

Tartu Ülikool
Psühholoogia instituut

Nele Taba

**LOCUS COERULEUS'E OSALISE JA ULATUSLIKU DENERVATSIOONI
MÕJU KOKAIINI JA APOMORFIINI POOLT INDUTSEERITUD ROTTIDE
LIIKUMISAKTIIVSUSELE**

Seminaritöö

Juhendajad: Kadri Kõiv, Jaanus Harro

Läbiv pealkiri: *Locus coeruleuse* osalise denervatsiooni mõju liikumisaktiivsusele

Tartu 2012

***Locus coeruleus*'e osalise ja ulatusliku denervatsiooni mõju kokaiini ja apomorfiini poolt indutseeritud rottide liikumisaktiivsusele.**

KOKKUVÕTE

Käesolevas eksperimendis uuriti *locus coeruleuse* (LC) projektsioonide osalise kahjustamise mõju kokaiinist ja apomorfiinist indutseeritud liikumisaktiivsusele ning monoamiinide ja nende metaboliitide sisaldusele frontaalkoores ja hipokampuses. 72 isast Wistari rotist moodustati kolm katserühma: 1) kolmandikule manustati närvimürki DSP-4 annuses 50 mg/kg; 2) kolmandikule manustati närvimürki DSP-4 annuses 10 mg/kg, et tekitada vastavalt ulatuslikku ja väksemahulist LC denervatsiooni.; 3) kontrollrühm. Igast rühmast kolmandikule rottidest manustati kokaiini, kolmandikule apomorfiini, et mõjutada liikumisaktiivsust, ja kolmandikule destilleeritud vett. Selgus, et ulatuslik LC denervatsioon (50 mg/kg DSP-4) vähendas kokaiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsust ning ei mõjutanud apomorfiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsust. Ühtlasi selgus, et LC denervatsioon mõjutab kõige rohkem noradrenergilist süsteemi, kuid omab seejuures märgatavat mõju ka serotonergilisele ja dopamiinergilisele süsteemile.

Märksõnad: kokaiin, apomorfiin, liikumisaktiivsus, Wistari rotid, *locus coeruleus*, DSP-4, monoamiinid

Effect of partial and substantial denervation of *locus coeruleus* upon cocaine- and apomorphine-induced locomotion in rats.

ABSTRACT

In the present study the effect of denervation of *locus coeruleus* (LC) upon cocaine and apomorphine induced locomotion and monoamine concentration in frontal cortex and hippocampus in rats were investigated. 72 male Wistar rats were divided into three groups: 1) one third were injected with 50 mg/kg dose of neurotoxin DSP-4; 2) one third were injected with 10 mg/kg dose of DSP-4, to create respectively substantial and partial denervation of LC; 3) control group. In every group, one third of rats were injected with cocaine and one third with apomorphine to affect locomotion, and one third with distilled water. It was demonstrated that the substantial denervation (50 mg/kg DSP-4) of LC reduced cocaine-induced locomotion but did not have any effect on apomorphine-induced locomotion. Also, LC denervation affects at the most noradrenergic system, but has also noticeable effect on serotonergic and dopaminergic system.

Keywords: cocaine, apomorphine, locomotion, Wistar rats, *locus coeruleus*, DSP-4, monoamines

SISSEJUHATUS

Monoamiinid dopamiin ja noradrenaliin, nende omavaheline seos ning mõju liikumisaktiivsusele.

Katehoolamiinid kuuluvad monoamiinide rühma ning sisaldavad benseenituumaa ja etüülamiini. Kõige olulisemad katehoolamiinid on dopamiin (edaspidi DA), noradrenaliin (edaspidi NA) ja adrenaliin, seega nii dopamiin kui ka noradrenaliin on sarnase koostisega. Dopamiinist sünteesib noradrenaliini ensüüm nimega dopamiini beeta-hüdroksülaas (edaspidi DBH), kasutades kofaktoritena askorbiinhapet, hapnikku ning vaske. Kuna dopamiini beeta-hüdroksülaas on vaske sisaldav ensüüm, saab seda inhibeerida ravimitega, mis käituvad vaseiooni siduvate ainetena (muutes DBH suutmatuks teistes bioloogilistes reaktsioonides osalema). Lisaks dopamiini osalemisele liikumise aktiveerimises, leiavad Weinshenker ja Schroedinger (2007), et ka noradrenaliin omab olulist rolli psühhostimulantide poolt indutseeritud liikumisaktiivsuses ja sensitisatsioonil. DA retseptorite antagonistide manustamisest tekkinud tüüpiline tagajärg on spontaanse uudistamise ning liikumisaktiivsuse piiramine (Feldman, Meyer & Quenzer, 1997).

Locus coeruleus (edaspidi LC) noradrenergilised projektsoone leidub mitmetes kohtades närvisüsteemis, näiteks hipokampus, väikeajus ning eesajus. LC on ainuke NA allikas ajukoos ning hipokampus (Kõiv jt., 2011). LC noradrenergiline süsteem reguleerib dopamiinergilisi juhteteid ventraalses tegmentumis, kus noradrenergilised neuronid moduleerivad dopamiini vabastamist postsünaptiliste α_1 -adrenoretseptorite abil (Grenhoff, 1993). Ventura jt. (2003) näitasid, et prefrontaalsel NA ülekandel on oluline roll dopamiini vabastamise mõjutamisele *nucleus accumbens*, seega dopamiinergiline ja noradrenergiline süsteem interakteeruvad omavahel kaudselt prefrontaalse koore kaudu.

Neurotoksiini DSP-4 mõju liikumisaktiivsusele ning monoamiinide sisaldusele ajukoos

DSP-4 ehk N-(2-kloroetüül)-N-etüül-2-bromobensüülamiin on selektiivne närvimürk, mis kahjustab *locus coeruleusest* (edaspidi LC) lähtuvaid noradrenergiliste närvirakkude lõpmeid (Jonsson, Hallman, Ponzio, Ross, 1981), põhjustab rottidel neofobiat (Harro, Orelund, Vasar ja Bradwejn, 1995), vähendab liikumisaktiivsust (Harro jt., 2000) ning mõjutab kaalus juurde võtmist. On näidatud, et rotid, kellele on manustatud neurotoksiini DSP-4, võtavad lühiajaliselt kaalus aeglasemalt juurde, kui need, kellele ei ole süstitud

neurotoksiini (Szot jt., 2010). Tavaliselt kasutatakse katseloomadel vastavalt väiksemahulise ja ulatusliku denervatsiooni tekitamiseks annuseid 10 mg/kg ja 50 mg/kg. Samasid annuseid kasutati ka käesolevas eksperimentis.

DSP-4 mõjutab erinevate monoamiinide sisaldust aju erinevates osades. 10 mg/kg DSP-4 annus vähendab noradrenaliini 20-25 % frontaalkoores ja 15-20 % hipokampuses (Altoa jt., 2005) ning tõstab dopamiinisaldust 21 % frontaalkoores (Kõiv jt., 2011). 50 mg/kg DSP-4 annus vähendab dopamiinisaldust hipokampuses ja väikeajus 30-40 % ning NA sisaldust frontaalkoores kuni 80 % (Archer, Jonsson, Ross, 1984). Kõiv jt. (2011) katses vähenes LC suuremahulise denervatsiooni korral NA tase frontaalkoores 53% ning hipokampuses 74%.

Schmidt ja Srinivasan (2004) leidsid, et DSP-4 üksi ei põhjusta katalepsiat ja hüpoaktiivsust, kuid võimendab haloperidooli poolt indutseeritud katalepsiat ja hüpoaktiivsust. Uuritud on DSP-4 mõju pulsile ja vererõhule ning leiti, et neid näitajaid DSP-4 märgatavalt ei muutnud (Dooley jt., 1983). On ka vastuväiteid DSP-4 selektiivsusele – Szot jt. (2010) väidavad, et DSP-4 ei ole selektiivne LC noradrenergiline neurotoksiin, vaid mõjutab lisaks *locus coeruleusele* ka teisi piirkondi.

Kuna DSP-4 vähendab liikumisaktiivsust, saab püstitada hüpoteesi, et DSP-4 omab sarnast efekti mõlema ravimi korral, mõjudes nii apomorfiini- kui ka kokaiinirühma rottide liikumisaktiivsusele pärssivalt.

Kokaiini mõju liikumisaktiivsusele ning monoamiinide sisaldusele hipokampuses ja frontaalkoores

Kokaiin on psühhostimulaator, mille peamine mõju seisneb monoamiinide dopamiini, serotoniini ja noradrenaliini tasemete tõstmises läbi transporterite ja tagasihaardemehhanismide blokeerimise (Beveridge, Smith, Nader ja Porrini, 2004; Vanderschuren, Beemster, Schoffelmeer, 2003) ning mis kutsub esile hüperaktiivsuse ja eufooria (Vanderschuren jt., 2003). Kokaiini liigtarvitamist seostatakse autonoomse düsregulatsiooniga, näiteks vererõhu ja südamelöökide sageduse muutumisega (Beveridge jt., 2004). Lisaks on näidatud, et kokaiini mõju sõltub LC projektsioonide rikkumatusast (Kõiv jt., 2011).

Kokaiin tõstab annusest sõltuvalt DA ja serotoniini (edaspidi 5-HT) rakuvälist taset prefrontaalkoores. Pum, Carey, Huston ja Muller (2007), kasutades *in vivo* mikrodialüüsi

meetodit, näitasid oma katses, et 20 minutit pärast 10 mg/kg kokaiini süstimist rottidele on DA rakuväline tase prefrontaalkoores 228% võrra suurenenud ning 20 minutit pärast 20 mg/kg kokaiini süstimist on prefrontaalkoores DA tase 178% ning 5-HT tase 312 % võrra suurenenud. 10 mg/kg kokaiini nende katses 5-HT tasemele nii tugevat efekti ei avaldanud. Ühtlasi selgus nende katsest, et 20 mg/kg annus kokaiini tõstab oluliselt rottide liikumisaktiivsust, samas kui 10 mg/kg oluliselt liikumisaktiivsust ei tõsta. Kõiv jt. (2011) leidsid, et nii väiksemahuline kui ka ulatuslik LC denervatsioon vähendas, kuid ei kaotanud täielikult kokaiini liikumisaktiivsust tõstvat efekti. Kokaiini poolt indutseeritud hüperaktiivset liikumisaktiivsust seostatakse tavaliselt dopamiini tagasihaarde pärssimisega (Drouin, Blanc, Villegier, Glowinski, Tassin, 2002).

Apomorfiini mõju liikumisaktiivsusele ning monoamiinide sisaldusele hipokampus ja frontaalkoores

Apomorfiin on oluline D₂-laadsete dopamiinireseptorite agonist (Feldman jt., 1997). Ajalooliselt näitas esimesena apomorfiini toimet kesknärvisüsteemile Erich Harnack (varasemalt oli teada apomorfiini emeetiline toime), kes oma Tartus Vanas Anatoomikumis läbi viidud loomeksperimentides kirjeldas apomorfiini mõju käitumisele erinevatel loomaliikidel (Harnack, 1874). Apomorfiin on morfiini analoog ning, sarnaselt morfiinile, põhjustab ka apomorfiin iiveldust ja oksendamist. Kuna rotid ei ole võimelised oksendama, on nad sobivad katseloomad apomorfiini mõju uurimiseks. Varasemast on teada, et D₂ retseptorite aktivatsioon põhjustab suurenenud liikumist ning stereotüüpse käitumise sündroomi (koonuga maaga ühenduses olemine, tiirlev edasiliikumine, nuuskimine) (Feldman jt., 1997).

Apomorfiin väikese annusena (30 mikrogrammi, nahaaluselt manustatuna) vähendab dopamiinergilist ülekannet läbi dopamiini autoreseptorite stimulatsiooni ning põhjustab sellega aktiivsuse languse käitumises (Carnoy jt. 1986). Arvatakse, et muutus käitumises tuleb pigem motivatsiooni ja tunnetuse düsfunktsionaalsusest kui motoorsest kahjustusest (Carnoy jt., 1986). Chow ja Beck (1984) poolt läbi viidud uuring näitas, et rotid, kellele on manustatud apomorfiini (5 mg/kg, kõhuõõnde süstituna), tõusevad harvemini tagakäppadele ning liiguvad rohkem ringi, kui rotid, kellele ei ole manustatud apomorfiini. Lisaks sellele leidsid Wang ja teised (2010), tehes tiirleva käitumise katset LC kahjustusega ning

substantia nigra pars compacta kahjustusega rottidega, et LC kahjustus tugevdab rottidel apomorfiini (0,5 mg/kg, nahaaluselt manustatuna) poolt indutseeritud liikumisaktiivsust.

Kuna D₂ retseptorite aktivatsioon põhjustab suurenenud liikumist ning koonuga maaga ühenduses olemist, siis võib oletada, et apomorfiin D₂-laadsete retseptorite agonistina suurendab rottide horisontaalset, kuid vähendab vertikaalset liikumisaktiivsust.

Uurimuse eesmärk

Käesoleva eksperimendi eesmärgiks on selgitada *locus coeruleuse* noradrenergiliste projektsioonide osalise ja ulatusliku kahjustuse mõju kokaiini ja apomorfiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsusele.

Hüpoteesid

1. Apomorfiin D₂-laadsete retseptorite agonistina suurendab rottide horisontaalset, kuid vähendab vertikaalset liikumisaktiivsust.
2. Noradrenaliin omab olulist rolli psühhostimulantide poolt indutseeritud liikumisaktiivsuses.
3. LC projektsioonide nii ulatuslik kui ka väiksemahuline denervatsioon mõjud mõlema ravimi korral liikumisaktiivsusele sarnaselt (kui vähendab liikumisaktiivsust kokaiinirühmal, siis vähendab ka apomorfiinirühmal ja vastupidi).

MEETOD

Katseloomad

72 isast Wistar liini rott (Harlan Laboratories, Holland) olid majutatud neljakaupa Biomedikumi vivaariumisse läbipaistvatesse polüpropüleenist puuridesse. Ruumis, kus katseloomi hoiti, oli automatiseeritud 12-tunnine valguse/pimeduse tsükkel (tuled läksid põlema kell 8.30 hommikul) ja temperatuur oli püsivalt $21\pm 1^{\circ}\text{C}$. Toit (R70 Lactamin, Rootsi) ja vesi olid rottidele kättesaadavad piiramatult. Kõik katsed viidi läbi 2010.a. aprillis ja mais, kellaajalises vahemikus 12.00 kuni 19.00. Eksperiment oli heaks kiidetud Tartu Ülikooli Eetikakomitee poolt.

Katsedisain oli kahefaktoriaalne: DSP4 (0, 10, 50) x ravim (0, kokaiin, apomorfiin); igas grupis 8 rott.

Ravimite manustamine

Locus coeruleuse projektsioonide osaliseks kahjustamiseks kasutati närvimürki DSP-4 (N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine; AstraZeneca, Södertälje, Rootsi), mida süstiti katseloomadele 6 päeva pärast Biomedikumi vivaariumis neljakaupa puuridesse paigutamist. 10 mg/kg ja 50 mg/kg annuste manustamiseks kaaluti toksiin iga looma kohta eraldi välja, lahustati destilleeritud vees ning süstiti otsekohe pärast lahustamist kõhuõõnde (2 ml/kg). Kontrollgrupi rottidele süstiti destilleeritud vett.

Kokaiin (Synopharm GmbH & Co. KG, Saksamaa) lahustati destilleeritud vees ning süstiti kõhuõõnde 15 mg/kg annusena 2 ml/kg lahuses vahetult enne liikumisaktiivsusekatse tegemist. Apomorfiin lahustati 0,001 % askorbiinhappe lahuses ning manustati nahaaluselt 1mg/kg annusena 1 ml/kg lahuses. Kontrollrühma rottidele süstiti 2 ml/kg destilleeritud vett. Rotid majutati nii, et ühes puuris elasid koos loomad, kes olid saanud sama DSP-4 annuse ja sama ravimi (kokaiin, apomorfiin või kontrollrühm).

Katseseade

Jälgimaks rottide liikumisaktiivsust, kasutati varasemate katsete jaoks ehitatud paigaeelistuskasti (Foto 1). Paigaeelistuskast koosneb kümnest 30x30x40 cm kambrist, millest pooled on värvitud valgeks ning pooled halliks. Iga hall kamber on suletava avause

kaudu ühendatud ühe valge kambriga. Kuna liikumisaktiivsuskatses kasutasime vaid nelja valget kambrit, olid need avaused terve liikumisaktiivsuskatse kestel suletud (katseseadmega harjutamise ajal olid avaused lahti ning rottid said vabalt liikuda kahe kambri vahel). Katse ajaks kaeti paigaeelistuskast pleksiklaasiga, millele olid märgitud iga kambriks neljaks võrdse suurusega ruuduks jaotavad jooned. Eksperimentaator lahkus ruumist iga kord kohe pärast rottide paigutamist paigaeelistuskasti ja selle katmist pleksiklaasiga. Iga kord pärast rottide eemaldamist paigaeelistuskastist puhastati kambrid, milles rotid viibisid, niiskete paberkäterätikutega. Loomade liikumise filmimiseks kasutati Sony videokaamerat.

Foto 1. Paigaeelistuskast liikumisaktiivsuskatse ajal pealtvaates.



Katse käik

Eksperimentaatoriga harjutamised (edaspidi *handling*), baastaseme treeningud ja katsed toimusid vahemikus 26. aprillist kuni 2. mai 2010 (üldine katseplaan on toodud tabelis 2). Iga päev mainitud ajavahemiku jooksul kaaluti kõik rotid üle (vahetult enne *handlingut*, paigaeelistuskasti paigutamist või süstimist). Vähendamaks rottide hirmureaktsiooni ja ärevust eksperimentaatorite ja uue ruumi suhtes, harjutati kolmel järjestikusel päeval enne paigaeelistuskastiga tutvustamist rotte katse läbiviijatega läbi *handlingu*-protseduuri. *Handlingu* ajal võtsid eksperimentaatorid iga roti üksikhaaval kätte ning lasid ennast kindla aja jooksul nuuskida. Selleks ajaks oli esimesel *handlingu*päeval 1 minut ning kahel järgneval päeval 2 minutit roti kohta. Rottide eristamiseks olid iga kasti kõik 4 rotti erinevalt märgistatud (1 kuni 5 musta markeriga tehtud triibuga sabajuurel).

Tabel 2. Üldine katseplaan.

katsepäev	0	6.	7.	8.	9.	10.	11.
Toiming	DSP4/destilleeritud vee manustamine	Handling1	Handling2	Handling3	Katseseadmega harjutamine 1	Katseseadmega harjutamine 2	Liikumisaktiivsuskatse valges kambris 15 min

Katseseadmega harjutamine

Üheksandal päeval pärast DSP-4 süstimist toimus esimene katseseadmega harjutamine. Rotid paigutati ükshaaval paigaeelistuskasti, mille vaheuksed olid avatud, seega rotid said vabalt liikuda nii hallis kui ka valges kambris. Paigaeelistuskastiga tutvumise ajal rottidel omavahel kontakti ei olnud. Pärast paigaeelistuskasti katmist pleksiklaasiga, lahkusid eksperimentaatorid ruumist ning tulid tagasi 15 minuti pärast. Seejärel puhastati paigaeelistuskast, viidi rotid tagasi loomaruumi ning toodi puur järgmiste rottidega. Puuride vivaariumist toomise järjekord oli mõlema baastaseme ja kõikide *handlingute* ajal erinev. Kõik rotid said paigaeelistuskastiga esmakordselt tutvuda samal päeval. Järgmisel päeval korrati katseseadmega harjutamist ning seda filmiti.

Liikumisaktiivsuskatse

Üheteistkümnendal päeval pärast DSP-4 manustamist toimus katse, mille käigus süstiti rottidele vastavalt katserühmale kokaiini, apomorfiini või destilleeritud vett ning paigutati nad paigaeelistuskasti valgesse kambrisse (1 puur rotte korraga ning puuride võtmise järjekord oli juhuslik). Terve katse aja oli halli ja valge kambri vaheline avaus suletud. Pärast paigaeelistuskasti katmist pleksiklaasiga lahkus eksperimentaator 15 minutiks ruumist. Seejärel eemaldati rotid paigaeelistuskastist, loeti üle defekatsioonid iga roti kohta ning puhastati paigaeelistuskast niiskete paberkäterätikutega. Sama protseduur viidi läbi kõikide rottidega. Liikumisaktiivsuskatset filmiti, kasutamaks seda rottide liikumisaktiivsuse analüüsiks.

Monoamiinide ning nende metaboliitide sisalduse määramine

Kõik katseloomad dekapiteeriti kaheteistkümnendal kuni kolmeteistkümnendal päeval pärast neurotoksiini manustamist, ajud eemaldati koheselt ning neist võeti koeproovid, mis külmutati otsekohe kuival jääl ning säilitati temperatuuril -80 °C. Antud katse jaoks määrati NA, DA, 5-HT ning nende metaboliitide normetanefriini (edaspidi NMN), 3,4-dihüdroksüfenüüläädikhappe (DOPAC), 3-metoskütüramiini (3-MT), homovanilliinhappe (HVA) ja 5-hüdroksü-indooläädikhappe (5-HIAA) sisaldused 71 roti frontaalkoores ja hipokampuses. NMN, DOPAC, 3-MT ning HVA ei olnud ei frontaalkoores ega hipokampuses mõõtmist võimaldavas sisalduses.

Monoamiinide ning nende metaboliitide sisaldusi koeproovides mõõdeti kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (high performance liquid chromatography, HPLC) meetodil elektrokeemilise detektoriga. Roti ajukoe proovid homogeniseeriti Bandelin Sonopuls ultrahelihomogenisaatoriga (Bandelin Electronics, Saksamaa) jääkülmas 0,1M perkloorhappe lahuses (50 µl/mg koe kohta), mis sisaldas oksüdeerumise vältimiseks 5mM naatriumdisulfitit ja 0,04 mM ETAD-d. Seejärel tseentrifuugiti homogenaati 10 minutit 17 000*g 4°C juures. Saadud supernatandi proovid (10 µl) kromatografeeriti Luna C18(2) kolonnil (150mm*2mm; 5µm). Lahutamine tehti isokraatilise voolutamise meetodil kolonni temperatuuril 30°C, kasutades liikuvat faasi koostisega: 0,05M naatriumtsitraadi puhver pH tasemel 3,7; 0,02 mM EDTA; 0,01 mM KCl, 1mM naatrium-oktüül sulfonaat ja 7,5% atsetoontriili. Kromatograferimissüsteem koosnes Hewlett Packart HP 1100-seeria isokraatilisest pumbast, termostaadiga autosamplerist, kolonnitermostaadist ja HP 1049 elektrokeemilisest detektorist (Agilent, Waldbronn, Saksamaa) klaassüsinikelektroodiga. Mõõtmisi tehti elektroodi potentsiaalil +0,6V Ag/AgCl referentselektroodi suhtes (Kõiv, 2006).

Katsematerjalide vaatamine

Katsematerjalidest vaadeldi ning registreeriti eraldi iga roti kohta 15 minuti jooksul tagakäppadele tõustud kordade arv (vertikaalne liikumisaktiivsus) ning sektorite vahetamise arv (horisontaalne liikumisaktiivsus). Sektorite vahetamise arvu lugemiseks oli iga kamber mõtteliselt jagatud neljaks võrdseks ruuduks ning loeti kokku, mitu korda katseloom ruutude piire ületab. Kokku vaadeldi 18 tundi videomaterjali, millest terve materjali (72 rotti) vaatas läbi ja skooris rottide liikumisaktiivsuse Kadri Kõiv ning eksperimenteritevahelise korrelatsiooni leidmiseks vaatasin läbi ja registreerisin

tulemused poole materjali (36 rotti) kohta mina. Omavaheline korrelatsioon oli meil vaadeldud tõusude arvu korral $r=0,966$, $p<0,001$ ning läbitud sektorite arvu korral $r=0,922$, $p<0,001$. Videomaterjalide vaatamiseks kasutati programmi Sony PMB – Picture Motion Browser. Abivahendina kasutati märgistusega kilesid arvutiekraanil.

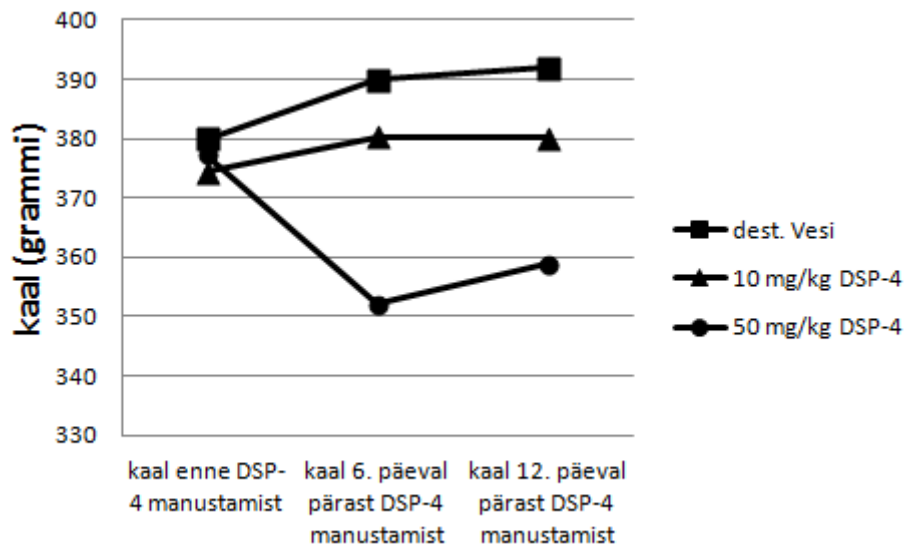
Statistiline analüüs

Andmeanalüüsiks ja jooniste tegemiseks kasutasin programmi SPSS17. Katseloomade liikumisaktiivsuse gruppidevaheliseks võrdlemiseks kasutasin ANOVAt, milles sõltumatuks muutujaks oli DSP-4 annus (0; 10 mg/kg; 50 mg/kg) või manustatud ravim (kokaiin, apomorfiin, destilleeritud vesi) ning sõltuvateks muutujaks tõusude ja läbitud sektorite arvud. Närvimürgi ja ravimi koosmõju analüüsimiseks kasutasin kahefaktorilist ANOVAt, milles sõltumatuteks muutujateks olid DSP-4 kogus ja manustatud ravim. Monoamiinide ning nende metaboliitide sisalduste gruppidevaheliste erinevuste hindamiseks kasutasin ANOVAt, sõltumatuks muutujaks oli DSP-4 annus ja sõltuvateks muutujateks monoamiinide (NA, DA, 5-HT) ja serotoniini metaboliidi 5-HIAA sisaldused hipokampuses ning frontaalkoores. *Post hoc* testina kasutasin Fischer'i LSD testi. Saadud tulemuste olulisusnivooks võtsin $p<0,05$.

TULEMUSED

Kaalud

On näidatud, et rotid, kellele on manustatud neurotoksiini DSP-4, võtavad lühiajaliselt kaalus aeglasemalt juurde, kui need, kellele ei ole süstitud neurotoksiini (Szot et al, 2010). Et leida tõendeid neurotoksiin DSP-4 mõju kohta, uuriti erinevusi erineva DSP-4 annuse saanud rottide kaaludes.

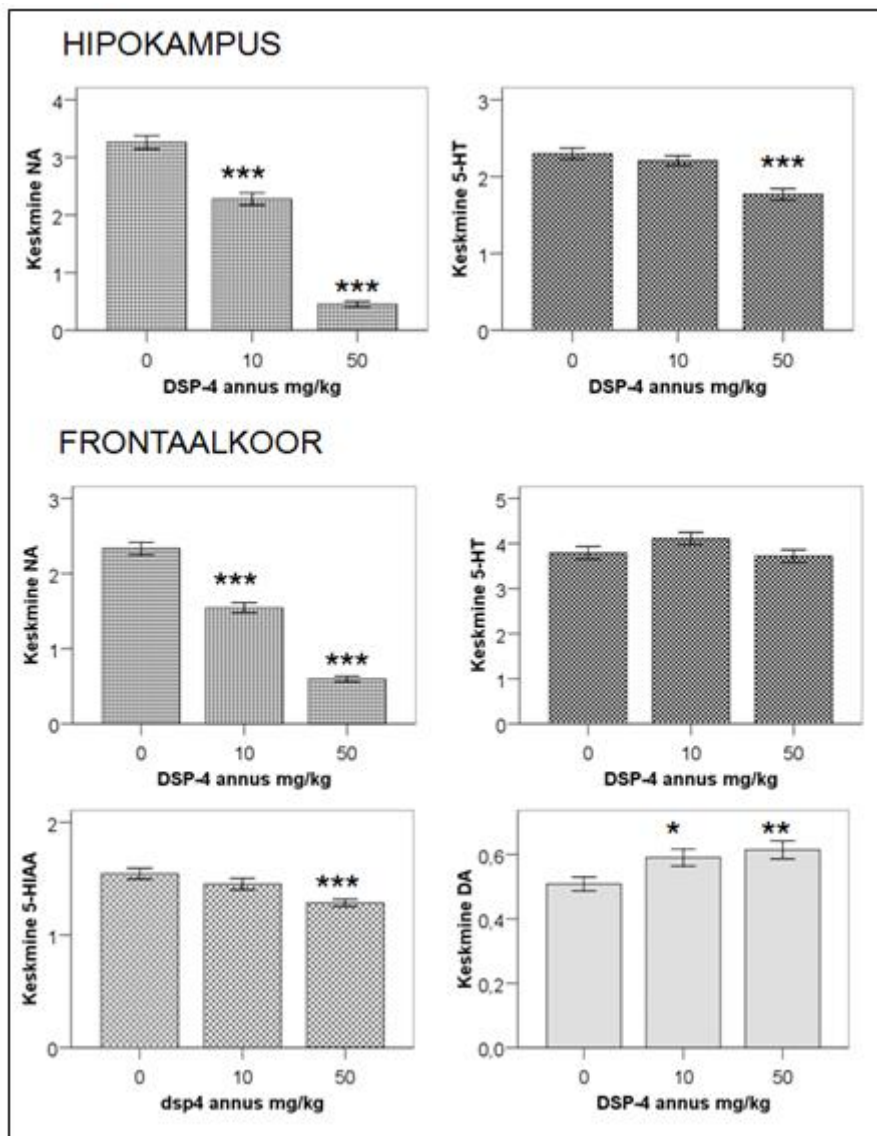


Joonis 1. Kaalude võrdlus enne DSP-4 manustamist, 6. päeval pärast DSP-4 manustamist ning 12. päeval pärast DSP-4 manustamist neurotoksiini manustamise koguse alusel tekkinud gruppide vahel.

Esimesel kaalumisel (6 päeva enne neurotoksiin DSP-4 manustamist) ja neurotoksiini manustamise päeval kaalumisel saadud andmete analüüsist selgus, et erineva närvimürgi annuse gruppide vahel statistiliselt olulisi kaaluerinevusi ei esinenud. 12. päeval pärast toksiini manustamist, ehk viimasel kaalumisel, olid aga selged erinevused olemas. 10 mg/kg närvimürki saanud rotid kaalusid viimasel kaalumisel natuke vähem kui toksiini mittesaanud rotid, kuid see vahe ei ole statistiliselt oluline (keskmiste vahe 11,78 grammi, $p=0,165$ ehk $p>0,05$). 50 mg/kg kohta närvimürki saanud rotid kaalusid keskmiselt 33,03 grammi vähem kui toksiini mittesaanud rotid ning see erinevus on statistiliselt oluline ($p<0,01$). Ühtlasi olid 50 mg/kg neurotoksiini saanud rotid kaalust alla võtnud võrreldes esimese kaalumisega (keskmiste erinevus 7,79 grammi), samas kui 10 mg/kg kohta toksiini saanud ning toksiini mittesaanud rotid olid kaalus juurde võtnud.

Monoamiinide ja nende metaboliitide kontsentratsioonid frontaalkoores ja hipokampuses pärast *locus coeruleuse* osalist denervatsiooni

Kõiki monoamiinide ning nende metaboliitide kontsentratsioonide erinevusi ajukoos illustreerivad joonis 2 ning tabel 1.



Joonis 2. Monoamiinide ja 5-HT metaboliidi 5-HIAA sisaldused hipokampuses ning frontaalkoores (keskmised + SEM). * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ vs 0 mg/kg DSP-4 grupp.

DSP-4 50 mg/kg vähendab NA sisaldust nii frontaalkoores (võrreldes kontrollgrupiga - 74,4%, $p < 0,001$) kui hipokampuses (-86,2%, $p < 0,001$). 10 mg/kg neurotoksiini saanute grupis oli NA vähenemine mõnevõrra tagasihoidlikum (hipokampuses -29,3 ja frontaalkoores -33,8 %), kuid statistiliselt oluline.

DSP-4 vähendab serotoniini taset hipokampuses olulisel määral ($p < 0,001$), kuid frontaalkoores erinevate gruppide vahel olulist erinevust ei olnud ($p = 0,13$). *Post hoc* test näitab, et serotoniinitaseme oluline langus (22,8%) oli hipokampuses vaid 50 mg/kg DSP-4 annust saanud grupil. DSP-4 toimest tingitud LC denervatsioon vähendab ka 5-HIAA frontaalkoores ($p < 0,001$), annuses 50 mg/kg on tegemist olulise muutusega (-17,2%).

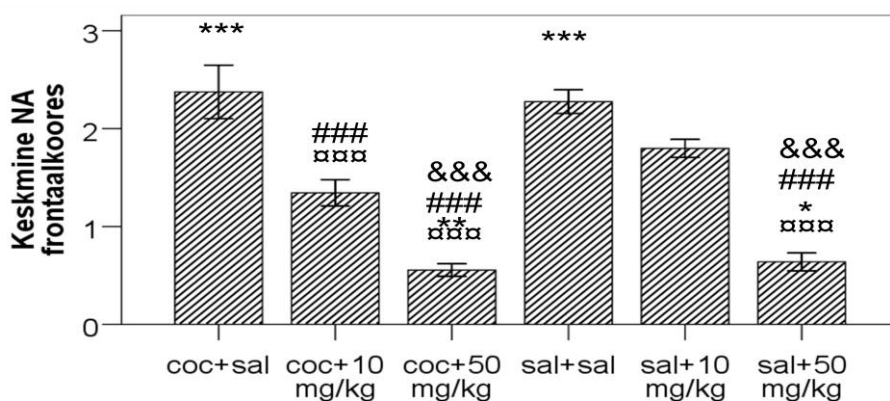
DA sisaldus DSP-4 toimel suurenes olulisel määras 50 mg/kg neurotoksiini saanute grupis (+17,3% võrreldes kontrollgrupiga, $p < 0,05$).

Tabel 1. Monoamiinide ja 5-HT metaboliidi 5-HIAA sisaldused (pmol/mg) hipokampuses ning frontaalkoores (keskmised \pm SEM).

	Frontaalkoor			Hipokampus		
	Dest.vesi	10 mg/kg DSP-4	50 mg/kg DSP-4	dest.vesi	10 mg/kg DSP-4	50 mg/kg DSP-4
<u>Kontrollrühm</u>						
NA	2,28 \pm 0,11	1,80 \pm 0,11	0,64 \pm 0,11	3,17 \pm 0,16	2,52 \pm 0,16	0,53 \pm 0,16
DA	0,53 \pm 0,05	0,62 \pm 0,05	0,57 \pm 0,05	0,14 \pm 0,04	0,24 \pm 0,04	0,16 \pm 0,04
5-HT	3,93 \pm 0,24	4,15 \pm 0,24	3,61 \pm 0,24	2,36 \pm 0,12	2,19 \pm 0,12	1,69 \pm 0,13
5-HIAA	1,50 \pm 0,08	1,44 \pm 0,08	1,26 \pm 0,08	1,68 \pm 0,08	1,58 \pm 0,08	1,72 \pm 0,08
<u>Kokaiinirühm</u>						
NA	2,37 \pm 0,11	1,34 \pm 0,11	0,56 \pm 0,11	3,36 \pm 0,17	2,20 \pm 0,16	0,44 \pm 0,16
DA	0,56 \pm 0,05	0,62 \pm 0,05	0,64 \pm 0,05	0,18 \pm 0,05	0,17 \pm 0,04	0,14 \pm 0,04
5-HT	3,94 \pm 0,26	4,29 \pm 0,24	4,06 \pm 0,24	2,16 \pm 0,13	2,16 \pm 0,12	1,75 \pm 0,12
5-HIAA	1,63 \pm 0,08	1,50 \pm 0,08	1,35 \pm 0,08	1,78 \pm 0,08	1,64 \pm 0,08	1,65 \pm 0,08
<u>Apomorfiinrühm</u>						
NA	2,36 \pm 0,11	1,49 \pm 0,11	0,60 \pm 0,11	3,27 \pm 0,16	2,12 \pm 0,16	0,39 \pm 0,16
DA	0,49 \pm 0,05	0,53 \pm 0,05	0,63 \pm 0,05	0,15 \pm 0,04	0,16 \pm 0,05	0,15 \pm 0,04
5-HT	3,65 \pm 0,24	3,90 \pm 0,24	3,50 \pm 0,24	2,34 \pm 0,12	2,28 \pm 0,12	1,86 \pm 0,12
5-HIAA	1,54 \pm 0,08	1,42 \pm 0,08	1,24 \pm 0,08	1,77 \pm 0,08	1,74 \pm 0,08	1,72 \pm 0,08

Neurotoksiin DSP-4 ja kokaiini koosmõju metaboliitide sisaldusele hipokampuses ja frontaalkoores

ANOVA testist selgus, et kokaiinirühmal ja kontrollrühmal on NA vähenemine frontaalkoores vastavuses neurotoksiini doosiga ($p < 0,01$) (joonis 3), kusjuures 50 mg/kg koraal oli vähenemine oluline mõlemas rühmas, aga 10 mg/kg ainult kokaiinirühmal, aga mitte kontrollrühmal – seega väiksemahuline LC denervatsioon mõjutab frontaalkoores NA kontsentratsiooni kokaiinirühmal rohkem kui kontrollrühmal. Ka hipokampuses oli kokaiini- ja kontrollrühmal noradrenaliini ($p < 0,01$) ja serotoniini ($p < 0,05$) oluline vähenemine, mis oli rohkem väljendunud suurema DSP-dosisiga.

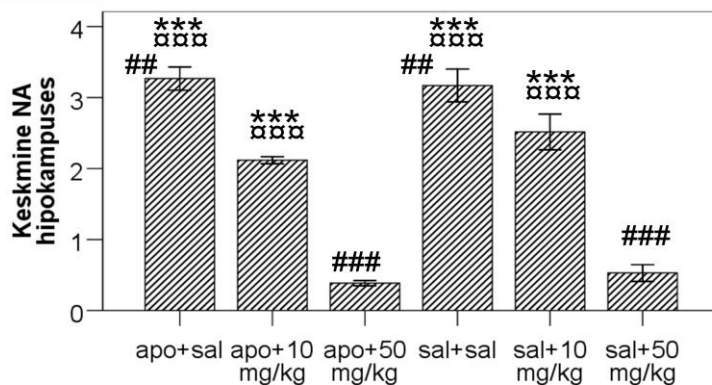


Joonis 3. NA sisalduse võrdlus (keskmised + SEM) frontaalkoores kokaiini ning DSP-4 manustamise alusel tekkinud gruppide vahel. □□□ - $p < 0,001$ vs coc + sal grupp; ### - $p < 0,001$ vs sal+sal grupp; *** - $p < 0,001$, ** - $p < 0,01$, * - $p < 0,05$ vs coc + 10 mg/kg DSP-4 grupp; &&& - $p < 0,001$ vs sal + 10 mg/kg DSP-4 grupp.

Neurotoksiin DSP-4 ja apomorfiini koosmõju monoamiinide sisaldusele frontaalkoores ja hipokampuses

ANOVA testist selgus, et frontaalkoores tekkis apomorfiinirühma rottidel statistiliselt oluline noradrenaliini ($p < 0,01$) ja 5-HIAA ($p < 0,05$) langus ja dopamiini sisalduse tõus ($p < 0,05$), mis oli väljendunud suurema toksiini doosi korral, samas kui kontrollrühmal esines frontaalkoores oluline muutus ainult noradrenaliini vähenemisel. Apomorfiinirühmal on dopamiini sisalduse tõus frontaalkoores suurem kui teistel rühmadel.

Hipokampuses tekib neurotoksiini toimetel nii apomorfiinirühmal kui ka kontrollrühmal serotoniini ja noradrenaliini ja oluline vähenemine (joonis 4): NA taset vähendas nii väiksemahuline (10 mg/kg DSP-4) kui ka ulatuslik (50 mg/kg DSP-4) denervatsioon.



Joonis 4. NA sisalduse võrdlus (keskmised + SEM) hipokampuses apomorfiini ning DSP-4 manustamise alusel tekkinud gruppide vahel. **** - $p < 0,001$ vs apo + 50 mg/kg DSP-4 grupp; ## - $p < 0,01$, ### - $p < 0,001$ vs apo + 10 mg/kg DSP-4 grupp; □□□ - $p < 0,001$ vs sal + 50 mg/kg DSP-4 grupp;

Neurotoksiini DSP-4 mõju liikumisaktiivsusele

Kontrollrühma rotid, kellele neurotoksiini ei süstitud, tõusid keskmiselt püsti 31,65 korda ning vahetasid keskmiselt 63,65 korda sektorit. Need rotid, kellele süstiti 50 mg/kg neurotoksiini, tõusid keskmiselt püsti 14,58 korda ja vahetasid keskmiselt 39,71 korda sektorit. ANOVA testist selgus, et erineva annusega neurotoksiini saanud gruppide vahel statistiliselt olulist erinevust ei esine ei läbitud sektorite ($p = 0,065$ ehk $p > 0,05$) ega ka tõusude arvu ($p = 0,082$ ehk $p > 0,05$) poolest, kuid *post hoc* test näitab, et statistiliselt olulised erinevused läbitud sektorite ja tõusude arvus on olemas DSP-4 närvimürki 50 mg/kg saanud grupi ja kontrollgrupi vahel. Seega avaldas DSP-4 annus 50 mg/kg mõju liikumisaktiivsusele, vähendades tõusude arvu 53,9% ($p < 0,05$) ja sektori vahetamiste arvu 37,6% ($p < 0,05$).

Kokaiini ja apomorfiini mõju liikumisaktiivsusele

ANOVA test näitas, et erinevat ravimit (kokaiin, apomorfiin, destilleeritud vesi) saanud gruppide vahel on liikumisaktiivsuses statistiliselt olulised erinevused ($p < 0,01$). *Post hoc* test näitas, et tegelikult on statistiliselt olulised erinevused vaid kokaiini saanud rühma ja kontrollrühma vahel ($p < 0,01$) ning kokaiini saanud rühma ja apomorfiini saanud rühma vahel ($p < 0,01$). Kokaiiniga manustatud rottide tõusude arv oli keskmiselt 54,13, mis on 70,2% rohkem kui kontrollrühmal. Kokaiiniga süstitud rottide sektorivahetamiste arv oli 120,09 ning see on 78,4% rohkem kui kontrollrühmal (keskmiselt 25,88 sektorivahetust). Seega avaldas kokaiini manustamine tugevat mõju rottide liikumisaktiivsusele.

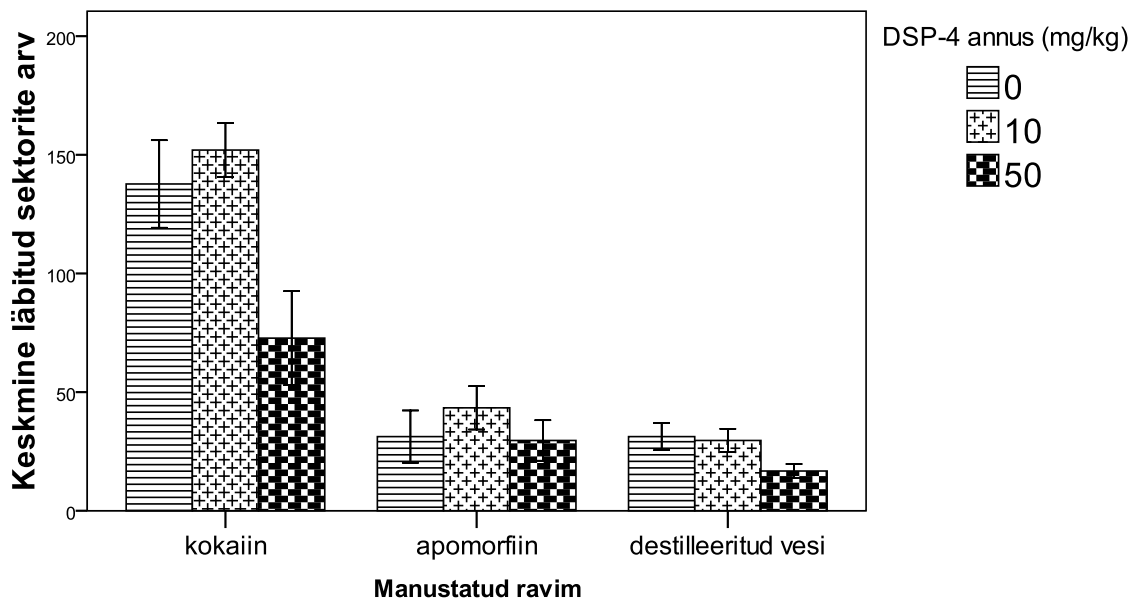
Neurotoksiini DSP-4 mõju kokaiini ja apomorfiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsusele

Kokaiin suurendab oluliselt liikumisaktiivsust ning neurotoksiin DSP-4 vähendab liikumisaktiivsust. Analüüs näitab, et DSP-4 omab tugevat pärssivat mõju kokaiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsusele (joonis 5 ja joonis 6). Ulatuslik LC denervatsioon (50 mg/kg DSP-4) vähendab kokaiinirühmal tõusude arvu 64,1 % ja läbitud sektorite arvu 47% võrra, samas kui kontrollrühmal vähendas sama neurotoksiiniannus tõusude arvu 46,1 % ja läbitud sektorite arvu 46,4 % võrra. 10 mg/kg DSP-4 suurendas kokaiinirühmal läbitud sektorite arvu 10,3% võrra, samas kui kontrollrühmal vähendas sama neurotoksiiniannus läbitud sektorite arvu 5,1 % võrra.

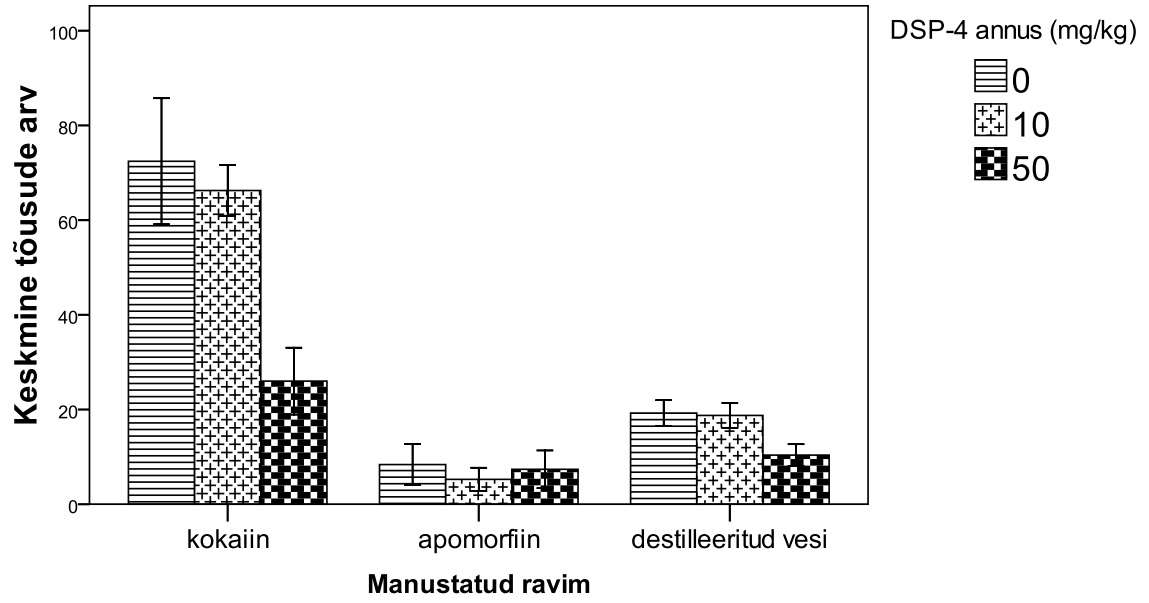
Seega väike annus DSP-4 (10 mg/kg) suurendas kokaiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsust (samas kui kontrollrühmal sama annus vähendas liikumisaktiivsust) ning suur annus neurotoksiini (50 mg/kg) pärssis kokaiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsust keskmiselt rohkem kui sama annus neurotoksiini kontrollrühma puhul. Järelikult ulatuslik LC denervatsioon mõjutab kokaiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsust rohkem kui kokaiini poolt mõjutamata liikumisaktiivsust.

Kui kokaiin selgelt tõstis liikumisaktiivsust, siis apomorfiin mõjus liikumisaktiivsusele erinevalt, vähendades tõusude arvu (apomorfiinirühmal keskmiselt 7 tõusu, samas kui kontrollrühmal keskmiselt 16,13 tõusu). Erinevate neurotoksiiniannuste ja apomorfiini manustamise alusel tekkinud gruppide lõikes küll statistiliselt olulisi erinevusi ei olnud liikumisaktiivsuses, kuid märgata on teatud iseärasusi apomorfiini ja DSP-4 koosmõjus

(joonis 5 ja joonis 6). Kontrollgrupil oli apomorfiinirühmal tõusude arv 57,1% võrra väiksem kui kontrollrühmal ning läbitud sektorite arv täpselt võrdne. 10 mg/kg DSP-4 annus vähendab apomorfiinirühmal tõusude arvu 37,4 % ning suurendab läbitud sektorite arvu 38,8% võrra (kontrollrühmal vähendas sama neurotoksiiniannus tõusude arvu 46,1 % ja läbitud sektorite arvu 46,4 % võrra). LC ulatuslik denervatsioon (50 mg/kg DSP-4) vähendab apomorfiinirühmal tõusude arvu vaid 12 % (kontrollrühmal 46,1 %), kusjuures selle koguse DSP-4 korral on apomorfiinirühmal tõusude arv ainult 28,9 % väiksem kui kontrollrühmal (kontrollgrupi puhul olid nendel rühmadel oluliselt suuremad vahed). 50 mg/kg toksiini saanud apomorfiini rühma rottidel vähenes läbitud sektorite arv ainult 5,2%, mis on oluliselt väiksem muutus kui 50 mg/kg toksiini saanud kontrollrühmal, kus läbitud sektorite arv vähenes 46,4%. Seega selgus, et 10 mg/kg DSP-4 annus vähendab apomorfiinirühmal tõusude arvu, kuid suurendab läbitud sektorite arvu ning et ulatuslik LC denervatsioon (50 mg/kg DSP-4) ei avalda erilist mõju apomorfiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsusele, mis eristab apomorfiini toimet võrreldes kokaiini- ja kontrollrühmaga, kellel ulatuslik LC denervatsioon avaldas tugevat pärssivat mõju liikumisaktiivsusele.



Joonis 5. Läbitud sektorite arvu (keskmised + SEM) võrdlus lõppkatsel ravimi (apomorfiin ja kokaiin) ning DSP-4 manustamise alusel tekkinud gruppide vahel.



Joonis 6. Tõusude arvu (keskmised + SEM) võrdlus lõppkatsel ravimi (apomorfiin ja kokaiin) ning DSP-4 manustamise alusel tekkinud gruppide vahel.

ARUTLUS

DSP-4 mõju monoamiinide sisaldusele hipokampuses ja frontaalkoores

Oodatult vähendas suuremahuline LC denervatsioon oluliselt NA sisaldust nii frontaalkoores (71,9 %) kui ka hipokampuses (78,9 %) ning osaline LC denervatsioon vähendas NA sisaldust frontaalkoores 21% ja hipokampuses 20,6%, olles kooskõlas varasemate uurimusega (Kõiv jt, 2011; Alttoa jt.,2005). Sellest võib järeldada, et toksiin toimis ning selle mõju saab uurida kokaiini ja apomorfiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsusele ning monoamiinide sisaldusele. Seega on käesolev uurimus kooskõlas varasemate uurimustega nii väikese annuse DSP-4 mõju poolest (Alttoa jt., 2005) kui ka suure annuse DSP-4 mõju poolest (Archer jt., 1984). Lisaks NA vähendamisele vähendas LC ulatuslik denervatsioon 5-HT kogust hipokampuses ning tõstis DA kogust frontaalkoores. Sellest võib järeldada, et *locus coeruleuse* denervatsioon mõjutab küll kõige rohkem noradrenergilist süsteemi, kuid omab seejuures märgatavat mõju ka serotonergilisele ja dopamiinergilisele süsteemile.

***Locus coeruleuse* denervatsiooni mõju kokaiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsusele ning kokaiini ja DSP-4 koosmõju monoamiinide sisaldusele**

Varasemast on teada, et kokaiin pärsib dopamiini tagasihaaret (Beveridge jt., 2004; Vanderschuren jt., 2003) ning et selles seisneb ka kokaiini liikumisaktiivsust tõstev efekt (Drouin, jt., 2002). Sellega on kooskõlas ka antud uuringu tulemused: kokaiiniga süstitud rotid olid oluliselt aktiivsema vertikaalse ja horisontaalse liikumisega kui kontrollrühm. Antud uurimus oli kooskõlas varasemate uurimustega (Haaro jt., 2000; Archer jt., 1984), näidates, et LC suuremahuline denervatsioon vähendab liikumisaktiivsust rottidel ning vähendab dopamiini sisaldust erinevates ajuosades. Kõiv jt. (2011) leidsid, et nii väiksemahuline kui ka ulatuslik LC denervatsioon vähendas, kuid ei kaotanud täielikult kokaiini liikumisaktiivsust tõstvat efekti. Seda kinnitab käesolev uurimus osaliselt: 10 mg/kg DSP-4 annus vähendas kokaiinirühmal küll tõusude arvu, kuid suurendas läbitud sektorite arvu. Samas suuremahuline LC denervatsioon (50 mg/kg DSP-4) vähendas oluliselt kokaiini liikumisaktiivsust tõstvat efekti, kuid ei kaotanud seda täielikult (50 mg/kg DSP-4 annuse saanud kokaiinirühma rotid liikusid siiski rohkem kui kontrollgrupi rotid).

Osaline LC denervatsioon (10 mg/kg DSP-4) vähendas kokaiinirühmal NA sisaldust frontaalkoores 43,2% ning hipokampuses 34,6%. Seega osaline LC denervatsioon mõjutab kokaiinirühmal küll statistiliselt oluliselt noradrenaliini taset, ent ei oma samas tugevat mõju liikumisaktiivsusele. Kokkuvõttes, suuremahuline denervatsioon mõjutas oluliselt nii NA taset kui ka liikumisaktiivsust, kuid osaline denervatsioon liikumisaktiivsust oluliselt ei vähendanud, kuigi NA tase langes. Sellest võib järeldada, et NA kontsentratsiooni statistiliselt oluline vähenemine denervatsiooni mõjul ei tähenda veel tingimata liikumisaktiivsuse vähenemist.

***Locus coeruleuse* denervatsiooni mõju apomorfiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsusele ning kokaiini ja DSP-4 koosmõju monoamiinide sisaldusele**

Varasemalt oli teada, et rotid, kellele on manustatud apomorfiini, tõusevad harvemini tagakäppadele ning liiguvad rohkem ringi kui rotid, kellele ei ole manustatud apomorfiini (Chow ja Beck, 1984). Sellega oli antud uurimus osaliselt kooskõlas: apomorfiin küll vähendas tõusude arvu, kuid läbitud sektorite arv võrreldes kontrollrühmaga ei erinenud.

Varasemast oli teada, et apomorfiin mõjutab dopamiinergilist ülekannet, kuid ei olnud teada, kuidas mõjutab DA kontsentratsiooni apomorfiin koosmõjus neurotoksiin DSP-4'ga. Selgus, et kui 0 mg/kg ja 10 mg/kg DSP-4 koguste korral apomorfiin vähendab võrreldes kontrollrühmaga DA kogust frontaalkoores, siis ulatusliku LC denervatsiooni (50 mg/kg) korral apomorfiin suurendab DA kogust frontaalkoores. See võib olla ühtlasi põhjuseks, miks ulatuslik denervatsioon ei mõjutanud apomorfiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsust.

Apomorfiin vähendas hipokampuses DA taset (9,2%) ning samal ajal tõstis NA taset (3,7%) võrreldes kontrollrühmaga. Need muutused ei ole küll suured, kuid on vastassuunalised, mis ei lähe kokku loogikaga, et kuna dopamiinist sünteesitakse noradrenaliini, oleks DA taseme langemisel pidanud langema ka NA tase. Antud muutuse põhjuseks võib olla see, et kõik D2-retseptorite agonistid aitavad kaasa askorbiinhappe vabastamisele (Rebec, Pierce, 1994) ning kuna askorbiinhape on dopamiini beeta-hüdroksülaasi aktiveerimiseks vajalik kofaktor, mõjutab ilmselt apomorfiin D2-retseptorite agonistina dopamiini beeta-hüdroksülaasi tegevust.

Vastused töö sissejuhatuses püstitatud hüpoteesidele

Apomorfiin küll vähendas vertikaalset, kuid ei suurendanud horisontaalset liikumisaktiivsust, mis tähendab, et esimene hüpotees tõestust ei leidnud. Et leida vastust antud küsimusele, oleks vaja teha edasisi uurimusi apomorfiini ja liikumisaktiivsuse kohta.

LC projektsioonide väiksemahuline denervatsioon mõjus nii apomorfiini kui ka kokaiini korral liikumisaktiivsusele sarnaselt, kuid sama ei saa öelda ulatusliku denervatsiooni kohta. Kui kokaiinirühmal ulatuslik denervatsioon oluliselt vähendas nii läbitud sektorite arvu kui ka tõusude arvu, siis apomorfiinirühmal ei olnud olulist erinevust liikumisaktiivsuses 50 mg/kg annuse DSP-4 saanud rottidel võrreldes nende apomorfiinirühma rottidega, kellele neurotoksiini ei manustatud. Seega ei saa kinnitada kolmandat hüpoteesi, mis väitis, et LC projektsioonide nii ulatuslik kui ka väiksemahuline denervatsioon mõjuvad mõlema ravimi korral liikumisaktiivsusele sarnaselt.

Neurotoksiini DSP-4 50 mg/kg annuse koosmõju apomorfiiniga võrreldes sama aine koosmõjust kokaiiniga erines nii hipokampuses kui ka frontaalkoores vaid mõjus dopamiinitasemele. Frontaalkoores suurendas suuremahuline LC denervatsioon kokaiinirühmal DA taset 17,4 % ja apomorfiinirühma 30% ning hipokampuses vähendas suuremahuline LC denervatsioon kokaiinirühmal DA taset 22,5 % ja apomorfiinirühmal 7,5 %, samas kui noradrenaliinitasemele mõjus suuremahuline LC denervatsioon mõlema ravimi korral nii hipokampuses kui ka frontaalkoores ligilähedaselt sarnaselt. Kuna noradrenaliinitasemetes apomorfiinirühmal ja kokaiinirühmal olulisi suuri erinevusi ei esinenud, kuid samas oli nende kahe rühma vahel suured erinevused liikumisaktiivsuses, ei leidnud tõestust hüpotees, et noradrenaliin omab olulist rolli psühhostimulantide poolt indutseeritud liikumisaktiivsuses (samas ei õnnestunud seda väidet ka ümber lükata).

Kriitika

DSP-4 mõju uurimisel apomorfiini poolt indutseeritud käitumisele võiks lisainformatsiooni saada monoamiinide sisaldusest ka naalduvas tuumas (*nucleus accumbens*). Mogenson, Jones ja Yim, (1980, viidatud Feldman jt., 1997 vahendusel) väitsid oma artiklis, et *nucleus accumbens* on oluline limbilise ja motoorse süsteemi vahendaja, ühendades motivatsiooni tegevusega. Sealt võiks saada vastuse küsimusele, kas apomorfiini poolt indutseeritud liikumisaktiivsuse puhul on tegemist pigem motivatsioonilise puudujäägiga kui motoorse kahjustusega.

Juhul, kui DSP-4 ei ole selektiivne LC noradrenergiline neurotoksiin nagu Szot jt. (2010) väidavad ja mõjutab lisaks *locus coeruleusele* ka teisi piirkondi, võivad muutused liikumisaktiivsuses ja monoamiinide sisalduses olla ka mujalt pärit ning vajavad edasist uurimist.

Tänuavaldus

Suur tänu Kadri Kõivile kannatlikkuse, abi ja seletuste eest.

KASUTATUD KIRJANDUS

Archer, T., Jonsson, G., Ross, S. (1984). A parametric study of the effects of noradrenaline neurotoxin DSP-4 on avoidance acquisition and noradrenaline neurones in the CNS of the rat. *British Journal of Pharmacology*, 82, 249-257.

Alttoa, A., Kõiv, K., Eller, M., Uustare, A., Rincken, A., Harro, J. (2005) Effects of low dose N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine administration on exploratory and amphetamine-induced behavior and dopamine D2 receptor function in rats with high or low exploratory activity. *Neuroscience*, 132, 979–990.

Beveridge, T. J. R., Smith, H. R., Nader, M. A. & Porrini, L. J. (2004). Functional effects of cocaine self-administration in primate brain regions regulating cardiovascular function, *Neuroscience Letters*, 370, 201-205

Chow, H.L., Beck, C.H.M. (1984). The effect of apomorphine on the open-field behavior of rats alone and in pairs. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 25, 85-88

Carnoy, P., Ravard, S., Wemerman, B., Soubrie, P., Simon, P. (1986). Behavioral deficits induced by low doses of apomorphine in rats: evidence for a motivational and cognitive dysfunction which discriminates among neuroleptic drugs. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 25, 503-509

Dooley, D.J., Mogilnicka, E., Delini-Stula, A., Waechter, F., Truog, A., Wood, J. (1983). Functional supersensitivity to adrenergic agonists in the rat after DSP-4, a selective noradrenergic neurotoxin. *Psychopharmacology*, 81, 1–5.

Drouin, C., Blanc, G., Villegier, A.S., Glowinski, J., Tassin, J.P. (2002). Critical role of alpha1-adrenergic receptors in acute and sensitized locomotor effects of damphetamine, cocaine, and GBR 12783: influence of preexposure conditions and pharmacological characteristics. *Synapse*, 43, 51–61.

Feldman, R.S., Meyer, J.S., Quenzer, L.F. (1997) Principles of Neuropsychopharmacology, kirjastus Sinauer Associates Inc.

Grenhoff, J., Nisell, M., Ferre, S., Aston-Jones, G., Svensson, T.H. (1993) Noradrenergic modulation of midbrain dopamine cell firing elicited by stimulation of the locus coeruleus in the rat. *Journal of Neural Transmission*.93, 11-25.

Harnack E. (1874). Ueber die Wirkungen des Apomorphins am Säugethier und am Frosch. *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 2, 254–306.

Harro, J., Meriküla, A., Lepiku, M., Modiri, A. R., Rinken, A., Orelund, L. (2000). Lesioning of locus coeruleus projections by DSP-4 neurotoxin treatment: effect on amphetamine-induced hyperlocomotion and dopamine D2 receptor binding in rats. *Pharmacology & Toxicology*, 86, 197-202.

Harro, J., Orelund, L., Vasar, E., Bradwejn, J. (1995). Impaired exploratory behaviour after DSP-4 treatment in rats: implications for the increased anxiety after noradrenergic denervation, *European Neuropsychopharmacology*, 5, 447-455.

Jonsson, G., Hallman, H., Ponzio, F., Ross, S. (1981). DSP4 (N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine) - a useful denervation tool for central and peripheral noradrenaline neurons. *European Journal of Pharmacology*, 72, 173-188.

Kõiv, K. (2006). Studies on neurochemical regulation of individual differences in exploratory behaviour and the activating and rewarding effects of psychostimulants. Magistritöö

Kõiv, K., Zobel, R., Raudkivi, K., Kivastik, T., Harro, J. (2011). The effect of denervation of the locus coeruleus projections with N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine (DSP-4) on cocaine-induced locomotion and place preference in rats. *Behavioral Brain Research*. 216, 172-179.

Pum, M., Carey, R.J., Huston, J.P., Muller, C.P. (2007). Dissociating effects of cocaine and d-amphetamine on dopamine and serotonin in the perirhinal, entorhinal, and prefrontal cortex of freely moving rats. *Psychopharmacology*, 193, 375–390.

Rebec, G.V., Pierce, R.C. (1994) A vitamin as neuromodulator: ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutamatergic transmission. *Progress in Neurobiology*. 43, 537-65.

Schmidt, W.J., Srinivasan, J. (2004). Functional recovery of locus coeruleus noradrenergic neurons after DSP-4 lesion: effects on dopamine levels and neuroleptic induced – Parkinsonian symptoms in rats. *Journal of Neural Transmission*, 111, 13-26.

Szot, P., Miguez, C., White, S.S., Franklin, A., Sikkema, C., Wilkinson, C.W., Ugedo, L., Raskind, M.A. (2010). A comprehensive analysis of the effect of DSP4 on the locus coeruleus noradrenergic system in the rat. *Neuroscience*, 166, 279–291.

- Vanderschuren, L.J., Beemster, P., Schoffelmeer, A.N.** (2003). On the role of noradrenaline in psychostimulant-induced psychomotor activity and sensitization. *Psychopharmacology*, 169, 176–185
- Ventura, R., Cabib, S., Alcaro, A., Orsini, C., Puglisi-Allegra, S.** (2003) Norepinephrine in the prefrontal cortex is critical for amphetamine-induced reward and mesoaccumbens dopamine release. *Journal of Neuroscience*. 23, 1879-85.
- Wang, Y., Zhang, Q.J., Liu, J., Ali, U., Gui, Z. H., Hui, Y.P., Chen, L., Wu, Z.H., Li, Q.** (2010). Noradrenergic lesion of the locus coeruleus increases apomorphine-induced circling behavior and the firing activity of substantia nigra pars reticula neurons in a rat model of Parkinson's disease. *Brain Research*. 1310, 189-199
- Weinshenker, D., Schroeder, J.P.** (2007). There and back again: a tale of norepinephrine and drug addiction. *Neuropsychopharmacology*. 32, 1433-51.

Käesolevaga kinnitan, et olen korrektselt viidanud kõigile oma töös kasutatud teiste autorite poolt loodud kirjalikele töödele, lausetele, mõtetele, ideedele või andmetele.

Olen nõus oma töö avaldamisega Tartu Ülikooli digitaalarhiivis DSpace.

Nele Taba