

Влияние дистантной имплантации ткани эмбрионального голубоватого пятна на обучаемость у крыс с врожденными ослабленными мнестическими функциями вследствие алкоголизации родителей

БЕВЗЮК Д.А.

к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии и иммунологии
Института неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины, Харьков

Исследовали влияние дистантной имплантации ткани эмбрионального голубоватого пятна (ЭГП) на обучаемость у крыс с замедленным формированием условнорефлекторной эмоциональной реакции избегания (УРЭРИ) вследствие алкоголизации родителей. Выявлено, что дистантная трансплантация ткани ЭГП усиливает мнестические функции крыс с замедленным формированием УРЭРИ, что в конечном итоге приводит к формированию устойчивого стереотипа поведения с высоким уровнем дифференцировки (68,4 %). Сделано заключение о том, что трансплантированная эмбриональная ткань голубоватого пятна при ослабленных мнестических процессах лобно-височной коры способна улучшать самую важную адаптивную интегративную функцию животного организма — память.

Введение

Известно, что алкоголь оказывает пагубное влияние не только на память лиц, страдающих от алкогольной зависимости, но и непосредственно на мнестические функции их потомства [6]. Ранние деменции у потомков алкоголиков особенно трудно поддаются медикаментозному лечению. Новым методологическим подходом в лечении различных нейродегенеративных заболеваний является трансплантация нервных тканей [3,5,10]. В ряде экспериментальных исследований уже показан положительный эффект нейротрансплантации на интегративную деятельность мозга [2,5,7,8]. Вместе с тем, несмотря на достаточную эффективность метода, он не всегда доступен, так как требует оперативного вмешательства. Менее токсичным и более доступным является метод дистантной (транскутанной) трансплантации мозгоспецифических тканей, разработанный сотрудниками НИИ неврологии, психиатрии и наркологии [4]. В основу метода были положены известные данные о проницаемости гематоэнцефалического барьера для различного рода макромолекул, в том числе биогенных аминов [9,11].

Целью исследования являлось изучение влияния дистантной трансплантации ткани ЭГП на обучение крыс с врожденно ослабленными мнестическими функциями вследствие алкоголизации родителей. Выбор мозгоспецифической ткани основывался на том, что голубоватое пятно является субстратом синтеза мозгового норадреналина — непрямого участника нейрохимического механизма формирования памяти [3,10].

Материалы и методы исследования

Исследования выполнены на 20 нелинейных крысах-самцах в возрасте 3—4 мес., массой 200—350 г, из которых 10 крыс имели врожденные ослабленные мнестические функции предшествующей алкоголизации их родителей (опытная группа), а остальные 10 крыс составляли контрольную биохимическую группу. Формирование эмоциональной памяти изучали на модели УРЭРИ. В качестве условного сигнала (УС) использовали звучание метронома 300 уд/мин в течение 15 с, затем следовало безусловное подкрепление воздействием электрическим то-

ком (пороговое значение подбиралось для каждого животного индивидуально (20—45 В) в течение последующих 10 с. Критерием прочной выработки УРЭРИ считали реализацию пяти условных рефлексов из шести предъявленных условных раздражителей, после чего вводили дифференцировку. В качестве дифференцировочного отрицательного условного сигнала использовали звук метронома частотой 120 уд/мин. Выработка стереотипа условных рефлексов начиналась и заканчивалась предъявлением положительного условного сигнала 300 уд/мин. Дистантную имплантацию осуществляли через кожный надрез в области 2—3-го шейных позвонков под местным новокаиновым наркозом в дозе 1 мл. Концентрацию норадреналина и адреналина в ретикулярной формации среднего мозга, гиппокампе, гипоталамусе, лобно-височной коре головного мозга, а также в надпочечниках, сердце, крови и экскретируемой моче определяли флуориметрическим методом [1,2]. Статистическую обработку данных производили с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследования

После 15 дней безуспешного обучения УРЭРИ крысам опытной группы осуществляли дистантную имплантацию ткани ЭГП. Через 10—12 дней (по истечении фазы иммунологических реакций) животных вновь возвращали в эксперимент по обучению УРЭРИ. Был отмечен значительный положительный эффект трансплантированной ткани. У опытных животных 2-й группы повышался уровень эмоциональной напряженности, выражающейся в увеличении количества реакций избегания, реакций проб, экстрасигнальных реакций. Это приводило к быстрому формированию УРЭРИ (за 10 дней) и снижению латентного периода (ЛП) на положительный условный сигнал, что свидетельствует об усилении анализаторных функций коры (рис 1). Под действием трансплантированной ткани ЭГП крысы опытной группы смогли выработать не только прочную реакцию избегания, но и дифференцировку с достаточно высоким процентом — 68,4% от предельных 100%.

Биохимический анализ определения норадреналина и адреналина в экскретируемой моче показал, что у крыс опытной группы наблюдается достоверное увеличение

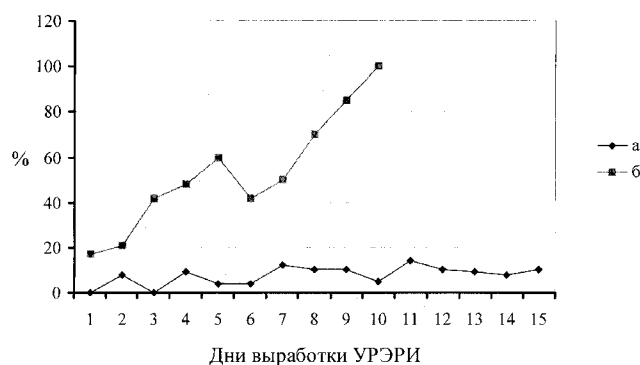


Рис. 1. Изменения количества условнорефлекторных ответов в процессе формирования УРЭРИ под влиянием дистантной трансплантации ЭГП у крыс с ослабленными мнестическими функциями вследствие алкоголизации родителей:

а — до дистантной трансплантации ткани ЭГП;
б — после дистантной трансплантации ткани ЭГП

Таблица 1

Содержание адреналина и норадреналина (нмоль/сутки) в экскретируемой моче у крыс контрольной группы и у крыс с врожденными ослабленными мнестическими функциями вследствие алкоголизации родителей на фоне дистантной трансплантации ткани ЭГП

Группы	Адреналин	Норадреналин
Контроль, n = 10	1,15 0,10	2,72 0,12
Опыт, n = 10	0,93 0,01	4,50 0,35*

Примечание. * — $P < 0,01$ в сравнении с контролем

норадреналина в сравнении с контрольной группой, что подтверждало функциональную активность трансплантированной ткани. Концентрация же адреналина оставалась на том же уровне, что и у интактных животных (табл.1).

Анализ содержания норадреналина и адреналина в различных зонах головного мозга, а также в надпочечниках, сердце и крови выявил следующее. У крыс опытной группы в сравнении с контрольной группой концентрация адреналина после трансплантации незначительно снижалась в гипоталамусе, а в остальных структурах мозга незначительно варьировала в сравнении со значениями

контрольной группы (табл. 2). В надпочечниках наблюдалось увеличение содержания данного амина, в сердце и крови оно находилось на уровне, сравнимом с его содержанием у крыс контрольной группы. Содержание норадреналина в гипоталамусе достоверно увеличивалось, что подтверждают ранее опубликованные данные о возможности проникновения катехоламинов через гематоэнцефалический барьер в области вентрального гипоталамуса [9,11]. В крови концентрация амина достоверно возрастала, что, вероятно, связано с васкуляризацией трансплантата и поступлением в кровяное русло нарабатываемого амина (табл. 2). Достоверное увеличение содержания норадреналина в надпочечниках, по-видимому, связано не только с механизмами обратного захвата амина, но и с механизмами центральной, преимущественно гипоталамической, регуляции стимуляции (табл. 2). В сердце концентрация данного амина несколько увеличивалась, что также можно объяснить активацией обратного захвата катехоламинов не только в области синаптической щели и варикозных участках мембраны нейрона — uptake 1, uptake 2, но и непосредственно кардиомиоцитами — uptake 3.

Заключение

Анализ представленных результатов, полученных в данном эксперименте, позволяет заключить, что дистантная имплантация нейроспецифической эмбриональной ткани, являющейся продуцентом норадреналина, вызывает у крыс с врожденно ослабленными процессами формирования памяти их стимуляцию и в первую очередь вследствие пополнения норадреналином структур мозга, ответственных за формирование памяти, о чем свидетельствуют как активация выработки УРЭРИ, так и повышение содержания норадреналина в тканях мозга, периферической крови и тканях надпочечников. Причем увеличение метаболитов норадреналина в моче является, по-видимому, следствием его активного включения в формирование следовых процессов. Наблюдаемая нами способность ткани ЭГП при ослабленных мнестических процессах коры головного мозга улучшать самую важную адаптивную интегративную функцию животного организма — память открывает новые пути для поиска методов и средств лечения заболеваний, сопровождающихся ментальными расстройствами с нарушением биологических механизмов памяти.

Таблица 2

Содержание адреналина и норадреналина в различных структурах мозга (нмоль/г), в крови (нмоль/л), тканях надпочечников (мкмоль/г) и сердце (нмоль/г) у крыс контрольной группы и у крыс с врожденными ослабленными мнестическими функциями вследствие алкоголизации их родителей на фоне дистантной трансплантации ткани ЭГП

Группа	Структуры мозга				Bl	GSR	Cor
	Rf	Hip	Hpt	Cort			
Адреналин							
Контроль, n = 10	0,12 0,02	0,07 0,01	0,41 0,13	0,07 0,01	39,9 2,1	1,53 0,11	0,34 0,04
Опыт, n = 10	0,09 0,02	0,07 0,01	0,31 0,05	0,08 0,01	35,7 5,2	5,23 0,42**	0,34 0,03
Норадреналин							
Контроль, n = 10	2,17 0,07	1,33 0,06	5,69 0,41	1,26 0,06	38,87 4,44	0,12 0,02	4,33 0,12
Опыт, n = 10	2,12 0,11	1,26 0,05	8,67 1,32*	1,21 0,13	66,1 5,93**	0,63 0,2***	4,61 0,33
Примечание. * — P<0,1 ; ** — P<0,05; *** — P<0,01 в сравнении с контролем Rf — ретикулярная формация среднего мозга, Hip — гиппокамп, Hpt — гипоталамус, Cort — лобно-височные отделы коры головного мозга, Bl — кровь, GSR — надпочечники, Cor — сердце							

Список литературы

1. Бару А.М., Бойко Т.П. Методика исследования катехоламинов с повышением специфичности триоксинилодовой процедуры // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической эндокринологии. — Харьков, 1979. — С.126-127.
2. Бару А.М. Исследование катехоламинов в моче человека // АНССР Биохимия — 1962. — Т. 27, №2 — С. 260-265.
3. Бевзюк Д.А., Воробьева Т.М., Берченко О.Г. Влияние внутримозговой имплантации эмбрионального locus coeruleus на условнорефлекторную реакцию избегания у крыс с экспериментальной атрофией лобно-височной коры головного мозга // Нейрофизиология — 2000. — Т.3, №2 (6). — С.36-41.
4. Бевзюк Д.А. Дистантная трансплантация эмбрионального голубоватого пятна как метод коррекции следовых процессов у крыс // Вестник Харьковского университета. — 2001. — №506. — С. 268-270.
5. Воробьева Т.М., Берченко О.Г., Гейко В.В. Техника трансплантации специфической эмбриональной ткани в мозг реципиента и ее эффективность // Украинский вестник психоневрологии. — 1995. — Т. 3, №2(6). — С. 246—248.
6. Гармаш Т.И. Возрастные особенности формирования эмоциональной памяти в норме и при алкоголизации: Автореф. дисс. на соискание уч. степени к.биол.н./ Харьковский ордена трудового красного знамени и ордена дружбы народов государственный университет им. А.М. Горького — Харьков, 1988. — 17 с.
7. Гончарова А.В. Коррекция эмоциональной памяти у облученных крыс трансплантацией эмбрионального голубоватого пятна // Биологический вестник. — 1998. — Т.2, №2. — С.28-30.
8. Еренев С.И., Семченко В.В., Генне Р.И., Маковецкий К.К. Долговременная память и способность к обучению крыс с высокой судорожной активностью мозга при аллотрансплантации эмбриональной нервной ткани // Журн. высш. нервн. деят. — 1993. — Т.43, №5. — С. 987-993.
9. Закусов В.В., Высоцкая Н.Б., Толмачева Н.С. О проникновении катехоламинов через гематоэнцефалический барьер // Бюлл. Эксперим. Биологии и медицины. — 1972. — Т.73, № 5. — С.54-66.
10. Полежаев Л.В., Александрова М.А., Витвицкий В.Н., Черкасова Л.В. Трансплантация ткани мозга в биологии и медицине. — М.: Медицина, 1993. — 239 с.
11. Well-Malherbe H. The passage of catecholamines through the blood brain barriers// Ciba Found Symposium jointly with Committee for Symposia on drug action on Adrenergic Mechanism/ Ed. Voul. — London, 1960. — P. 421—423.

THE INFLUENCE OF DISTANT TRANSPLANTATION OF THE EMBRYONIC LOCUS COERULEUS ON THE LEARNING PROCESS OF RATS WITH BAD FUNCTION OF MEMORY BECAUSE ITS PARENTS WAS ALCOHOLIC

BEVZ'YUK D.A. cand. biol. sci., senior researcher of Institute neurology, psychiatry and narcology Academy Medical Sciences Ukraine

In the paper is describe the effects of distant transplantation of the embryonic locus coeruleus tissue on the indices of the learning process in rats with bad function of memory because its parents had the experimental alcoholic. The positive effect of transplantation was observed: the rats with bad function of memory showed good conditional emotional avoidance reaction. The behavior stereotype was elaborated (differentiation 68,4%). The functional activity of transplantate was confirmed by biochemical analysis data: the concentration of noradrenaline in hypothalamus and in blood was increased authentically. On the base of obtained experimental data, the assumption was made that transplantation of locus coeruleus took root in skin tissue, grown up and start synthesis of noradrenaline.