



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

РОЛЬ БАКТЕРИАЛЬНОГО МЕЛАНИНА В ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ ПОСЛЕ ТРАВМЫ МОТОРНЫХ ТРАКТОВ

Л.Р. МАНВЕЛЯН, Т.Р. ПЕТРОСЯН, О.В. ГЕВОРКЯН, И.Б. МЕЛИКСЕТАН

*Институт физиологии им.Л.А. Орбели НАН РА
E-mail: lmanvel@neuroscience.am.*

Исследовалось действие раствора бактериального меланина на посттравматическое восстановление позного тонуса и локомоции у крыс с заранее выработанным инструментальным рефлексом после травмы кортико-спинального и рубро-спинального трактов. Результаты экспериментов подтверждают нейропротекторный эффект использованной в работе концентрации бактериального меланина после травмы моторных трактов.

Инструментальный условный рефлекс – бактериальный меланин – протекторное действие

Նախապես գործիքային պայմանական ռեֆլեքս մշակված առնետների մոտ կեղևոդնուղեղային և կարմիր կորիզ-ոդնուղեղային ուղիների վնասումից հետո ուսումնասիրվել է մանրէական մելանինի լուծույթի ազդեցությունը հետվնասվածքային շրջանում կենդանու դիրքի և շարժումների վերականգնման վրա: Փորձերի արդյունքները հաստատում են մանրէական մելանինի հետազոտված կոնցենտրացիայի նյարդապաշտպանիչ ազդեցությունը շարժիչ ուղիների վնասումից հետո:

Գործիքային պայմանական ռեֆլեքս –մանրէական մելանին – պաշտպանիչ ներգործություն

Protective action of bacterial melanin solution on posttraumatic recovery of posture and locomotion was studied after lesions of corticospinal and rubrospinal tracts in rats, initially trained to an instrumental reflex. The results of experiments confirm neuroprotective action of the studied bacterial melanin concentration after lesions of motor tracts.

Instrumental conditioned reflex – bacterial melanin – protective action

После травмы структур центральной нервной системы (ЦНС) для ускорения структурно-функционального восстановления необходимы специальные мероприятия, такие как нейтрализация факторов, тормозящих рост поврежденных аксонов и подавление образования рубца на месте повреждения, которые мешают реактивации программы роста в зрелой нервной системе, а впоследствии, регенерации и направлению нервных волокон к их специфическим мишеням [9]. Повреждение нисходящих моторных аксонных путей, в частности кортико-спинального и рубро-спинального трактов, становится причиной гибели элементов нервной ткани, а

также воспаления и демиелинизации аксонов. Но часто стабилизация и дифференциация аксонного терминального ветвления может способствовать восстановительным процессам в тех областях ЦНС, которые утратили свой специфический вход [6], не исключая также положительного влияния нейротрофных факторов, инициирующих спраутинг и регенерацию аксонов после травмы.

Известно, что функции кортико-спинального и кортико-руброспинального трактов сходны, поскольку оба они берут начало в сенсомоторной коре, но не идентичны: первый из них участвует в выполнении самых тонких и сложных форм выученных движений (автоматизм, выполнение точных движений), а специфика влияния кортико-руброспинального тракта выражается в обеспечении взаимодействия позного тонуса и локального компонента двигательной реакции [4]. Этим объясняется то обстоятельство, что после повреждения обоих трактов наблюдается одинаковый дефицит движения – парализуется сгибательное движение задней балансирующей конечности, получающей иннервацию со стороны травмированных структур. Без терапевтического вмешательства восстановление парализованного флексорного движения конечности у крыс является длительным и трудным процессом, поэтому целью настоящих экспериментов было использование раствора бактериального меланина (БМ) как нейропротектора, который способствовал бы ускорению посттравматических восстановительных процессов после повреждения указанных выше моторных трактов.

Материал и методика. Работа была выполнена на четырех группах белых крыс ($n=6$ в каждой) с массой тела 180-250г. У всех животных предварительно вырабатывали инструментальный условный рефлекс (ИУР) балансирования по методике [8], использованной в наших экспериментах. После этого у двух групп под нембуталовым наркозом (40мг/кг, в/б) проводили унилатеральную поперечную перерезку бульбарной пирамиды выше места их перекреста [7]. На следующий день после операции одной группе оперированных крыс в/м вводили раствор БМ, полученного биотехнологическим методом армянскими учеными [5], в концентрации 6 мг/мл, из расчета 170 мг/кг, а вторая группа служила контролем.

У следующих двух групп после предварительной выработки ИУР на уровне С3-4 спинного мозга разрушали рубро-спинальный тракт. Так как в наших поведенческих экспериментах ИУР был выбран моделью для исследования балансирующего движения конечности у крыс до и после травмы, то у нас была возможность сравнить сроки восстановления сгибательного движения задней конечности у контрольных, не получавших БМ животных с экспериментальными, которым был введен раствор БМ.

Тестирование животных возобновляли у всех крыс через 2 дня после травмы. Опыты продолжались до момента полного восстановления нормального балансирующего движения (сгибание) задней конечности животных всех 4 групп. После завершения поведенческих экспериментов проводили морфогистохимические исследования мозга крыс по выявлению активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы (КФ), которые, помимо избирательной и четкой морфологической картины, дают возможность судить о метаболизме исследуемых структур [3].

Результаты и обсуждение. Данные хронических поведенческих экспериментов по временным параметрам выработки ИУР до и после травмы, а также восстановления балансирующего движения задней конечности, парализованной после операций, без введения раствора БМ (контрольные) и после введения (экспериментальные группы) обобщены в табл. 1. Приведенные в ней данные являются средними показателями для каждой серии экспериментов при $n=6$ крыс в группе.

Как видно из табл. 1, в случае повреждения кортико-спинального тракта сроки восстановления между контрольными и экспериментальными группами животных значительно различаются. Срок восстановления позного тонуса (ИУР) сокращается в 2 раза, а балансирующего движения задней конечности – более чем в 7 раз.

Таблица 1. Средние показатели сроков выработки ИУР и восстановления балансирующего движения задней парализованной конечности до и после травмы кортико-спинального и рубро-спинального трактов у крыс при введении раствора БМ.

Серия экспериментов	Исследованные образования ЦНС	Контрольные группы (сроки в экспериментальных днях)			Экспериментальные группы с введением БМ после травмы (сроки в экспериментальных днях)		
		Выработка ИУР до травмы	Выработка ИУР после травмы	Восстановление движения балансирующая после травмы	Выработка ИУР до травмы	Выработка ИУР после травмы и введения БМ	Восстановление движения балансирующая после травмы и введения БМ
1	Кортико-спинальный тракт	2,5 ±0,8	3,9±1,1	16,0±1,2	2,7±0,5	1,75±0,9	2,2±0,8
2	Кортико-рубро-спинальный тракт	2,75±0,3	8,3±1,6	13,7±1,9	2,7±0,8	2,5±0,2	3,4±1,1

Аналогичные изменения наблюдаются и в случае травмы рубро-спинального тракта, но здесь в обоих случаях срок восстановления сократился в 3-4 раза. Большую разницу в сроках восстановления ИУР, наверное, можно объяснить меньшими размерами рубро-спинального тракта по сравнению с пирамидным.

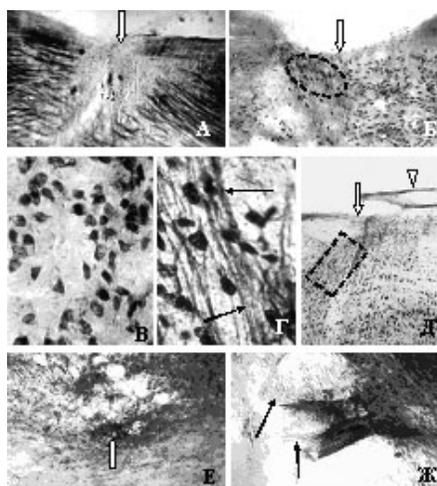


Рис.1. Горизонтальные срезы ствола мозга пирамидотомированных (А-Д) крыс и после иссечения рубро-спинального тракта (Е-Ж); контрольных крыс (А, Е) и с в/м инъекцией раствора меланина в/м в концентрации 6 мг/мл (Б-Д, Ж) (белые стрелки – места перерезки; А – наличие рубца; черные стрелки – нервные волокна в участке перерезки; белый треугольник – крупный кровеносный сосуд над участком травмы; В – фрагмент Б в овале, где отсутствует рубец, место травмы заполнено нервными клетками; прямоугольник – ориентация нейронов по ходу разреза). Выявление активности Ca^{2+} -зависимой КФ. Увеличение: ок.10, об. 10 (А, Б, Д); 16 (Е); 40 (В, Ж); 100 (Г).

После завершения поведенческих экспериментов проводились морфогистохимические исследования мозга подопытных животных. Был использован метод выявления активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы, так как полученная мор-

фологическая картина адекватна, обладает большой информативностью и позволяет судить об определенных звеньях метаболизма исследованных структур. Данный методический подход основан на выявлении внутриклеточных фосфорсодержащих соединений, занимающих ключевые позиции в обменных энергетических процессах клеток. Это является основанием для использования данного метода при изучении морфофункционального состояния клеточных структур ЦНС до и после травмы. На рис. 1 срезов мозга у контрольных животных после обоих случаев травмы ясно виден рубец на участке повреждения кортико-спинального (А) и рубро-спинального (Е) трактов. На срезах мозга крыс, получавших БМ, видно усиление васкуляризации (Д), вследствие чего усиливается трофика нервной ткани, способствуя подавлению образования рубца. На (Г) – на участке пирамидотомии и на (Ж) – на месте разрушения травмы рубро-спинального тракта черные стрелки указывают на нервные волокна, рост которых обычно предопределяет интенсивность пролиферации, дифференциации и формирования новых клеточных структур [1].

Таким образом, результаты как поведенческих экспериментов, так и морфогистохимического исследования мозга всех подопытных животных подтверждают протекторное действие введенной концентрации БМ на посттравматические восстановительные процессы, особенно на локомоцию, после нейротравмы обоих моторных трактов, что показано также в наших других работах [2].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Банин В.В.* Новообразование сосудов: клеточные и молекулярные механизмы регуляции. Морфология (Санкт-Петербург), Тез. докл VI конгресса Междуна. ассоц. морфологов, Колос. чтения, с. 18, 2002.
2. *Манвелян Л.Р., Петросян Т.Р., Геворкян О.В., Меликсетян И.Б.* Влияние унилатеральной пирамидотомии и введения бактериального меланина на кортикофугальную пластичность у взрослых крыс. Актуальные вопросы функциональной межполушарной асимметрии и нейропластичности. М., Изд-во Научный мир, стр. 596 -600, 2008.
3. *Меликсетян И.Б.* Выявление активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы в клеточных структурах мозга крыс. Морфология, 131, 2, 77-80, 2007.
4. *Фанарджян В.В.* Избранные главы нейрофизиологии. Ереван, изд-во Гитутюн, НАН РА, стр. 190, 2002.
5. *Agadjanyan A.E., Hambartsumyan A.A., Hovsepian A.S., Asaturian R.A., Vardanyan A.A., Saghyan A.S.* Isolation, purification and physicochemical characterization of water-soluble Bacillus thuringiensis melanin. Pigment Cell Res. 18, 130-135, 2005.
6. *Bareyre F.M. and Schwab M.E.* Inflammation, degeneration and regeneration in the injured cord: insights from DNA microarrays. Trends Neurosci, 26, 555-563, 2003.
7. *Barron D. H.* The results of unilateral pyramidal section in the rat. J. Com. Neurol, 60, 45-46, 1934.
8. *Kenedy P.R., Humphry D.R.* The compensatory role of the parvocellular division of the red nucleus in operantly conditioned rats. Neurosci. Res. 5, 39-62, 1987.
9. *Maier I.C. and Schwab M.E.* Sprouting, regeneration and circuit formation in the injured spinal cord: factors and activity. Phil. Trans. R. Soc., 361, 1611-1634, 2006.

Поступила 06.09.2010.