

Kryspin Andrzejewski

WPŁYW JEDNOSTRONNEGO USZKODZENIA
KOMPLEKSU NIGROSTRIATALNEGO
NA NERWOWĄ I CHEMICZNĄ REGULACJĘ
ODDYCHANIA

Rozprawa doktorska

Promotor:

dr hab. n. med. Katarzyna Kaczyńska

Pracownia Fizjologii Oddychania

Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej

im. M. Mossakowskiego

Polskiej Akademii Nauk



Warszawa, 2016

STRESZCZENIE

Choroba Parkinsona (ChP) jest jedną z najczęstszych postępujących chorób neurodegeneracyjnych, dotykającą ludzi powyżej 60 roku życia. Przyczyną objawów klinicznych jest uszkodzenie neuronów dopaminergicznych szlaku czarnoprążkowiowego. Zmiany wywołane ChP przybierają często szersze rozmiary i dotyczą także neuronów noradrenergicznych czy serotoninergicznych. Wcześniejsze etapy choroby Parkinsona cechuje zwiększony jednostronny ubytek dopaminy, w przeciwieństwie do zaawansowanych stadiów choroby, w których zmiany dotyczą obu półkul mózgu. Oprócz objawów związanych z układem ruchu choroby manifestują zaburzenia nieoddechowych funkcji układu oddechowego takie jak: niewyraźna i cicha mowa, trudności w połykaniu, jak również zaburzenia oddychania w tym zwiększoną częstość bezdechów. Zachłystowe zapalenie płuc często stanowi przyczynę śmierci cierpiących na chorobę Parkinsona.

Jednym z najlepiej opisanych i powtarzalnych modeli ChP jest model z domózgową iniekcją 6-hydroksydopaminy (6-OHDA), która wywołuje u zwierząt kliniczne objawy ChP, wynikające z selektywnego uszkodzenia neuronów dopaminergicznych w układzie nigrostriatalnym. W celu uniknięcia jednoczesnej degeneracji neuronów noradrenergicznych zwierzętom podaje się dezypraminę, bloker transportera noradrenaliny.

Mechanizmy leżące u podstaw zmian w układzie oddechowym w aspekcie ChP są mało poznane i wymagają dalszych badań.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu jednostronnego uszkodzenia układu czarnoprążkowiowego szczura podaniem 6-OHDA do prawego pęczka przyśrodkowego przedomózgowia (MFB) na nerwową aktywność oddechową, z uwzględnieniem roli układu dopaminergicznego i serotoninergicznego.

Doświadczenia oddechowe u zwierząt czuwających przeprowadzono w komorze pletyzmograficznej, rejestrując parametry wentylacji płucnej. Aktywność oddechową badano

w normoksji i podczas odpowiedzi oddechowej na hipoksję (8% O₂ w N₂) oraz hiperkapnię (7% CO₂ w O₂) zarówno przed jak i w 14 dni po iniekcji 6-OHDA.

U szczurów uśpionych rejestrowano aktywność nerwów przeponowego i podjęzykowego podczas normoksji i hipoksji. W skrawkach mózgów zwierząt zliczano neurony dopaminergiczne. Oznaczano także poziomy amin biogennych oraz ich metabolitów w homogenatch z prążkowie i pnia mózgu. Dodatkowym narzędziem potwierdzającym skuteczność iniekcji 6-OHDA był test behawioralny cylindra.

Po lezji, u czuwających zwierząt wykazano przy niezmiennych parametrach oddychania w normoksji, wzrost objętości oddechowej i spadek częstości oddychania w odpowiedzi na hipoksję, co przełożyło się na wzrost wentylacji minutowej w maksimum reakcji. W reakcji na hiperkapnię u zwierząt traktowanych 6-OHDA zaobserwowano wzrost stymulacji objętości oddechowej oraz wentylacji minutowej. Odpowiedź częstości oddychania uległa natomiast nieistotnemu zmniejszeniu.

U zdrowych zwierząt po zablokowaniu obwodowych receptorów dopaminergicznych przez domperidon stwierdzono wzrost normoksyjnej objętości oddechowej i wentylacji minutowej przy nieznacznie zwiększonej reaktywności oddechowej na hipoksję. Z kolei zablokowanie obwodowych i ośrodkowych receptorów dopaminergicznych D₂ przez haloperidol spowodowało u zwierząt przed lezją wzrost objętości oddechowej i wentylacji minutowej w odpowiedzi oddechowej na hipoksję. Efekt domperidonu i haloperidolu nie był obserwowany u zwierząt po lezji.

Kolejnym aspektem niniejszej pracy było testowanie odpowiedzi oddechowej na hipoksję po podaniu agonisty i antagonisty receptorów serotoninergetycznych 5-HT_{2A}, odpowiednio: DOI i ketanseryny. U wszystkich zwierząt podanie DOI wywoływało wzrost parametrów wentylacji w normoksji oraz osłabienie reakcji oddechowej na hipoksję, co było odwracane przez podanie antagonistycznie działającej ketanseryny. Reaktywność wentylacji

minutowej na hipoksję po DOI 14 dni od iniekcji 6-OHDA była zmniejszona w porównaniu do stanu przed leżją.

Analiza neurogramu nerwu przeponowego wykazała znamienne wydłużenie normoksyjnego czasu wdechu oraz czasu wydechu i całkowitego czasu cyklu oddechowego podczas hipoksji w grupie z ChP. Amplituda nerwu podjęzykowego uległa zwiększeniu u zwierząt uśpionych z modelem ChP w porównaniu do zwierząt sham w reakcji na hipoksję. Ponadto uszkodzenie neuronów dopaminergicznych wpłynęło na zmniejszenie stosunku amplitudy przedwdechowej do wdechowej nerwu podjęzykowego, zarówno w normoksji jak i w hipoksji.

Analiza immunohistochemiczna skrawków mózgów szczurzych potwierdziła ubytek neuronów dopaminergicznych w obszarze ipsilateralnej istoty czarnej. Zmiany w układzie dopaminergicznym w badanym modelu zostały potwierdzone istotnym ubytkiem dopaminy w prążkowie po stronie ipsilateralnej oraz niewielkim po stronie kontralateralnej względem miejsca iniekcji. W pniu mózgu nie zanotowano zmian w poziomie dopaminy natomiast jej obrót uległ zwiększeniu. W obu badanych strukturach mózgu wykazano także istotny ubytek serotoniny oraz wzrost jej obrotu, co potwierdza także zmiany w układzie serotonergicznym w badanym modelu.

W celu potwierdzenia skuteczności leżji wykonany został test behawioralny w cylindrze. U zwierząt po iniekcji 6-OHDA do MFB wykazano zmniejszoną aktywność kończyny przedniej kontrateralnej względem miejsca iniekcji, spadek ruchliwości oraz mniejsze przybieranie masy ciała w odniesieniu do grupy pozorowanej.

Eksperymentalnie uzyskane dane w zastosowanym zwierzęcym modelu choroby Parkinsona z jednostronną iniekcją 6-OHDA do MFB, pokazujące ubytek dopaminy i serotoniny w prążkowie i pniu mózgu oraz zmiany behawioralne, naśladują objawy obserwowane u ludzi chorych na ChP. Iniekcja 6-OHDA do MFB może stanowić zatem

wartościowy model do badań nad zmianami w funkcjonowaniu układu oddechowego w chorobie Parkinsona.

Podsumowanie i wnioski:

- Dopamina jest hamującym modulatorem oddychania poprzez swoje oddziaływanie na receptory D₂. Jej ubytek stymulował wentylację w hipoksji w badanym modelu ChP oraz po podaniu antagonistów receptorów dopaminergicznych D₂ w warunkach normoksji i hipoksji u zwierząt zdrowych
- Zwiększona wentylacja w reakcji na podwyższony poziom CO₂ we wdychanym powietrzu w modelu ChP wskazuje na hamującą rolę dopaminy w odpowiedzi na bodziec hiperkapniczny
- Uszkodzenie szlaku czarnoprążkowiowego powoduje zmiany w układzie serotonergicznym, co zostało potwierdzone zmniejszonym poziomem serotoniny w prążkowie i pniu mózgu oraz obniżoną reakcją na hipoksję po aktywacji receptorów 5-HT₂
- Zmiany w aktywności przedwdechowej nerwu podjęzykowego (odpowiadającego za utrzymanie drożności górnych dróg oddechowych) u zwierząt po lezji wskazują na modyfikacje w ośrodkowych mechanizmach kontrolujących aktywność nerwu XII i mogą stanowić przyczynę zaburzeń oddychania obserwowanych w chorobie Parkinsona