

УДК 577.858+611.815+616.858

© Колектив авторів, 2012.

ПРИГНІЧЕННЯ КОРТИКОСТРІАТНОЇ ГЛУТАМАТЕРГІЧНОЇ ІМПУЛЬСАЦІЇ ЗА УМОВ ДЕФІЦИТУ НІГРОСТРІАТНОГО ДОФАМІНУ

С.О. Таланов, О.А. Федоренко, А.Б. Федоренко, В.Ф. Сагач

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, м. Київ.

INHIBITION OF THE CORTICOSTRIATAL GLUTAMATERGIC IMPULSATION AT NIGROSTRIATAL DOPAMINE DEFICIENCY

S.A. Talanov, E.A. Fedorenko, A.B. Fedorenko, V.F. Sagach

SUMMARY

It have been shown in the experiments with cats and rats that a number of neostriatal neurons, which generate monosynaptic replies on the cortex stimulation, significantly decreases during the destruction of the dopaminergic system by the neurotoxin 1-methyl-4-phenil-1,2,3,6-tetrahydroxypyridine as well as during its turning off by the reserpine. We conclude that the inhibition of corticostriatal glutamatergic transmission is caused by the toxic effect of glutamate, which is released in abundance without the dopamine control.

УГНЕТЕНИЕ КОРТИКОСТРИАТНОЙ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ ИМПУЛЬСАЦИИ В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА НИГРОСТРИАТНОГО ДОФАМИНА

С.А. Таланов, Е.А. Федоренко, А.Б.Федоренко, В.Ф. Сагач

РЕЗЮМЕ

В острых экспериментах на кошках и крысах показано, что количество нейронов неостриатума, отвечающих на раздражение коры моносинаптическими ответами, значительно снижается как при деструкции нигростриатной дофаминергической системы нейротоксином 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином, так и при ее функциональном выключении резерпином. Делается вывод, что угнетение кортикостриатной глутаматергической передачи происходит в результате токсического действия на соответствующие рецепторы глутамата, выделяемого в избыточном количестве при отсутствии дофаминового контроля.

Ключевые слова: глутамат, дофамин, моторная кора, неостриатум.

Дофамін (ДА)-ергічні нейрони чорної субстанції утворюють проєкції в неостриатум, закінчуючись на волокнах глутамат (Глу)-ергічних клітин моторної кори і формуючи аксо-аксональні синапси [7]. На цей час літературні данні щодо впливу ДА-ергічних нигростриатних нейронів на передачу нервових імпульсів по кортикостріатних Глу-ергічних шляхах є досить суперечливими. Існує думка, що такі впливи мають гальмівний, полегшуючий характер, або взагалі відсутні [1, 4, 6]. Метою нашої роботи було з'ясування особливостей передачі імпульсації від клітин моторної кори до нейронів неостриатума за умов експериментального вимикання нигростриатної ДА-ергічної системи.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Всі експериментальні процедури проводилися відповідно до біоетичних норм законодавства України. Всього було проведено 14 серій експериментів.

I – VII серії проведені на кішках (самцях) масою 3 – 6 кг, попередньо наркотизованих внутрішньом'язовим введенням кетаміну (25,0 мг/кг) і далі знерушених внутрішньовенним введенням міорелаксину (2,0 мг/кг) і переведеними на штучну вентиляцію легень. При позаклітинному відведенні вивчали реакції нейронів хвостатого ядра (ХЯ) на тестове подразнення моторної кори (М1) [2] (рис. 1).

Відведення електричної активності окремих нейронів ХЯ проводили скляним мікроелектродом, заповненим 2 М розчином ацетату калію з опором кінчика 5-10 МОм на рівні А-18,5 – А-15,5 згідно атласу [2]. За латентний період (ЛП) реакції приймалось мінімальне значення затримки відповіді відносно стимулу.

I контрольна серія експериментів (11 тварин) проводилась на інтактних тваринах. У II–V серіях (вісім, чотири, три і п'ять тварин відповідно) проводили позаклітинну реєстрацію реакцій нейронів ХЯ на подразнення М1 на фоні дефіциту в мозку ДА після попереднього внутрішньом'язового введення тваринам 1 %-ого водного розчину селективного токсину ДА-ергічних нейронів 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідроперидину (МФТП) по 5 мг/кг щоденно протягом 5 діб. Тварин брали в експеримент через 2, 10, 20 і 45 діб відповідно.

У VI і VII серіях (дев'ять і шість тварин відповідно) порівнювали реакції нейронів ХЯ на подразнення моторних ядер таламуса в інтактних тварин (VI серія) і через 2 доби після курсу МФТП (VII серія).

VIII – XIV серії експериментів виконувались на щурах лінії Вістар (самцях) масою 200-250 г під уретановим наркозом (1,3 г/кг, внутрішньоочеревинно).

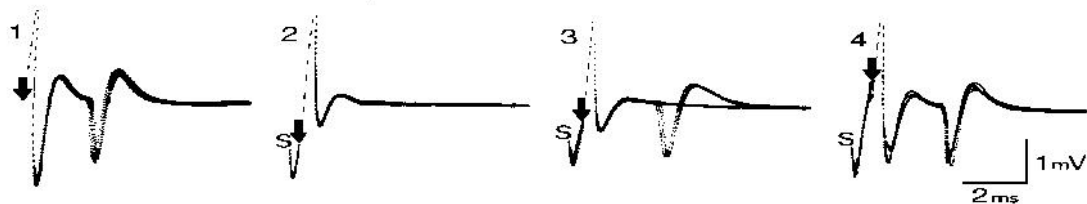


Рис. 1. Зразок ортодромної відповіді нейрона хвостатого ядра кішки на подразнення моторної кори (M1). Нейрон ХЯ був активований стимуляцією (стрілка) M1 і відповідав з латентним періодом 2,0 мс (1). Спонтанний розряд каудатного нейрона (S) використовувався для запуску проміню осцилографа і для стимулу, що наносили на кору (стрілка), з затримкою по відношенню до спонтанного розряду на 330 мкс (2), 400 мкс (3) і 540 мкс (4). Спостерігається негативний тест колізією (4). Суперпозиція з 5-7 пробігів проміню осцилографа.

У VIII серії в контрольних тварин реєстрували відповіді нейронів дорсолатеральної ділянки передньої половини каудатопутамена (КП) на подразнення моторної зони кори (M1-MII) [12]. У IX-XIV серіях вивчали реакції нейронів КП на стимуляцію M1-MII після попереднього введення резерпіну (0,1 %-вий розчин на 5,5 %-вому розчині глюкози, 5 мг/кг, в/о). Тварин брали в дослід через 2-12 і 12-24 години та через 5, 10, 20 і 30 діб відповідно.

По закінченню експериментів у всіх випадках за електролітичними помітками проводили верифікацію ділянок стимуляції та відведення активності. Статистичний аналіз результатів проводили з використанням критеріїв t-Стьюдента і χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Поодиноким електричним тестовим подразненням M1 викликала в нейронах ХЯ кішок поодинокі потенціали дії або їх групи. У I серії в контрольних тварин у дорсолатеральній частині голівки ХЯ була зареєстрована активність 203 нейронів. Відповідна кількість досліджених клітин у тварин з системним введенням МФТП була 84, 75, 58 і 131 у II-V серіях відповідно. ЛП відповідей нейронів ХЯ на кортикальну стимуляцію в контрольних тварин, коливався від 1,8 до 35,0 мс і складав в середньому $13,6 \pm 1,0$ мс (рис. 2А). У тварин, що отримували МФТП, ЛП відповідей збільшувався і складав в II серії експериментів в середньому $17,4 \pm 0,7$ мс ($P < 0,01$ відносно контролю), в III серії – $16,1 \pm 0,7$ мс ($P < 0,05$), в IV серії – $15,0 \pm 0,7$ мс ($P > 0,05$) і в V серії – $16,5 \pm 0,7$ мс ($P < 0,05$) (рис. 2Б-Д). Достовірність міжгрупових відмінностей ЛП підраховували з використанням критерію t-Стьюдента.

Відомо, що МФТП забезпечує вибіркочну деструктивну дію на DA-синтезуючі мезенцефальні нейрони у низці видів ссавців, в тому числі у кішок. Помітне збільшення ЛП реакцій (рис. 2Є) у тварин, які отримували МФТП, відбувалося за рахунок зменшення числа коротколатентних (до 8,0 мс) відповідей. Відносна кількість нейронів, що відповідали на подразнення M1 з ЛП менше 8,0 мс, складало в контролі 13,8 % ($n=28$), а у тварин із зруйнованою нігростріатною DA-ергічною

системою – 2,4 % ($n=2$; $P < 0,01$ відносно контролю), 1,3 % ($n=1$; $P < 0,01$), 6,9 % ($n=4$; $P > 0,05$) і 16,8 % ($n=22$; $P > 0,05$) відповідно в II-V серіях (рис. 2Е). Достовірність міжгрупових відмінностей кількості нейронів з ЛП реакції менше 8,0 мс підраховували з використанням критерію χ^2 .

Результати експериментів VI і VII серій з поодиноким електричним подразненням моторних ядер таламуса ми використовували як контроль для I-V серій експериментів. Характерною особливістю таламостріатних зв'язків є відсутність аксо-аксональних DA-ергічних синапсів на таламічних аферентах [13]. Стимуляція таламуса, як і подразнення M1, викликала в нейронах ХЯ поодинокі або групові ПД. У контрольних тварин (VI серія експериментів) середній ЛП відповідей 67 нейронів ХЯ на поодиноким електричним подразненням моторних ядер таламуса складав в середньому $10,1 \pm 0,7$ мс, а у тварин що зазнали дії МФТП (VII серія; 80 нейронів) – $10,1 \pm 0,7$ мс ($P > 0,05$ порівняно з попередньою серією). Нейротоксин не викликав суттєвих змін у розподілі ЛП відповідей нейронів ХЯ на подразнення моторних ядер таламуса навіть в ранні строки після закінчення курсу ін'єкцій МФТП, тому дія нейротоксину на таламостріатну імпульсацію в більш віддаленні строки не досліджувалась.

Результати вище наведених експериментів свідчать про те, що у котів з порушеною за допомогою МФТП нігростріатною DA-ергічною системою значно зменшується кількість нейронів ХЯ, що відповідають на стимуляцію M1 з коротким (до 8,0 мс) ЛП (рис. 2Е), внаслідок чого збільшується середнє значення цього показника (рис. 2Є). Це свідчить про те, що передача моносинаптичними кортикостріатними зв'язками суттєво пригнічується. Значна частина таких зв'язків утворена пірамідними клітинами V шару зони M1, аксони яких віддають колатералі в неостріатум. Відомо, що ЛП антидромних відповідей цих кортикальних нейронів на подразнення ХЯ у кішок становить від 0,7 до 5,6 мс [3].

До 40 % D_2 -рецепторів в неостріатумі розташовані на аксонах Глу-ергічних нейронів моторної кори [13]. Показано, що в нормі DA

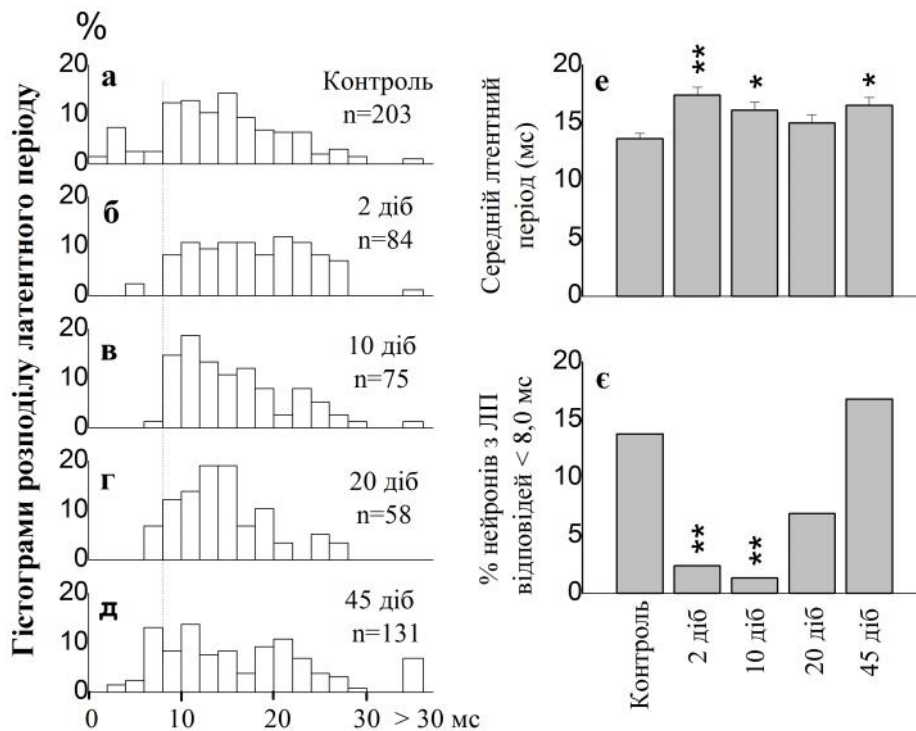


Рис. 2. Вплив МФТП на кортикостріатну глутаматергічну передачу у кішок.

Гістограма розподілу латентних періодів потенціалів дії, які розвиваються в нейронах хвостатого ядра кішок на стимуляцію M1, у контролі (а) та в різні строки після (б-д) курсу МФТП. Пунктирною лінією позначено ЛП реакції 8,0 мс. Е - відсоток нейронів хвостатого ядра з латентним періодом відповідей на стимуляцію M1 менше 8,0 мс; е - середній латентний період потенціалів дії цих нейронів.

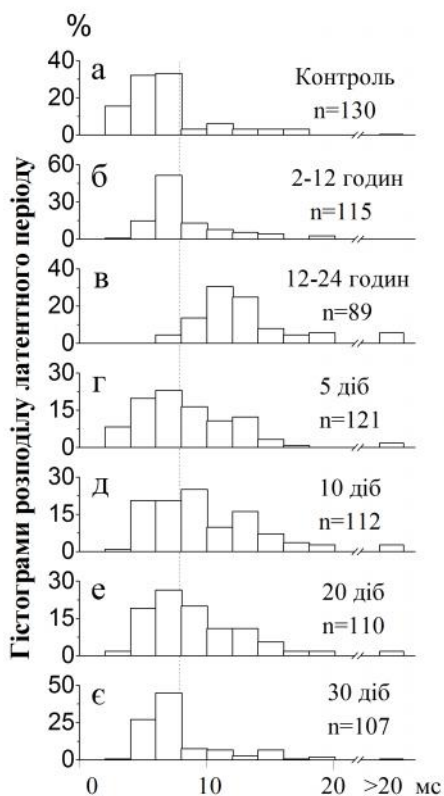
здійснює гальмівний вплив на синаптичне вивільнення Глу кортикостріатними клітинами [5]. Отже, в умовах дефіциту ДА має спостерігатися недостатнє гальмування кортикофугальної імпульсації до нейронів ХЯ. Однак відсутність гальмівних ДА-ергічних впливів на кортикостріатну передачу, може призводити до такого інтенсивного вивільнення Глу, що останній починає здійснювати токсичний вплив на відповідні рецептори [9]. Можливо, що суперечливість відомостей про напрямок впливів нігостріатних ДА-ергічних входів на кортикостріатну синаптичну передачу [1, 4, 6] обумовлена різним ступенем таких впливів в експерименті під дією нейротоксину. При незначному пригніченні обумовленого ДА гальмування можливе полегшення кортикостріатної передачі, в той час як за умов більш суттєвого вимикання нігостріатної ДА-ергічної системи починають проявлятися токсичні ефекти надлишкового Глу і кортикостріатна Глу-ергічна передача блокується. Така інтерпретація наших даних підтверджується тим фактом, що вимикання нігостріатної ДА-ергічної системи не впливає на відповіді ХЯ на подразнення моторних ядер таламуса. Це обумовлено тим, що ДА не впливає на таламостріатну передачу [13].

Найсуттєвіше зменшення числа нейронів ХЯ з коротколатентними відповідями на подразнення кори в наших дослідах спостерігалось протягом 2-10 днів після закінчення курсу ін'єкцій МФТП. Після чого протягом 45 днів відносна кількість коротколатентних відповідей поступово поверталась до вихідних значень. Це узгоджується з літературними даними про те, що в перші 10-14 днів після курсу введення МФТП у кішок спостерігались найбільші рухові розлади. При цьому рівень ДА в ХЯ знижався на 96 %. Однак через місяць помічалось суттєве відновлення моторики, а рівень ДА збільшувався до 90 % від вихідного рівня.

Збільшення з часом рівня ДА у неостріатумі можливе завдяки здатності деяких нейронів чорної субстанції відновлювати свою ДА-синтезуючу функцію після її тимчасової втрати в тих випадках, коли пошкодження клітини є зворотнім [11]. Крім того, відновлення кортикостріатних зв'язків після руйнування ДА-синтезуючих нейронів нейротоксином відбувається в результаті функціонування низки компенсаторних структурно-функціональних механізмів – утворення нових терміналей аксонами збережених ДА-ергічних клітин, збільшення кількості ДА-рецепторів на мембрані клітин ХЯ, підвищення функціональної активності неушкоджених нейронів, а також збільшенням

інтенсивності зворотного захоплення нейротрансмітера [10].

Наступні досліди були проведенні на щурах із функціональним вимиканням нігостріатної ДА-ергічної системи за допомогою резерпину. В VIII (контрольний) серії експериментів були досліджені відповіді 130 нейронів дорсолатеральної ділянки КП на поодинокі електричне подразнення МІ-МІІ.



Відповідна кількість зареєстрованих клітин у ІХ-ХІV серіях була 115, 89, 121, 112, 110, і 107.

Видовою особливістю кортикостріатних реакцій у щурів виявилось те, що вони в цілому були більш коротколатентними. ЛП відповідей в контрольній ХVІІІ серії коливався від 2,5 до 17,5 мс і складав в середньому $6,9 \pm 0,3$ мс. Значна більшість нейронів неостріатума (80,8 %, $n=105$) відповідала на подразнення кори з ЛП менше 8,0 мс (рис. 3А).

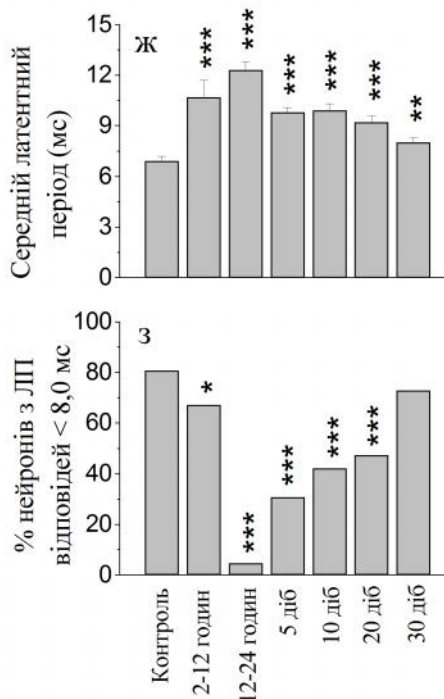


Рис. 3. Вплив резерпину на кортикостріатну глутаматергічну передачу у щурів.

Гістограми розподілу латентного періоду потенціалів дії, які виникають в нейронах каудатопутамена щурів на стимуляцію МІ-МІІ, в контролі (а) та в різні строки після одноразового введення (б-є) резерпину. Пунктирною лінією позначено ЛП реакції 8,0 мс. Ж - відсоток нейронів каудатопутамена з латентним періодом відповідей на стимуляцію МІ-МІІ менше 8,0 мс резерпину; з - середній латентний період потенціалів дії цих нейронів.

Попереднє одноразове введення резерпину значно збільшувало середні значення ЛП відповідей протягом першої доби після ін'єкції нейролептика. Далі протягом місяця значення ЛП поступово відновлювались, наближаючись до контрольних величин (рис. 3 Б-Є). Так ЛП відповідей нейронів КП на стимуляцію кори в ІХ серії складав у середньому $10,7 \pm 1,0$ мс ($P < 0,001$ відносно контролю), у Х серії – $12,3 \pm 0,5$ ($P < 0,001$), у ХІ серії – $9,8 \pm 0,3$ ($P < 0,001$), у ХІІ серії – $9,9 \pm 0,4$ ($P < 0,001$), у ХІІІ серії – $9,2 \pm 0,4$ ($P < 0,001$) і у ХІV серії – $8,0 \pm 0,3$ мс ($P < 0,01$).

Як і в досліді на кішках суттєве збільшення середнього ЛП кортикостріатних реакцій (рис. 3Б) відбувалося за рахунок зменшення кількості коротколатентних (до 8,0 мс) відповідей. Відносна кількість нейронів КП, що відповідали на подразнення

МІ-МІІ з ЛП менше 8,0 мс складала 67,0 % ($n=77$; $P < 0,05$ відносно контролю), 4,5% ($n=4$; $P < 0,001$), 30,6 % ($n=37$; $P < 0,001$), 42,0 % ($n=47$; $P < 0,001$), 47,3 % ($n=52$; $P < 0,001$) і 79,2 % ($n=78$; $P > 0,05$) відповідно в ІХ-ХІV серіях дослідів (рис. 3Ж).

Результати експериментів з резерпином свідчать про те, що у щурів після системного введення нейролептика кількість нейронів КП, які відповідали на стимуляцію кори з ЛП менше 8,0 мс суттєво зменшувалось і, як наслідок, значно збільшувався ЛП цих реакцій. В основі таких змін також лежить порушення моносинаптичної кортикостріатної Глу-ергічної передачі [3]. При цьому, її відновлення після порушення внаслідок одноразового введення резерпину відбувалося достатньо повільно, і відповідні параметри наближались до контрольних значень лише через місяць.

Дані наших дослідів на щурах схожі з результатами експериментів на кішках. Однак якщо в експериментах з МФТП вимикання нігостріатної ДА-ергічної системи було деструктивним, то в дослідях з резерпіном – функціональним. І якщо відновлення кортикостріатних зв'язків після руйнування ДА-синтезуючих клітин нейротоксином відбувається в результаті функціонування низки компенсаторних структурно-функціональних механізмів, описаних вище [10], то для експериментів з резерпіном такі пояснення є незадовільними. Відомо, що резерпін викликає суттєве зниження рівня ДА в неостріатумі вже через годину після його системного введення, а максимальний ефект спостерігається через 8-16 годин. Відновлення же рівня нейротрансмітера відбувається приблизно через 24 години, тоді як відновлення функціональних характеристик кортикостріатних зв'язків в наших експериментах спостерігалось лише через місяць. Таким чином, ці дві події значно розмежені в часі. Цей факт свідчить про те, що відносно швидке пригнічення і тривале відновлення кортикостріатних впливів не залежать безпосередньо від рівня церебрального ДА. Вказані події пов'язані вторинними самостійними процесами. Це опосередковано, але достатньо переконливо підтверджує висловлену нами вище думку про те, що за умов дефіциту нігостріатного ДА розвивається недостатність гальмування кортикофугальної імпульсації, пов'язана з токсичною дією надлишкової кількості Глу на однойменні рецептори нейронів неостріатума [9]. Показано, що рівень даного медіатора у тканині ЦНС і лікворі у щурів з пошкодженими за допомогою 6-гідроксидофаміну мезенцефалостріатної та мезенцефалокортикальної ДА-ергічними системами значно збільшується.

ВИСНОВКИ

Отже, отриманні нами дані дозволяють зробити висновок про те, що за умов дефіциту нігостріатного ДА може відбуватися пригнічення моносинаптичної кортикостріатної Глу-ергічної передачі в результаті токсичної дії на відповідні рецептори надлишкового Глу, який виникає внаслідок недостатнього пресинаптичного ДА-обумовленого гальмування кортикостріатних впливів.

В цілому, все вище наведене вказує на те, що в нормі ДА здійснює гальмівну протекторну дію на передачу імпульсації по прямим кортикостріатних волокнах, впливаючи на D_2 -рецептори, які розташовані на кортикальних Глу-ергічних еферентах, що проєкуються у неостріатум.

Дана робота присвячена пам'яті д.м.н. О.П. Луханіної та к.м.н. М.М. Олешко.

ЛІТЕРАТУРА

1. Brown J.R., Arbuthnott G.W. The electrophysiology of dopamine (D2) receptors: a study of the actions of dopamine on corticostriatal transmission // *Neuroscience*. – 1983. – 10, № 2. – P. 349-355.
2. Jasper H.H. Ajmone-Marsan C A stereotaxic atlas of the Diencephalon of the cat // *Nat. Res. Council/Can., Ottawa* (1954).
3. Jinnai K., Matsuda Y. Neurons of the motor cortex projecting commonly on the caudate nucleus and the lower brain stem in the cat // *Neurosci. Lett.* – 1979. – 13, № 2. P. 121-126.
4. Johnson S.W., Palmer M.R., Freedman R. Effects of dopamine on spontaneous and evoked activity of caudate neurons // *Neuropharmacology*. – 1983. – 22, № 7. – P. 843-851.
5. Hekansson K., Galdi S., Hendrick J. et al. Regulation of phosphorylation of the GluR1 AMPA receptor by dopamine D2 receptors // *J. Neurochem.* – 2006. – 96, № 2. – P. 482-488.
6. Hirata K., Yim C.Y., Mogenson G.J. Excitatory input from sensory motor cortex to neostriatum and its modification by conditioning stimulation of the substantia nigra // *Brain Res.* – 1984. – 321, № 1. – P. 1-8.
7. Kornhuber J., Kornhuber M.E. Presynaptic dopaminergic modulation of cortical input to the striatum // *Life Sci.* – 1986. 39, № 8. – P. 699-674.
8. Lindfors N., Ungerstedt U. Bilateral regulation of glutamate tissue and extracellular levels in caudate-putamen by midbrain dopamine neurons // *Neurosci. Lett.* – 1990. – 115, № 2-3. – P. 248-252.
9. Lysko P.G., Cox J.A., Viganò M.A., Henneberry R.C. Excitatory amino acid neurotoxicity at the N-methyl-D-aspartate receptor in cultured neurons: pharmacological characterization // *Brain Res.* – 1989. – 499, № 2. – P. 258-266.
10. MacLeod N.K., Ryman A., Arbuthnott G.W. Electrophysiological properties of nigrothalamic neurons after 6-hydroxydopamine lesions in the rat // *Neuroscience*. – 1990. – 38, № 2. – P. 447-456.
11. Mitsumoto Y., Watanabe A., Mori A., Koga N. Spontaneous regeneration of nigrostriatal dopaminergic neurons in MPTP-treated C57BL/6 mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1998. – 248, № 3. – P. 660-663.
12. Pellegrino L.J., Pellegrino S.S., Cushman A.J. Stereotaxic atlas of the rat brain // *Plenum press, New York* (1979).
13. Schwarcz R., Creese I., Coyle J.T., Snyder S.H. Dopamine receptors localised on cerebral cortical afferents to rat corpus striatum // *Nature*. – 1978. – 271, № 5647. – P. 766-768.
14. Zhou J., Bradford H.F., Stern G.M. Influence of BDNF on the expression of the dopaminergic phenotype of tissue used for brain transplants // *Brain Res. Dev. Brain Res.* – 1997. – 100, № 1. – P. 43-51.