

ВЛИЯНИЕ 6-ОКСИДОФАМИНА НА СОДЕРЖАНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ И ДНК НЕОКОРТЕКСА И СТЕВЛОВОЙ ЧАСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

ТРЕТЬЯК Т. М., СМИРНОВА Г. Н., СЕМЕНОВА Т. П., ГРИЩЕНКО Н. И.

Использование 6-оксидофамина в целях химической десимпатизации, помимо решения вопроса о значении катехоламинергической системы мозга вообще, оказалось сопряженным с проблемой регенерации и развития структур ЦНС. Большинство исследователей полагают, что введение нейротоксина на ранних сроках развития животных вызывает разрушение нервных окончаний. Другим исследователям удалось установить, что 6-оксидофамин является также причиной гибели тел норадренергических клеток мозга. Так, подсчет числа клеток в locus coeruleus у хемдепривированных крысят выявил резкое снижение их количества—на 90% по сравнению с нормой [1].

Было замечено, что при введении крысам 6-оксидофамина в ранние сроки постнатального развития вслед за резким падением содержания катехоламинов наступает некоторая компенсация в уровне нейромедиаторов катехоламинергической природы. Микроскопическая картина свидетельствовала о частичном восстановлении терминалей в клетках мозга, наблюдалось разрастание гладкого ретикулума по направлению к митохондриям [2]. К 21-му дню после инъекции нейротоксина возрастала активность тирозингидроксилазы в телах нейронов, вслед за этим увеличивался синтез норадреналина [3].

Было сделано предположение, что в основе пластических процессов, обеспечивающих необходимый для жизни животного уровень синтеза медиаторов, лежит адекватное изменение активности ядерного аппарата сохранивших жизнеспособность нервных клеток. В данной работе мы попытались сопоставить следствие прямого действия нейротоксина на КА-ергические нейроны с содержанием ДНК в хроматине клеток «заинтересованных» структур.

Новорожденным крысятам линии Вистар вводили 6-оксидофамин в дозе 100 мг/кг однократно под кожу спины в 1, 2, 3 дни постнатального развития. На биохимический анализ брали мозг крыс, декапитированных в возрасте 25 дней, 4 и 6 месяцев. В холодильной камере при 0° вы-

Таблица 1

Содержание моноаминов в головном мозгу крыс после введения 6-оксидофамина

Возраст		Содержание норадрена-лина нг/мг ткани		Содержание дофамина нг/мг ткани		Содержание серотонина нг/мг ткани	
		кора	ствол	кора	ствол	кора	ствол
25—26 дней	Контроль n=5	0,490±0,036	0,490±0,030	0,870±0,040	0,820±0,025	0,440±0,036	0,800±0,020
	Опыт n=4	0,145±0,055	0,230±0,020	0,150±0,025	0,340±0,060	0,445±0,005	0,740±0,034
	Изменение содержания моноаминов, %	-70,5	-54%	-83	-59	+1	-7,5
4 мес.	Контроль n=3	0,510±0,028	0,390±0,030	0,920±0,035	0,890±0,040	0,610±0,040	0,830±0,054
	Опыт n=2		0,220±0,020		0,350±0,025	0,570±0,008	0,870±0,020
	Изменение содержания моноаминов, %	-100	43,6	-100	-61	-6,6	+4,8
6 мес.	Контроль n=4	0,20±0,065	0,330±0,020	—	—	0,620±0,060	0,600±0,015
	Опыт n=5	0,170±0,038	0,230±0,025	—	—	0,620±0,000	0,720±0,038
	Изменение содержания моноаминов, %	67,6	30,3	—	—	0	+20

деляли неокортекс и стволовую часть. Исследуемую ткань (200—300 мг) гомогенизировали на холоду в стеклянном гомогенизаторе с притертым пестиком. Анализ норадреналина, дофамина и серотонина проводили спектрофлуориметрически [4]. Содержание моноаминов регистрировали на спектрофлуориметре «Perkin—Elmer MPF—44B». Данные по анализу содержания норадреналина, дофамина и серотонина в структурах головного мозга крыс, подвергнутых воздействию 6-оксидофамина, представлены в табл. 1. Введение нейротоксина вызывало резкое и устойчивое в течение всего наблюдаемого периода падение содержания норадреналина и дофамина в неокортексе и стволовой части мозга. Наиболее выражено было снижение норадреналина в неокортексе, оно держалось в течение 4 месяцев наблюдений, а затем начиналось медленное восстановление уровня нейромедиатора. В стволовой части мозга уменьшение количества норадреналина не столь интенсивно: уровень его снижался примерно в 2 раза и оставался таковым в течение 6 месяцев. Количество дофамина из-за введения нейротоксина особенно сильно падало в коре, а в стволе его количество снижалось примерно наполовину. Введение 6-оксидофамина не отражалось на количестве серотонина, которое было неизменным в исследованных структурах в течение всего периода наблюдений.

Как уже упоминалось, снижение катехоламинов в мозгу в результате введения 6-оксидофамина большинство исследователей связывали с его разрушающим действием на терминалы катехоламинергических клеток [2, 5]. Sievers и соотр. обнаружили, что доза 6-оксидофамина, равная 100 мг/кг, введенная в желудочки мозга новорожденных крысят, повреждает не только терминалы и КА-ергические нейроны, но также глиальные и гранулярные клетки коры мозжечка, клетки мягкой мозговой оболочки и, что следует отметить особо, элементы серотонинергического пути [6]. В работе не приводится гистологический анализ поврежденных структур мозга, поэтому мы ссылаемся на данные литературы, объясняющие развитие компенсации в содержании катехоламинов за счет развития коллатералей со стороны проксимального конца аксона, то есть «спрутинга».

Количественный анализ ДНК, выполненный по методике Karsten, Wollenberger [7], используется в настоящее время довольно широко для определения содержания нуклеиновых кислот в различных тканях [8, 9]. С помощью этого метода было прослежено изменение содержания ДНК в клетках структур мозга, подвергнутых воздействию нейротоксина на ранних сроках постнатального развития крыс. Навеска структур мозга, взятых для этого анализа, составляла 30—50 мг. Интенсивность флуоресценции измеряли на микрофлуоресцентной установке [10]. Вклад РНК при суммарной оценке содержания нуклеиновых кислот устранялся за счет обработки хроматина РНКазой. Эти результаты (табл. 2), свидетельствующие об уменьшении количества ДНК в структурах мозга депривированных животных, хорошо согласуются с исследованиями, обнаружившими деструкцию и гибель КА-ергических ней-

ронов вследствие введения 6-оксидафаминна. Уменьшение КА-ергических нейронов и, как результат этого, снижение уровня нейромедиаторов является, по-видимому, причиной нарушения клеточного и тканевого метаболизма, так как, по многочисленным наблюдениям, катехоламины выполняют роль специфических регуляторов в целом ряде метаболических путей и функционально значимых биохимических реакций [8, 9, 11—13].

Таблица 2

Содержание ДНК в хроматине клеток неокортекса и стволовой части мозга крысы после введения 6-оксидафаминна (6-ОИДА)

Вид опыта	Возраст крысы	Неокортекс (содержание ДНК мкг/мг ткани)*	Стволовой отдел (содержание ДНК мкг/мг ткани)
Введение 6-ОИДА n=3	25 дней	0,560	0,690
Контроль n=5	25 дней	0,834	0,839
Введение 6-ОИДА n=3	4 мес.	0,615	0,647
Контроль n=3	4 мес.	0,802	0,830

* представлены средние арифметические значения результатов, полученных в опытах

Известно направление работ, обнаруживающее участие катехоламинов в морфогенезе [14, 15] и дифференцировке [16], «медиаторную» функцию нейротрансмиттеров рассматривал Коштоянц [17]. Рядом физико-химических исследований выявлена возможность ковалентного взаимодействия аминогрупп катехоламинов и остатков фосфорной кислоты ДНК [18]. Предшественник норадреналина L-ДОФА при внутрибрюшинном введении проникает в клетки мозга и вступает во взаимодействие с кислыми белками хроматина. Использование строго определенной дозы ДОФА стимулирует акцепцию хроматиновыми белками меченой аминокислоты [19].

Результаты исследований и приведенные здесь данные литературы свидетельствуют о способности КА участвовать в ключевых макромолекулярных процессах, происходящих в клетках мозга, наряду с их традиционной ролью в проведении нервного импульса.

INFLUENCE OF 6-HYDROXYDOPAMINE ON THE CATECHOLAMINE AND DNA CONTENT IN RAT NEOCORTEX AND BRAIN STEM

TRETJAK T. M., SMIRNOVA G. N., SEMENOVA T. P., GRISHCHENKO N. L.

Institute of Biological Physics, USSR Academy of Sciences, Poustchino

The administration of 6-OHDA sharply decreased the level of serotonin and dopamine in neocortex and brain stem in new born rats and

also DNA content in these areas. These changes preserved for 4 experimental months. Data obtained point to the fact that changes in neurotransmitters' content affect DNA synthesis in brain cells.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lanfumly L., Arluison W., Adrien J. *Brain. Res.*, 214, 2, 445—450, 1981.
2. Huang B. H., Yew Y., Williams T. H. *Cell and Tissue Research*, 206, 1, 41—53, 1980.
3. Acheson A. L., Zigmond M. J., Stricker E. M. *Science*, 207, 4430, 537—539, 1980.
4. Козан Б. М., Нечаев Н. В. *Лаб. дело*, 5, 301—303, 1979.
5. Bloom F. E., Algeri S., Groppetti A., Revuelta A., Costa E. *Science*, 166, 3910, 1284—1286, 1969.
6. Sievers J., Klemm H. P., Jenner S., Baumgarten H. G., Berry M. *J. Neurochem.*, 34, 4, 765—771, 1980.
7. Karsten U., Wollenberger A. *Anal. Biochem.*, 46, 135—148, 1972.
8. Карнаухов В. Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки, М., Наука, с. 93, 1978.
9. Колесников В. А., Сондоре О. Ю., Федосеева Г. Е., Зеленин А. В. *Цитология*, 21, 9, 1029—1035, 1979.
10. Иванов В. А., Терпиловская О. Н., Третьяк Т. М., Смирнова Г. Н. *Биохимия*, 47, 3, 398—404, 1982.
11. Angerer L. M., Georghion S., Moudrianakis E. N. *Biochemistry*, 13, 6, 1075—1081, 1974.
12. Краена В. С., Бару А. М. *Укр. биохим. ж.*, 53, 5, 60—64, 1981.
13. Третьяк Т. М., Архипови Л. В., Иванов В. А. *ДАН СССР*, 257, 5, 1262—1264, 1981.
14. Weiss B. F., Munro H. N., Ohdonez L. A., Wurtman R. I. *Science*, 177, 4049, 613—616, 1972.
15. Сахров Д. А. *Генеалогия нейронов*, М., Наука, 1974.
16. Taub F., Johnson T. C. *Biochem. J.*, 151, 1, 173—180, 1975.
17. Коштоянц Х. С. *Проблемы энзимохимии процессов возбуждения и торможения и эволюции функций нервной системы*, М., Изд-во АН СССР, 1963.
18. Божко Г. Х., Веркин Б. И., Переверзев П. Г., Вансев В. А. *Укр. биохим. ж.*, 44, 4, 468, 1972.
19. Бузников Г. Н. *Низкомолекулярные регуляторы зародышевого развития*, М., Наука, 1967.

Институт биологической физики
АН СССР, Пущино

Поступила 13. VI 1983