

Ж.О. Крученко, Н.О. Пількевич

Вплив інтраназального введення дофаміну на когнітивні процеси та загальнорухову активність щурів при стресі

У щурів лінії SHR вивчали вплив інтраназального введення дофаміну (ДА) на реалізацію харчового оперантного умовного рефлексу (ОУР) та загальнорухову активність у міжстимульний період у нормі та в умовах стресу. Реєстрували оперантні умовні реакції та загальні поведінкові феномени (завмирання, грумінг, стійки, локомоторну активність, міжсигнальні рухи у годівниці). Стан гострого стресу викликали нанесенням інтенсивного акустичного подразнення (гучний дзвінок, поданий під час здійснення ОУР). Стрес призводив до гальмування умовнорефлекторної діяльності, знерухомлення тварин у міжстимульний період, послаблення уваги до умовного сигналу та годівниці. На тлі інтраназальної аплікації ДА (0,15 мг/кг) стресорний ефект інтенсивного звукового подразнення нівелювався, не проявляючи гальмівного впливу на ОУР та загальнорухову активність. ДА, пригнічуючи реакції тривоги і страху, посилював концентрацію уваги, що сприяло поліпшенню інтегративної функції в конкретній ситуації виконання ОУР.

Ключові слова: дофамін, інтраназальна аплікація оперантний умовний рефлекс, стрес, щури.

ВСТУП

Дисфункції у дофамінергічній (ДА) системі відіграють суттєву роль у патогенезі низки неврологічних захворювань, зокрема хвороби Паркінсона (ХП) та синдрому гіперактивності із дефіцитом концентрації уваги (ADHD; від англ. Attention Deficit/Hyperactivity Disorder). Це супроводжується розладом рухової активності та порушенням з боку психічної сфери. Окрім цього уповільнюється темп розумової діяльності – брадифренія, яку вважають своєрідним аналогом моторної гіпокінезії і пояснюють обмеженістю робочого ресурсу когнітивних систем, насамперед систем уваги та оперативної пам'яті [16]. Також відомо, що ДА-системи мозку безпосередньо беруть участь у регуляції психоемоційного стресу. Останній є фактором ризику і може спровокувати клінічну маніфестацію ХП, а також посилювати симптоми ADHD. Є експериментальні підтвердження того, що ДА-системи залучені в нейрохімічні механіз-

ми ADHD, пов'язані із дисфункцією мезолімбічних відділів головного мозку [12, 13, 18, 20–22]. Компенсація загублених нігостріальних нейронів може здійснюватися за рахунок перебудови ДА-метаболізму з посиленням активності нейронів, що залишилися, у стимульованні синтезу ДА. Важливою проблемою при лікуванні психічних і неврологічних захворювань, зокрема ХП, є вибір шляхів введення препаратів. Найбільш ефективними є препарати леводопи – метаболічного попередника ДА, тому що сам він не проходить через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ). Проте тривалий прийом леводопи перорально доволі часто призводить до важких ускладнень у вигляді дискінезій [3]. Першочерговою терапією для пацієнтів з ADHD вважається застосування D-амфетаміну та метилфеніда-ту, які значно покращують основні симптоми, але мають негативні наслідки [6, 7, 13]. Існують експериментальні свідчення того, що інтраназальна аплікація речовин може бути

шляхом до мішеней у центральну нервову систему [8, 11, 15, 23]. Однією з альтернатив постачання ДА у центральні структури мозку в обхід ГЕБ може бути інтраназальне його введення [9, 10].

Мета нашої роботи – визначення ефективності інтраназального методу підвищення вмісту ДА в ЦНС у щурів лінії SHR в моделі виконання оперантного умовного рефлексу (ОУР), яка дає змогу виявити рівень когнітивних процесів та загальноорухової активності в нормі та при стресі.

МЕТОДИКА

Досліди проведено на самицях щурів зі спонтанною гіпертензією лінії SHR масою 200-250 г ($n=12$). Вивчали динаміку умовнорефлекторної діяльності та загальноповедінкових рухових реакцій в експериментальній камері при виробленні та відтворенні харчового ОУР „рукості”: у відповідь на клацання (короткий звуковий стимул) здійснювати пошукові рухи кінцівкою у годівниці з їжею. Оцінювали рівень умовного рефлексу за відсотком пошукових рухів у відповідь на умовний подразник, який пред’являли з інтервалом 1 хв. Одночасно у міжстимульний період реєстрували загальноорухові та поведінкові реакції: дослідницьку та локомоторну активність, наявність стійок (бали), завмирання та грумінг (секунди), міжсигнальні рухи кінцівкою у годівниці, обнюхування годівнички без пошукових рухів (бали). Стан стресу викликали гучним дзвінком, який подавали через 2 с після умовного сигналу і оцінювали за тривалістю завмирання (с), за відсотком проявлення умовного рефлексу до дзвінка, на фоні його дії та після відміни, за особливостями окремих показників загальноорухових реакцій. На фоні виробленого умовного рефлексу інтраназально вводили ДА за 30 хв до початку експерименту в дозах 0,3 та 0,15 мг/кг і аналізували вищезгадані показники у порівнянні з контролем за допомогою програми „Призма”. Статистична обробка одержаних числових результатів

включала в себе розрахунок середніх арифметичних \pm похибка середнього з використанням критерію t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У нормі умовнорефлекторна діяльність щурів характеризувалася нестабільністю та невисоким рівнем відтворення. Проявлення ОУР у відповідь на дію умовного сигналу становили $65,0 \pm 8,2\%$ (рис. 1, I, 1.). Гострий стрес повністю пригнічував цей показник ($1,25 \pm 0,81\%$; див. рис. 1, I, 2). Після відміни дзвінка умовний рефлекс не відновився впродовж наступних 10 хв спостережень ($45,0 \pm 8,23\%$; див. рис. 1, 3 I). Відомо, що рухова активність щурів характеризується певними особливостями. Дослідницька діяльність та локомоторна активність властива і для інших видів тварин, але щурам притаманні ще й такі стереотипні рухові прояви, як стійки, грумінг, чухання. Їхні рівні вважаються індексами, чутливими до ступеня тривожності: вони підвищуються або пригнічуються при дії страху та вважаються відповідними поведінковими маркерами [4, 5]. У наших експериментах у контролі в міжстимульний період спостерігалися високий рівень локомоторної активності, стійок, підходів до годівниці (рис. 2, а, 1).

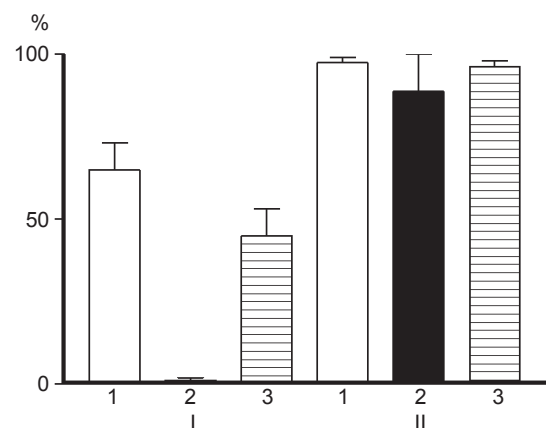


Рис. 1. Відносна кількість реалізацій оперантного умовного рефлексу у контролі та після інтраназальної аплікації дофаміну (ДА): 1 – до дзвінка, 2 – під час його дії, 3 – після припинення дії дзвінка (для усіх фрагментів); I – контроль, II – аплікація ДА

Незважаючи на систематичну роботу, щури не адаптувалися до умов експерименту, проявляючи високу моторну активність. Інтенсивний дзвінок пригнічував загальнорухову активність – локомоцію та стійки (див. рис. 2, а, 2). Значне зниження у міжстимульній період рухів біля годівниці ($1,96 \pm 0,30$ бала до дзвінка, та $0,55 \pm 0,17$ бала – після, $P < 0,001$; див. рис. 2, а, 1, 2) свідчить про гальмування харчової мотивації, викликане стресом. Особливо показовою була реакція завмирання. У контролі в міжстимульній період тварини були активними і завмирання майже не спостерігалося (середня тривалість відповідних епізодів $3,06 \pm 1,38$ с; рис. 3, I, 1). Дія дзвінка викликала знерухомлення, яке тривало майже весь міжстимульній час (у середньому $47,75 \pm 4,07$ с, див. рис. 3, I, 2). За наступні 10 хв рухова активність повністю не відновлювалася (див. рис. 3, I, 3).

При інтраназальному введенні ДА найбільш ефективною щодо позитивного впливу на когнітивні процеси та загальнорухову активність була доза $0,15$ мг/кг. Доза $0,3$ мг/кг виявилася занадто високою, яка загальмувала поточну умовнорефлекторну діяльність та загальнорухову активність. Відмічено значне підвищення відсотка ОУР, викликане аплікацією ДА у дозі $0,15$ мг/кг ($65,0 \pm 8,2$ % – до та $97,5 \pm 1,64$ % – на фоні ДА; див. рис. 1, II, 1), який перевищував вихідні значення. Це може свідчити про покращання оперативної (робочої) пам'яті. На тлі дії ДА гучний дзвінок не спричиняв свого гальмівного впливу на ОУР, і не викликав знерухомленості (див. рис. 3, II, 2). Навпаки, збільшувалася кількість підходів до годівнички (див. рис. 2, б, II, 2), що дає підставу стверджувати про підвищення уваги. Показано [17], що інтраназальна аплікація ДА знижує загальнорухову активність та

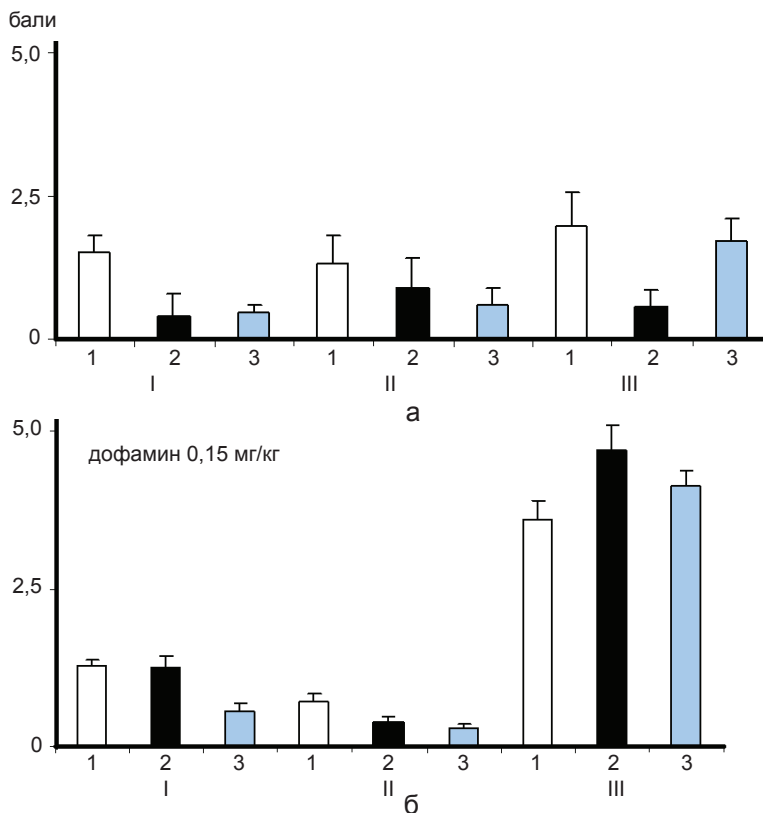


Рис. 2. Характеристика рухової активності в міжстимульній період до (а) та після (б) аплікації дофаміну (ДА): 1 – до дзвінка, 2 – під час його дії, 3 – після припинення дії дзвінка (для усіх фрагментів); I – локомоція, II – стійки, III – обнюхування годівниці

покрощує увагу у щурів лінії NHE, яка вважається нормотензивним мезокортикальним варіантом ADHD. Щури лінії SHR із генетично зумовленою гіпертензією та вираженим ADHD являють собою придатну модель для вивчення механізмів гіперактивності і дефіциту концентрації уваги. Розроблена нами модель гострого стресу, створеного зіткненням позитивної харчової мотивації, викликаного дією умовного подразника, та страху, спричиненого гучним дзвінком за умов виконання ОУР, дає можливість визначити ступінь пошкодження оперативної робочої пам'яті та загальноорухової активності. Дія стресу є одним із факторів, що підсилюють нейропсихічні порушення при ХП та ADHD [1, 2]. Встановлено, що стрес викликає у щурів розлад просторової пам'яті внаслідок префронтальної ДА-дисфункції [16]. ДА-системи мозку безпосередньо беруть участь у регуляції емоційного стану та механізмах психоемоційного стресу [14]. Таким чином, одержані нами результати дають можливість ствержувати, що підвищення вмісту ДА у мозку щурів лінії SHR за допомогою інтраназальної аплікації в дозі 0,15 мг/кг нівелює стрес, викликаний гучним дзвінком, знижуючи рівень страху та тривоги, що сприяє концентрації уваги. Це дає можливість тварині адекватно оцінювати сигнали, про що

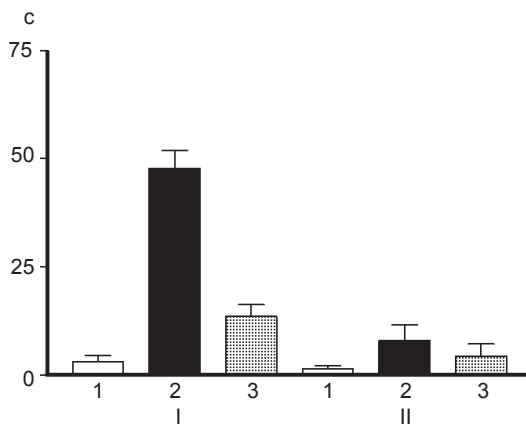


Рис. 3. Тривалість завмирання щурів до (I) та після (II) аплікації дофаміну (ДА): 1 – до дзвінка, 2 – під час його дії, 3 – після припинення дії дзвінка (для усіх фрагментів)

свідчить покращення інтегративних функцій у ЦНС у парадигмі виконання конкретного ОУР. Цим можна пояснити підвищення відсотка умовного рефлексу, що перевищує контрольні значення до та на тлі дії стресу.

У стратегії лікування нейродегенеративних захворювань слід прийняти до уваги зворотний характер пошкодження частини нейронального пулу, що створює перспективи для можливості відновлення тимчасово втраченої ДА-функції нейронів. Природні механізми захисту, відновлення та компенсації функції визначають підходи до профілактики та терапії таких нейродегенеративних захворювань, як ХП та ADHD. Головною ланкою патогенетичної терапії є підтримання пулу збережених ДА-нейронів та вмісту ДА в нігрозтріальних нейронах. Одним із варіантів підвищення вмісту ДА у ЦНС може стати його інтраназальна аплікація в обхід ГЕБ.

Ж.О. Крученко, Н.О. Пількевич

ВЛИЯНИЕ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ДОФАМИНА НА КОГНИТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ И ОБЩЕДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КРЫС ПРИ СТРЕССЕ

У крыс линии SHR изучали влияние интраназального введения дофамина (ДА) на реализацию пищевого оперантного условного рефлекса (ОУР) и общедвигательную активность (локомоция, стойки, замирание, груминг) в межстимульный период в норме и в условиях стресса. Состояние острого стресса вызывали нанесением интенсивного акустического раздражения – громкий звук, действующий во время осуществления ОУР. Стресс вызывал торможение условнорефлекторной деятельности, обездвигивание животных, ослабление внимания к условному стимулу и кормушке. На фоне интраназальной апликации ДА (0,15 мг/кг) стрессорный эффект звукового раздражения нивелировался, не оказывая тормозного влияния на ОУР и общедвигательную активность. ДА, угнетая реакции тревоги и страха, усиливал концентрацию внимания, что способствовало улучшению интегративной функции в конкретной ситуации осуществления ОУР.

Ключевые слова: дофамин, интраназальная апликации, оперантный условный рефлекс, двигательная активность, стресс, крысы.

Zh.A.Kruchenko, N.A.Pilkewich

INFLUENCE OF INTRANASAL ADMINISTRATION OF DOPAMINE ON REALIZATION OF COGNITIVE PROCESSES AND LOCOMOTOR ACTIVITY OF RATS DURING STRESS

In spontaneously hypertensive rats (SHR) we studied the influence of intranasal administration of dopamine (DA) on realization of food operant conditioned reflex (OCR) and motor activity (locomotion, bars, stopping beating, grooming) in a interstimulation period in a norm and in the conditions of stressed influences. The state of sharp stress was caused by application of intensive acoustic irritation is a loud sound operating during realization of OCR. Stress caused a brake of conditioned reflex activity, immobilization of animals, weakening of attention to the conditional stimulus. On a background intranasal application DA (0,15 mgs/of kg) the effect of stress on voice irritation was eliminated, not rendering brake influence on OCR and motor activity. DA via oppressing the reactions of alarm and fear strengthened the focused attention that assisted the improvement of integrative function in the concrete situation of realization of OCR.

Key words: dopamine, intranasal administration operant conditioned reflex (OCR), motor activity, stress, rats.

A.A. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.

1. Вейн А.М., Голубев В.Л., Берзиньш Ю.Э. – Рига: Зинатне, 1981. – 362 с.
2. Голубев В.Л., Левин Я.И., Вейн А.М. Болезнь Паркинсона и синдром Паркинсонизма. – М.: Медпресс, 1999. – 416 с.
3. Крыжановский Г.Н., Карабань И.Н., Магаева С.В., Кучеряну В.Г., Карабань Н.В. Болезнь Паркинсона. – М.: Медицина, 2002. – 335 с.
4. Родина В.И., Крупина Н.А., Крыжановский Г.Н., Окнина Н.Ф. Многопараметровый метод комплексной оценки тревожно-фобических состояний у крыс // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1993. – 43, №5. – С. 1006–1017.
5. Шовен Р. Поведение животных. – М.: Мир, 1972. – 489 с.
6. Advokat C. Update on amphetamine neurotoxicity and its relevance to the treatment of ADHD // J. Atten. Disord. – 2007. – 11. – P. 8–16.
7. Arnsten A.F. Stimulants: therapeutic actions in ADHD // Neuropsychopharmacol. – 2006. – 31. – P. 2376–2383.
8. Buddenberg T.E., Topic B., Mahiberg E.D., de Souza Silva M.A., Huston J.P., Mattern C. Behavioral actions of intranasal application of dopamine: effects on forced

- swimming, elevated plus-maze and open field parameters // Neuropsychobiol. – 2008. – 57. – P. 70–79.
9. Chemuturi N.V., Haraldsson J.E., Prisinzano T., Donovan M. Role of dopamine transporter (DAT) in dopamine transport across the nasal mucosa // Life Sci. – 2006. – 79. – P. 1391–1398.
- Dahlin M., Jansson B., Bjork E. Levels of dopamine in blood and brain following nasal administration to rats // Eur. J. Pharm. Sci. – 2001. – 14. – P. 75–80.
11. Graff C.L., Pollack G.M. Nasal drug administration; potential for targeted central nervous system delivery // Pharm. Sci. – 2005. – 94. – P. 1187–1195.
12. Hejitz R.D., Kolb B., Forssberg H. Motor inhibitory role of dopamine D1 receptors: implications for ADHD // Physiol. Behav. – 2007. – 92. – P. 155–160.
13. Horst R.O., Hendren R.L. Integrated pharmacologic treatment of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) // Essend. Psychopharmacol. – 2005. – 6. – P. 250–261.
14. Huber S.J., Cummings J. Parkinson's disease. – Neurobehavioral Aspects. – New York: Oxford University Press, 1992. – 368 p.
15. Illum L. Transport of drugs from the nasal cavity to the central nervous system // Eur. J. Pharm. Sci. – 2000. – 11. – P. 1–18.
16. Kazushige M., Mitsutoshi Yuzurihara, Atsushi Ishige, Hiroshi Saaki, De-Hua Chui, and Takeshi Tabira. Chronic Stress induces impairment of spatial working memory because of prefrontal Dopaminergic Dysfunction // Y.Neurcience. – 2000. – 20, № 4. – P. 1568–1574.
17. Lucia A.Ruocco, Maria A. de Souza Silva, Blanca Topic. Intranasal application of dopamine reduces activity and improves attention in Naples High Excitability rats that feature the mesocortical variant of ADHD // Europ. Neuropsychopharmacol. – 2009 – 19. – P. 693–701.
18. Mehler-Wex C., Riederer P., Gerlach M. Dopaminergic dysbalance in distinct basal ganglia neurocircuits: implications for the pathophysiology of Parkinson's disease, schizophrenia and attention deficit hyperactivity disorder // Neurotox. Res. – 2006. – 10 – P. 167179.
19. Schwab R.S., Lieper Y. Effect of mood, motivation, stress, and alertness of the performance in Parkinson's disease // Psychiat. Neurol. (Basel). – 1965. – 150 – P. 345–357.
20. Sikstrom S., Soderlund G. Stimulus-dependent dopamine release in attention-deficit/hyperactivity disorder // Psychol. Rev. – 2007. – 114. – P. 1047–1075.
21. Sonuga-Barke E.J. The dual pathway model of AD/HD: an elaboration of neuro-developmental characteristics // Neurosci. Biobehav. Rev. – 2003. – 27 – P. 593–604.
22. de Souza Silva M.A., Topic B., Huston J.P., Mattern C. Intranasal dopamine application increases dopaminergic activity in the neostriatum and nucleus accumbens and enhances motor activity in the open field // Synapse. – 2008. – 62. – P.176–184.
23. Thorne R.G., Frey W.H. Delivery of neurotrophic factors to the central nervous system: pharmacokinetic considerations // Clin. Pharmacokinet. – 2001. – 40. – P. 907–946.

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ
E-mail: kruzhan@mail.ru*

*Матеріал надійшов
до редакції 10.04.2013*