

НЕЙРОМЕДИАТОРНЫЕ СИСТЕМЫ СТВОЛА И МОЗЖЕЧКА ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ И МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

С.В. Лелевич¹, к.м.н., доцент; Е.В. Барковский², д.б.н., профессор

¹ Кафедра клинической лабораторной диагностики, иммунологии и аллергологии
УО «Гродненский государственный медицинский университет»

² Кафедра общей химии

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Проведена сравнительная оценка состояния ключевых нейромедиаторных систем ствола и мозжечка головного мозга крыс при хронической алкогольной и морфиновой интоксикации. Длительная алкогольная и морфиновая интоксикация оказывает схожий эффект на состояние дофаминергической нейромедиации в стволе головного мозга. Это проявляется снижением уровня дофамина на 14-е и 21-е сутки введения этанола и морфина, а также существенным ростом концентрации гомованилиновой кислоты на протяжении всего срока экспериментов. Кроме того, длительное введение алкоголя и наркотика оказывает идентичный ингибирующий эффект на содержание серотонина в стволе головного мозга на 21 сутки интоксикации.

Ключевые слова: алкоголь, морфин, мозг, дофамин, серотонин, ГАМК.

The comparative estimation of the condition of the key neuromediator systems of the trunk and cerebellum of rat brain under chronic alcoholic and morphine intoxication was performed. Long alcoholic and morphine intoxication renders similar effect on the condition of dopamine system in the brain trunk. It manifests itself by decreased dopamine level on the 14th and 21st days of introduction of ethanol and morphine as well as by essential growth of concentration of homovanilic acid throughout all term of experiments. Besides long introduction of alcohol and a drug renders identical inhibition effect on the content of serotonin in the given region of the brain on the 21st day of intoxication.

Key words: alcohol, morphine, brain, dopamine, serotonin, GABA.

Введение

Проблема алкоголизма и наркоманий приобретает все большую актуальность в связи с эпидемиологической и социальной опасностью данных патологий. Это создает реальную угрозу психическому и соматическому здоровью молодой и репродуктивной части населения, что, в конечном итоге, деструктивно влияет на генофонд нации. Неблагоприятными факторами являются прогрессивный рост алкоголизма и наркоманий в последние годы, многочисленные негативные тенденции наркоэпидемии, криминогенность незаконного оборота наркотиков. Смертность от алкогольной интоксикации и связанных с ней расстройств здоровья составляет значительную долю в общей смертности населения. Влияние алкоголя и наркотиков на организм проявляется в нескольких различных направлениях: во-первых, это действие на определенные нейромедиаторные системы головного мозга, что вызывает формирование синдрома зависимости; во-вторых, алкоголь и морфин оказывают токсическое действие практически на все внутренние органы и ткани организма и, в-третьих, это влияние алкоголизации родителей на потомство [2]. Нейромедиаторные изменения при развитии алкогольной и морфиновой зависимости базируются в основном в стволовых и лимбических структурах головного мозга, там, где находится так называемая «система подкрепления» [1, 3]. Именно эта система ответственна за эмоциональное состояние, настроение, психофизический статус и поведение индивидуума в целом.

Анализ данных нейрохимических исследований [1, 2, 7, 8] позволил сделать вывод о принципиальном единстве центральных механизмов зависимости от разных психоактивных веществ (ПАВ). У веществ, способных вызвать синдром зависимости (алкоголь, наркотики), имеется общее звено фармакологического действия – характерное влияние на катехоламиновую нейромедиа-

цию в стволовых структурах мозга, в частности, в «системе подкрепления». Воздействие психоактивных веществ на начальных стадиях приводит к интенсивному выбросу из депо в этих отделах мозга нейромедиаторов из группы катехоламинов, в первую очередь – дофамина, что сопровождается сильным возбуждением системы «подкрепления». Длительный прием ПАВ приводит к истощению запасов нейромедиаторов, что проявляется недостаточно выраженным возбуждением системы «подкрепления». Прием ПАВ на этом фоне вновь вызывает дополнительное высвобождение нейромедиаторов из депо, что временно компенсирует их дефицит в синаптической щели и нормализует деятельность лимбических структур мозга. Однако катехоламины вновь быстро разрушаются, что приводит к дальнейшему падению их содержания, ухудшению психоэмоционального состояния и, соответственно, к повторному приему ПАВ.

В то же время, практически отсутствуют данные о состоянии нейромедиации в мозжечке, отделе головного мозга, играющего важную роль в контроле статики и координации движений. Нейромедиаторные нарушения в данном регионе при хроническом воздействии алкоголя и морфина, вероятно, могут приводить к различным нарушениям психики у больных алкоголизмом и наркоманиями, и не исключено, что некоторые механизмы этиопатогенеза данных заболеваний локализируются именно в мозжечке. Однако скудность литературных данных не позволяет комплексно трактовать эти предположения и требует детального изучения.

Целью работы являлось сравнительное изучение эффектов хронической алкогольной и морфиновой интоксикации на состояние дофаминергической, норадренергической, серотонинергической и ГАМК-ергической нейромедиаторных систем, а также содержание ряда нейромедиаторных аминокислот в стволе и мозжечке головного мозга крыс.

Материалы и методы

В эксперименте хронической алкогольной интоксикации было использовано 40 белых беспородных крыс-самцов массой 180–220 г, находящихся на стандартном рационе вивария. Алкогольную интоксикацию моделировали путем внутрижелудочного введения 25% раствора этанола в дозе 3,5 г/кг 2 раза в сутки в течение 7 (2-я гр.; n=10), 14 (3-я гр.; n=10) и 21 суток (4-я гр.; n=10). Контрольным особям (1-я гр.; n=10) интрагастрально вводили эквивалентное количество физиологического раствора хлорида натрия.

В модели хронической морфиновой интоксикации было использовано 32 белых беспородных крыс-самцов массой 180–220 г. Экспериментальным особям внутрибрюшинно вводили 1% раствор морфина гидрохлорида в течение 7 (2-я гр.; n=8), 14 (3-я гр.; n=8) и 21 суток (4-я гр.; n=8) два раза в сутки с интервалом в 12 ч в нарастающих дозах: 1–2 сут. – 10 мг/кг/сут; 3–4 сут. – 20 мг/кг/сут; 5–21 сут. – 40 мг/кг/сут. Контрольные животные (1-я гр.; n=8) в/б получали эквивалентное количество физиологического раствора NaCl. Декапитацию проводили через 1 ч после последнего введения алкоголя или морфина. После декапитации у животных на холоде извлекали головной мозг, из которого выделяли ствол и мозжечок.

Определение уровня дофамина, 3,4-диоксифелуксусной и гомованилиновой кислот, норадреналина, 5-окситриптофана, серотонина, 5-оксииндолуксусной кислоты, глутамата, аспартата и глицина проводили в хлорнокислых экстрактах на ВЭЖХ-системе Waters [6, 9].

Определение ГАМК проводилось методом обращенно-фазной хроматографии после предколонной дериватизации с о-фталевым альдегидом и □-меркаптоэтанолам с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции по методу [9], на той же хроматографической системе с детектором флуоресценции M420 (Waters Assoc., США). Для калибровки использовали раствор ГАМК (50 мкМ), приготовленный аналогично пробам биологического материала. Прием и обработка хроматограмм осуществлялась с помощью программного-аппаратного комплекса «МультиХром-1».

Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрических методов исследования, применяя U-критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считались отличия при $p < 0,05$. В качестве дополнительного метода статистической обработки с целью сравнения экспериментальных групп по всему спектру изучаемых показателей был использован пошаговый дискриминантный анализ. Для этого использовался пакет статистических программ Statistika 6.0.

Результаты и обсуждение

В стволе головного мозга на фоне хронической алкогольной и морфиновой интоксикации отмечались достаточно выраженные нейромедиаторные изменения (табл. 1).

Дофаминовая нейромедиаторная система играет важную роль в механизмах формирования алкогольной и наркотической зависимости, поэтому нарушения её функционирования имеют большое значение в патогенезе этих заболеваний [4]. Снижение концентрации дофамина при алкогольной интоксикации длительностью 7 суток в стволе головного мозга указывает на достаточно раннее формирование признаков нарушения данной нейромедиаторной системы, что приводит к выраженному дефициту дофаминергической нейротрансмиссии и в более поздние сроки алкоголизации [2]. Выявленные изменения функционирования данной системы при 7-су-

Таблица 1 – Содержание нейромедиаторов, их предшественников, метаболитов и нейромедиаторных аминокислот в стволе головного мозга крыс при хронической алкогольной (числитель) и морфиновой (знаменатель) интоксикации

Показатель	7 суток	14 суток	21 сутки
Дофамин	22%*	7%*	8%*
	73%*	73%*	72%*
3,4-диоксифенилуксусная кислота	108%	89%	106%
	196%*	194%*	106%
Гомованилиновая кислота	557%*	240%*	257%*
	264%*	221%*	223%*
Норадреналин	86%	106%	54%*
	59%*	62%*	99%
5-окситриптофан	106%	86%	52%*
	99%	102%	107%
Серотонин	94%	96%	61%*
	96%	63%*	55%*
5-оксииндолуксусная кислота	102%	110%	26%*
	102%	74%*	99%
ГАМК	103%	106%	102%
	147%	107%	101%
Глутамат	112%	106%	106%
	87%	101%	114%
Аспартат	102%	102%	96%
	135%*	134%*	145%*
Глицин	119%	107%	81%*
	82%*	62%	55%*

Примечание: здесь и в табл. 2 за 100% приняты соответствующие значения показателей в контрольной группе; * – статистически значимые различия с контролем ($p < 0,05$)

точной морфинизации являются, вероятно, следствием формирования при этом качественно новых рецепторно-метаболических взаимоотношений. Главная роль в данных нарушениях, по мнению некоторых авторов, принадлежит D_1 и D_2 -рецепторам [12, 13].

Одним из важнейших аспектов влияния алкогольной и морфиновой интоксикации на дофаминергическую систему в стволе головного мозга является локализация здесь так называемой «системы подкрепления», занимающей центральное место в нейрхимических механизмах формирования алкоголизма и наркоманий [2, 3]. В наших экспериментальных условиях наблюдалась однонаправленность изменений содержания дофамина и гомованилиновой кислоты при введении алкоголя и морфина, что указывает на схожесть эффектов алкогольной и морфиновой интоксикации на обмен данного нейромедиатора в стволе мозга (табл. 1). При 14-суточной алкогольной и морфиновой интоксикации в данном регионе головного мозга сохранялась наибольшая выраженность и однонаправленность изменений содержания компонентов дофаминергической нейромедиаторной системы. Введение алкоголя и морфина в течение 21 суток, так же как и на более ранних сроках, сопровождалось выраженным снижением содержания дофамина, а также существенным ростом уровня его метаболита – гомованилиновой кислоты в стволе головного мозга.

Хроническая алкогольная и морфиновая интоксикация оказывают влияние на функционирование серотонинергической нейромедиаторной системы головного мозга [2, 10, 11]. Наиболее выраженные изменения функционального состояния серотонинергической нейромедиаторной системы в стволе головного мозга наблюдались при 21-суточной интоксикации. Необходимо отметить идентичность в выраженности снижения концентрации серотонина в данном регионе мозга как при введении алкоголя, так и морфина. Учитывая преимущественную локализацию «системы подкрепления» именно в стволовых структурах ЦНС, а также данные о непосредственном участии опиоидной системы в проявлении

патологического влияния алкоголя на нейромедиаторные системы головного мозга [13], можно заключить о принципиальном сходстве влияния пролонгированной интоксикации алкоголем и морфином на серотонинергическую систему в данном отделе ЦНС.

В мозжечке головного мозга при хронической алкогольной и морфиновой интоксикации выраженность нейромедиаторных изменений была меньшей по сравнению со стволовой частью головного мозга (табл. 2). Безусловно, отдельные структуры головного мозга в силу своих морфофункциональных особенностей по-разному реагируют на влияние различных факторов [5]. Одним из них может являться различная проницаемость гематоэнцефалического барьера для химических агентов в отделы мозга.

Таблица 2 – Содержание нейромедиаторов, их предшественников, метаболитов и нейромедиаторных аминокислот в мозжечке головного мозга крыс при хронической алкогольной (числитель) и морфиновой (знаменатель) интоксикации

Показатель	7 суток	14 суток	21 сутки
Дофамин	121% 109%	106% 95%	223%* 92%
3,4-диоксифенилуксусная кислота	119% 197%*	344%* 118%	108% 108%
Гомованилиновая кислота	108% 109%	111% 180%*	119% 223%*
Норадреналин	104% 109%	102% 180%*	89% 119%
5-окситриптофан	101% 91%	94% 33%*	80% 91%
Серотонин	110% 112%	104% 95%	90% 49%*
5-оксииндолуксусная кислота	118% 172%*	86% 113%	77% 97%
ГАМК	101% 172%*	98% 163%*	99% 103%
Глутамат	91% 98%	96% 98%	103% 101%
Аспарат	95% 97%	99% 105%	104% 97%
Глицин	149%* 95%	122% 166%*	77% 106%

Поступающий в организм этанол легко проникает в ЦНС, где распределяется весьма неравномерно. Наибольшие концентрации его обнаруживаются в зрительной зоне коры больших полушарий, гиппокампе, мозжечке, хвостом ядре и ряде других образований. Если концентрацию этанола в мозжечке принять за 100%, то в зрительной зоне коры, в заднем центральном поле, в верхневисочной области коры, в лобной области коры, в полостом теле, в бледном шаре она составит 70, 60, 40, 30, 20 и 10%, соответственно [15]. Одной из причин этих особенностей является разное содержание воды в перечисленных структурах, а также их различное кровоснабжение.

Влияние хронической алкогольной интоксикации на дофаминергическую нейромедиаторную систему мозжечка ограничивалось увеличением уровня самого нейромедиатора при 21-суточном введении этанола (на 123%), а также ростом концентрации его метаболита – 3,4-диоксифенилуксусной кислоты – на 14 сутки интоксикации (на 244%). При длительном введении морфина уровень дофамина не изменялся, тогда как содержание 3,4-диоксифенилуксусной кислоты снижалось на 21 сутки (на 60%), а гомованилиновой – возрастало спустя 7 суток от начала введения наркотика (на 97%). Полученные данные указывают на интенсификацию обмена одного из ключевых нейромедиаторов головного мозга –

дофамина – в мозжечке при длительном введении алкоголя и морфина в организм и, возможно, являются одной из причин психических нарушений, развивающихся при алкоголизме и наркоманиях. В ряде исследований установлено, что в мозжечке имеются зоны, функционально связанные с психическими нарушениями. К ним, в частности, относятся боковые отделы полушарий мозжечка [14]. Нарушения психических функций описаны при поражении мозжечка различного генеза, в том числе и при воздействии различных ПАВ [16].

Хроническая алкогольная интоксикация не оказывала существенного влияния на серотонинергическую нейромедиаторную систему, а также содержание ГАМК в мозжечке (табл. 2). Единственным изменением со стороны нейромедиаторных аминокислот при этом было увеличение концентрации глицина (на 49%), что в какой-то мере подтверждает данные о превалировании тормозных процессов в ЦНС при длительном введении этанола [2].

Влияние хронической морфиновой интоксикации на серотонинергическую систему мозжечка выражалось в снижении концентрации 5-окситриптофана (на 67%) спустя 14 суток от начала морфинизации и уровня самого нейромедиатора на 21 сутки введения наркотика (на 51%), а также увеличении содержания метаболитической формы – 5-оксииндолуксусной кислоты при 7-суточной интоксикации морфином (на 72%).

Влияние хронической морфиновой интоксикации на содержание нейромедиаторных аминокислот в мозжечке несколько отличалось от такового при длительном введении алкоголя (табл. 2). Это проявлялось в более выраженном превалировании тормозных процессов в данном регионе головного мозга на 7-е и 14-е сутки морфинизации и регистрировалось в виде роста концентрации ГАМК в данные временные интервалы (на 72 и 63%, соответственно), а также повышении уровня глицина в двухнедельный период введения наркотика (на 66%).

Увеличение уровней тормозных нейромедиаторных кислот в мозжечке при хронической алкогольной и морфиновой интоксикации, вероятно, является одним из патогенетических звеньев нарушения двигательной активности, развивающейся при данных состояниях [15]. Это, в свою очередь, происходит по причине гибели клеток Пуркиньи и коррелирует со степенью снижения их популяции в мозжечке [17].

В качестве дополнительного метода статистической обработки с целью демонстрации разграничения экспериментальных групп по всему кругу исследованных показателей в стволе головного мозга был использован пошаговый дискриминантный анализ. Выбор данного региона ЦНС в качестве объекта исследования был обусловлен большими, по сравнению с мозжечком, количеством и выраженностью нейромедиаторных нарушений, с одной стороны, и преимущественной локализацией здесь «системы подкрепления», играющей одну из ключевых ролей в механизмах формирования алкогольной и морфиновой интоксикации, с другой.

Результаты, отраженные на рисунках 1 и 2, показывают, что расположение проекций экспериментальных групп на плоскости двух главных компонент при хронической алкогольной и морфиновой интоксикации имеет достаточно выраженное сходство. Наиболее отдаленное положение по первой дискриминантной функции от контроля занимает группа 7-суточного введения этанола и морфина, а по второй – 21-суточная интоксикация. Учитывая принцип распределения экспериментальных групп по всему спектру изученных показателей, используемый

в данном методе статистической обработки, можно говорить об общих тенденциях и схожести нарушений нейромедиаторных процессов в стволе головного мозга при хроническом введении алкоголя и морфина.

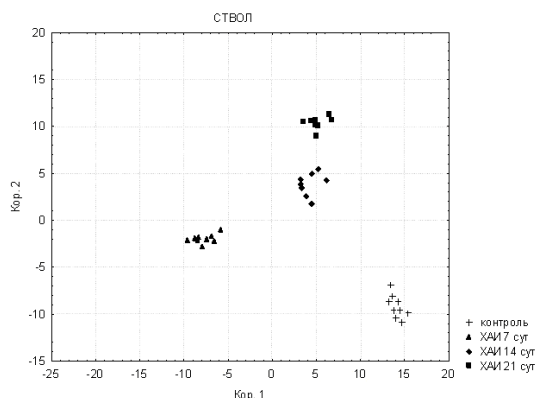


Рисунок 1 – Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных соединений в стволе головного мозга крыс на плоскости двух главных компонент в динамике хронической алкогольной интоксикации

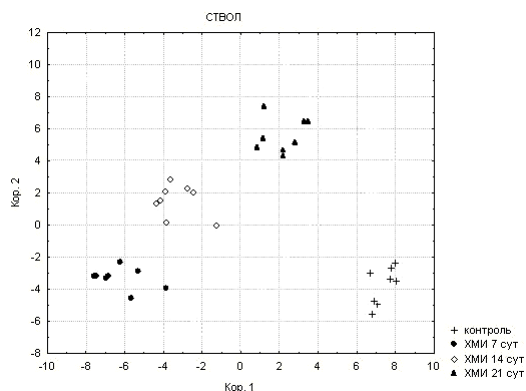


Рисунок 2 – Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных соединений в стволе головного мозга крыс на плоскости двух главных компонент в динамике хронической морфиновой интоксикации

Заключение

Таким образом, хроническая алкогольная и морфиновая интоксикация оказывает схожий эффект на состояние дофаминергической нейромедиации в стволе головного мозга. Это проявляется снижением уровня дофамина на 14-е и 21-е сутки введения этанола и морфина, а также существенным ростом концентрации гомованилиновой кислоты на протяжении всего срока экспериментов. Кроме того, длительное введение алкоголя и наркотика оказывает идентичный ингибирующий эффект на содержание серотонина в данном регионе головного мозга на 21 сутки интоксикации.

В мозжечке экспериментальных животных, длительно получавших этанол и морфин, выраженность нейромедиаторных нарушений было несколько ниже, чем в стволе мозга. Схожесть хронической алкогольной и морфиновой интоксикации в данном отделе ЦНС при этом выражалась в отсутствии существенных эффектов на содержание некоторых нейромедиаторных аминокислот (глутамат, аспаргат).

Литература

1. Анохина, И.П. Структура и функция α_2 -адренергических рецепторов и их роль в развитии алкогольной и наркотической зависимости / И.П. Анохина, Н.Л. Векшина, В.А. Томилин // Наркология. 2008. – № 1. – С. 22–28.
2. Анохина, И.П. Биологические механизмы предрасположенности к зависимости от психоактивных веществ / И.П. Анохина // Вопросы наркологии. 2006. – № 1. – С. 21–30.
3. Анохина, И.П. О единстве биологических механизмов индивидуальной предрасположенности к злоупотреблению различными психоактивными веществами / И.П. Анохина, А.Г. Веретинская, Г.Н. Васильева, И.В. Овчинников // Физиология человека. 2000. – Т. 26, № 6. – С. 76–81.
4. Биришполец, В.В. Структурно-функциональная организация дофаминергической системы головного мозга / В.В. Биришполец, О.Ю. Федотов, Н.С. Сапронов // Эксперим. и клин. фармакология. 2009. – № 3. – С. 44–49.
5. Иванец, Н.Н. Руководство по наркологии. – М.: Медпрактика, 2002.
6. Дорошенко, Е.М. Содержание свободных аминокислот в тромбоцитах и в плазме крови доноров / Е.М. Дорошенко, Л.И. Нефедов, И.И. Климович, В.Ю. Смирнов, Г.Н. Завьялова, В.И. Нагацкий // Здоровье Беларуси. 1994. – № 12. – С. 20–23.
7. Кибитов, А.О. Молекулярно-генетический анализ наследственной отягощенности по алкоголизму у наркологических больных: полиморфизм гена дофаминового рецептора типа 4 (DRD4) / А.О. Кибитов, Е.Ю. Воскобоева, В.М. Бродянский, Н.А. Чупрова, Е.В. Смирнова // Вопросы наркологии. 2009. – № 4. – С. 13–31.
8. Кибитов, А.О. Полиморфизм генов дофаминовых рецепторов у больных алкоголизмом и героиновой наркоманией / А.О. Кибитов, Е.Ю. Воскобоева, И.А. Моисеев, И.Ю. Шамакина, И.П. Анохина // Наркология. 2007. – № 4. – С. 31–38.
9. Нефедов, Л.И. Таурин индуцирует дисбаланс пула нейромедиаторных аминокислот и биогенных аминов в отделах головного мозга / Л.И. Нефедов, Е.М. Дорошенко, В.Ю. Смирнов, Г.Н. Завьялова, И.И. Климович // Украинский биохим. журнал. 1996. – Т. 68, № 1. – С. 21–26.
10. Сиволап, Ю.П. Алкогольная болезнь мозга / Ю.П. Сиволап // Журнал неврологии и психиатрии. 2006. – № 5. – С. 4–8.
11. Филипп, де Витт. Влияние алкоголя на нейромедиаторные системы мозга / де Витт Филипп // Вопросы наркологии. 2002. – № 1. – С. 55–56.
12. Черепкова, Е.В. Исследование полиморфизмов ряда генов нейромедиаторной системы головного мозга и опиоидной рецепции у наркотизирующихся / Е.В. Черепкова, И.А. Грибачева // Бюллетень сибирской медицины. 2009. – № 3 (2). – С. 49–51.
13. Шохонова, В.А. Взаимодействие холинергической и опиоидной систем в условиях действия морфина / В.А. Шохонова, О.Б. Петриченко, Т.В. Проскуракова // Наркология. 2007. – № 2. – С. 49–55.
14. Allen, G. Attentional activation of the cerebellum independent of motor involvement / G. Allen, R.B. Buxton, E.C. Wang et al. // Science. – 1997. – Vol. 275. – P. 1940–1943.
15. Belcher, S.M. Time course and manner of Purkinje neuron death following a single ethanol exposure on postnatal day 4 in the developing rat / S.M. Belcher, K.E. Light, D.R. Pierce // Neuroscience. – 2002. – Vol. 114, N 2. – P. 327–337.
16. Canavan, A.G. Conditional associative learning is impaired in cerebellar disease in humans / A.G. Canavan, R. Sprengelmeyer, H.C. Diener et al. // Behav. Neurosci. – 1994. – Vol. 108. – №3. – P. 475–485.
17. Thomas, J. Alcohol-induced Purkinje cell loss depends on development timing of alcohol exposure and correlated with motor performance / J. Thomas, C. Goodlett, J. West // Dev. Brain Res. – 1998. – Vol. 105, N 2. – P. 159–166.

Поступила 08.11.2011