

УДК 612.83:612.819:612.822

И. И. Абрамец, И. В. Комиссаров

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА СУЩЕСТВОВАНИЯ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ ВСТАВОЧНЫХ НЕЙРОНОВ В СПИННОМ МОЗГЕ КРЫС

Роль дофамина как медиатора в спинном мозге неясна. Катехоламины (КА) спинного мозга млекопитающих не представлены на 2/3 дофамином, как первоначально утверждалось [10]. Содержание дофамина (ДА) в спинном мозге морских свинок [4] и крыс [9] в 3—4 раза ниже, чем норадреналина (НА). То обстоятельство, что концентрация ДА в спинном мозге (0,06 мкг/г [4]) в 3—6 раз превышает его содержание в таламусе и гипоталамусе (0,01—0,02 мкг/г [8]), не изменило взгляда на ДА исключительно как на предшественник НА в спинном мозге. Это мнение укрепилось на основе гистохимических исследований, которыми показано, что окончания аксонов, содержащих НА и серотонин (5-окситриптамин, ОТ), во множестве обнаруживаются в сером веществе спинного мозга млекопитающих, но ДА содержащие терминалы отсутствуют [6, 7]. Однако в недавнем обзоре [5] суммированы многие факты, свидетельствующие о возможной медиаторной функции ДА в синапсах спинного мозга.

Ранее установлено [2], что НА и ДА в концентрациях 10^{-6} — 10^{-4} моль/л деполяризуют, а в концентрациях 10^{-4} — 10^{-2} моль/л — гиперполяризуют мотонейроны изолированного спинного мозга крыс. В трети опытов так же действует ОТ, хотя обычно он вызывает деполяризацию мотонейронов во всем диапазоне концентраций. Оба эффекта НА, гиперполяризующее действие ДА и вызываемая ОТ деполяризация обусловлены прямым влиянием на мотонейроны. Гиперполяризующий эффект ОТ не является результатом прямого влияния на мотонейроны, поскольку не воспроизводится при суперфузии мозга раствором, содержащим избыточную концентрацию ионов магния и дефицит ионов кальция [2].

Эти факты послужили основанием для дальнейшего анализа природы вызываемой моноаминалами гиперполяризации мотонейронов.

Методика исследований

Опыты выполнены на изолированных по [12] препаратах спинного мозга крыс в возрасте 9—14 дней. Методом сахарозного мостика регистрировали на осциллографе ВЭКС-1 и записывали на ленте чернильно пишущего гальванометра разность потенциалов между дистальным концом переднего корешка и спинным мозгом в условиях постоянной суперфузии последнего интенсивно аэрируемым солевым раствором ($\text{pH} = 7,3$ — $7,4$). Электротонический потенциал переднего вентрального корешка, как известно, является отражением уровня поляризации сомы спинальных мотонейронов. Детали методики описаны ранее [2].

Изучали изменения поляризации мотонейронов при суперфузии мозга растворами, содержащими моноамины — серотонина креатинин-сульфат (Реанал, Венгрия), L-норадреналина гидрохлорат (Харьковский завод эндокринных препаратов), дофамина гидрохлорид (Ferak, Берлин); адреномиметики — мезатон, ксилометазолин (галазолин, Польша); дофаминомиметики, обладающие прямым постсинаптическим действием [16], апоморфина гидрохлорид, пирибедил (ET-495, Lab. Servier, Франция), а также фенамин и аминоадамантана гидрохлорид (Мидантан, Рига), способные либерировать ДА из окончаний аксонов ДА эргических нейронов [1, 15]. Вещества использовали в концентрациях $3 \cdot 10^{-6}$ — $3 \cdot 10^{-3}$ моль/л, время воздействия ими на мозг — 30—60 с. Эффекты перечисленных веществ изучали в отсутствие и в присутствии галопериодола (Рихтер, Венгрия) в концентрации 10^{-6} моль/л. Использовали также другие антагонисты ДА: аминазин, левомепромазин (тизерцин, Венгрия), тиоридазина гидрохлорид (Польша), тиопроперазин (мажептил, Франция), трифтазин, фторфеназин, дроперидол (Рихтер, Венгрия).

тер, Венгрия). Пrolептики, до на- ма нейролептиков активности службы тика, в присутствии $\times 10^{-4}$ моль/л выс отсутствие нейролептиков изучали п

Для подавле- перфузировали со- понизенной (0,5 передачи судили раздражений (3—

Каждая сери- обработан общепри-

В использу- сты вызывают ного мозга кры- после начала с через 3—5 мин

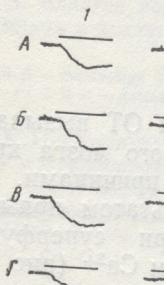


Рис. 1. Влияние галантамина и их изостеров

A: 1 и 3 — эффекты в присутствии галопериодола $\times 10^{-3}$ моль; 2 и 4 — $(1 \cdot 10^{-3}$ моль) и мида — эффекты фенамина (1 галопериодола). Калибр

Рис. 2. Влияние изоб

1 и 3 — при суперфузии избытком ионов магния переднего корешка; 2 — Mg^{2+} , 3 — через 15 ми

(рис. 1) или трофеин и адреномиметиков, вызываемая ими или совсем не руживают высокие концентрации галопериодола противодействуют мотонейронам (рис. 1).

В опытах с раствором с повышенным Ca^{2+} установлено, что при отсутствии НА, адреномиметики

тер, Венгрия). Продолжительность суперфузии мозга растворами, содержащими нейролептики, до начала суперфузии моноаминами составляла 15 мин. Степень антагонизма нейролептиков по отношению к ДА и НА оценивали методом Шилда [13]. Мерой активности служила величина pA_2 — отрицательный логарифм концентрации нейролептика, в присутствии которого ДА и НА в концентрациях соответственно $2 \cdot 10^{-3}$ и 6×10^{-4} моль/л вызывали такой же эффект, как в концентрациях 10^{-3} и $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л в отсутствие нейролептика. Влияние морфина гидрохлорида на эффекты ОТ и других веществ изучали при концентрациях морфина 10^{-6} и 10^{-5} моль/л.

Для подавления транссиаптической передачи изолированный спинной мозг суперфузировали солевым раствором с повышенной концентрацией Mg^{2+} (10 ммоль) и пониженной (0,5 ммоль) ионов кальция [2, 3]. О полноте выключения синаптической передачи судили по отсутствию потенциала переднего корешка при электрическом раздражении (3—5 В, 0,1 мс, 0,1 Гц) заднего.

Каждая серия опытов выполнена на пяти — восьми препаратах мозга. Материал обработан общепринятыми методами вариационной статистики.

Результаты исследований

В используемом диапазоне концентраций ОТ, ДА, НА и их агонисты вызывают гиперполяризацию мотонейронов изолированного спинного мозга крыс (рис. 1). Гиперполяризация развивается через 5—10 с после начала суперфузии мозга растворами этих веществ и исчезает через 3—5 мин после начала отмывания. В присутствии галоперидола

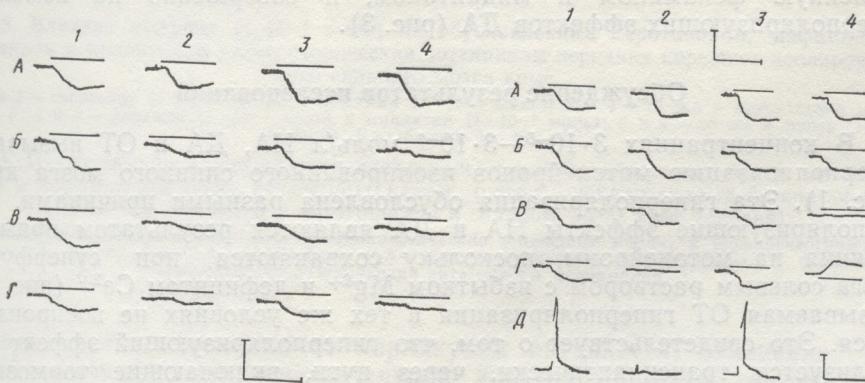


Рис. 1. Влияние галоперидола (10^{-6} моль/л) на обусловленные воздействием моноаминов и их изостеров электротомические потенциалы передних корешков изолированного спинного мозга крыс.

A: 1 и 3 — эффекты норадреналина ($3 \cdot 10^{-4}$ моль) и мезатона ($3 \cdot 10^{-3}$ моль); 2 и 4 — то же в присутствии галоперидола. B: 1 и 3 — эффекты дофамина ($1 \cdot 10^{-3}$ моль) и апоморфина (1×10^{-3} моль); 2 и 4 — то же в присутствии галоперидола. C: 1 и 3 — эффекты пиробутирила ($1 \cdot 10^{-3}$ моль) и мидантана ($3 \cdot 10^{-3}$ моль); 2 и 4 — то же в присутствии галоперидола. D: 1 и 3 — эффекты фенамина ($1 \cdot 10^{-3}$ моль) и серотонина ($1 \cdot 10^{-4}$ моль); 2 и 4 — то же в присутствии галоперидола. Калибровка: 1 мВ; 30 с. Горизонтальная черта в каждом кадре — продолжительность воздействия вещества.

Рис. 2. Влияние избытка ионов магния на гиперполяризационные эффекты моноаминов и их изостеров.

1 и 3 — при суперфузии мозга обычным солевым раствором, 2 и 4 — при суперфузии раствором с избытком ионов магния и дефицитом кальция. A—Г — см. рис. 1. Д: 1 — исходный потенциал переднего корешка; 2 — то же через 10 мин после суперфузии спинного мозга раствором с избытком Mg^{2+} , 3 — через 15 мин после начала отмывания исходным солевым раствором. Калибровка — 1 мВ (A—Д); 30 с (A—Г) и 100 мс (Д).

(рис. 1) или трифтазина (10^{-6} моль/л) гиперполяризующие эффекты НА и адреномиметиков сохраняются, но гиперполяризация мотонейронов, вызываемая ДА и дофаминомиметиками, существенно уменьшается или совсем не воспроизводится. Другие нейролептики также обнаруживают высокую степень антагонизма с ДА (см. таблицу). Галоперидол противодействует также гиперполяризирующему влиянию ОТ на мотонейроны (рис. 1).

В опытах с суперфузией изолированного спинного мозга солевым раствором с повышенной концентрацией ионов магния и пониженной Ca^{2+} установлено, что характер и степень влияния на мотонейроны НА, адреномиметиков, ДА и апоморфина не изменяется. В тех же

Степень противодействия нейролептиков гиперполяризующему влиянию дофамина на мотонейроны изолированного спинного мозга крыс

Нейролептик	Величина pA_2 нейролептиков как антагонистов		Нейролептик	Величина pA_2 нейролептиков как антагонистов	
	дофамина	норадреналина		дофамина	норадреналина
Фторфеназин	7,56±0,28*	4,92±0,26	Аминазин	6,47±0,26	
Трифгазин	6,91±0,30	около 4,0	Тиридазин	5,62±0,29	
Галоперидол	6,62±0,39	около 4,5	Тиопроперазин	5,48±0,37	
Левомепромазин	6,48±0,39		Дроперидол	5,20±0,73	7,00±0,44

средняя \pm доверительный интервал при $p=0,05$.

условиях гиперполяризующие эффекты пирибедила частично уменьшаются, эффекты мидантана и фенамина полностью подавляются, а гиперполяризующее действие ОТ извращается в деполяризационные ответы (рис. 2). Морфин (10^{-5} моль/л), устранивший гиперполяризующий эффект ОТ полностью, слабо влияет на гиперполяризацию, обусловленную фенамином и мидантаном, и совершенно не изменяет гиперполяризующих эффектов ДА (рис. 3).

Обсуждение результатов исследований

В концентрациях $3 \cdot 10^{-5}$ — $3 \cdot 10^{-3}$ моль/л НА, ДА и ОТ вызывают гиперполяризацию мотонейронов изолированного спинного мозга крыс (рис. 1). Эта гиперполяризация обусловлена разными причинами. Гиперполяризующие эффекты НА и ДА являются результатом прямого влияния на мотонейроны, поскольку сохраняются при суперфузии мозга солевым раствором с избытком Mg^{2+} и дефицитом Ca^{2+} (рис. 2). Вызываемая ОТ гиперполяризация в тех же условиях не воспроизводится. Это свидетельствует о том, что гиперполяризующий эффект ОТ реализуется транснаптически, через пути, включающие тормозные вставочные нейроны.

Опосредованное через вставочные нейроны, гиперполяризующее влияние ОТ на мотонейроны устраняется галоперидолом не менее эффективно, чем гиперполяризация, обусловленная непосредственным действием ДА (рис. 1). Учитывая, что аналогичный эффект НА галоперидолом не изменяется (рис. 1), следует предположить наличие в спинном мозге ДА эргических вставочных нейронов, опосредующих гиперполяризующее влияние ОТ на мотонейроны (рис. 4). Существование такого типа интернейронов подразумевает, что вещества, способные высвобождать медиатор из терминалей аксонов ДА эргических нейронов, какими являются фенамин и мидантан [1, 15], должны воспроизводить эффекты ОТ. Действительно, оба вещества вызывают, подобно ОТ, гиперполяризацию мотонейронов, которая не воспроизводится в присутствии галоперидола (рис. 1) и при выключении межнейронной передачи в спинном мозге путем суперфузии его раствором с избытком Mg^{2+} (рис. 2). Вместе с тем морфин, устранивший эффект ОТ, существенно не влияет на гиперполяризацию, обусловленную фенамином и мидантаном (рис. 3). С другой стороны, обладающие ДА подобным действием [16] апоморфин и пирибедил вызывают гиперполяризацию мотонейронов, которая сохраняется при выключении межнейронной передачи в спинном мозге (рис. 2), но тоже не воспроизводится в присутствии галоперидола (рис. 1).

Если предполагаемые ДА эргические интернейроны образуют синаптические контакты на дендритах или соме мотонейронов (рис. 4), то в мемbrane последних должны существовать ДА чувствительные

адренергические, во-первых, номиметики (агзующее влияние известные как эзам последнего. гически идентич док антидофамин

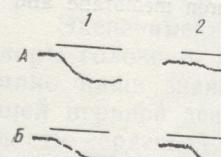


Рис. 3. Влияние морфина и фенамина

A: 1 и 3 — серотонин (морфин). B: 1 и 3 — фенамин

Рис. 4. Предполагаемые вставочные нейроны и дофаминергические аминов, их

1 — нисходящие ретикулярные пути (штриховые линии)

таблицу) точно с
степени блокады
хвостатого ядра [

Терминали ОТ известно [6, 7, 9] в ственном влиянии кологического анаэргических путей мозга двояким наптическим) депрессии, что нисходящие ретикулярные пути возбуждающие ОТ эргических путей посредство вставочных предполагаемых ональных мотонейрований [14], показывает в вслед за которыми

В. Комиссаров

адренергические рецепторы (ДАР). Это предположение подтверждается, во-первых, тем, что ДА и постсинаптически действующие дофаминомиметики (апломорфин, пирибедил) оказывают прямое гиперполяризующее влияние на мотонейроны; во-вторых, тем, что нейролептики, известные как эффективные антагонисты ДА, противодействуют эффектам последнего. ДАР мотонейронов спинного мозга крыс фармакологически идентичны ДАР нейронов неостриатума крыс, поскольку порядок антидофаминовой активности исследованных нейролептиков (см.

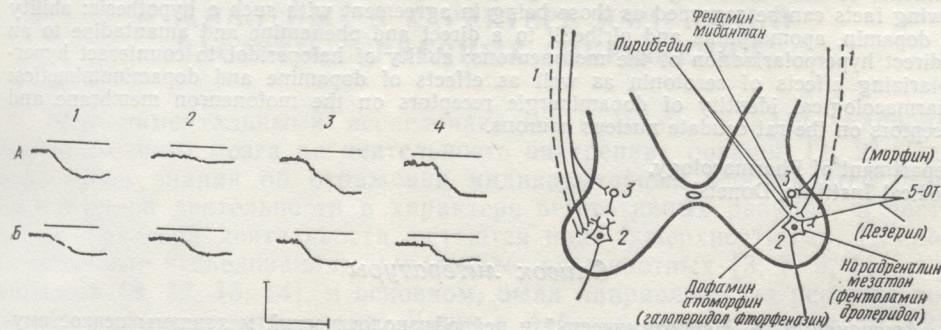


Рис. 3. Влияние морфина ($1 \cdot 10^{-5}$ моль) на обусловленные серотонином, дофамином, фенамином и мидантаном электротетраграфические потенциалы передних корешков изолированного спинного мозга крыс.

А: 1 и 3 — серотонин ($1 \cdot 10^{-4}$ моль) и дофамин ($1 \cdot 10^{-3}$ моль); 2 и 4 — то же в присутствии морфина. Б: 1 и 3 — фенамин ($1 \cdot 10^{-3}$ моль) и мидантан ($1 \cdot 10^{-3}$ моль); 2 и 4 — то же в присутствии морфина. Калибровка см. рис. 1.

Рис. 4. Предполагаемые соотношения нисходящих ретикулоспинальных путей, мотонейронов и дофаминергических вставочных клеток (слева); локализация действия monoаминов, их агонистов и антагонистов в спинном мозге крыс (справа).

1 — нисходящие ретикулоспинальные серотонинергические (сплошные линии) и норадренергические (штриховые линии) пути; 2 — мотонейроны, 3 — дофаминергические интернейроны. В скобках — избирательно действующие антагонисты моноаминов.

таблицу) точно соответствует порядку их активности, измеренной по степени блокады ДА чувствительной адентилатиклазы гомогенатов хвостатого ядра [11].

Терминали ОТ содержащих аксонов в спинном мозге имеют, как известно [6, 7, 9], надсегментарное происхождение. Данные о двойственном влиянии ОТ на мотонейроны, полученные на основе фармакологического анализа, позволяют предполагать, что нисходящие ОТ эргические пути могут контролировать функцию мотонейронов спинного мозга двумя способом. Поскольку ОТ обладает прямым (постсинаптическим) деполяризующим влиянием на мотонейроны [2], можно думать, что нисходящие ОТ эргические аксоны образуют на мотонейронах возбуждающие моносинаптические контакты. Тормозное влияние ОТ эргических путей на мотонейроны реализуется, по-видимому, через посредство вставочных ДА эргических нейронов (рис. 4). В пользу предполагаемых отношений нисходящих ОТ эргических путей и спинальных мотонейронов могут свидетельствовать результаты исследований [14], показавших, что раздражение ретикулярной формации у крыс вызывает в спинальных мотонейронах моносинаптические ВПСП, вслед за которыми регистрируются дисинаптические ТПСП.

I. I. Abramets, I. V. Komissarov

PHARMACOLOGICAL EVIDENCE FOR AN EXISTENCE OF DOPAMINERGIC INTERNEURONS IN THE RAT SPINAL CORD

Summary

УДК 612.821+159.9+612

Pharmacological analysis of hyperpolarizing action of serotonin, dopamine, norepinephrine and their antagonists on the motoneurons of the rat isolated spinal cord permits supposing an existence of dopaminergic interneurons making an indirect inhibitory influence of the descending serotonergic pathways on the spinal motoneurons. The following facts can be regarded as those being in agreement with such a hypothesis: ability of dopa, apomorphine and piribedil to a direct and phenamine and amantadine to an indirect hyperpolarization of the motoneurons; ability of haloperidol to counteract hyperpolarizing effects of serotonin as well as effects of dopamine and dopaminomimetics; pharmacological identity of dopaminergic receptors on the motoneuron membrane and receptors on the rat caudate nucleus neurons.

Department of Pharmacology, Medical Institute, Donetsk

Список литературы

1. Арушанян Э. Б. Нейрохимический и нейрофизиологический механизмы психостимулирующего действия фенамина.—Фармакология и токсикология, 1975, 38, № 1, с. 111—120.
 2. Комиссаров И. В., Абрамец И. И. Влияниеmonoаминов на мотонейроны изолированного спинного мозга крыс.—Нейрофизиология, 1980, 12, № 4, с. 391—396.
 3. Тамарова З. А., Шаповалов А. Й., Ширяев Б. И. Влияние ионов магния, марганца и недостатка кальция на синаптическую передачу в изолированном спинном мозге крысы.—Нейрофизиология, 1978, 10, № 5, с. 530—533.
 4. Anton A. H., Sayre D. F. A study of the factors affecting the aluminum oxide-tri-hydroxyindole procedure for the analysis of catecholamines.—J. Pharmacol. Exp. Ther., 1962, N 3, p. 360—375.
 5. Comissiong J. W. Current status of dopamine in the mammalian spinal cord.—Biochem. Pharmacol., 1979, 28, N 10, p. 1569—1573.
 6. Dahlström A., Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. II. Experimentally induced changes in the intraneuronal amine levels of bulbospinal neuron system.—Acta physiol. scand., 1965, 64, Suppl. 247, p. 7—36.
 7. Fuxe K., Hökfelt T., Ungerstedt U. Distribution of monoamines in the mammalian central nervous system by histochemical studies.—In: Metabolism of Amine in the Brain / Ed. Hooper G. New York, 1969, p. 10—22.
 8. Hornykiewicz O. The role of brain dopamine in Parkinsonism.—In: Biochemical and neurophysiological correlation of centrally acting drugs.—In: Proc. of the 2nd Int. Pharmacol. Meeting. Praha, 1963, vol. 3, p. 20—23.
 9. Magnusson T., Rosengreen E. Catecholamines of spinal cord normally and after transaction.—Experientia (Basel), 1963, 19, N 2, p. 229—230.
 10. Me Geer E. G., Me Geer P. L. Catecholamine content of spinal cord.—Canad. J. Biochem., 1962, 40, N 7, p. 1141—1151.
 11. Miller R. J., Horn A. S., Iversen L. L. The action of neuroleptic drugs on dopamine-stimulated adenosine cyclic-3',5'-monophosphate production in rat neostriatum and limbic forebrain.—Mol. pharmacol., 1974, 10, N 5, p. 759—766.
 12. Otsuka M., Konishi Sh. Electrophysiology of mammalian spinal cord in vitro.—Nature (Lond), 1974, 252, N 5484, p. 733—734.
 13. Schild H. O. pA, a new scale for the measurement of drug antagonism.—Brit. J. Pharmacol., 1947, 2, N 2, p. 189—206.
 14. Shapovalov A. I., Gurevitch N. R. Monosynaptic and disynaptic reticulospinal actions on lumbar motoneurons of the rat.—Brain Res., 1970, 21, N 3, p. 249—263.
 15. Strömborg U., Svensson T. H. Further studies of the mode of action of amantadine.—Acta pharmacol. et toxicol., 1971, 30, N 3/4, p. 161—171.
 16. Thornburg J. E., Moore K. E. A comparison of effects of apomorphine and ET 495 on locomotor activity and circling behaviour in mice.—Neuropharmacologia, 1974, 13, N 3, p. 189—197.

Кафедра фармакологии Донецкого медицинского института

Поступила в редакцию
25.VII 1980 г.

Животных расцесса. В группу с сошло семь живот Чапа), в группу со ки. Причем, две из ных сильной вариа рат) — подгруппу ж