

УДК 616.831.31-009.24:616-003.282

О.А.Шандра, Л.С.Годлевський, А.В.Паненко, Р.С.Вастьянов, А.А.Олійник

Позо-рухові порушення при внутрішньомозкових введеннях соматостатину та нейротензину

Показано, що в результаті введення соматостатина і нейротензину в бокові желудочки мозку, мигдалину, вентральну частку гіпокампна і ретикулярну частку чорної субстанції у крыс розвиваються двигателіні порушення, характеризуючіся змінами позо-двигательного поведенческого синдрому. Структура позо-двигательного поведенческого синдрому, вираженність двигателіних расстройств, а также их продолжительность, зависели от того, в какую структуру вводили нейропептиды, а также от самих использовавшихся нейропептидов. Наиболее выраженные двигательные изменения, которые характеризовались появлением у животных характерной позы — так называемой позы сфинкса, наблюдались при внутринигральном применении соматостатина. Делается вывод о том, что соматостатин и нейротензин могут иметь патогенетическое значение в развитии каталептического синдрома.

Вступ

Показано розвиток рухових порушень у формі «опіатної ригідності» або «нейролептичної каталепсії» при зміні активності пептидергічних систем мозку [5].

Метою нашої роботи було дослідження порушень рухової активності, які викликали у щурів введенням у шлуночки мозку, мигдалику та вентральну частину гіпокампна, а також у ретикулярну частину чорної субстанції (ЧСр), соматостатину та нейротензину. Вибір цих пептидів був обумовлений відомостями про їх причетність до регуляції тонуусу м'язів та рухової активності в цілому [8, 9].

Методика

Досліди виконані на 260 щурах-самцях лінії Вістар масою 270—320 г. У кожній групі було не менше за 10 тварин. Мікроін'єкції соматостатину та нейротензину (НВО «Вектор», Новосибірськ) виконували за умов ефірного рауш-наркозу тваринам, які були фіксовані у стереотоксичному апараті за координатами атласу [7]. Нейропептиди вводили білатерально в бокові шлуночки мозку (АР=0,8; L=1,5; Н=3,5), базолтеральну частину мигдалика (АГ=-2,3; L=4,5; Н=8,0), вентральну частину гіпокампна (АР=-5,8; L=4,5; Н=6,5) та ЧСр (АР=-4,8; L=2,5; Н=8,0) за допомогою мікроін'єктора SGE.PTY. (Австралія) у дозі 10 мкг в 2,0 мкл 0,9 %-вого розчину NaCl. Тваринам контрольних груп за аналогічних умов вводили 0,9 %-вий фізіологічний розчин NaCl. За 1—2 хв з часу припинення введення речовин у тварин досліджували позо-рухові поведінкові порушення згідно з методикою, описаною в роботі Myslobodsky і співавт. [5]. Ця методика включала такі тести.

1. *Рогівковий рефлекс.* Досліджували за результатом проведення по рогівці тварини тонким м'яким пензликом. Результат дослідження вважали

позитивним, якщо тварина при доторкненні до рогівки негайно заплющувала око. Якщо тварина заплющувала око через 2 с чи більше, фіксували негативний результат.

2. *Рефлекс перевертання*. Якщо після перевертання на бік тварина приймала вертикальну позу більше ніж за 5 с, рефлекс вважали порушеним.

3. *Положення передніх кінцівок*. Виділяли два типи цього симптому: кінцівки широко розставлені та кінцівки знаходяться під тулубом тварини.

4. *Поведінкове збудження*. Оцінювали рухову поведінку тварин, зокрема, швидкий біг, високі стрибки та агресивну поведінку — бійки з іншими тваринами, а також гризіння та кусання власного хвоста або кінцівок.

5. *Очні симптоми*. До очних симптомів відносять наявність екзофтальму або птозу.

6. *Положення задніх кінцівок при піднятті тварини за хвіст*. Щурів підіймали за хвіст таким чином, що передні кінцівки утримувалися на поверхні столу, а задні підіймалися над нею. Виділяли три типи положення задніх кінцівок: кінцівки приведені до тулуба, кінцівки відведенні від тулуба, кінцівки займають проміжне положення між двома попередніми.

7. *Тонус хвоста*. Після закінчення досліджування попереднього тесту повільно опускали хвіст тварини. Якщо хвіст утримувався паралельно поверхні столу більше 15 с, його тонус вважали за підвищений. Якщо хвіст торкався поверхні столу за 1—5 с, його вважали зниженим.

8. *Больовий рефлекс*. Реакцію тварин на больове подразнення визначали за характером їх поведінки при заціпленні кінчика хвоста корнцангом. Міру реакції на ноцицептивні стимули оцінювали в балах: 0 балів — тварина залишається нерухомою і не реагує на больове подразнення; 1 бал — тварина підстрибує вперед, гризе та шматує розташовані перед нею речі, не локалізуючи джерело подразнення; 2 бали — тварина тільки повертається у бік больового подразнення, гризе поверхню столу, локалізує, але не визначає місце подразнення; 3 бали — тварина чітко локалізує ноцицептивний подразник, кидається на корнцанг, гризе його, намагається звільнитися.

9. *Тест «місток»*. Передні та задні кінцівки тварини розташовували на двох горизонтальних перекладинах на відстані одна від одної, яка складала довжину тулуба тварини. Тест вважали позитивним, якщо тварина зберігала надане їй положення протягом 30 с та більше.

10. *Тест «вертикальний стрижень»*. Тварину розміщували на верхівці вертикально поставленого стрижня діаметром 3 с. Тест вважали позитивним, якщо тварина утримувалася на верхівці стрижня протягом 10 с та більше.

11. *Захват передніми лапами*. Щурів утримували у висячому положенні за хвіст. До передніх лап тварини доторкувалися олівцев та визначали, чи відбувся захват олівця, чи ні.

Результати окремих тестів відносили до опіат-обумовлених або нейролептичних (таблиця), саме тому, що у цих випадках характер порушень був аналогічний такому після введення опіатів або нейролептиків відповідно [4]. Оцінювали також екстензорні та флексорні зміни кінцівок, наявність їх перехреста, закидання голови, а також опору м'язів шиї при її згинанні [6]. Для визначення тривалості порушень вказані тести повторювали кожні 5 хв. З метою оцінки тривалості порушень пози та поведінки в дослідженнях використовували ще одну групу щурів (8 тварин), у яких моделювали паркінсонізм внутрішньочеревинним введенням резерпіну (2,0 мг/кг) протягом 3 діб [2]. Після закінчення дослідів виконували

Опіятні та нейролептичні компоненти позо-рухового синдрому

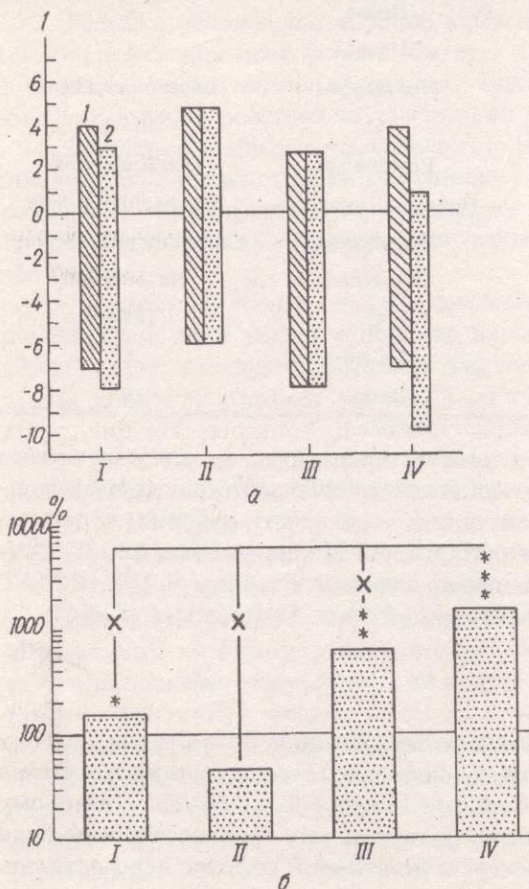
Тест	Опіятна ригідність	Нейролептична каталепсія
Рогівковий рефлекс	Немає	Є
Рефлекс перевертання	Немає	Є
Положення передніх кінцівок	Під тулубом	Широко розставлені
Рухове збудження	Є	Немає
Очні симптоми	Екзофтальм	Немає або птоз
Положення задніх кінцівок	Приведені до тулуба	Відведені від тулуба
Тонус хвоста	Підвищений	Знижений або відсутній
Больовий рефлекс	Знижений	Не змінений
Тест «місток»	Є	Немає
Тест «вертикальний стрижень»	Немає	Є
Захват передніми лапами	Немає	Є

гістологічну верифікацію зони введення препаратів за шляхом голки мікроін'єктора. Результати обробляли статистично з застосуванням непараметричних методів. Саме, для оцінки тривалості рухових порушень (інтервальні значення) застосовували критерій Манна — Уїтні [2, 3]. Статистичну обробку виконували на персональному комп'ютері IBM PC/AT «Olivetti» (Італія) за допомогою програми «Primer Biostatistics» (США).

Результати

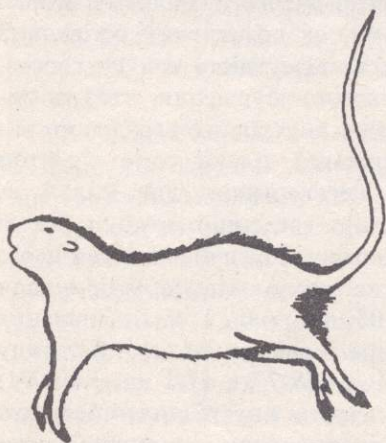
Ефекти соматостатину. Як показали дослідження позо-рухових змін у тварин відповідних контрольних груп, кількість нейролептичних симптомів була переважною і складала від 6 до 8 із 11 (мал. 1, а, I—IV). При цьому серед симптомів «опіятної ригідності» у тварин усіх груп постійними були такі: відсутність рогівкового рефлексу та негативний рефлекс перевертання. Введення соматостатину (10 мкг) у мигдалик, як і його внутрішньогіпокампальна ін'єкція, не змінювало структуру симптомів «опіятної ригідності» та «нейролептичної каталепсії» (див. мал. 1, а, II, III). Слід відзначити, що при введенні пептиду в вентральну частину гіпокампа відбулася якісна зміна структури позо-рухового синдрому: наявні в контрольних спостереженнях такі симптоми, як позитивний рогівковий рефлекс, позитивний рефлекс перевертання та відсутність тону хвоста, змінилися за умов досліду на відсутність рухового збудження, птоз та негативний тест «місто» (див. таблицю). За умов внутрішньонігрального застосування соматостатину у тварин залишався тільки один симптом «опіятної ригідності» — негативний рефлекс перевертання (див. мал. 1, а, III). Тривалість утримування незручної пози при введенні пептиду в бокові шлуночки мозку складала $6,8 \text{ хв} \pm 0,8 \text{ хв}$, що перевищувало значення цього показника у тварин із введенням резерпіну: за цих умов щури утримували незручну позу протягом $4,4 \text{ хв} \pm 0,6 \text{ хв}$ ($P < 0,05$; див. мал. 1, б, I). Значення цього показника також були більшими у щурів із введенням соматостатину в гіпокамп ($14,0 \text{ хв} \pm 2,8 \text{ хв}$; $P < 0,01$) та в ЧСр ($68,7 \text{ хв} \pm 7,2 \text{ хв}$; $P < 0,001$; див. мал. 1, б, III, IV). При цьому у семи щурів з внутрішньонігральною мікроін'єкцією нейропептиду тривалість утримування незручної пози істотно перевищувала таку у тварин усіх груп ($P < 0,001$; мал. 2). Протягом усього часу спостереження у цих тварин відзначалися симптоми «нейролеп-

тичної каталепсії», характерні зміни пози — тварини лежали на боці із закинутою назад головою. При цьому мали місце також екстензія кінцівок та перехрест передніх лап (див. мал. 2).



Мал. 1. Вплив соматостатину (10 мкг), введеного у бокові шлуночки (I), базолатеральну частину мигдалика (II), вентральну частину гіпокампа (III) та ретикулярну частину чорної субстанції (IV) головного мозку щурів, на показники рухових розладнань: а — позо-руховий синдром (1 — контроль, 2 — дослід; за віссю ординат — 0—11 угору — число симптомів «опіятної ригідності», 0—11 униз — число симптомів «нейролептичної каталепсії» — усереднені значення у групах тварин); б — відносна (%) тривалість порушень руху (за віссю ординат — час в порівнянні з таким у групі щурів із застосуванням резерпіну, прийнятим за 100 % та означеним горизонтальною лінією; за цією віссю використано логарифмічну шкалу; зірочки свідчать про вірогідні зміни значень показника у порівнянні з такими у щурів, яким вводили резерпін: одна, дві та три зірочки — $P < 0,05$; $P < 0,01$ та $P < 0,001$ відповідно; хрестик — $P < 0,001$ у порівнянні із значеннями показника у тварин всіх досліджуваних груп).

Ефекти нейротензину. За умов внутрішньошлуночкового, а також внутрішньонігрального застосування нейротензину (10 мкг) у щурів відзначалися тільки два симптоми «опіятної ригідності»: негативний рефлекс перевертання та гіпертонус хвоста, що були нижчі за такі у тварин відповідних контрольних груп (мал. 3, а, Д). Під впливом аналогічного введення пептиду в утворення лімбічної системи число симптомів «опіятною ригідності» складало 6—7, що було більше порівняно з таким відповідних контрольних спостережень (див. мал. 3, а, II, III).



Мал. 2. Поза сфінкса після внутрішньонігральної мікроін'єкції соматостатину.

При цьому у тварин спостерігалася поява таких симптомів, як екзофтальм, негативний рогічковий рефлекс, поза «місток» та відповідне положення передніх кінцівок. Тривалість утримування незручної пози щурами при введенні нейротензину

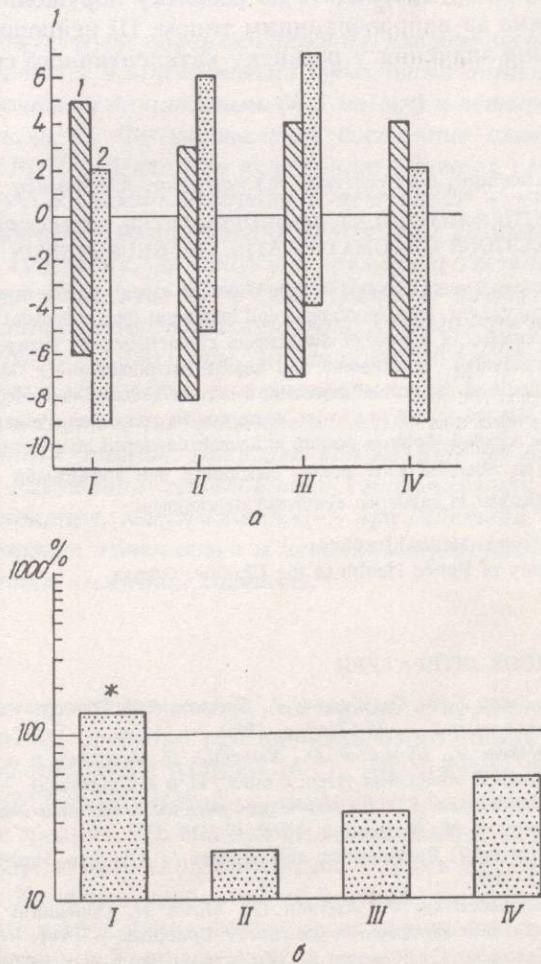
в шлуночки мозку складала $6,2 \text{ хв} \pm 0,5 \text{ хв}$, що було більше, ніж у групі тварин із застосуванням резерпіну ($P < 0,05$; мал. 3, б, I). При цьому у 1 з 10 щурів спостерігалися перехрест передніх кінцівок, закидання голови, опір при її пасивному згибі. За умов внутрішньонігральної ін'єкції пептиду тварини знаходилися в незручній позі протягом $2,6 \text{ хв} \pm 0,4 \text{ хв}$. Така ж тривалість перебування у незручній позі спостерігалася у тварин із застосуванням галоперідолу ($P > 0,05$; див. мал. 3, б, IV). Перехрест кінцівок відзначався у чотирьох щурів, закидання голови, напруження м'язів ший при її згибі — у п'яти.

Обговорення

Таким чином, проведені дослідження показали, що під впливом внутрішньомозкового застосування соматостатину та нейротензину у щурів розвиваються рухові розладнання, що характеризуються позо-поведінковими порушеннями, вираженість яких залежить від структури, в яку вводили пептиди, а також від того, який саме пептид вводили.

Найбільш вагомими та тривалими змінами виникали у тварин у разі введення в ЧСр соматостатину. При цьому у щурів переважали прояви «нейролептичної каталепсії», що свідчить про можливий розвиток ефекту за рахунок пригнічування активності

дофамінергічних нейронів ЧС [5]. Можливий спосіб здійснення цього ефекту може полягати як у дифузії соматостатину та прямому пригніченні дофамінергічних нейронів компактною частини ЧС, так і в активації нейронів ЧСр та посиленні з її боку ГАМК-ергічного контролю. Беручи до уваги вагому вираженість цього ефекту нейропептиду, а також важливу патогенетичну роль дофаміндефіцитарних механізмів у розвитку рухових порушень та розладнань тону м'язів при хворобі Паркінсона [4], можливо припустити, що соматостатин має певне значення у розвитку цієї патології. Подібне припущення є вірогідним, оскільки розвиток паркінсонізму спостерігається переважно у підстаркуватому та старечому віці, саме після завершення росту організму, в регуляції якого істотно значення має соматостатин [4].



Мал. 3. Вплив внутрішньомозкових введень нейротензину (10 мкг) на показники рухових розладнань у щурів. Позначення такі ж самі, як на мал. 1.

Викликає інтерес формування характерних змін пози у тварин під впливом внутрішньонігрального застосування соматостатину, які виражаються закиданням голови та екстензії передніх кінцівок. Подібна поза — так звана поза сфінкса — описана у дослідженнях Белової та співавт. [1], як наслідок ушкодження locus coeruleus у котів. Можливо припустити, що за умов внутрішньомозкового застосування соматостатину також спостерігаються пригнічення нейронів locus coeruleus та норадренергічної системи мозку в цілому.

Під впливом застосування нейротензину також відзначалися порушення руху, які мали нейролептичний характер при внутрішньошлунковому та внутрішньонігральному введенні пептиду. Проте, при його введенні в лімбічні утворення спостерігалися переважно симптоми «опіатної ригідності». Показано, що в механізмах викликаного резерпіном катаlepsії гальмування дофамінергічних нейронів ЧС може спричинюватися нейротензином [8]. Отримані результати дозволяють припустити, що в подібних ефектах пептиду може мати значення посилення ГАМК-ергічних впливів ЧСр, а також вказують на можливу взаємодію нейротензину та опіатергічної системи мозку.

Таким чином, внутрішньомозкові застосування соматостатину та нейротензину призводять до розвитку порушень руху, які реалізуються переважно за нейролептичним типом. Ці нейропептиди можуть мати патогенетичне значення у розвитку каталептичного синдрому.

A.A.Shandra, L.S.Godlevsky, R.S.Vastyanov, A.V.Panenko, A.A.Olleinik

POSTURE-MOVEMENT DISORDERS AFTER INTRACEREBRAL INJECTIONS OF SOMATOSTATIN AND NEUROTENSIN

Experiments were performed on male Wistar rats to study posture-movement disorders after intracerebroventricular, intraamygdalar, intrahippocampal and intranigral (pars reticulata) injections of somatostatin and neurotensin. Development of movement disturbances characterized by changes in the posture-movement syndrome was observed after somatostatin and neurotensin administration. Manifestation of movement disorders, their duration and the posture-movement syndrome structure depended on the structure to which neuropeptides were injected as well as on the neuropeptides themselves. Prolonged changes characterized by appearance of the so-called «Sphinx» posture in animals developed after somatostatin intranigral administration.

The obtained data permit concluding that somatostatin and neurotensin may have pathogenic significance in cataleptic syndrome development.

N.I.Pirogov Medical Institute,
Ministry of Public Health of the Ukraine, Odessa

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белова Т.И., Голубева Е.Л., Судаков К.В. Гомеостатические функции locus coeruleus (синего пятна). — М.: Наука, 1980. — 117 с.
2. Бурей Я., Бурейшова О., Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения (Пер. с англ.; П/р А.С.Батуева). — М.: Выс. шк., 1991. — 400 с.
3. Сенетлиев Д. Статистические методы в научных медицинских исследованиях / Пер. с болг. — М.: Медицина, 1968. — 419 с.
4. Frigyesi T. Parkinsonism and epilepsy // Adv. exp. Med. and Biol. — 1977. — 90, № 1. — P. 63—107.
5. Myslobodsky M., Kofman O., Mintz M. Convulsant specific architecture of the postictal behaviour syndrome in the rats // Epilepsia. — 1981. — 22, № 5. — P. 559—568.
6. Ossowska K., Wedzony K., Wolfarth S. The role of GABA mechanisms of the globus pallidus in mediating catalepsy, stereotypy and locomotor activity // Pharmacol. Biochem and Behav. — 1984. — 21, № 7. — P. 825—831.