейромедиаторной системе, в то время как нейротрансплантация приводила к однонаправленным сдвигам.

Таким образом, глубокие экстрапирамидные нарушения двигательного поведения у крыс вследствие электролитического разрушения SN сопровождались снижением уров-

Таблица 2. Коэффициенты корреляции соотношений катехоламинов в структурах мозга крыс

Соотношение катехоламинов	Структура мозга	Группы		
		1-я	2-я	3-я
А/НА	Хвостатое ядро	0,26	0,39	-0,70
	Гипоталаус	0,86	0,17	-0,01
НА/ДА	Хвостатое ядро	0,50	0,15	-0,87
	Гипоталаус	0,51	0,08	-0,03
А/ДА	Хвостатое ядро	0,44	0,65	0,72
	Гипоталаус	0,53	0,47	0,47

Таблица 3. Коэффициенты корреляции уровней дофамина в структурах мозга крыс

Соотношение структур мозга	Группы		
	1-я	2-я	3-я
Плазма/хвостатое ядро	-0,11	0,47	0,27
Хвостатое ядро/гипоталамус	0,22	-0,36	0,38
Плазма/гипоталамус	0,44	-0,87	-0,38

ня дофамина в хвостатом ядре и повышением коэффициента соотношения норадреналина и адреналина к дофамину в хвостатом ядре и плазме крови.

Внутри мозговая имплантация эмбриональной дофаминпродуцирующей ткани в хвостатое ядро животным с повреждением SN оказывала положительное влияние на двигательное поведение, ориентировочно-исследовательские и эмоциональные реакции у крыс. Корректирующие эффекты нейротрансплантации на двигательную систему прослеживались к 14-му дню после имплантации и сохранялись до 30-го дня исследований. Это обусловлено включением эмбриональной ткани, синтезирующей дофамин, в интегративную деятельность мозга с реализацией генетической программы донорской ткани в структурно и функционально связанном с ней тканевом микроокружении. О функционировании нейротрансплантата и сохранении его нейромедиаторного профиля свидетельствуют данные о повышении уровня дофамина

в хвостатом ядре, восстановлении уровня норадреналина и адреналина в гипоталамусе и снижении соотношения адреналина и норадреналина к дофамину в исследуемых структурах мозга и плазме крови.

Выводы

1. Показано, что электролитическое повреждение *substantia nigra* вызывает нарушения статокINETических позных рефлексов, горизонтальной и вертикальной двигательной активности, усиливает вращательное поведение, тормозит ориентировочно-опытные и эмоциональные реакции. Это сочетается с дисбалансом функционирования дофамин- и норадреналин-трансмиссивных систем.

2. Трансплантация эмбриональной мозговой дофаминсинтезирующей ткани в хвостатое ядро крысам с электролитическим повреждением *substantia nigra* способствует восстановлению двигательной активности и её специфическому нейромедиаторному обеспечению.

Список литературы

1. Карабань И. Н. Применение леводопасодержащих препаратов на современном этапе лечения болезни Паркинсона / И. Н. Карабань // Междунар. неврол. журн. – 2006. – № 6 (10). – С. 16–20.
2. Голубев В. Л. Болезнь Паркинсона и синдром паркинсонизма / В. Л. Голубев, Я. И. Левин, А. М. Вейн. – М. : Медпресс, 1999. – 416 с.
3. Угрюмов М. В. Экспериментальная и клиническая нейротрансплантация – современное состояние и перспективы / М. В. Угрюмов // Наука долголетия. – 2001. – № 1. – С. 9–17.
4. Бевзюк Д. А. Влияние внутри мозговой имплантации эмбрионального locus coeruleus на условно-рефлекторную реакцию избегания у крыс с экспериментальной атрофией лобно-височной коры головного мозга / Д. А. Бевзюк, Т. М. Воробьева, О. Г. Берченко // Нейрофизиология. – 2000. – Т. 32, № 1. – С. 36–41.
5. Берченко О. Г. Нейробиологічні особливості ефектів дистантної трансплантації комплексу ембріональних нейроспецифічних тканин за умов моделювання екстрапірамідної патології / О. Г. Берченко, А. М. Тіткова, В. В. Гейко // Матер. III з'їзду трансплантологів України. – 2004. – Т. 7, № 3. – С. 247–249.
6. Воробьева Т. М. Техника трансплантации специфической эмбриональной ткани и ее эффективность / Т. М. Воробьева, О. Г. Берченко, В. В. Гейко // Укр. вісник психоневрології. – Харків, 1995. – Т. 3, вип. 2 (6). – С. 241–242.
7. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон. – М. : Высш. шк., 1991. – 399 с.
8. Hall C. S. Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity / C. S. Hall // J. Comp. Physiol. Psychol. – 1936. – Vol. 22. – P. 345–352.
9. Берченко О. Г. Нейрофизиологические механизмы трансформации фобий в агрессивное поведение у крыс в условиях алкоголизации и модификаций микросоциума / О. Г. Берченко, Н. А. Кириллова // Эксперим. і кліні. медицина. – 2011. – № 2. – С. 23–28.
10. Кулинский В. И. Катехоламины: биохимия, фармакология, физиология, клиника / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко // Вопр. мед. химии. – 2002. – Т. 48. – № 1. – С. 45–67.

О.Г. Берченко, О.І. Усменцева

ВІДНОВЛЕННЯ ЕКСТРАПІРАМІДНИХ ФУНКЦІЙ У ЩУРІВ ТРАНСПЛАНТАЦІЄЮ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ ДОФАМІНСИНТЕЗУЮЧОЇ ТКАНИНИ МОЗКУ

В експерименті на щурах з електролітичним руйнуванням *substantia nigra* досліджені порушення рухової поведінки і вмісту катехоламінів у структурах мозку і плазмі крові. Показані ефекти відновлення рухів і рівня дофаміну в хвостатому ядрі зі зниженням співвідношення адреналіну і норадреналіну до дофаміну під впливом нейротрансплантації ембріональних тканин.

Ключові слова: рухові порушення, ембріональна тканина, катехоламіни, трансплантація.

О.Г. Berchenko, O.I. Usmentseva

RECOVER OF EXTRAPYRAMIDAL FUNCTION IN RATS BY TRANSPLANTATION WITH EMBRYONIC DOPHAMINE-SYNTHESIS BRAIN TISSUE

Disturbances of motor behavior and catecholamine contents both in the brain structures and in plasma were investigated in the experiment on rats by electrolytic destroyed of *substantia nigra*. It was shown the effects of recovering of movements and dophamine level in caudate nucleolus and decrease of the correlation of adrenaline and noradrenaline to dophamine by transplantation with embryonic brain tissue.

Key words: motor violations, embryonal tissue, catecholamines, transplantation.

Поступила 14.02.12