НЕЙРОХИМИЯ. т.8, №3, 1989.
©Издательство АН Армянской ССР

NEUROCHEMISTRY. v.8, №3, 1989.
©Academy of Sciences of Armenian SSR

УДК612.82:577.1

ВЛИЯНИЕ МИКРОИНЪЕКЦИЙ ФЕНАМИНА В ПРИЛЕЖАЩЕЕ ЯДРО И БИКУКУЛЛИНА В ЧЕРНУЮ СУБСТАНЦИЮ НА СИНАПТИЧЕСКИЙ ВЫБРОС ДОФАМИНА В СТРИАТУМЕ КРЫС

Саульская Н.Б., Якимовский А.Ф., Карпова И.В.

Институт физиологии им. И.П. Павлова АН СССР, Ленинград

В 1977 г. Iverzen и Koob выдвинули гипотезу о пусковой роли дофаминергической системы прилежащего ядра (n. accumbens) в обеспечении активности нигро-стриатной дофаминергической системы [1]. Идея координированной работы мезолимбической и нигро-стриатной дофаминергических систем мозга впоследствии была дополнена экспериментальными фактами [2—4]. Первые нейрохимические доказательства существования влияний прилежащего ядра на дофаминергическую систему стриатума были получены нами с использованием метода прижизненного внутримозгового диализа [5]. Было продемонстрировано, что введение фенамина в прилежащее ядро снижает содержание дофамина (ДА) в диализате стриатума наркотизированных крыс. Морфологическим субстратом обнаруженного взаимодействия могут являться проекции ГАМК-ергических нейронов прилежащего ядра на клетки медиального отдела компактной зоны черной субстанции [6, 7]. Проверке этого предположения была посвящена данная работа, где методом прижизненного внутримозгового диализа мы исследовали воздействие микроинъекций фенамина в прилежащее ядро на синаптический выброс стриатного ДА при блокаде ГАМК-ергических рецепторов медиального отдела черной субстанции бикукуллином.

Работа выполнена на 32 крысах-самцах линии *Wistar* массой 200—350 г в условиях полухронического эксперимента. Животных наркотизировали гексеналом в дозе 280 мг/кг с периодическим довведением 90 мг/кг каждые 40 мин. Унилатерально в область дорзального стриатума вживляли перфузионные канюли, имеющие U-образный диализный участок длиной 5 мм (рис.1). Сочленение подводящих полиэтиленовых и диализной трубок осуществляли методом тугой посадки. Использовали диализные трубки с наружным диаметром 125 мкм и проницаемостью 7 кД («Gambro», Швеция, ФРГ). Координаты вживления: кпереди от брегмы на 0,8 мм, латеральнее стреловидного шва на 2,5 мм. Глубина погружения канюли — 5,5 мм от поверхности черепа. Кроме того, в прилежащее ядро и медиальный отдел компактной зоны черной субстанции ипсилатерально по отношению к диализной канюле вживляли стальные направляющие наружным диаметром 1 мм для проведения микроинъекций. Координаты вживления направляющих: для прилежащего ядра — кпереди от брегмы на 2,7мм, латеральнее стреловидного шва на 1,2 мм, глубина погружения — 6,5 мм от

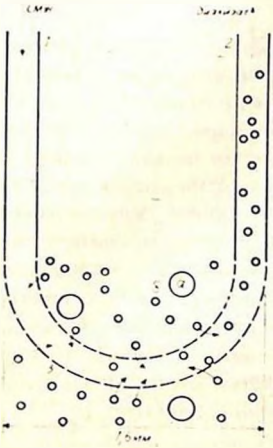

Рис.1. Принципиальная схема диализной канюли: 1,2—полиэтиленовые трубки внутренним диаметром около 130 мкм, 3—диализная трубка, СМЖ-искусственная спинномозговая жидкость; а,б—крупные и мелкие молекулы, соответственно проникающие и непроникающие сквозь поры диализной трубки.

поверхности мозга; для черной субстанции — назад от брегмы на 5 мм, латеральнее стреловидного шва на 1,5 мм, глубина погружения — 6,8 мм от поверхности мозга. Во время проведения микроинъекций иглу микрошприца вводили в мозг на 1 мм глубже направляющих. На следующий день крыс повторно наркотизировали гексеналом в тех же дозах и проводили перфузию стриатума искусственной СМЖ, содержащей (в мМ): NaCl—140, KCl—3,5, $CaCl_2$—1,3, $MgCl_2$—1,0, HEPES («Serva», ФРГ)—5,0, pH 7,4. Для перфузии использовали насос шприцевого типа, работающий от двигателя СД-54. Скорость перфузии — 1,8 мкл/мин. Диализат, полученный в течение первого часа перфузии, не анализировали. Затем в течение 50 мин собирали фоновую порцию диализата, после чего всех крыс разбивали на 4 группы, по 8 крыс в каждой. Первой группе животных вводили СМЖ в прилежащее ядро и черную субстанцию в объеме 0,2 мкл, второй группе вводили 0,5 мкг фенамина отечественного производства в 0,2 мкл СМЖ в прилежащее ядро и 0,2 мкл СМЖ в черную субстанцию. Третьей группе вводили 0,2 мкг бикукуллина («Serva», ФРГ) в 0,2 мкл СМЖ в черную субстанцию и 0,2 мкл СМЖ в прилежащее ядро. Четвертой группе вводили 0,5 мкг фенамина в прилежащее ядро и 0,2 мкг бикукуллина в черную субстанцию в 0,2 мкл СМЖ. После инъекции в течение 50 мин собирали последнюю порцию диализата. В процессе сбора в каждую пробу добавляли по 3 мкл стабилизатора (раствор N10 из набора «Catechol», ЧССР), содержащий восстановленный глутатион. Пробы хранили до анализа не более двух недель при —20°. По окончании экспериментов мозг животных подвергали морфологическому контролю (рис.2). В каждой порции диализата радиоэнзиматически определяли содержание ДА [8]. Разделение метилированных производных катехоламинов проводили методом ТСХ на силуфоловых пластинах UV-254 (ЧССР). Радиоактивность проб анализировали на жидкостном сцинтилляционном счетчике Rack Beta II («LKB WALLAC», Финляндия). Данные обрабатывали статистически по t-критерию Стьюдента.

В работе показано, что введение 0,5 мкг фенамина в прилежащее ядро снижало содержание ДА в диализате стриатума как по отношению к фону, так и по отношению к этому параметру при введении СМЖ (рис.3). Введение 0,2 мкг бикукуллина в медиальную черную субстанцию, напротив, увеличивало уровень ДА в диализате стриатума. Одновременные микроинъекции фенамина в прилежащее ядро и бикукуллина в черную субстанцию приводили к снижению содержания ДА в диализате стриатума до уровня,

наблюдаемого после изолированных микроинъекций фенамина в прилежащее ядро.

По существующим представлениям уровень ДА в диализате стриатума отражает экстраклеточное содержание ДА в этой структуре и является показателем синаптического выброса указанного нейромедиатора [9]. Показано, что фенамин, вводимый в прилежащее ядро, на 30—40 мин повышает уровень ДА в экстраклеточном пространстве названного образования [10]. То есть длительная моноаминергическая стимуляция прилежащего ядра приводит, по нашим данным, к торможению синаптического выброса ДА в стриатуме. Этот факт находится в полном соответствии с данными, полученными нами ранее в острых экспериментах с использованием трансстриатных диализных канюль [5] и свидетельствует о существовании влияний прилежащего ядра на ДА-ергическую систему стриатума. Изучаемые влияния могут обеспечиваться проекциями ГАМК-ергических нейронов прилежащего ядра на ДА-ергические клетки медиального отдела компактной зоны черной субстанции, иннервирующие стриатум [6, 7].

Рис.2. Пример локализации направляющих А, Б и диализной канюли В в структурах мозга крыс: *а* — прилежащее ядро (уровень 11в), *б* — стриатум (уровень 13в), *в* — медиальная черная субстанция (уровень 44в). Локализация дана по Konig, Klippel [11]

Если это так, то блокада ГАМК-входа медиального отдела черной субстанции бикукуллином, блокатором ГАМК-ергических рецепторов А-типа, должна хотя бы частично предотвращать влияние введений в прилежащее ядро на синаптический выброс ДА в стриатуме. Однако было показано, что одновременное введение фенамина в прилежащее ядро и бикукуллина в черную субстанцию оказывает такое же влияние на выброс ДА в стриатуме, как и введение фенамина в прилежащее ядро. Таким образом, по нашим данным, ГАМК-А рецепторы медиального отдела черной субстанции не вовлечены в механизмы, обеспечивающие участие прилежащего ядра в регуляции активности нигро-стриатной ДА-ергической системы.

Из полученных данных можно сделать важный вывод. В работе установлено, что микроинъекции фенамина в прилежащее ядро нивелируют действие бикукуллина, вводимого в черную субстанцию, на уровень ДА в экстраклеточном пространстве стриатума. То есть синаптический выброс ДА в стриатуме находится под контролем прилежащего ядра, и этот механизм управления ДА-ергической системой стриатума реализуется с большим преимуществом, по сравнению с нигральными ГАМК-зависимыми влияниями. Такое заключение созвучно с данными Kelly, Moore [2], показавшими, что блокада ДА рецепторов прилежащего

ядра галоперидолом или разрушение ДА-ергических терминалей этой структуры 6-гидрокси-ДА предотвращает вращение, вызываемое системным введением фенамина у крыс с унилатеральными повреждениями нигро-стриатного пути.

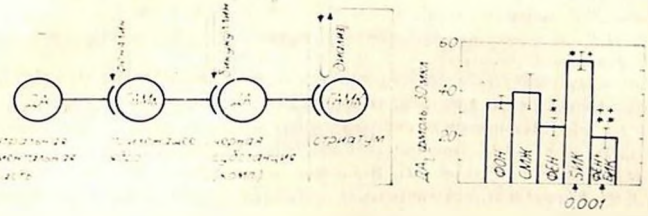

Рис.3. Уровень дофамина в диализате стриатума: ФОН — до воздействия, СМЖ — после введения искусственной СМЖ в прилежащее ядро и медиальную черную субстанцию; ФЕН — после введения фенамина в прилежащее ядро и искусственной СМЖ в медиальную черную субстанцию; БИК — после введения бикукуллина в медиальную черную субстанцию и искусственной СМЖ в прилежащее ядро; ФЕН+БИК — после введения в прилежащее ядро и искусственной СМЖ в медиальную черную субстанцию: $^{*}p \leqslant 0{,}05$; $^{**}p \leqslant 0{,}01$, где p — доверительная вероятность при сравнении с фоном: $p < 0{,}05$. $p \leqslant 0{,}01$, где p — доверительная вероятность при сравнении с введением искусственной СМЖ. В левой части рисунка приведена схема опыта

Все эти факты свидетельствуют о важной роли прилежащего ядра в регуляции активности ДА-ергического входа стриатума. Механизм, лежащий в основе этой регуляции, и ее функциональное значение пока остаются невыясненными.

THE EFFECT OF AMPHETAMINE INJECTIONS IN NUCLEUS ACCUMBENS AND BICUCULLINE INJECTIONS IN SUBSTANTIA NIGRA ON RELEASE OF STRIATAL SYNAPTIC DOPAMINE

Saulskaya N.B., Yakimovsky A.F., Karpova I.V.

Pavlov Institute of Physiology, USSR Academy of Sciences, Leningrad

Anaesthetized male *Wistar* rats were subjected to *in vivo* intracranial dialysis followed by radioenzymatic analysis of dopamine. Injections of amphetamine (0,5 μg) in *n. accumbens* decreased the extracellular dopamine level. The administration of bicuculline (0,2 μg) in the medial part of *substantia nigra pars compacta* did not inhibit the effect of amphetamine. *Nucleus accumbens* was suggested to affect the release of striatal synaptic dopamine. This phenomenon is not mediated by GABA-A-receptors of the medial part of *substantia nigra*.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Iversen S.D., Koob G.F.* Adv. Biochem. Psychopharmacol., v. 16, p. 209—214, 1977.
2. *Kelly P.H., Moore K.E.* Psychopharmacol. v. 55, p. 35—41, 1977.
3. *Mogenson G.J., Jones D.L., Yim C.Y.* Prog. Neurobiol., v. 14, p. 69—97, 1980.
4. *Шаповалова К.Б.* Физиол. журн., т. 71, N5, с. 537—553, 1985.
5. *Саульская Н.Б., Якимовский А.Ф.* Физиол. журн., т. 75, N1, с. 148—150, 1989.
6. *Walaas I., Fonnum F.* Neurosci., v. 5, p. 63—72, 1980.
7. *Somogyi P., Bolam J.P., Totterdell S., Smith A.D.* Brain Res., v. 217, p. 245—263, 1981.
8. *Peuler J.D., Johnson G.A.* Life Sci., v. 1, p. 625—626, 1977.
9. *Ungerstedt U.* —In: Measurment of neurotransmitter release in vivo (eds. C.A. Marsden, J.Willey, S.A.Willey), p. 81—105, Interscience Publication, Chichester, New-York, 1984.
10. *Hernandez L., Lee F., Hoebel B.G.* Brain Res. Bul., v. 16, p. 623—628, 1987.
11. *Konig J.F.R., Klippel R.A.* The rat brain. A stereotaxic atlas. The Williams & Wilkins company, Baltimore, 1963.

Поступила 10.04.1989