



ОБЗОРЫ

УДК 612.821.1/3—06:616.822.1.014.46:612.452.019

МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ
6-ОКСИДОФАМИНА НА КАТЕХОЛАМИНЕРГИЧЕСКИЕ
СТРУКТУРЫ МОЗГА

ГРОМОВА Е. А., СЕМЕНОВА Т. П., ГРИЩЕНКО Н. П.

Институт биологической физики АН СССР, Пушкино

В обзоре приводится материал, позволяющий разграничить эффекты острой и хронической депривации активности катехоламинов (КА)-ергических систем головного мозга, обусловленных разными способами введения 6-оксидофамина (6-ОДА). Рассмотрены механизмы его специфического токсического действия на центральные нейроны. На основании приведенных данных сделан вывод в пользу существующего представления о целесообразности использования 6-ОДА в качестве «инструмента» при изучении функций КА систем мозга.

В последние годы резко повысился интерес исследователей к функциям КА-ергических систем головного мозга, при изучении которых широко используется нейротоксин—6-ОДА, вызывающий селективную дегенерацию КА структур. В этой связи важно более детальное рассмотрение механизмов действия 6-ОДА на КА-ергические структуры мозга. Целью обзора является обобщение имеющихся в литературе данных по этому вопросу, позволяющих разграничить эффекты острой и хронической депривации активности КА-ергических систем, обусловленной разными способами введения этого нейротоксина.

Впервые 6-ОДА был обнаружен и выделен [1] из гомогенизированных тканей при изучении ферментативного превращения дофамина (ДА) в норадrenalин (НА). Показано, что он является одним из естественных метаболитов ДА [2]. Системное введение 6-ОДА животным приводило к резкому и длительному снижению содержания НА в периферических органах и тканях [3], обусловленному дегенерацией симпатических нервов и их терминалей [4—6]. Установлено, что сам 6-ОДА, являясь близким аналогом ДА, захватывается КА-ергическими терминалями с помощью тех же мембранных механизмов («мембранного насоса»), что и КА, затем транспортируется по аксонам в тела нейронов, где он замещает НА в запасных гранулах, выступая в роли ложного медиатора [7].

Изменений уровня НА в мозгу взрослых животных при системном

введении 6-ОДА не было отмечено [2, 8]. Лишь у котят было обнаружено некоторое снижение количества НА в гипоталамусе, что в совокупности указывает на непроницаемость этого вещества через ГЭБ. Эти наблюдения послужили стимулом для исследований центральных эффектов 6-ОДА при внутрижелудочковом (в/ж) или внутримозговом его введении. Результаты таких исследований показали, что 6-ОДА вызывает в мозгу избирательную дегенерацию КА-ергических нейронов, не оказывая существенного влияния на серотонинергические нейроны [9—11]. Дальнейшие исследования были направлены на изучение эффектов и механизмов центрального действия 6-ОДА, что привело к обоснованию возможности получения острой и хронической депривации активности КА-ергических структур мозга с его помощью.

Острая депривация активности КА-ергических систем головного мозга, обусловленная непосредственным введением 6-ОДА в мозг и его желудочки. Первоначальные исследования центрального действия 6-ОДА были проведены преимущественно с его в/ж введением. Результаты этих работ свидетельствуют о значительном снижении содержания НА и ДА в различных структурах мозга под влиянием 6-ОДА, степень которого находится в зависимости от вводимой дозы вещества и времени, прошедшего с момента введения. При этом отмечена более высокая чувствительность к нейротоксину НА-ергических нейронов по сравнению с ДА-ергическими. Так, в/ж введение 5 или 5 мкг 6-ОДА снижало уровень содержания НА в целом мозгу соответственно на 30 и 50%, в то время как содержание ДА оставалось неизменным [10, 11]. Большие дозы 6-ОДА снижали количество обоих аминов, однако уменьшение содержания НА наступало быстрее, чем ДА [12, 13], и только при очень высоких дозах 6-ОДА (500 мкг), граничащих с летальными, снижение содержания обоих аминов мозга выравнивалось, достигая 80%.

Благодаря разной чувствительности ДА и НА нейронов к действию 6-ОДА оказалось возможным получать длительное снижение содержания НА в мозгу крыс без заметного снижения содержания ДА путем 3—4-кратных инъекций нейротоксина в дозе 25 мкг с интервалом в 48 ч [14].

Более детальный анализ региональных изменений содержания КА под влиянием в/ж введений 6-ОДА выявил различную чувствительность структур мозга к его действию: введение препарата в дозах 40—200 мкг сопровождалось снижением НА в неокортексе (на 40—95%) и гипоталамусе (на 50%), в то время как в таламусе уровень НА оставался без изменений. Лишь под влиянием больших доз 6-ОДА (500 мкг, двукратно) было отмечено резкое (на 80%) и длительное (до 142 дней) снижение количества НА во всех указанных структурах [11, 15, 16]. При этом была подтверждена специфичность действия 6-ОДА на КА-ергические нейроны: содержание серотонина и ГАМК в мозгу крыс, получавших этот препарат, оставалось без изменений. Теми же авторами было обнаружено, что наряду со снижением уровня НА и ДА под влиянием 6-ОДА происходило также снижение активно-

сти ферментов, участвующих в их синтезе—тирозингидроксилазы (ТГ) и ДОФА-декарбоксилазы. Одновременно с этим наблюдали нарушение механизма захвата КА-ергических терминалями, свидетельствующее о дегенеративных процессах в последних.

В связи с различием эффектов в/ж введения 6-ОДА на содержание НА и ДА в отдельных структурах мозга возникло предположение, что причиной этого является их топографическое расположение по отношению к желудочкам мозга, что получило подтверждение при гистохимических исследованиях, обнаруживших стадийность эффектов в/ж введения 6-ОДА. Первая стадия характеризовалась снижением НА и ДА в областях, прилежащих к стенкам желудочков (богатых преимущественно НА терминалями), а также дегенеративными изменениями аксонов и некоторых прилежащих нейронов. Вторая стадия выражалась снижением количества НА в терминалях отдаленных областей, включая неокортекс, являющимся, по-видимому, результатом антерогранной дегенерации первично пораженных нейронов [17].

В основе различной восприимчивости мозговых структур к действию 6-ОДА может лежать также неодинаковая чувствительность терминалей, аксонов и клеточных тел КА-ергических нейронов к депривирующему влиянию этого препарата. Метод флуоресцентной микроскопии позволил выявить уменьшение численности и интенсивности свечения флуоресцирующих терминалей в мозгу на фоне введения крысам 6-ОДА при неизменности уровня свечения нейронов [18]. О том же свидетельствуют данные о более высоком поглощении меченых КА синапсосомами, полученными из переднего мозга по сравнению с синапсосомами моста у крыс, получавших 6-ОДА [16]. Эти факты подтверждают представление о том, что в структурах, содержащих тела нейронов и их аксоны, изменения под влиянием 6-ОДА выражены слабее, чем в областях, содержащих терминали. Однако перикарионы КА-ергических нейронов не являются полностью нечувствительными к действию 6-ОДА, на что указывает их деструкция, имеющая место при внутриинтестинальном или в/ж введении препарата [12, 19]. Описано даже полное исчезновение клеточных тел синего пятна при в/ж введении больших доз 6-ОДА [20].

Наряду с в/ж инъекцией 6-ОДА широкое распространение получило непосредственное его введение в различные структуры мозга. Наиболее последовательное развитие этих исследований проведено Ungerstedt [12], составившим подробные стереотаксические схемы моноаминергических систем мозга крыс. Используя флуоресцентный метод Falck-Hillarp, он описал дегенеративные явления в этих системах при локальной инъекции минимальных (4—8 мкг) количеств 6-ОДА в различные группы КА нейронов, их проводящие пути и области терминалей. Одним из ранних показателей дегенеративных явлений, обнаруженных в его исследованиях, являлось быстрое появление вместо зеленой флуоресценции интенсивной желтой, возникавшей в нейронах, подвергавшихся действию 6-ОДА. Введение этого нейротоксина

в проводящие пути вызывало эффект, подобный тому, который имеет место при механической перерезке этих путей—накопление медиатора в проксимальной части аксонов; это позволило использовать 6-ОДА для более полного выявления моноаминергических путей в мозгу. В результате серии проведенных им исследований было установлено, что инъекция минимальных доз 6-ОДА в зону КА-ергических нейронов сопровождалась деструкцией не только самих тел клеток, но соответствующих путей и терминалей. Это способствовало изучению роли отдельных ядер моноаминергических систем в регуляции физиологических функций и поведения животных. В частности, Ungerstedt и соавт. [22] описали и феномен моторной асимметрии у крыс, вызванный односторонней инъекцией 6-ОДА в группу ДА-ергических нейронов черной субстанции. Это выражалось ротационным поведением животных в направлении, соответствующем поврежденной стороне, что было обусловлено снижением содержания ДА в мезостриальной системе мозга. Для количественного измерения интенсивности ротационного поведения был предложен специальный прибор—ротометр, позволяющий судить о степени повреждения соответствующей мезостриальной системы [22]. Детальный анализ времени исчезновения в структурах мозга НА и ДА под влиянием локальных инъекций разных доз 6-ОДА позволил выявить различную чувствительность нейронов к его действию. Наиболее чувствительными оказались мезэнцефалические ДА-ергические нейроны, НА аксоны и терминали, в то время как тела НА нейронов оказались более устойчивыми [21].

Имеются указания на то, что в дополнение к специфической деструкции КА-ергических нейронов, внутримозговая инъекция 6-ОДА может вызывать неспецифические разрушения ткани, окружающей кончик канюли [23—25]. Размеры такого повреждения определяются дозой препарата. Было высказано опасение, что неспецифическое разрушение, вызываемое 6-ОДА, затрудняет объяснение эффектов этого препарата лишь избирательным вмешательством его в активность КА структур мозга [26]. Однако более детальный анализ показал, что в случае применения адекватной дозы 6-ОДА поврежденными оказываются только нейроны КА-ергической системы мозга [23, 25]. Дозы препарата, вызывавшие неспецифическое повреждение ткани, были в 5 раз больше [26].

С помощью специальных приемов оказалось возможным получать избирательное повреждение НА или ДА-ергической нейрональной системы. С одной стороны, используя дробное многократное введение малых доз 6-ОДА, можно вызвать избирательное истощение количества НА мозга при неизменном количестве ДА. С другой стороны, можно получить избирательное снижение содержания ДА путем совместного введения 6-ОДА с ингибиторами МАО [27, 28]. Установлено, что трициклические антидепрессанты, такие как дезипрамин, протриптилин и дезметилимирамин, более избирательно ингибируют поглощение катехоламинов в НА-ергических нейронах, чем в ДА-ергических [29, 30].

Поэтому на фоне предварительного их введения происходит преимущественное снижение количества ДА в мозгу, в то время как содержание НА оставалось без изменений [13, 28, 29].

В связи с тем, что внутримозговые инъекции 6-ОДА проводят под наркозом, следует иметь в виду, что некоторые анестезирующие вещества способны ослабить его действие. Показано, что в случае введения 6-ОДА (411 мкг, в/ж) на фоне пентобарбиталовой анестезии количество НА в мозгу понижалось на 25%, в то время как подобная процедура, проводимая на фоне эфирной анестезии, вызывала его 70%-ное снижение [32].

Деструкция КА-содержащих нейронов под влиянием 6-ОДА влечет за собой понижение активности связанных с их функционированием внутриклеточных ферментов. Обнаружено снижение активности тирозингидроксилазы—фермента, участвующего в синтезе КА во всех случаях, когда происходят морфологические изменения КА-ергических нейронов [11, 33, 34]. Показано, что после введения 6-ОДА активность этого фермента в неокортексе, гиппокампе, гипоталамусе и стриатуме понижалась на 70—80%, а в среднем мозгу и мосту—на 50% [11, 33]. На основании результатов этих наблюдений можно сделать вывод, что нейроны ствола мозга менее подвержены действию 6-ОДА, в то время как в других областях они повреждаются примерно в одинаковой степени. Авторы считают, что регенерация аксонов КА-ергических нейронов в мозговом стволе приводит к увеличению уровня активности тирозингидроксилазы и, таким образом, ретроградное накопление фермента, возможно, маскирует сильное повреждение нервных окончаний в этой области. Уровень активности фермента, участвующего в синтезе НА, дофамина- β -гидроксилазы, также снижался в ряде мозговых структур под влиянием 6-ОДА [35]. На фоне введения больших доз препарата (500 мкг, в/ж) наблюдали понижение активности этого фермента во фронтальной коре мозга крысы на 65—70%, в стриатуме и гипоталамусе на 60 и 25% соответственно [11]. Вследствие уменьшения числа КА-содержащих нейронов и падения активности тирозингидроксилазы метаболизм КА в мозгу также был снижен, о чем свидетельствует замедление превращения ^3H -НА на фоне введения 6-ОДА [36, 37]. Выявлено угнетающее влияние 6-ОДА на активность ферментов, вовлеченных в метаболизм КА [38].

Перечисленные наблюдения свидетельствуют о специфическом влиянии 6-ОДА на активность КА-ергических систем мозга, которое сказывается на разных этапах превращений КА. Эта специфичность нашла свое подтверждение также в ряде электронномикроскопических, автордиографических и гистохимических исследований [9, 18, 36, 37, 39]. Доказательства специфичности эффектов 6-ОДА на КА-ергические системы были получены также при биохимическом изучении его влияния на другие нейромедиаторные системы. Определение содержания серотонина в целом мозгу крыс, получавших 6-ОДА в большом диапазоне доз (160—600 мкг) как при системном, так и его в/ж введении

показало, что серотонинергические нейроны слабо реагируют на действие этого препарата. В литературе имеются отдельные сообщения об изменении уровня серотонина в мозгу под влиянием 6-ОДА, в которых отмечено, что эти изменения слабо выражены и являются кратковременными [36]. Региональный анализ содержания серотонина в мозгу позволил обнаружить, что в конечном мозгу [13, 37], коре больших полушарий [37], таламусе и гипоталамусе [40] оно оставалось без изменения, в среднем мозгу регистрировали его незначительное (15%) снижение, а в области моста было отмечено 75%-ное повышение через 7 ч после введения 6-ОДА (250 мкг, в/ж) [40]. Активность триптофангидроксилазы и скорость обмена серотонина не изменяются в мозгу крысы после внутримозговой инъекции 6-ОДА или после системного введения этого препарата новорожденным животным [37]. *In vitro* в культуре ядер шва показано, что 6-ОДА (50 мкг/мл) не влияет на образование 5-оксиндолуксусной кислоты, то есть на метаболизм серотонина [41]. Установлено, что на фоне понижения активности ДОФА-декарбоксилазы, наблюдаемого через 2—15 дней в десяти различных областях мозга, уровень активности 5-окситриптофандекарбоксилазы не снижался [42]. Более того, в мозжечке, гипоталамусе и латеральной области моста было зарегистрировано повышение активности этого фермента. Усиление синтеза серотонина отражает, возможно, образование новых действующих гетеротипических синапсов в местах, лишенных их обычной адренергической иннервации [43].

Имеются отдельные указания на наличие видовых различий действия 6-ОДА на серотонинергические нейроны, в частности, при введении его кошкам. Так, в ряде мозговых структур наряду с понижением количества НА было отмечено и снижение количества серотонина [44]. Дальнейшее исследование этого вопроса может пролить свет на функциональную, интегративную и ассоциативную роль моноаминергических нейронов у различных видов животных.

В литературе имеется небольшое число работ о влиянии 6-ОДА на другие известные и предполагаемые нейромедиаторы в ЦНС, в которых показано, что содержание глутаминовой и аспарагиновой кислот, глицина и других аминокислот, таких как таурин, аланин и серин, оставалось в целом мозгу крысы без изменений после введения животного 6-ОДА (330 мкг, 2 раза, в/ж) [32, 45]. Количество ГАМК и АХ под влиянием 6-ОДА или не менялось совсем [9, 32], или менялось незначительно. Все исследователи отмечают необычно большую продолжительность воздействия 6-ОДА на уровень содержания КА в мозгу, достигающую нескольких месяцев [11, 12, 37, 46, 47].

Таким образом, однократное введение животным 6-ОДА позволяет получить у них избирательное и длительное понижение уровня активности определенных КА систем мозга, что дает возможность использовать этот нейротоксин для анализа роли отдельных КА-ергических структур в регуляции различных форм поведения животных или физиологических систем организма.

Подытоживая результаты приведенных выше исследований, можно следующим образом представить последовательность событий, ведущих в конечном счете к дегенерации КА-ергических структур мозга, обусловленной действием 6-ОДА.

На начальном этапе 6-ОДА, являясь близким аналогом ДА, захватывается КА-ергическими терминалями с помощью специфического для КА-ергического мембранного механизма. Замещая в синаптических пузырьках КА, 6-ОДА транспортируется в тела нейронов, где может аккумулироваться в больших количествах в запасных гранулах, выступая в качестве «ложного медиатора». При небольших дозах 6-ОДА снижение содержания КА в структурах мозга является результатом снижения активности ферментов, участвующих в их синтезе. На этой стадии действия 6-ОДА структурных изменений КА-ергических нейронов не происходит. По достижении критической внутринейрональной концентрации 6-ОДА начинаются деструктивные процессы. На этом этапе первые терминали теряют способность проводить импульсы, однако механизм поглощения ими КА еще сохраняется [48]. На стадии полного разрушения КА-ергических терминалей, обусловленного введением больших доз 6-ОДА, наблюдается не только снижение уровня содержания КА и активности тирозингидроксилазы, но и потеря терминалями способности к захвату КА, что указывает на их дегенерацию [16].

Нарушение механизма захвата КА и снижение ферментативной активности, вызываемые введением 6-ОДА, отличают эффекты действия этого вещества от эффектов резерпина, который снижает лишь уровень содержания КА, не оказывая влияния на нейрональный механизм их захвата и активность ферментов, участвующих в синтезе НА и ДА [49].

Описанная последовательность событий, обусловленных действием 6-ОДА, объясняет механизм снижения количества КА в мозгу, но не проливает свет на механизм разрушения КА-ергических нейронов. Несмотря на изучение этого вопроса рядом исследователей, окончательного ответа на него до настоящего времени не получено. На гомогенатах печени показано, что 6-ОДА является разобщителем окислительного фосфорилирования, подобным и даже более сильным, чем 2,4-динитрофенол [50]. В присутствии такого разобщителя не происходит синтеза АТР, тогда как скорость окисления субстрата и потребления кислорода являются максимальными, что, естественно, может приводить к гибели клеток. Возможно, что и в нейронах 6-ОДА оказывает такое же действие. Имеются также указания на то, что 6-ОДА очень подвержен неферментативному окислению, в результате чего в клетках образуется ряд промежуточных продуктов, которые вовлекаются в процесс клеточной деструкции посредством связывания с нуклеофильными группами нейрональных макромолекул. Среди продуктов окисления 6-ОДА обнаружены о- и п-хиноны [51], вызывающие снижение процесса нейронального захвата КА [52]. Возможно, что одной из

причин, ведущих к клеточной деструкции, является образование в результате самопроизвольного окисления 6-ОДА таких высокореакционноспособных промежуточных продуктов, как супероксид O_2^- , H_2O_2 и гидроксидные радикалы, любой из которых может обуславливать деструкцию нервных терминалей [34, 53]. В этой связи вызывает интерес сравнение эффектов 6-ОДА и его аналога 5-ОДА, который также снижает количество НА в тканях, но не разрушает НА-ергические нейроны. Наряду с этим показано, что 6-ОДА образует H_2O_2 в 12 раз быстрее, чем 5-ОДА [34].

Предположено, что расход кислорода (присутствующего внутри клетки в концентрации до 10^{-3} М) при образовании пероксида водорода из 6-ОДА приводит к гипоксии и отрицательно влияет на целостность клетки [34]. Кроме того, H_2O_2 разрушает нейроны путем взаимодействия с их структурными липидами, мембранными и ферментными SH-группами, белковыми NH_2 -группами и другими структурными соединениями.

Таким образом, можно считать, что 6-ОДА оказывает свое деструктивное влияние на КА-ергические нейроны посредством выделения реакционноспособного кислорода, который присутствует в составе хинонов, пероксида водорода или супероксиданта. Продукты окисления 6-ОДА вступают в ковалентную связь с макромолекулами нейронов, вызывая необратимое их повреждение [52]. Кроме того, высказано предположение, что нейротоксическое действие 6-ОДА обусловлено его способностью вызывать денатурацию белков [54].

Совокупность этих данных проливает свет на механизм токсического действия 6-ОДА на КА-ергические нейроны мозга при внутримозговых его инъекциях, сопровождающихся острой депривацией активности соответствующих нейронных систем.

Хроническая депривация активности катехоламинергических систем мозга, обусловленная постнатальным введением 6-ОДА. Возможность проникновения 6-ОДА из кровяного русла в головной мозг у новорожденных животных до созревания ГЭБ создает условия для получения экспериментальной модели хронической депривации активности КА-ергических систем. При этом, естественно, возникали вопросы о степени и длительности снижения уровня содержания КА мозга у животных, получавших 6-ОДА, а также о зависимости этих сдвигов от сроков, прошедших с момента рождения до получения этого вещества, об оптимальных способах его введения и др. Изучению этих вопросов были посвящены первоначальные исследования с введением 6-ОДА в неонатальном периоде. Показано, что подкожное введение новорожденным крысам 6-ОДА (50—100 мг/кг, 3—4-кратно) вызывало массивные разрушения пара- и превертебральных симпатических ганглиев, сопровождающиеся значительным и длительным (до 6 месяцев и больше) снижением количества НА в различных органах—сердце, селезенке, поджелудочной железе и др. В мозгу также имело место снижение содержания НА, но менее выраженное [55—57].

Постструктурный анализ содержания КА в мозгу животных в разные сроки после введения 6-ОДА показал, что максимальное снижение количества КА было в неокортексе [52, 58, 59], где оно сопровождается также понижением захвата экзогенного ^3H -НА, скорости синтеза КА [60] и активности ферментов, обеспечивающих их синтез [61]. При этом в таламусе, гипоталамусе и стриатуме изменений уровня содержания НА отмечено не было [58, 59, 62]. В то же время в стволовых структурах и мозжечке ряд авторов наблюдал увеличение содержания НА [52, 58, 60, 61], усиление захвата ^3H -НА срезами *in vitro* [60], активности ферментов синтеза КА [61].

При анализе динамики изменений количества НА в онтогенезе обнаружен ряд существенных различий в реакции мозжечка и неокортекса мозга крыс на введение 6-ОДА в неонатальном периоде [61]. Так, на 4-й день жизни у таких животных выявлена интенсивная дегенерация НА-ергических терминалей в обеих структурах, уровень содержания НА и активности дофамин- β -гидроксилазы был уменьшен в них более чем на 80%, активность тирозингидроксилазы — на 50%. К 70-му дню после введения 6-ОДА концентрация НА и активность обоих ферментов в неокортексе оставались сниженными более чем на 90—95%. В отличие от этого в мозжечке на 9-й день содержание НА, величины активности тирозин- и дофамин- β -гидроксилазы восстанавливались до исходных величин, а на 70-й день превышали контрольный уровень на 95,5 и 115% соответственно. Предполагается, что причиной повышения уровня НА и активности ТГ могут служить процессы регенеративного и коллатерального спрутинга, развивающиеся после введения 6-ОДА новорожденным крысам [60], и избирательная регенерация КА структур в определенных областях мозга осуществляется самими нейронами-мишенями [61].

Морфологические исследования мозга животных с введением 6-ОДА в неонатальном периоде, проводившиеся методами гистофлуоресценции, световой и электронной микроскопии, обнаружили разрушения КА-ергических клеток, ретроградную дегенерацию, глиальные реакции, фагоцитоз [63—65]. Методом Falck показано резкое снижение числа варикоз, уменьшение числа флуоресцирующих терминалей и аксонов [66]. На электронограммах выявлено изменение синапсов нео- и палеокортекса [67]. В то же время в стволовых образованиях — первичных чувствительных и ассоциативных ядрах, соматических и висцеральных ядрах черепных нервов, ретикулярной формации и ядрах шва — у взрослых животных, получавших в ранние сроки постнатального онтогенеза 6-ОДА, при гистохимическом анализе отмечен резкий прирост числа волокон с характерной для КА флуоресценцией [68]. Таким образом, данные гистохимического анализа мозга крыс с хронической депривацией активности КА-ергических систем мозга, обусловленной неонатальным введением 6-ОДА новорожденным животным, также указывают на развитие у них процессов регенерации и разрастания нервных отростков в стволовых структурах. Более детально

анализ показал, что эти изменения в области ствола развиваются, начиная с 9-го дня после введения 6-ОДА и сохраняются на протяжении 3—5 месяцев [57, 61, 69]. При этом установлено, что глубина наблюдаемых изменений, как и в случае острой депривации, зависит от вводимой дозы препарата [60]. Изучение регенерации НА-ергической системы в мозжечке в зависимости от срока введения 6-ОДА (1—2-, 3—4-, 6—7-е дни постнатального онтогенеза) позволило обнаружить, что восстановление НА-ергической иннервации является максимальным (145—165% от контроля) у животных, получавших 6-ОДА в первые 2 дня постнатального развития. Введение препарата в более поздние сроки сопровождалось меньшим восстановлением содержания НА и синапсомного захвата ^3H -НА [6].

Описанные выше биохимические и морфологические эффекты 6-ОДА являются наиболее выраженными в дальнейшем онтогенетическом развитии мозга при введении этого токсического агента животным в первые сутки после рождения. Препарат при его введении 7-дневным крысам не оказывал соответствующего действия [57], что, по-видимому, объясняется созреванием к этому сроку ГЭБ [55, 56]. В специальных исследованиях была изучена зависимость эффектов 6-ОДА от степени созревания ГЭБ. С этой целью на срезах животных, получавших подкожно 6-ОДА в разные сроки после рождения, изучали захват ^3H -НА. Препарат вводили на 1—5-, 5—9-, 9—23-и сутки постнатального развития. Было обнаружено, что захват ^3H -НА был наиболее малым, когда 6-ОДА вводили в 1—5-е сутки. У этих животных наблюдали избирательную дегенерацию НА нейронов в ЦНС и падение захвата ^3H -НА на 40—60% в срезах коры больших полушарий гипоталамуса и спинного мозга. По мере созревания ГЭБ происходит ослабление нейротоксического действия 6-ОДА на кору и гипоталамус [56]. Эти наблюдения согласуются с данными о наибольшем снижении содержания НА в неокортексе при введении препарата в первые 5 дней постнатального онтогенеза и незначительном снижении содержания НА (около 15%) при введении 6-ОДА на 11—15-е сутки после рождения. [70]. Гистохимический анализ изменений структуры ДА-ергических нейронов черной субстанции и нигростриатной системы при введении животным 6-ОДА в первые 17 дней постнатального онтогенеза также подтвердил зависимость эффектов препарата от сроков его введения. При этом наиболее выраженное понижение специфической флуоресценции ткани мозга отмечено у крыс, получавших препарат в течение 1-й недели после рождения [66].

Сопоставление эффектов 6-ОДА с разными способами его введения новорожденным животным показало, что внутрибрюшинное и локальное внутримозговое (в область синего пятна) введение этого препарата в первые сутки после рождения приводило к ослаблению НА иннервации в коре и гиппокампе, что находит выражение в понижении концентрации НА в коре на 80—90%, снижении скорости синтеза ^3H -НА из ^3H -тирозина в срезах мозга 40-дневных животных [58, 59].

Однако ДА-ергическая иннервация коры больших полушарий при этом сохранялась, что указывает на большую устойчивость мезокортикальной и нигростриатной ДА-ергических систем мозга к действию 6-ОДА по сравнению с НА-ергическими [58]. В то же время внутрицистернальное введение 6-ОДА вызывало менее специфичный эффект и приводило к понижению в мозгу не только НА, но и ДА [59].

Понижение в структурах переднего мозга количества КА, активности тирозингидроксилазы, захвата экзогенных КА после введения 6-ОДА новорожденным крысам объясняется повреждением КА-ергических терминалей, а возможно, и нейронов [56, 64, 70]. Наряду с этим имеются данные о понижении уровня содержания КА в конечном мозгу, сопровождавшемся повышением их концентрации в стволе после введения малых доз 6-ОДА при неизменности в них уровня активности тирозингидроксилазы. В этой связи высказано предположение, что повреждение КА-ергических терминалей может приводить к ослаблению тормозной обратной связи на уровне клеточных тел, управляющей скоростью синтеза и компенсаторным увеличением синтеза НА в области, содержащей клеточные тела [69].

Раннее пренатальное формирование НА-ергических проекций к структурам переднего мозга указывает на наличие трофической функции со стороны этих нейронов на кору больших полушарий в процессе ее развития [71]. Выключение НА-ергической иннервации в неонатальном периоде, обусловленное введением крысам 6-ОДА и анализ морфологических особенностей развития мозговых структур в постнатальном периоде экспериментально подтверждают это предположение. У взрослых животных с депривацией КА-ергической активности, наряду с понижением содержания в коре НА на 98%, было отмечено уменьшение числа, длины и ветвистости базолатеральных дендритов пирамидных клеток, потеря дендритных шипиков в передней и задней лобной, передней теменной и задней теменно-затылочной и опоясывающей извилинах коры больших полушарий. Описано ослабление ветвления апикальных дендритов [63, 72]. Однако при введении меньших доз 6-ОДА в коре не были отмечены изменения в цитоархитектонике и дендритной плотности. На фоне избирательного разрушения НА-ергической системы, подтвержденного биохимически, у 15-дневных крыс, получавших в первые сутки постнатального онтогенеза 6-ОДА (100 мкг, в/ц), обнаружено уменьшение на 84% плотности клеток во 2- и 3-м слоях височной коры при неизменности общей толщины неокортекса [73]. Последнее обстоятельство указывает на то, что введение 6-ОДА новорожденным крысам сопровождалось не только деструктивными явлениями, но способствует также и каким-то процессам роста. Об этом свидетельствуют результаты исследований, обнаруживших повышение плотности синапсов в зрительной коре крыс с депривацией активности КА систем [74].

Совокупность приведенных данных позволяет заключить, что введение 6-ОДА в раннем постнатальном периоде вызывает у животных

хроническую депривацию активности КА-ергических систем. Такие животные отличаются некоторыми особенностями исследовательского поведения [75—78], несмотря на то, что общая суточная периодика их активности остается без изменений [62]. Имеются наблюдения, свидетельствующие о своеобразном характере их реакций на сенсорные раздражители [79, 80] и даже на некоторые фармакологические воздействия [81, 82]. Эти наблюдения в сочетании с приведенными выше данными о морфологических и биохимических изменениях в головном мозгу под влиянием введения 6-ОДА в неонатальном периоде позволяют рассматривать вызываемую им хроническую депривацию активности КА-ергических систем мозга в качестве экспериментальной модели врожденных форм патологических состояний, связанных с недоразвитием этих систем в эмбриогенезе. Данная экспериментальная модель может служить для изучения возможности компенсации возникающих при этом нарушений поведения. В частности, она успешно используется в опытах с трансплантацией ткани мозга [83].

Приведенные в обзоре материалы свидетельствуют о том, что нейротоксин 6-ОДА является своего рода «инструментом» для изучения функций КА-ергических систем мозга. Однако для правильной оценки полученных при этом результатов необходимо учитывать зависимость эффектов 6-ОДА от разных способов его применения.

MECHANISMS OF TOXIC EFFECT OF 6-HYDROXYDOPAMINE ON CATECHOLAMINERGIC BRAIN STRUCTURES

GROMOVA E. A., SEMENOVA T. P., GRISHCHENKO N. Y.,

Institute of Biological Physics, USSR Academy of Sciences, Poustchino

The results of investigation of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) effects on catecholaminergic (CA) brain structures are discussed. Evidence of different implication of chronic and acute deprivation of brain CA system activity due to various methods of 6-OHDA application are pointed. The mechanisms of its specific toxic action on central CA neurons are discussed. Results of these investigations indicate that 6-OHDA may be used as a specific tool for analysis of function of brain CA systems.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Senoh S., Creveling C. R., Udenfriend S., Witkop B. J. Amer. Chem. Soc., v. 81, p. 6236—6240, 1959.
2. Мецлер Д. Биохимия, т. 3, М., Мир, с. 336, 1980.
3. Porter C. C., Totaro J. A., Stone C. A. J. Pharmacol. Exp. Ther., v. 140, p. 308—316, 1963.
4. Tranzer J. P., Thoenen H. Experientia, v. 24, p. 155—156, 1968.
5. Malmfors T., Sachs Ch. Eur. J. Pharmacol., v. 3, p. 89—92, 1968.
6. Jonsson G.—In: 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons (eds. T. Malmfors, H. Thoenen), p. 243—256, North-Holland Publishing Company—Amsterdam—London, 1971.

7. Tranzer J. P., Richards J. G.—In: 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons (eds. T. Malmfors, H. Thoenen), p. 15—32, 1971.
8. Lavery R., Sharman D. E., Vogt M. Brit. J. Pharmacol., v. 24, p. 549—560, 1965.
9. Ungerstedt U. Eur. J. Pharmacol., v. 5, p. 107—110, 1968.
10. Uretsky N. J., Iversen L. L. Nature, v. 221, p. 557—559, 1969.
11. Uretsky N. J., Iversen L. L. J. Neurochem., v. 17, p. 269—278, 1970.
12. Descarries L., Beaudet, De Champlain J.—In: Chemical Tools in Catecholamine Research. (ed. Jonsson G.), v. 1, p. 101—106, North-Holland. Publ. Comp. Amsterdam—London, 1975.
13. Garattini S., Jori A., Manara L., Samanin R.—In: Chemical Tools in Catecholamine Research, (ed. Jonsson G.), v. 1, p. 303—309, North-Holland Publ. Comp. Amsterdam—London, 1975.
14. Breese G. R., Traylor T. J. Pharmacol. Exp. Ther., v. 174, p. 413—420, 1970.
15. Lavery R., Taylor K. M. Brit. J. Pharmacol., v. 40, p. 836—846, 1970.
16. Iversen L. L., Uretsky N. J.—In: 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons. (eds. T. Malmfors, H. Thoenen), p. 171—186, North-Holland Publ. Comp. Amsterdam—London, 1971.
17. Ungerstedt U.—In: 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons (eds. T. Malmfors, H. Thoenen), p. 101—127, North-Holland Publ. Comp. Amsterdam—London, 1971.
18. Marasco E., Cornwell-Jones C., Sobrian S. K. Pharmacol. Biochem. and Behav., v. 10, № 3, p. 319—323, 1979.
19. Hedreen J. Brain Res., v. 157, № 1, p. 129—135, 1978.
20. Descarries L., Saucier G. D. Brain Res., v. 37, p. 310—316, 1972.
21. Ungerstedt U.—In: 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons (eds. T. Malmfors, H. Thoenen), p. 315—332, North-Holland Publ. Comp. Amsterdam—London, 1971.
22. Ungerstedt U., Arbuthnott G. W. Brain Res., v. 21, p. 485—493, 1970.
23. Hökfelt T., Ungerstedt U. Brain Res., v. 60, p. 269—297, 1973.
24. Javoy F., Sotelo C., Herbert A., Agid Y. Brain Res., v. 102, № 2, p. 201—215, 1976.
25. Sievers J., Klemm H. P., Jenner S., Baumgarten H. G., Berry M. J. Neurochem., v. 34, № 4, p. 765—771, 1980.
26. Poirier L. J., Langeller P., Roberge A., Boucher R., Kitsikis A. J. Neurol. Sci., v. 16, № 4, p. 401—416, 1972.
27. Stricker E. M., Sigmond M. J. J. Comp. and Physiol. Psychol., v. 86, № 6, p. 973—994, 1974.
28. Sigmond M. J., Stricker E. M.—In: Chemical Tools in Catecholamine Research (ed. Jonsson G.), v. 1, p. 319—326, North-Holland Publ. Comp. Amsterdam—London, 1975.
29. Evetts K. D., Iversen L. L. J. Pharm. Pharmacol., v. 22, p. 540—543, 1970.
30. Fuxe K., Ungerstedt U. Eur. J. Pharmacol., v. 4, p. 135—144, 1968.
31. Sigmond M. J., Stricker E. M. Experientia, v. 36, № 4, p. 436—438, 1980.
32. Jacks B. R., De Champlain J., Cordeau J. Eur. J. Pharmacol., v. 18, p. 353—360, 1972.
33. Hattori T., McGeer P. L., Singh V. K., McGeer E. G., Fibiger H. C.—In: Chemical Tools in Catecholamine Research (ed. Jonsson G.), North-Holland Publ. Comp. Amsterdam—London, v. 1, p. 141—148, 1975.
34. Heikkilä R., Cohen G. Experientia, v. 28, p. 1197—1198, 1972.
35. Uprichard D. C., Reisine T. D., Mason S. T., Fibiger H. C., Yamamura H. I. Brain Res., v. 181, № 1, p. 143—154, 1980.
36. Bartholini G., Richards J. G., Pletscher A. Experientia, v. 26, p. 142—144, 1970.
37. Bloom F. E., Algeri S., Gropetti A., Revuelta A., Costa E. Science, v. 166, p. 1284—1286, 1969.

38. Scatton B. *Life Sci.*, v. 31, p. 495-504, 1932.
39. Ljungdahl A., Hofelt T., Jonsson G., Sachs Ch. *Experientia*, v. 27, p. 297-299, 1971.
40. Herman Z. S., Brus R., Drybanski A., Szkilnik R., Stominska-Zurek J. *Psychopharmacology*, v. 50, № 1, p. 73-80, 1976.
41. Halgren E., Varon S. *Brain Res.*, v. 48, p. 438-442, 1972.
42. Sims K. L., Bloom F. E. *Brain Res.*, v. 49, p. 165-175, 1973.
43. Blondaux C., Juge A., Sordet F., Chauvet G., Jouvet M., Pujol J.-F. *Brain Res.*, v. 50, № 1, p. 101-114, 1973.
44. Pettitjean F., Laguzzi R., Sordet F., Jouvet M., Pujol J.-F. *Brain Res.*, v. 48 (complete), p. 281-293, 1972.
45. Nicklas W. J., Bert S. *Brain Res.*, v. 61, p. 343-356, 1973.
46. Hartman B. K., Blehm D. J.—In: *Chemical Tools in Catecholamine Research*, v. 1, p. 125-132, 1975.
47. Moore K. E., Goodale D. B.—In: *Chemical Tools in Catecholamine Research* (ed. Jonsson G.), v. 1, p. 343-347, North-Holland Publ. Comp., Amsterdam—London, 1975.
48. Frausler G. J. *Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 178, p. 49-62, 1971.
49. Glowinski J., Axelrod J. *J. Neurochem.*, v. 12, p. 25-30, 1965.
50. Wagner K.—In: *6-Hydroxydopamine and Catecholamine neurons*, p. 277-278, North-Holland Publ. Comp., Amsterdam—London, 1971.
51. Heikkila R., Mytlineou C., Coté L., Cohen G. J. *Neurochem.*, v. 20, p. 1345-1350, 1973.
52. Jonsson G., Sachs Ch.—In: *Chemical Tools in Catecholamine Research* (ed. Jonsson G.), v. 1, p. 41-50, North-Holland Publ. Comp., Amsterdam—London, 1975.
53. Barchardt R. T., Burgess S. K., Reid J. R., Liang Y.-O., Adams R. N. *Mol. Pharmacol.*, v. 13, № 5, p. 805-818, 1977.
54. Rotman A., Daly J. W., Creveling C. R. *Mol. Pharmacol.*, v. 12, № 6, p. 887-899, 1976.
55. Angelelli P. U. *Neuropharmacology*, v. 10, p. 55-59, 1971.
56. Sachs C., Jonsson G. *Acta Physiol. scand.*, v. 89, Suppl., 396, 53, 1973.
57. Singh B., De Champlain J. *Brain Res.*, v. 48, p. 432-437, 1972.
58. Tassin J. P., Velly L., Stinus L., Blanc G., Glowinski J., Thierry A. M. *Brain Res.*, v. 83, № 1, p. 93-106, 1975.
59. Thierry A. M., Velly L., Stinus L., Tassin J. P., Blanc G., Glowinski J.—In: *Chemical Tools in Catecholamine Research* (ed. Jonsson G.), v. 1, p. 205-210, North-Holland Publ. Comp., Amsterdam—London, 1975.
60. Sachs Ch., Pappas G. *Brain Res.*, v. 99, № 2, p. 277-291, 1975.
61. Schmidt R. H., Bhatnagar R. K. *Brain Res.*, v. 166, № 2, p. 293-308, 1979.
62. Nyakas C., Van Delft A. M. L. *Pharmacol. Biochem. and Behav.*, v. 3, p. 271-277, 1975.
63. Jonsson G., Hallman H., Felten D. L. *Neurosci. Lett.*, v. 13, Suppl. 3, 366, 1979.
64. Konkol R., Eendeich E., Breese G. *Brain Res.*, v. 10, № 1, p. 125-135, 1978.
65. Sievers J., Lovola I. *Acta Anat.*, v. 99, № 3, p. 353, 1977.
66. Matsuura T., Nofyo Y., Inoue T., Iwata Y., Sano Y. *Acta histochem. and cytochem.*, v. 7, № 4, p. 342-352, 1974.
67. Оттелин В. А., Кучеренко Р. П., Федосихина Л. А., Семенов С. П. И Рабочее совещание «Ультраструктурные исследования пластичности нейрона», с. 7, Пушкино, 1982.
68. Levitt P., Moore R. Y. *Anat. and Embriol.*, v. 158, № 2, p. 133-150, 1980.
69. Peters D. A. V., Pappas B. A., Tarb H., Saari M. *Biochem. Pharmacol.*, v. 26, p. 2211-2215, 1977.
70. Kostrzewa R. M., Garey R. E. *Brain Res.*, v. 124, № 2, p. 258-391, 1977.
71. Caviness V. S., Korde M. G. *Brain Res.*, v. 209, № 1, p. 1-9, 1981.

72. Hwang B. H., Hoovler D. W. Develop. Brain Res., v. 5, № 1, p. 104—107, 1982.
73. Onténiente B., König N., Sievers J., Jenner S., Klemm H. P., Marty R. Anat. and Embryol., v. 159, № 3, p. 245—255, 1980.
74. Parnavelas J. G., Blue Mary E. Develop. Brain Res., v. 3, № 1, p. 140—144, 1982.
75. Семенова Т. П. XIV съезд Всесоюзн. физиол. общества им. И. П. Павлова, тезисы научн. сообщ., т. 2, с. 93—94, Л., Наука, 1983.
76. Громова Е. А., Семенова Т. П., Грищенко Н. И. Журн. высш. нерв. деят-сти, т. 35, в. 6, с. 1133—1141, 1985.
77. Семенова Т. П., Третьяк Т. М., Грищенко Н. И., Смирнова Г. И. Журн. ВНД, т. 33, № 1, с. 163—165, 1983.
78. Fucuda T., Yamada K., Suenaga N., Takishita S. Arch. Int. Pharmacodyn. et Theor., v. 230, № 1, p. 100—111, 1977.
79. Mason S. T., Iversen S. D. Nature, v. 248, № 5450, p. 697—698, 1974.
80. Oke A. F., Adams R. N. Pharm., Biochem. and Behav., v. 9, № 4, p. 429—432, 1978.
81. Сташневская А. В., Барсегян Г. Г. Фармакология и токсикология, т. 43, № 5, с. 543—546, 1980.
82. Shaywitz B. A., Klopfer J. H., Yager R. D., Gordon I. W. Nature, v. 261, № 5556, p. 153—155, 1976.
83. Брагин А. Г., Виноградова О. С., Громова Е. А., Грищенко Н. И., Иваницкий Г. Р., Куликов А. В., Семенова Т. П., Смирнова Г. И., Третьяк Т. М. Докл. АН СССР, т. 277, № 5, с. 999—1002, 1984.

Поступила 27. II 1985

НОВЫЕ КНИГИ

Opioids. Past, Present and Future (ed. by I. Hegers, H. O. I. Collier, M. I. Rance and M. B. Tyers), Taylor & Francis, London—Philadelphia, 1984.

В сборнике представлены материалы симпозиума, посвященного 80-летию со дня рождения Ганса Костерлинта (Churchill College, Cambridge, April 1983). Основное внимание уделяется анатомическим, физиологическим и химическим перспективам изучения опиоидных пептидов, их функции и биологического значения. Рассматриваются также вопросы, связанные с исследованием агонистов и антагонистов опиоидных пептидов, влияния опиатов на клеточные мембраны, клеточных аспектов толерантности к опиатам и т. д.