

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
Լ.Ա.ՕՐԲԵԼՈՒ ԱՆՎԱՆ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ ՎԱՀԱԳՆ ՊԵՐՃԻ

**ԷԹԱՆՈԼԱՅԻՆ ԹՈՒՆԱՎՈՐՄԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ
ԳԼԽՈՒՂԵՂԻ ԲԶՋԱՅԻՆ ԿԱՌՈՒՅՑՆԵՐՈՒՄ ՏԱՌԻՐԻՆԻ
ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆ**

Գ.00.09 – «Մարդու և կենդանիների ֆիզիոլոգիա»
մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2019

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМЕНИ Л.А.ОРБЕЛИ

ХАЧАТРЯН ВААГН ПЕРЧЕВИЧ

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТАУРИНА НА КЛЕТОЧНЫЕ
СТРУКТУРЫ МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭТАНОЛОВОЙ
ИНТОКСИКАЦИИ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
03.00.09 - «Физиология человека и животных»

ЕРЕВАН – 2019

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվ. ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի գիտական խորհրդի նիստում:

Գիտական ղեկավար՝

թժկական գիտությունների դոկտոր,

Տ.Հ. Ղևոնդյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

կ.գ.դ., Վ.Ա. Չավուշյան-Պապյան

կ.գ.թ., Ա.Վ. Ոսկանյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական
թժկական համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը կկայանա 2019 թ. դեկտեմբերի 24-ին, ժամը 13⁰⁰-ին ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում, ֆիզիոլոգիայի 023 մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, 0028, ք. Երևան, Օրբելի եղբ. 22):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի գրադարանում <http://www.physiol.sci.am> կայքում:

Սեղմագիրն առաքվել է 2019 թ. նոյեմբերի 14-ին:

023 մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,
կենսաբանական գիտությունների թեկնածու՝



Ն.Է. Թադևոսյան

Тема диссертации утверждена в Институте физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА.
Научный руководитель: доктор медицинских наук,
Т.А.Гевондян

Официальные оппоненты:

д.б.н., В.А. Чавушян-Папян
к.б.н., А.В. Восканян

Ведущая организация:

Ереванский государственный
медицинский университет имени М.
Гераци

Защита диссертации состоится 24 декабря 2019г. в 13⁰⁰—часов на заседании специализированного совета 023 по физиологии, действующего в Институте физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА (РА, 0023, г. Ереван, ул. Бр.Орбели, 22).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА и на сайте <http://www.physiol.sci.am>.

Автореферат разослан 14-го ноября 2019 г.

Ученый секретарь специализированного совета 023,
канд.биол.наук



Н.Э.Татевосян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Актуальность медицинских и социальных проблем, связанных с употреблением алкоголя и алкоголизмом, постоянно возрастает. В настоящее время стремительный рост алкоголизма во многих странах мира превратился в серьезную социальную проблему, поскольку этанол оказывает транзиторные и длительные/устойчивые последствия на нервную систему [Зиматкин С.М., 2007]. Алкогольная энцефалопатия является одной из основных причин деменции и диагностируется у 10-30% пациентов с клиническими признаками слабоумия [World Bank, 1993; Schlapfer T.E., 2000].

Интоксикация этанолом приводит к развитию физической зависимости с неудержимым влечением к алкоголю, запойным пьянством, к развитию абстинентных расстройств после прекращения его систематического приема. Известно, что аминокислоты являются основными компонентами системы метаболического контроля как синтеза, так и катаболизма белков в организме. В связи с этим все больше внимания уделяется изучению влияния аминокислот и их производных на метаболические нарушения при алкоголизме, поиску новых биологически активных препаратов на их основе для лечения алкоголизма.

Несмотря на многочисленность исследований механизмов развития и патогенеза острой алкогольной интоксикации в организме [Sullivan E.V., Pfefferbaum A., 2005; Kinoshita H. et al., 2008], на сегодняшний день не определены пределы возможной обратимости изменений ряда мозговых структур в этих условиях, что имеет безусловно большое значение для разработки методов их коррекции и лечения. Токсические эффекты этанола, как известно, обусловлены основным продуктом его метаболизма — ацетальдегидом. Последний является высокоактивным в химическом отношении соединением, способным легко взаимодействовать со многими другими молекулами, в том числе белками, пептидами и аминокислотами [Medina V.A. et al., 1985; Kervinen K. et al., 1991]. Поэтому одним из путей уменьшения токсического действия этанола на организм может быть использование веществ, способных прямо взаимодействовать со свободным ацетальдегидом и снижающих его уровень в крови, органах и тканях. В последнее время интерес исследователей вызывает таурин — условно незаменимая аминокислота [Ward R.J., et al., 1997; Bolo N. et al., 1998; Kerai M.D. et al., 1998; Olive M.F., 2002]. Метаболическое действие таурина включает конъюгацию с желчными кислотами, стабилизацию мембранных структур. В головном мозге таурин играет интегральную роль в таких физиологических процессах, как осморегуляция, нейротекция, нейромодуляция [Olive M.F., 2002].

По данным зарубежных исследователей, назначение таурина больным алкоголизмом на первых стадиях детоксикации приводило к улучшению общего состояния [Ward R.J. et al., 2000]. С другой стороны, у таурина обнаружены гепатопротекторные свойства, что на фоне алкогольной интоксикации приводит к ослаблению перекисного окисления липидов и стеатоза. Предполагается, что защитное действие таурина на печень реализуется за счет синтеза тауропроизводных желчных кислот, которые способствуют ингибированию активности некоторых микросомальных ферментов [Birdsall T.C., 1998; Kerai M.D. et al., 1998].

При изучении механизмов, сопутствующих этаноловой интоксикации, представляется актуальным исследование характера изменений параметров фоновой импульсной активности нейронов различных структур мозга. Алкоголь действует как положительный аллостерический модулятор рецепторов гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК). Активация рецепторов ГАМК приводит к нейронной гиперполяризации [Paul S.,

2006]. Гиперполяризация уменьшает вероятность появления потенциала действия и, таким образом, имеет тормозящий эффект на нейротрансмиссию центральной нервной системы [Lovinge D. et al., 1989]. Патологическое состояние при интоксикации алкоголем характеризуется угнетением функции центральной нервной системы, а возникающее на начальных этапах эйфория и возбуждение являются признаками ослабления тормозных механизмов мозга. Таурин же оказывает общий угнетающий эффект на ЦНС и, по мнению целого ряда исследователей, обладает большинством признаков нейромодулятора, тормозящего синаптическую передачу [Нефёдов Л.И., 1999].

В литературе есть данные, что у пациентов с алкоголь-вызванной деменцией наблюдалось резкое сокращение регионального мозгового кровотока в лобной коре, базальных ганглиях и таламусе. Результаты показывают, что деменция связана с гипоперфузией в обоих корковых и подкорковых областях [Chung Y. et al., 2009]. Алкоголь является фактором риска для кровоизлияния в мозг [Suzuki K, Izumi M., 2012]. Таурин положительно влияет на структуру и эндотелиальную функцию крупных сосудов. Он «успокаивает» симпатическую нервную систему, тем самым снимая спазм артерий [Нефёдов Л.И., 1999]. Отсутствие в доступной научной литературе достаточного числа работ, посвященных комплексному изучению влияния таурина на морфофункциональное состояние различных отделов мозга и микроциркуляторное русло (МЦР) мозга крыс в условиях острой и хронической интоксикации этанолом, позволяет предположить, что данное исследование можно считать важным как в фундаментальной медицине, так и в практическом здравоохранении (нейрохирургия, неврология и т.д.).

Целью настоящей работы являлось изучение влияния таурина на морфофункциональное состояние клеточных структур префронтальной коры (ПФК), гиппокампа, миндалин, тела, ядер гипоталамуса, черной субстанции, голубого пятна мозга крыс, а также капиллярного звена МЦР коры мозга при острой и хронической интоксикации в динамике.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

- Провести сравнительное электрофизиологическое изучение нейронов гиппокампа, голубого пятна и черной субстанции при высокочастотной стимуляции соответствующих афферентных входов (энторинальная кора, супраоптическое ядро, стриатум) у интактных, у подверженных этаноловой интоксикации крыс в динамике и в сочетании с введением таурина с целью определения протекторного влияния этого биологически активного вещества на изменённые вследствие этаноловой интоксикации параметры мозга.
- Исследовать структурно-функциональные (гистологические, гистохимические), а также электрофизиологические изменения нейронов разных отделов мозга после отмены хронического приема этанола, с целью определения устойчивости измененных параметров и подтверждения возможного протекторного влияния таурина после прекращения приема этанола.
- Исследовать в динамике структурно-функциональные (гистологические, гистохимические) изменения разных отделов мозга при введении таурина с целью определения протекторного влияния этого вещества на нейроны изучаемых отделов, пораженных вследствие этаноловой интоксикации.
- Провести морфометрический анализ диаметра капиллярного звена МЦР ПФК мозга у интактных крыс, в динамике после приема этанола и при введении таурина на данной модели этаноловой интоксикации.

Научная новизна работы.

- У крыс на модели интоксикации этанолом с введением таурина выявлены нейропротекторный и нейрорепаративный эффекты этой аминокислоты, обеспечивающие регенерацию и выживаемость нейронов в определённых областях мозга (восстановление формы, размеров большинства нейронов, выявление отростков), а также усиление метаболизма.
- Впервые проведены исследования капиллярного звена МЦР мозга в динамике под влиянием таурина после приема этанола. Диаметр капилляров ПФК мозга крыс приближается к норме, особенно в короткие сроки интоксикации. Полученные морфометрические данные указывают на сосудорасширяющий, ангиопротекторный эффекты таурина на МЦР мозга крыс.
- Этанол приводит к значительному изменению параметров активности нейронов в голубом пятне, черной субстанции и гиппокампе, а таурин оказывает нейропротекторное воздействие на их нейроны вследствие активации протекторного назначения депрессии, противостоящей эксайтотоксичности.
- Выявлено, что отмена этанола не приводит к нормализации морфологической картины префронтальной коры мозга, гиппокампа, и наоборот, усугубляет нейродегенеративные процессы в этих структурах. Не наблюдается полной картины восстановления клеточных структур в остальных изучаемых областях мозга.

Научно-практическое значение работы. Полученные морфогистохимические и электрофизиологические данные имеют прикладное значение для дифференциальной диагностики алкогольных поражений структур мозга, оценки степени их обратимости. В результате проведенного электрофизиологического исследования получены новые сведения об особенностях изменения показателей активности нейронов ряда структур мозга во время интоксикации этанолом и под влиянием таурина. Интоксикация этанолом приводит к существенному изменению активности нейронов исследованных структур. Полученные данные подтверждают нейропротекторную эффективность таурина и возможное его включение в механизмы восстановления и ремоделирования путём повышения выживаемости повреждённых нейронов и участия в активации явления пластичности мозга через нейрогенез. Выявлены сосудорасширяющие, ангиопротекторный эффекты таурина на капиллярное звено МЦР мозга крыс. Вышеизложенное предусматривает в перспективе возможность применения таурина в клинической практике при нарушениях мозгового кровообращения и в комплексе с другими препаратами для лечения алкогольной зависимости у пациентов.

Апробация работы. Материалы и основные положения работы были представлены на заочной научно-практической конференции с международным участием «Современные аспекты морфологии человека: успехи, проблемы и перспективы», посвященной 150-летию со дня рождения профессора Н.Ф. Мельникова-Разведенкова, Харьков, 24 декабря 2016 г.; на XII Международной научно-практической конференции «Естественные и технические науки в современном мире» Москва, 10 февраля 2017г., на «Կենսաքիմիայի անցյալը, ներկան և ապագան» երիտասարդական միջազգային գիտաժողովին նվիրված ակադեմիկոս Հ. Բունիաթյանի 110 ամյակին, Երևան, 2-3 նոյեմբերի, 2017; на 5th HBP School – Future Medicine Brain Disease Neuroscience, 27 November- 3 December. Obergurgl, Austria.

Публикации. Основное содержание диссертации отражено в 9 научных публикациях.

Структура и объём работы. Диссертационная работа изложена на 149 страницах и состоит: из введения, обзора литературы, описания методов исследований, результатов исследований и их обсуждения, выводов и списка литературы, включающего 250 источников. Диссертация содержит 52 рисунка, 2 таблицы и 1 график.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Были проведены электрофизиологические исследования в сериях с отведением одиночной спайковой активности нейронов гиппокампа, голубого пятна и черной субстанции при высокочастотной стимуляции соответствующих афферентных входов (энторинальная кора, супраоптическое ядро, стриатум) у интактных крыс, после интоксикации этанолом и под воздействием таурина. В остром эксперименте крыс линии Альбино ($n=45$) обездвигивали 1% дитилином (25 мг/кг в/б), фиксировали в стереотаксическом аппарате и переводили на искусственное дыхание. Модель изолированного бодрствующего головного мозга крысы получали перерезкой спинного мозга на уровне грудных Т2-Т3 сегментов под местным 0.5% новокаиновым наркозом. Стекланный микроэлектрод и раздражающий электрод были погружены в соответствующие структуры мозга согласно стереотаксическим координатам [Paxinos G., Watson C., 2005]. Импульсный поток подвергали программному анализу (разработчик В.С. Камснецкий). Традиционным методом проверки являлся t-критерий Стьюдента.

Морфофункциональные исследования клеточных структур головного крыс проводились на этанол-вызванной нейродегенеративной модели с последующим каждодневным однократным введением водного раствора таурина (50 мг на 1 кг веса, в/б, в 1 мл физ.раствора). Животные (крысы линии Альбино, $n=40$) были подразделены на следующие группы: (1) интактные крысы; (2) контрольная группа (получающие в течение 4-х месяцев 15% раствор этанола, после чего на 7 дней переведенные на воду, отмена этанола) и 3 опытные группы в зависимости от сроков приема алкоголя: (3) 10 дней, (4) 1 и (5) 4 месяца соответственно. Для изучения влияния таурина на клеточные структуры мозга крыс после интоксикации этанолом животные также были подразделены на 3 группы: получившие 15% раствор этанола: (6) в течение 10 дней; (7) в течение 1-ого и (8) в течение 4-х месяцев, соответственно, после чего переведенные на воду и получившие инъекции таурина. Соответствующие отделы мозга быстро извлекались, их фиксировали в 5% растворе нейтрального формалина на фосфатном буфере в течении 48 часов при температуре +4°C. Из кусочков готовились замороженные срезы толщиной 40-50 мкм. Готовили серийные ленточные срезы головного мозга во фронтальной плоскости. Замороженные срезы, согласно требованиям дальнейшей обработки, переносились в свежеприготовленные соответствующие инкубационные смеси, предназначенные для выявления активности Ca^{2+} -зависимой КФ по гистохимическому методу Меликсетян [Меликсетян И., 2007]. Полученные препараты были исследованы под светооптическим микроскопом OPTON (West Germany).

Для выявления внутримозгового МЦР был использован кальций аденозинтрифосфатный безинъекционный гистоангиологический метод Чилингагаряна [Chilingaryan A., 2006]. Животные (крысы линии Альбино, $n=35$) были подразделены на следующие группы: (1) интактные крысы и 6 подопытных групп. Экспериментальные животные в качестве единственного источника жидкости получали 15% раствор этанола (2) в течение 10 дней, (3) в течение 1-го и (4) в течение 4-х месяцев. После приема этанола в эти же сроки животных переводили на воду и в течение 7-и дней ежедневно однократно вводили водный раствор таурина (50 мг/кг веса, в/б): (5), (6) и (7) группы, соответственно срокам интоксикации. Животные были наркотизированы нембуталом (40 мг/кг веса, в/б). Мозг фиксировался в 5% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов. Готовили срезы толщиной 90-120 мкм, собирали их в физиологический раствор, переносили в соответствующую инкубационную смесь. На готовых препаратах мозга проводили измерение диаметра капилляров окулярным микрометром под светооптическим микроскопом (ок.15, об.20). Микроснимки получали с помощью фотонасадки 8 MP Camera, Model FMA050 Amscope, USA.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электrofизиологические исследования

В трех сериях экспериментальных микроэлектрофизиологических исследований на крысах, подверженных кратковременной (10 дней) и длительной (4 мес.) интоксикации этанолом, в сравнении с нормой и в условиях протекции таурином, изучено соотношение сравнительной степени выраженности возбуждательных и тормозных постстимульных тетанических и посттетанических проявлений и частоты импульсной активности нейронов трех структурных комплексов: голубого пятна (LC) при высокочастотной (ВЧС) стимуляции супраоптического ядра гипоталамуса (SON) (8 крыс, 198 клеток), гиппокампа на ВЧС энторинальной коры мозга (6 крыс, 406 клеток), компактного и ретикулярного отделов черной субстанции (SNc и SNr) на ВЧС хвостатого ядра (Caudate/Putamen – Cpu) (18 крыс, 636 клеток). Сравнительная количественная оценка всего массива испытаний изученных нейронов выявила формирование возбуждательных и депрессорных ответов в одиночных нейронах гиппокампа, голубого пятна и черной субстанции на ВЧС энторинальной коры, супраоптического ядра и стриатума, соответственно, исчисляемых на основе усредненного количества спайков (PETH), с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты в Гц (FrequencyAverage) на примере комплексных усредненных перистимульных гистограмм, привела к следующему заключению о соотношении возбуждательных и депрессорных постстимульных проявлений спайкинга активности. Выявлено формирование ответов в голубом пятне, гиппокампе и черной субстанции в виде ТП и ТД, с проявлениями активности в виде ПТП и ПТД.

Синаптические процессы в нейронах голубого пятна, активированных супраоптическим ядром на модели интоксикации этанолом с протекцией таурином.

Посредством анализа было установлено, что в нейронах LC на ВЧС SON тетаническая депрессия (ТД) в постстимульных депрессорных и разнонаправленных последовательностях в норме оценивалась в пределах 1.17- и 1.08-кратного занижения престимульной активности, а тетаническая потенция – порядка 1.28- и 3.83-кратного превышения, соответственно (Рис. 1 А, Б). В условиях 10 дневной интоксикации значения постстимульных депрессорных проявлений активности нейронов LC, в условиях протекции таурином, оказались в пределах 2.0- и 3.0-кратного занижения престимульной активности, соответственно, что оказалось 1.71 и 2.77 раз ниже нормы (Рис. 2 А, Б), а возбуждательные – не проявлялись вообще.

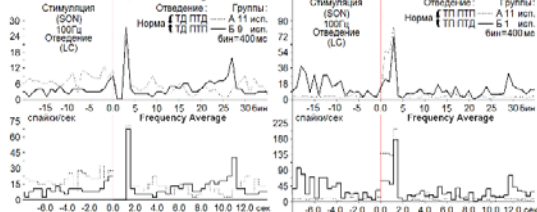


Рис.1. Усредненные перистимульные (PETH Average) и гистограммы частоты (Frequency Average) депрессорных (А) и возбуждательных (Б) постстимульных проявлений активности нейронов LC на ВЧС SON в норме.

Иными словами, имело место приближение параметров депрессорных постстимульных эффектов к норме, с полным исчезновением возбуждательных эффектов. В условиях 4 мес. интоксикации этанолом ТД в обеих посттетанических последовательностях достигала 3.0- и 1.0-кратного снижения постстимульной активности, что, по сравнению с нормой (1.17 и 1.08), определялась порядка еще большего снижения – 2.56-кратно, но лишь в депрессорной последовательности, а тетаническая потенция проявилась лишь в ТП ПТП (2.0-кратным превышением

престимульной активности), к тому же, с 1.56-кратным превышением, в сравнении с нормой (1.28-кратного) (Рис. 1 и 3 А, Б).

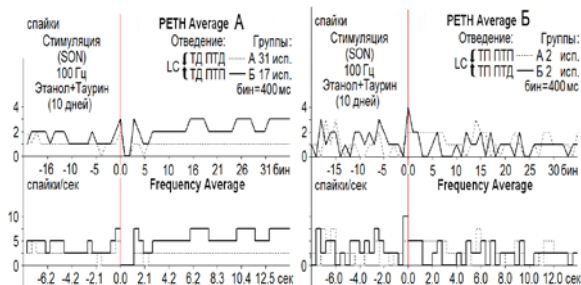


Рис. 2. Усредненные перистимульные (PETH Average) и гистограммы частоты (Frequency Average) депрессорных (А) и возбудительных (Б) постстимульных проявлений активности нейронов LC на ВЧС SON на модели 10 дневной интоксикации этанолом с протекцией таурином.

Таким образом, при более длительном (4 мес.) применении этанола значения постстимульных депрессорных и возбудительных проявлений в известных последовательностях изменялись 3.0-, 1.0-и 2.0-кратно, по сравнению с нормой, порядка 1.17-, 1.08, 1.28 и 3.83-кратного, соответственно. Иными словами, в случае 4 мес. использования этанола, относительно выраженная интоксикация наметилась в уровнях ТД ПТД и ТП ПТД, в особенности. При протекции же таурином после 4 мес. приема этанола ТД в обеих последовательностях определялись в пределах 2.5- и 5.0-кратного занижения престимульной активности, что, по сравнению с нормой (1.17-, 1.08-кратного), оказалось на уровне резкого завышения престимульной активности (2.13 и 4.63 раза), но без восстановления возбудительно-депрессорной последовательности и лишь с приближением к уровню нормы в возбудительной последовательности, порядка 2-кратного против 1.28-кратного в норме (Рис. 1 А, Б; 3 В, Г). Иными словами, в условиях длительной интоксикации, по крайней мере для депрессорных синаптических эффектов, таурин оказался успешным.

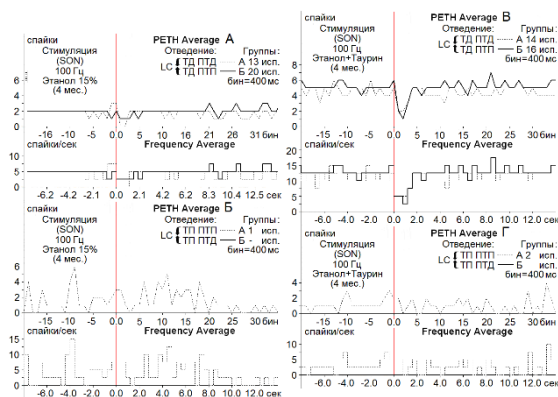


Рис. 3. Усредненные перистимульные (PETH Average) и гистограммы частоты (Frequency Average) депрессорных (А, Б) и возбудительных (Б, Г) постстимульных проявлений активности нейронов LC на ВЧС SON на модели 4 мес. интоксикации этанолом (А, Б) и с протекцией таурином (В, Д).

При оценке относительной степени выраженности вышеотмеченных депрессорных и возбудительных эффектов в обеих посттетанических последовательностях получены значения, представленные в виде дисковых диаграмм для более наглядного представления степени выраженности и в частотном отображении (в %) экспериментальных данных.

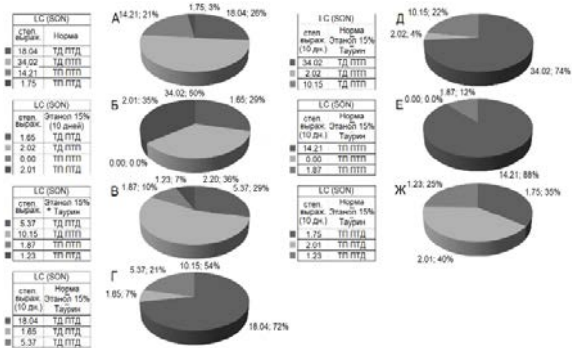


Рис. 4. Соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) депрессорных (ТД ПТД), депрессорно-возбудительных (ТД ПТП), возбудительных (ТП ПТП) и возбуждительно-депрессорных (ТП ПТД) постстимульных эффектов в одиночных нейронах LC на ВЧС SON в норме, на модели 10 дневной интоксикации этанолом и с протекцией таурином.

В условиях 10 дневной интоксикации в нейронах LC при ВЧС SON при интоксикации этанолом резко снижается депрессорная последовательность (Рис. 4 Г), которая повышается с протекцией таурином (Рис. 4 Д).

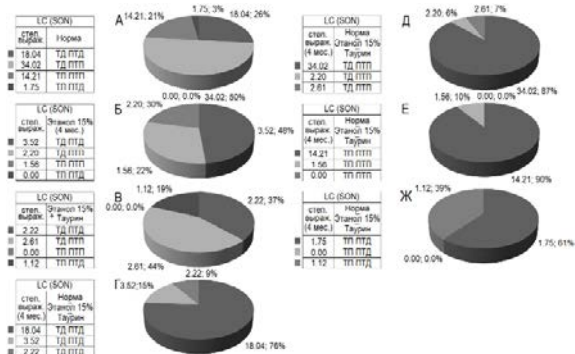


Рис. 5. Соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) депрессорных (ТД ПТД), депрессорно-возбудительных (ТД ПТП), возбудительных (ТП ПТП) и возбуждительно-депрессорных (ТП ПТД) постстимульных эффектов в одиночных нейронах LC на ВЧС SON в норме, на модели 4 мес. интоксикации этанолом и с протекцией таурином.

При 4 мес. интоксикации в нейронах LC при ВЧС SON нет выраженных изменений, хотя с сохранением тенденции, но в этом случае приобретают важность изменения престаимпульной частоты активности исследуемых нейронов (Рис. 5 Г, Д).

Синаптические процессы в нейронах гиппокампа, активированных энторинальной корой на модели интоксикации этанолом с протекцией таурином.

Аналогично LC, в гиппокампе был проведен анализ полученных ЭФ данных. В условиях 10 дневной этаноловой интоксикации в гиппокампе (Н) имело место резкое снижение параметров депрессорных постстимульных эффектов (2.26-кратно) в виде ТД в последовательности ТД ПТП. В условиях 4 мес. интоксикации этанолом ТД в обеих посттетанических последовательностях достигала 2.2- и 1.83-кратного снижения престаимпульной активности, а ТП в аналогичных разнонаправленных постстимульных последовательностях – порядка 1.75- и 1.61- кратного превышения, то есть наметилась относительно выраженная интоксикация в уровнях ТД ПТД и ТП ПТД. С использованием таурина после 10 дневной интоксикации этанолом постстимульные депрессорные эффекты проявили тенденцию практического приближения к норме, достигнув 6.0- и 5.0-кратного снижения престаимпульной активности против 6.0- и 7.0-

кратного в норме. Что же касается потенциации, то она значительно увеличилась, по сравнению с патологией (приблизившись к норме и даже превысив ее (6.0- против 4.5-кратного в норме и 1.75-кратного - лишь в патологии)). Однако не было зарегистрировано возбuditельно-депрессорной последовательности. Таким образом, очевиден протекторный эффект таурина. При протекции таурином после 4 мес. приема этанола ТД в обеих последовательностях определялись в пределах 5.0-кратного занижения прeстимульной активности, что, по сравнению с нормой (6.0-, 7.0-кратного), оказалось на уровне достаточного приближения, но без восстановления возбuditельных постстимульных эффектов вообще. Иными словами, в условиях длительной интоксикации, по крайней мере для депрессорных синаптических эффектов, таурин оказался успешным.

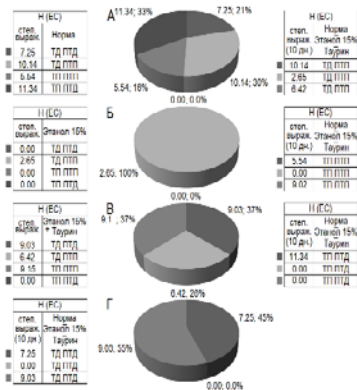


Рис. 6. Соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) депрессорных (ТД ПТД), депрессорно-возбuditельных (ТД ПТП), возбuditельных (ТП ПТП) и возбuditельно-депрессорных (ТП ПТД) постстимульных эффектов в одиночных нейронах НР на ВЧС ЭК в норме, на модели 10 дневной интоксикации этанолом и с протекцией таурином.

В условиях 10 дневной интоксикации в нейронах гиппокампа при ВЧС ЭК при интоксикации этанолом исчезает депрессорная постстимульная последовательность, которая восстанавливается с протекцией (Рис. 6 Г); резко снижается депрессорная последовательность при интоксикации и повышается с протекцией (Рис. 6 Д).

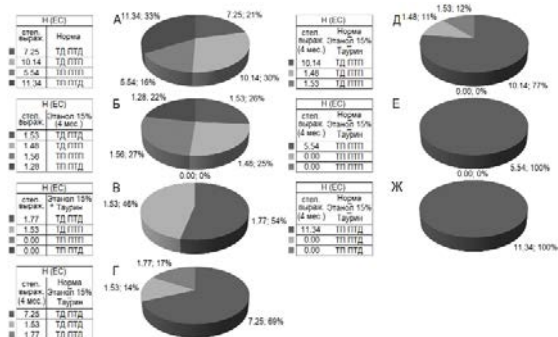


Рис. 7. Соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) депрессорных (ТД ПТД), депрессорно-возбuditельных (ТД ПТП), возбuditельных (ТП ПТП) и возбuditельно-депрессорных (ТП ПТД) постстимульных эффектов в одиночных нейронах гиппокампа на ВЧС ЭК в норме, на модели 4 мес. интоксикации этанолом и с протекцией таурином.

В нейронах гиппокампа при ВЧС ЭК при 4 мес. интоксикации также резко снижаются депрессорные последовательности (ТД ПТД и ТД ПТП), которые с протекцией приобретают тенденцию повышения, с приближением к норме (Рис. 7 Г, Д).

Синаптические процессы в нейронах компактного и ретикулярного отделов черной субстанции, активированных хвостатым ядром на модели интоксикации этанолом с протекцией таурином.

Посредством анализа было обнаружено, что в условиях 10 дневной этаноловой интоксикации значения постстимульных депрессорных проявлений активности нейронов SNc, в условиях протекции таурином, оказались в пределах 5-снижения претимпульной активности, что оказалось 1.8 и 1.4 раза ниже нормы, а уровень тетанической потенциации – порядка 2.5-кратного превышения в ТП ПТП, при отсутствии ТП ПТД, что достигало нормы (2.75-кратного). В тех же условиях 10 дневной интоксикации и протекции таурином значения ТД в нейронах SNr определялись в пределах 4.5- и 7.0-кратного занижения претимпульной активности, что стало 1.5 раз выше и 2.8 раза выше нормы, но и здесь выявлено лишь 2.25-кратное превышение претимпульной активности в ТП ПТП без ТП ПТД, что 1.7 раз стало выше нормы. Иными словами, в нейронах SNc при протекции имело место приближение параметров депрессорных постстимульных эффектов к норме, но с исчезновением тетанической потенциации в возбuditельно-депрессорной последовательности с приближением параметров в возбuditельной последовательности. В нейронах SNr, наоборот, с приближением значений депрессорных постстимульных эффектов наметилось некоторое превышение, за исключением такового более выраженного в депрессорно-возбuditельной последовательности, а возбuditельные также с приближением к значениям в норме, как и в нейронах SNc, отмечалось отсутствие возбuditельно-депрессорной последовательности.

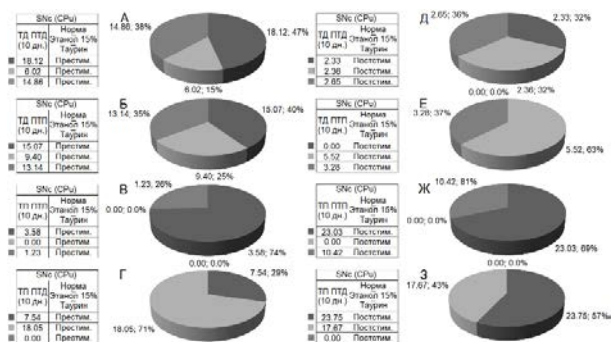


Рис. 8. Процентное соотношение пре- и постимпульной частоты активности нейронов SNc на ВЧС CPu, предшествующих постстимульными депрессорными (А, Б, Д, Е) и возбuditельными (В, Г, Ж, З) эффектами в норме, в условиях 10 дневной интоксикации этанолом и с протекцией таурином.

В нейронах SNc (Рис. 8 А, Б) в условиях 10 дневной интоксикации, достаточно заниженная претимпульная частота, предшествующая депрессорной последовательности, с протекцией почти приближается к норме; отмечается завышенная претимпульная частота активности (эксайтотоксичность), предшествуемая возбuditельной последовательностью (Рис. 8 Г). Постстимульная частота активности в условиях 10 дневной интоксикации, сопровождающая возбuditельные последовательности, достигала 17.67, по сравнению с нормой (23.03). Иными словами, постстимульная частота активности нейронов SNc в условиях 10 дневной интоксикации претерпевала снижение в возбuditельной последовательности 1.30 раз, по сравнению с нормой (при отсутствии возбuditельно-депрессорных эффектов), что также содействует протекции, поскольку противодействует эксайтотоксичности. Очевидна успешная протекция, на примере постстимульной активности, сопровождающей депрессорные эффекты. Аналогичная картина наблюдалась в SNr.

Постстимульная частота активности нейронов SNc, сопровождающая депрессорные постстимульные эффекты в условиях 4 мес. интоксикации достигала 6.41 и 4.84, с протекцией 10.02 и 12.28, по сравнению с нормой – 2.33 и 0.00, а сопровождающая возбудительные эффекты в условиях интоксикации – 9.58 и 15.70, с протекцией - их отсутствие вообще, по сравнению с нормой (23.03 и 23.75) (Рис. 9 Д-З). Таким образом, постстимульная частота активности нейронов SNc в условиях 4 мес интоксикации, сопровождающая депрессорные постстимульные эффекты, оказалась выше нормы (2.75 и 4.84 раз), с протекцией также выше (4.30 и 12.28 раз), а постстимульная частота активности, сопровождающая возбудительные эффекты в условиях интоксикации без протекции оказалась 2.40 и 1.51 раз ниже нормы, а с протекцией исчезли вообще.

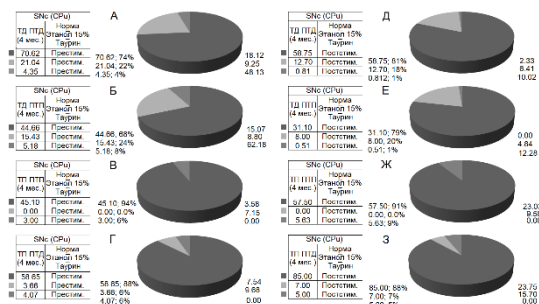


Рис. 9. Процентное соотношение пре- и постстимульной частоты активности нейронов SNc на ВЧС СРц, предшествующих постстимульными депрессорными (А, Б, Д, Е) и возбудительными (В, Г, Ж, З) эффектами в норме, в условиях 4 мес. интоксикации этанолом и с протекцией таурином.

В условиях 4 мес. интоксикации этанолом в нейронах SNc ТД в обеих посттетанических последовательностях достигала 2.0- и 3.0-кратного снижения постстимульной активности, что, по сравнению с нормой (9.0- и 7.0-кратного), определялась порядка небольшого снижения – 4.5 и 2.33 раза ниже нормы; при этом ТП, в обеих последовательностях достигала 2.0-кратного превышения, по сравнению с нормой (2.75- и 1.30-кратного). С протекцией в нейронах SNc ТД исчислялась порядка 21- и 13.5-кратного занижения, что оказалось намного выше нормы (9- и 7-кратного), при полном отсутствии возбудительных постстимульных эффектов. В условиях 4 мес. интоксикации этанолом в нейронах SNr ТД в обеих депрессорных последовательностях исчислялись в пределах 1.31- и 3.0-кратного занижения постстимульной активности, что достигало значений ниже и выше нормы (3.0- и 2.5-кратного), а ТП в возбудительных последовательностях –1.25- и 1.43-кратного превышения, ближе и ниже нормы (1.33- и 2.3-кратного). При 4 мес. интоксикации с протекцией, в нейронах SNr ТД в депрессорных последовательностях достигала 1.33- и 1.5-кратного занижения постстимульной активности, а ТП в возбудительных последовательностях –1.1- и 1.43-кратного превышения, что стало ближе и меньше нормы (1.33- и 2.30-кратного). Аналогичная картина наблюдалась в SNr в условиях 4 мес. интоксикации и под влиянием таурина.

В заключение, учитывая депрессорную постстимульную активность в качестве протекторной, ее снижение и повышение возбудительной активности необходимо воспринимать как нейродегенерацию, а повышение депрессорной активности, т.е. восстановление, как протекцию, что собственно и имело место с применением таурина во всех исследуемых структурах мозга. Отмеченное в очередной раз свидетельствует о необходимости не только протекторного сохранения депрессорных, но и снижения чрезмерных возбудительных эффектов [Саркисян Дж.С. и др., 2018].

Морфогистохимические исследования мозга крыс в динамике при интоксикации этанолом и в условиях применения таурина

Таурин обладает антиалкогольным действием, он изменяет функциональные параметры центральной нервной системы, способствует нормализации функций клеточных мембран. Он восстанавливает энергетику нервных клеток настолько, что в поведении животных пропадает агрессия или заторможенность, которые отмечались у них при приеме алкоголя [Нефёдов Л.И.,1999]. В ходе исследования было установлено, что наиболее уязвимыми к воздействию этанола областями мозга являются кора больших полушарий, гиппокамп, миндалевидное тело, черная субстанция, ядра гипоталамуса и голубое пятно. Целью настоящей работы было изучение влияния таурина на клеточные структуры мозга крыс на модели интоксикации этанолом.

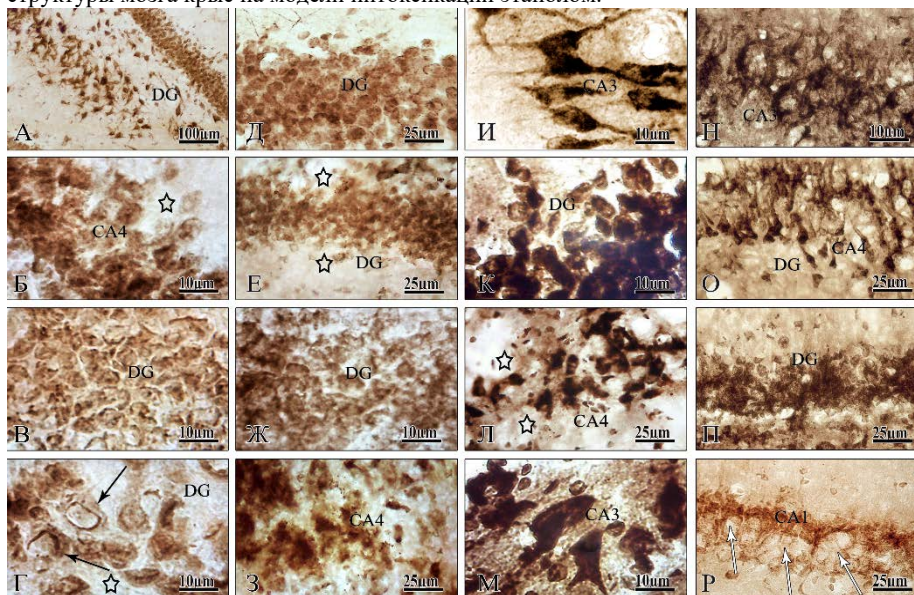


Рис. 10. Микрофотографии нейронов гиппокампа в норме, при интоксикации и после отмены этанола. Нейроны зубчатой извилины (DG) - А; поля CA3 - И, М; поля CA4 - З, Л; гранулярные клетки зубчатой извилины - Д, Б, В, Г, Е, Ж, К. (А, Д, И – норма; Б-Г – через 10 дней, Е-З – через 1 месяц и К-М – через 4 месяца после интоксикации; Н-Р – отмена этанола; черные стрелки – подмембранное расположение КФ; звездочки - межклеточный отёк мозга звездочка- клетки “тени”; белые стрелки - «опустошенные» от нейронов кругообразные территории. Оптическийувеличение: $\times 100$ (А); $\times 400$ (Д,Е,З,Л,О,П, Р); 1000 (Б,В,Г,Ж,И,К,М,Н).

Наши данные указывают, что поражение нейронов всех исследуемых областей мозга идёт по типу центрального хроматолиза. Морфологическая картина повреждений, наблюдаемых в изучаемых отделах мозга после интоксикации этанолом, является выражением ответной реакции на различные патологические воздействия экзо-и эндогенного происхождения, присуща неспецифическим нейрональным поражениям и напоминает острое набухание нервных клеток, которое относится к довольно распространенному виду клеточной патологии. Вероятно, в результате развёртывания обменных явлений перикариона нарушается процесс дыхания клеток, происходит снижение активности ряда ферментов.

Интоксикация этанолом приводит к глубоким дегенеративным изменениям в гиппокампе, процессы нейронального расщепления сопровождаются формированием губчатого альвеолярного состояния. Кроме того, наблюдается редукция дендритного дерева пирамидных нейронов гиппокампа, что предполагает нарушение межнейрональных связей при воздействии этанола (Рис. 10 Б-Г). В средние сроки интоксикации уменьшается плотность расположения нейронов, пирамидные клетки теряют свою характерную форму: сморщиваются и становятся похожими на бесструктурные образования, с сильной фосфатазной активностью (Рис. 10 З). Гранулярные клетки зубчатой извилины гипертрофируются, теряется четкость контуров клеточной оболочки и ослабляется фосфатазная активность (Рис. 10 Е, Ж). Это свидетельствуют как о количественных изменениях citoархитектонических параметров, так и о грубых структурных изменениях. При длительном применении этанола в нейронах обнаруживаются внутриядерные гранулы, вероятно являющиеся новыми стресс-вызванными структурами и служат доказательством того, что ядро клетки подвергается динамической реорганизации (Рис. 10 К-М). Для этанол-индуцированной нейродегенерации гиппокампа характерно изменение в размерах и числе пирамидных нейронов, а также объема его областей. При отмене этанола гиппокамп проявляет себя довольно уязвимой структурой мозга, его морфологическая картина характеризуется дезорганизацией тканевой структуры, особенно в зубчатой извилине (Рис. 10 О, П). В поле СА1 отмечаются набухание клеток и круговое опустошение, нейроны выглядят округлыми, с высокой фосфатазной активностью. Форма и размеры нейронов СА3 поля сохранены, но тем не менее, контуры не прослеживаются (Рис. 10 Н, Р).

Под влиянием таурина после интоксикации в динамике в гиппокампе наблюдается различной степени восстановление морфологической картины, отмечается относительное увеличение плотности расположения нейронов во всех во всех его извилинах в зависимости от срока приема этанола. После кратковременной интоксикации таурин приводит к нормализации структуры гиппокампа, отмечается увеличение плотности расположения нейронов во всех извилинах, а также восстановление размеров и форм клеток с отростками, чёткость контуров клеточной оболочки (Рис. 11 А, Г, Ж).

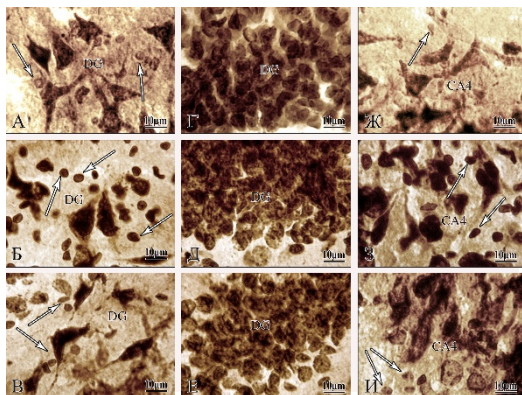


Рис. 11. Влияние таурина на нейроны зубчатой извилины и СА4 поля гиппокампа после интоксикации этанолом в динамике (А-В – через 7 дней введения таурина после 10 дней; Г-Е – после 1 месяца; Ж-И – после 4-х месяцев приема этанола). Гранулярные (Г, Д, Е) и пирамидные клетки (А, Б, В) зубчатой извилины (DG); нейроны СА4 поля (Ж, З, И) (белая звёздочка- ядра глиальных клеток; И - гипертрофированные клетки в СА4 поле; А-И - высокая и умеренная фосфатазная активность). Оптич.увеличение: $\times 1000$ (А, Б, В, Г, Д, Е, Ж, З, И).

При средних сроках интоксикации этанолом характерным является повышение метаболизма, усиление Ca^{2+} -зависимых процессов фосфорилирования, также наблюдается увеличение плотности расположения нейронов гиппокампа, отмечается тенденция к восстановлению формы и размеров клеток, по сравнению с крысами после приема этанола. Клетки интенсивно окрашены (Рис. 11 Б, Д, З). Под влиянием таурина

после длительного приема этанола в гиппокампе, наряду с клетками с нормальной морфологией, встречаются дегенерированные нейроны с углублённым развитием хроматолиза и эктопией ядра. Форма клеток нарушена, однако размеры приближаются к норме, у большинства из них укорачиваются отростки. Реагируют ядра глиальных клеток (Рис. 11 А-В, Ж-И).

После кратковременной интоксикации в черной субстанции выявляется нарушение нейроархитектоники (Рис. 12 Б). Наблюдается уменьшение объема и удельной плотности нейронов. Характерная полигональная форма сменяется на шарообразную из-за набухания тел. Происходит вздутие и округление клеточных тел, контуры становятся неправильными, местами неразличимыми. Встречаются также клетки с центральным хроматолизом с просветленной цитоплазмой, без отростков (Рис. 12 Б).

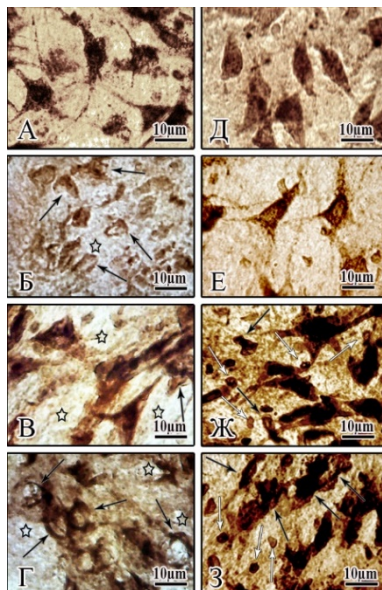


Рис. 12. Влияние таурина на нейроны черной субстанции после интоксикации этанолом в динамике (А- норма; Б – через 10 дней, В – 1 месяц и Г – 4 месяца интоксикации; Д – отмена этанола; Е – через 7 дней введения таурина после 10 дней, Ж – 1 месяца и З – 4-х месяцев приема этанола; черные стрелки - хроматолиз; звездочки - околочелюточный отек; белые стрелки – ядра глиц). Оптич.увеличение: $\times 1000$ (А, Б, В, Г, Д, Е, Ж, З).

В средние сроки обнаруживаются веретенообразные гипертрофированные дегенерированные клетки с нечеткими контурами, ядра их интенсивно окрашены, и один из отростков значительно утолщен (Рис. 12 В). Длительное использование этанола приводит к полному нарушению цитоархитектоники и депигментации черной субстанции. Клетки, содержащие меланин, подвергаются изменениям в большей степени, чем клетки, свободные от пигмента. Поэтому черная субстанция даже при макроскопическом исследовании выглядит обесцвеченной. Нейроны гипертрофированы, характерная полигональная форма сменяется на шарообразную из-за набухания тел. Начиная с центральных участков клетки происходит лизис гранул хроматофильного вещества цитоплазмы (Рис. 12 Г). После отмены этанола происходит постепенное восстановление размеров тел нейронов, наблюдается спад фосфатазной активности, уменьшается количество хроматофильного вещества в цитоплазме клеток. Изменения проявляются в виде аксональной реакции (ретроградной дегенерации). Единично встречаются нейроны, богатые пигментом нейромеланином и содержащие короткие аксоны (Рис. 12 Д). Вышеописанные изменения свидетельствуют о частичном приспособлении, но в основном, о подавлении активности нейронов SN после отмены этанола.

У крыс, получавших таурин после кратковременной интоксикации, нейроны черной субстанции полностью восстанавливаются, их форма и размеры приближаются к таковым как у интактных крыс (Рис. 12 А, Е). Увеличивается плотность расположения нейронов и число клеток с сопровождающими волокнами. Среди крупных нейронов начинают реагировать мелкие округлые клетки. Клетки приобретают характерную им полигональную форму, контуры клеток становятся отчетливыми, у них реагируют тонкие длинные отростки, что указывает на частичное восстановление их связей с соседними клетками и

другими областями мозга. У животных, получивших таурин после месячного приема этанола, полигональность формы клеток в основном не восстановлена, но есть тенденция к восстановлению характерных для нейронов размеров (Рис. 12 Ж). Процесс хроматолиза не выявляется, однако, наряду с клетками, сохранившими форму и отростки, встречаются гипертрофированные дегенерированные нейроны, подвергнутые хроматолизу, с эктопированным ядром. Повсеместно реагируют ядра глиальных клеток (Рис. 12 Ж, З).

У крыс, получавших таурин после длительной интоксикации, морфологическая картина характеризуется уменьшением объёма и плотности расположения нейронов, вздутием и округлением клеточных тел черной субстанции. У клеток нарушена полигональная форма, встречаются веретенообразные дегенерированные клетки с нечёткими контурами, короткими отростками и овальной формы клетки с подмембранным расположением КФ, не наблюдается чёткого разграничения групп клеток. Встречаются также клетки с центральным хроматолизом с эктопированными и интенсивно окрашенными ядрами, которые перемещаются к периферии (Рис. 12 З).

При кратковременной интоксикации поражение нейронов в голубом пятне идет по типу центрального хроматолиза. Нейроны теряют свою характерную форму, вздуваются, у большинства из них перестают реагировать отростки. А у некоторых клеток дорсолатеральной части отростки сохраняются, но укорачиваются (Рис. 13 Б). По периферии плазмолеммы обнаруживается околочелюточный отёк.

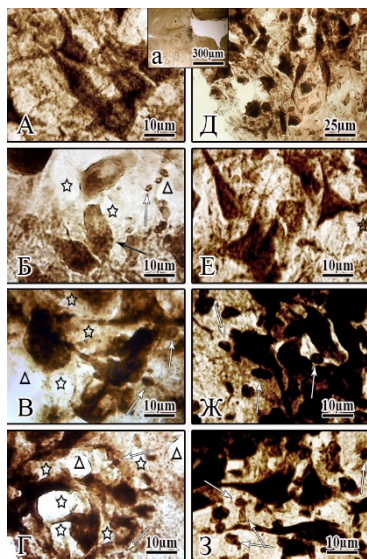


Рис. 13. Влияние таурина на нейроны голубого пятна после интоксикации этанолом в динамике (А- норма; Б – через 10 дней, В – 1 месяц и Г – 4 месяца интоксикации; Д – отмена этанола; Е – через 7 дней введения таурина после 10 дней, Ж – 1 месяца и З – 4-х месяцев приема этанола; (черные стрелки - эктопированные ядра; белые стрелки - ядра глиальных клеток; звёздочка – тканевой отёк; треугольник-клетки “тени”). Оптич.увеличение: $\times 25$ (а); $\times 400$ (Д); $\times 1000$ (А, Б, В, Г, Е, Ж, З).

Употребление этанола в течение 1 месяца приводит к нарушению морфологической картины в нейронах голубого пятна (Рис. 13 В). Клетки увеличены в размерах, гипертрофированы, но, в сравнении с кратковременной интоксикацией, контуры клеток более чёткие, процесс хроматолиза не выявлен. Отростки укорочены, а некоторые нейроны и вовсе их лишены, эктопированные разбухшие ядра сохраняют свою фосфатазную активность. Отмечается околочелюточный отёк, гомогенно окрашенные ядра гли. В нейронах высокая фосфатазная активность, крупноглыбчатый осадок выявляется в телах и отростках клеток (Рис. 13 В).

Длительный прием этанола вызывает дегенерацию клеток голубого пятна (Рис. 13 Г). Большинство нейронов окружены межклеточным отеком, теряют характерную продолговатую форму, у них нарушается четкость контуров и отсутствуют отростки. В цитоплазме наблюдаются процессы центрального хроматолиза. Морфологическая картина повреждения напоминает поражения, присущие тяжелым изменениям нервных клеток. После отмены приема этанола отмечается увеличение плотности расположения клеток, восстанавливаются размеры и форма нейронов, у которых начинают реагировать отростки. В межклеточном пространстве на фоне отека хорошо выявляются ядра

глиальных клеток (Рис. 13 Д). В данном случае, возможно, имеет место защитная реакция глиальных клеток по отношению к нейронам. Это свидетельствует о гиперактивности голубого пятна после отмены приема этанола. У крыс, получавших таурин после 10-дневного приема этанола, в голубом пятне не наблюдается дегенерации, процесс хроматолиза не выявляется, отмечается увеличение плотности расположения нейронов, клетки приобретают характерную форму, четкие границы, длинные отростки, ядро центрально расположено, фосфатазная активность умеренная. Много синапсов на соме и на отростках клеток (Рис. 13 Е). У животных, получивших таурин после месячного приема этанола, также отмечается тенденция к восстановлению морфологической картины (Рис. 13 Ж). Клетки, по сравнению с нормой, незначительно гипертрофированы, восстанавливается картина реакции апикальных дендритов. Клетки интенсивно окрашены, местами сгруппированы (Рис. 13 Ж). У крыс, получавших таурин после длительной интоксикации, в основном, процесс хроматолиза не выявляется, однако, наряду с клетками, сохранившими форму и отростки, встречаются гипертрофированные дегенерированные нейроны, подвергнутые хроматолизу, с эктопированными ядрами (Рис. 13 З). Под влиянием таурина в голубом пятне отмечается высокая активность КФ в цитоплазме и отростках, в межклеточном пространстве обнаруживаются ядра глиальных клеток. В коре, миндалевидном теле и ядрах гипоталамуса в результате интоксикации этанолом в динамике наблюдаются аналогичные вышеописанным изменения, поражение идет по типу центрального хроматолиза, дегенеративные процессы углубляются по мере удлинения срока употребления этанола. Под влиянием таурина в этих отделах мозга отмечается тенденция к восстановлению морфологической картины, при кратковременном приеме этанола таурин приводит к положительным изменениям, но при среднем и хроническом приеме этанола нет полной картины восстановления.

Таким образом, при приеме таурина демонстрируются положительные изменения структурных свойств нейронов изучаемых областей (регенерация клеток почти во всех отделах мозга крыс, восстановление формы и размеров клеток), наблюдается повышение активности кислой фосфатазы (повышение метаболизма) в цитоплазме и ядре клеток, усиление процессов фосфорилирования, что говорит об активации обменных процессов, направленных на поддержание нарушаемого в результате этаноловой интоксикации гомеостаза организма и, в конечном итоге, служит обеспечению оптимальных условий для процессов клеточного выживания и регенерации.

Морфометрическое исследование изменения диаметра капилляров головного мозга крыс в динамике после интоксикации этанолом и в условиях применения таурина.

В связи с избирательной ранимостью морфометрию проводили в ПФК больших полушарий. В условиях интоксикации этанолом в коре выявляются малососудистые зоны и поля с резко ограниченным числом капилляров. Отмечается редукция капиллярного звена. Первой реакцией на введение этанола является резкое сужение просвета капилляров в первые сутки (Рис. 14 Б, В), в последующем, в течение последующих сроков приема этанола сильный спазм сменяется постепенным умеренным расширением диаметра капилляров, что можно, скорее всего, интерпретировать за счет адаптивно-компенсаторного механизма, но диаметра капилляров не доходит до показателей нормы. При длительном применении этанола выявляется геморрагическое пропитывание, обусловленное значительными изменениями микрососудов (Рис. 14 Г). Визуальная оценка макропрепаратов показывает геморрагическое пропитывание, обусловленное значительными изменениями микрососудов. При введении таурина после приема этанола показатели просвета капилляров мозга приближаются к норме, отмечается увеличение плотности капиллярного звена ПФК мозга крыс (Рис. 14 Д, Е).

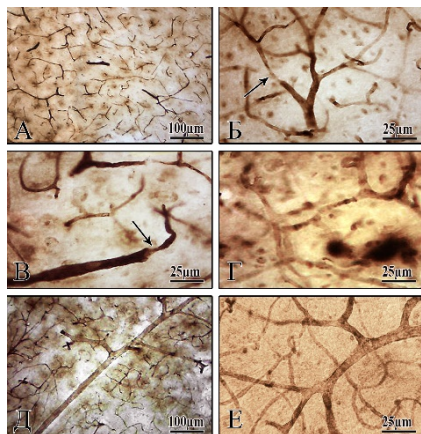


Рис. 14. Микрофотографии капиллярного звена микроциркуляторного русла префронтальной коры больших полушарий мозга крыс. А – норма; Б-Г – интоксикация этанолом (стрелки – суженные участки капилляров; Г-область кровоизлияния); Д, Е – влияние таурина. Оптич.увеличение: $\times 100$ (А, Д); $\times 400$ (Б, В, Г, Е).

После длительного приема этанола под влиянием таурина отмечается меньшая дилатация сосудов, чем после кратковременной интоксикации в сочетании с таурином. Однако, в сравнении с длительными сроками интоксикации этанолом, под влиянием таурина в эти же сроки наблюдается довольно значительное расширение просвета капилляров мозга.

Таким образом, полученные данные указывают на сосудорасширяющий и ангиопротекторный эффекты таурина на капиллярное звено МЦР мозга крысы. Данные, полученные в результате параллельно проведенных нами электрофизиологических, морфофункциональных и морфометрических исследований, подтверждают друг друга и указывают на положительное (нейро- и ангиопротекторное) действие таурина на клеточные структуры коры головного мозга крыс, подвергнутых интоксикации этанолом. Полученные результаты указывают на эффективность и перспективность использования аминокислоты таурина в качестве метаболической терапии при лечении алкоголизма и его последствий. Механизм корректирующего влияния таурина на метаболические нарушения реализуется через стабилизацию биомембран, активацию антиокислительной активности, нормализующее влияние на пул таурина в тканях и органах [Olive M.F., 2002].

ВЫВОДЫ

1. В гиппокампе, голубом пятне и черной субстанции в условиях кратковременной интоксикации этанолом имеет место исчезновение возбуждающих эффектов и резкое снижение параметров депрессорных постстимульных эффектов. После длительной интоксикации этанолом очевидно значительное превышение частоты престимульной активности нейронов вышеперечисленных структур, в результате неизбежного развития в них эксайтотоксичности, что чревато апоптозом и гибелью.
2. После отмены этанола нейроны голубого пятна и гиппокампа характеризуются эпилептиформной синаптической активностью, ассоциируемой с нарушением баланса ингибиторной и возбуждающей нейротрансмиссии.
3. Применение таурина после отмены этанола способствует полному или частичному восстановлению электрофизиологических показателей изученных структур мозга. Механизм действия заключается в активации протекторного назначения депрессии, противостоящей эксайтотоксичности.
4. В изученных областях мозга после интоксикации этанолом выявлены дегенеративные изменения, присущие неспецифическим нейрональным поражениям. Наблюдаются изменения citoархитектонических параметров и грубые структурные изменения, которые углубляются при длительном приеме этанола. Отмена этанола после не

приводит к нормализации морфологической картины коры и гиппокампа, и наоборот, усугубляет нейродегенеративные процессы.

5. При введении таурина демонстрируются положительные изменения структурных свойств нейронов изучаемых областей (регенерация клеток почти во всех отделах мозга крыс, восстановление формы и размеров клеток). Выявлен нейропротективный и нейрорепаративный эффекты таурина вследствие воздействия на регенерацию и выживаемость нейронов, на усиление метаболизма.
6. Морфометрия выявляет прогрессивное уменьшение диаметров капилляров по сравнению с интактными животными, редукцию капиллярного звена. Первой реакцией на введение этанола является резкое сужение просвета капилляров с последующей дилатацией капилляров, не доходящей до нормы. При введении таурина показатели просвета капилляров мозга приближаются к норме, увеличивается плотность капиллярного звена. Выявлены ангиогенные и сосудорасширяющие свойства таурина на модели интоксикации этанолом.
7. Полученные результаты указывают на эффективность и перспективность использования таурина в качестве метаболической терапии при лечении алкоголизма и его осложнений.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Хачатрян В.П., Саваян А.А., Даниелян М.А., Абраамян С.С., Назарян О.А., Карапетян К. В., Мелконян Н.Н., Гевондян Т.А. Исследование морфофункционального состояния гиппокампа крыс в условиях хронической алкоголизации и под влиянием таурина // Заочная научно-практическая конференция с международным участием «Современные аспекты морфологии человека: успехи, проблемы и перспективы», посвященная 150-летию со дня рождения профессора Н.Ф. Мельникова-Разведенкова, Харьков, 24 декабря 2016, с. 222-223.
2. Даниелян М.А., Хачатрян В.П., Назарян О.А., Гевондян Т.А. Влияние таурина на капилляры мозга крыс при алкогольной интоксикации // Научный журнал "Chronos", XII Международная научно-практическая конференция «Естественные и технические науки в современном мире» (10 февраля 2017г.), Москва, Выпуск 2(10), с. 4-10.
3. Даниелян М.А., Хачатрян В.П., Саваян А.А., Назарян О.А., Гевондян Т.А. Реакция капилляров мозга крыс при алкогольной интоксикации и под влиянием таурина // XIII Материалы Международной научной конференции «Приоритеты мировой науки: эксперимент и научная дискуссия», США (XIII International scientific conference «The priorities of the world science: experiments and scientific debate», 14-15 February 2017, North Charleston, SC, USA), с.40-45.
4. Даниелян М.А., Хачатрян В.П., Саваян А.А., Абрамян С.С., Назарян О.А., Карапетян К.В., Гевондян Т.А. Таурин и алкоголь: влияние таурина на клеточные структуры мозга крыс после алкоголизации. «Կենսաբիոլոգիայի անցյալը, ներկան և ապագան» գիտաժողովի թեզիսների և հոդվածների ժողովածու, 2-3 նոյեմբերի, 2017, Երևան, էջ.43-56.
5. Danielyan M.H., Khachatryan V.P., Savayan A.A., Nazaryan O.H., Karapetyan K.V., Ghevondyan T.H. Taurine and alcohol: the influence of Taurine on the cell structures in the rat brain in condition of alcohol intoxication // «Կենսաբիոլոգիայի անցյալը, ներկան և ապագան» գիտաժողովի թեզիսների և հոդվածների ժողովածու, 2-3 նոյեմբերի, 2017, Երևան, էջ. 12-13.
6. Хачатрян В.П. Метаболические нарушения при алкогольной интоксикации и их коррекция таурином (обзор литературы) // Медицина, наука, образование, 2018, №26, с. 77-81.
7. Даниелян М.А., Хачатрян В.П., Саваян А.А., Назарян О.А., Карапетян К.В., Саркисян Дж.С. Протекторное влияние таурина на клеточные структуры гиппокампа крыс после интоксикации этанолом // Журнал «Морфология» (Morphologia) Украина, 2018, том, № 4, с. 31-40.
8. Хачатрян В.П. Влияние таурина на клеточные структуры черной субстанции крыс, подвергнутых этанольной интоксикации // Мед.наука Армении, 2019, т. LIX, № 3, с. 52-61.
9. Даниелян М.А., Хачатрян В.П., Карапетян К.В., Погосян М.В., Саркисян Дж.С. Синаптические процессы в нейронах гиппокампа, активированных энторинальной корой, на модели этанольной интоксикации с протекцией таурином // Мед.наука Армении, 2019, т. LIX, № 3, с. 41-51.

ԽԱՉԱՏՐՑԱՆ ՎԱՀԱԳՆ ՊԵՐՃԻ
ԷԹԱՆՈՒԱՅԻՆ ԹՈՒՆԱՎՈՐՄԱՆ ՊԱՅՄԱՆԱԵՐՈՒՄ ԱՌԵՏՆԵՐԻ ԳԼԽՈՒՂԵՂԻ ԲԶՋԱՅԻՆ
ԿԱՌՈՒՅՑՆԵՐՈՒՄ ՏԱՌԻՐԻՆԻ ԱԶԴՅՈՒԹՅԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆ

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունները ցույց են տվել, որ հիպոկլամպում, կապույտ բծում և սև նյութում էթանոլի կարճաժամկետ թունավորումը հանգեցնում են դրդիչ պատասխանների բացակայությանը և դեպրեսոր հետաստիմուլային էֆեկտների պարամետրերի կտրուկ նվազեցմանը: Երկարաժամկետ էթանոլային թունավորման պայմաններում հիպոկլամպում նկատվում է նախաստիմուլային հաճակախանությունների բարձրացում, ինչը վկայում է նյարդաբջիջներում զարգացող էկզայտոտոքսիկության մասին: Այն առաջ է բերում նյարդաբջիջների ապոպտոզ և մահ, որը տաուրինով պրոտեկցիայի պայմաններում արդյունավետ հաղթահարվում է: Նշված կառույցներում էթանոլի կարճաժամկետ ազդեցության պայմաններում և հետագայում նաև տաուրինի ազդեցությամբ հստակ տեսանելի են լինում նյարդաբջիջների ֆունային և սինապտիկ ակտիվությունների մոտեցումը նորմային: Տաուրինի ազդեցության մեխանիզմը կայանում է բջի դեպրեսիայի պրոտեկցիայով, ինչը հանգեցնում է էկզայտոտոքսիկության վերացմանը:

Կապույտ բծում և հիպոկլամպում էթանոլի ընդունման դադարեցումից հետո տեսանելի են արգելակիչ և դրդիչ պատասխանների փոփոխություններ: Այս պայմաններում կապույտ բծի և հիպոկլամպի եզակի բջիջներում տեսանելի են նախա- և հետաստիմուլային էպիլեպտոիդանման սեպային ակտիվություններ, որոնք ասոցացվում են կալցիումական անցուղիների ֆունկցիայի խանգարման հետ:

Էթանոլային թունավորման պայմաններում հիպոկլամպի նյարդաբջիջներում, կապույտ բծում և սև նյութում տեսանելի են նյարդաբջիջների արտահայտված էկզայտոտոքսիկություն: Այն հանգեցնում է նշված կառույցների նեյրոդեգեներատիվ արտահայտված ախտահարումների, կարճաժամկետ հիշողության, շարժողական ֆունկցիաների և նյութափոխանակային խանգարումների: Բացահատվել են տաուրինի դրական ազդեցություններ, այն է նյարդաբջիջների հստակ տեսանելի ռեգեներացիա, ինչը հիմք է հանդիսանում դիտարկել տաուրինը որպես նյարդապաշտպանիչ միջոց:

Հիպոկլամպի, կապույտ բծի, նշաձև կորիզի, սև նյութի, հիպոթալամուսի կորիզների և կեղևի բջջային կառույցներում էթանոլային թունավորման պայմաններում բացահայտվում են ոչ սպեցեֆիկ նյարդաբջջային ախտահարումները: Նյարդաբջիջների ախտահարման ժամանակ հիմնականում նկատվել են կենտրոնական քրոմատոլիզի դրսևորումներ: Էթանոլով կարճաժամկետ թունավորման ժամանակ բնորոշ են տիպիկ նեյրոդեգեներատիվ գործընթացները, դեգեներատիվ հիպերտրոֆիան, նյարդաբջիջների ելունների կորուստը և կենտրոնախոյզ կորիզների առկայությունը: Էթանոլի երկարաժամկետ ազդեցության պայմաններում տեսանելի են էլ ավելի խորը նեյրոդեգեներացիայի

պատկերներ՝ զուգակցված քանակակական և որակական արտահայտված շեղումներով: Նյարդային հյուսվածքում ի հայտ են գալիս «ազատ տարածություններ», նյարդաբջջային բնորոշ ռեակցիան վերանում է, տեսանելի է նյութափոխանակության խորը խանգարումներ:

Էթանոլի ընդունման դադարեցումը չի հանգեցնում ուղեղի կեղևի պրեֆրոնտալ հատվածում և հիպոկամպում նեյրոդեգերացիայի մորֆոլոգիական վերականգնման, ընդհակառակը ավելի է խորացնում դեգեներատիվ գործընթացները:

Տաուրինի ազդեցության պայմաններում տեսանելի են դրական կառուցվածքային փոփոխություններ նյարդաբջջների կողմից, մասնավորապես՝ բջջների նկատելի վերականգնում, ուղեղի գրեթե բոլոր կառույցներում, բջջի ձևի և չափերի վերականգնում, ֆոսֆատազային ակտիվության բարձրացում, որը ասոցացվում է բջջային մետոբոլիզմի ավելացմամբ, տեսանելի է նյարդաբջջների խտության ընտրողական ավելացում կախված էթանոլի ընդունման ժամկետից:

Էթանոլի երկարատև ընդունումից հետո վնասված նեյրոնների ամբողջական վերականգնման համար անհրաժեշտ է տաուրինի համակարգված և ժամանակին երկատև կիրառումը:

Մորֆոմետրիկ ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ էթանոլային թունավորման պայմաններում գլխուղեղի կեղևում տեսանելի են մազանոթային ցանցի նոսրացում: Առաջին պատասխանն անոթների կողմից արտահայտված անոթասեղմիչ երևույթ է, որը աստիճանաբար թուլանում է, ինչն էլ կարելի է բացատրել կոմպենստոր-հարմարողական մեխանիզմներով:

Տաուրինի ներարկումը հանգեցնում է մազանոթների տրամագծի լայնացման, մազանոթային ցանցի խտացման: Ստացված տվյալները վկայում են տաուրինի անոթալայնիչ ազդեցության մասին գլխուղեղի միկրոցիրկուլյատոր հունի վրա: Տաուրինի ազդեցության պայմաններում օրգանիզմն ավելի հեշտությամբ է պայքարում էթանոլ ինդուկցված նեյրոդեգեներացիայի դեմ:

Չուգահեռ անցկացված ուսումնասիրությունների տվյալները հաստատում են տաուրինի նյարդա- և անոթապաշտպանիչ, անոթալայնիչ դրական ազդեցությունները: Այդ տվյալները ենթադրում են տաուրինի հնարավոր օգտագործումը կլինիկական պրակտիկայում՝ կենտրոնական նյարդային համակարգի և գլխուղեղի արյան շրջանառության տարաբնույթ խանգարումների ժամանակ: Ստացված տվյալները մատնաշնում են տաուրինի էֆեկտիվությունը և ապագայում վերջինիս օգտագործումը որպես միջոց ալկոհոլաբնույթի և նրա հետևանքների բուժման համար:

KHACHATRYAN V.P.

**STUDY OF TAURINE IMPACT ON CELLULAR STRUCTURES OF THE BRAIN IN
CONDITIONS OF ETHANOL INTOXICATION**

SUMMARY

In vivo electrophysiological studies have shown that in the hippocampus, locus coeruleus and substantia nigra in short-term intoxication there was a disappearance of excitatory effects and a sharp decrease in the parameters of depressive post-stimulus effects. Under long-

term ethanol intoxication a significant excess of the frequency of prestimulatory activity of neurons of the aforementioned structures is evident, as a result of the inevitable development of excitotoxicity with the consequent risk of apoptosis and death, and taurine successfully ameliorated all these adverse effects.

In the aforementioned structures of the hippocampus, substantia nigra, and locus coeruleus under ethanol intoxication, the protective effect of taurine is obvious with the background and synaptic activity indices approaching the norm. The mechanism of action is to activate the protective pattern of depression, which counteracts excitotoxicity.

After ethanol withdrawal in neurons of the locus coeruleus and hippocampus, a balance of inhibitory and excitatory responses is observed, characterized by dominance of inhibitory tone. Pre- and post-stimulus epileptiform spike activity in single neurons of the blue spot and hippocampus, associated with a violation of calcium signalling pathways, is detected.

Morphohistochemical study of the cellular structures of the cortex, hippocampus, locus coeruleus, amygdala, substantia nigra and nuclei of rat hypothalamus after ethanol intoxication revealed degenerative changes inherent in non-specific neuronal lesions. Degeneration of neurons is the type of central chromatolysis. In the case of short-term intoxication with ethanol, deep neurodegenerative processes are characteristic, degenerated hypertrophic, sprouted neurons with ectopic nuclei are detected. The results of studies after prolonged use of ethanol indicate deeper processes of neurodegeneration, quantitative and qualitative disorders: "gaps" are detected, characterized by a disappearance of the reaction of metabolic disorders of the cell and the reaction of satellite glia.

Ethanol withdrawal after prolonged alcohol use does not normalize the morphological picture of the prefrontal cortex, and vice versa exacerbates neurodegenerative processes in some layers of the cortex. At the same time, marked damage of neurons is noted in the hippocampus; it is the most vulnerable brain structure after ethanol withdrawal. Under action of taurine, positive changes in the structural properties of neurons in the aforementioned structures have been observed (cell regeneration in almost all parts of the rat brain, cell shape and size are restored, phosphatase activity is increased (increased metabolism), a relative increase in the density of neurons is observed depending on the duration of ethanol intake.

Morphometric studies showed that under ethanol intoxication, low-vascular zones and fields with a sharply limited number of capillaries are detected in the cortex. The first reaction of ethanol is a sharp narrowing of the lumen of the capillaries on the first day, and subsequently, during the subsequent periods of ethanol intake, a strong spasm is replaced by a gradual moderate expansion of the diameter of the capillaries, which can most likely be interpreted due to the adaptive-compensatory mechanism.

After taurine injection following ethanol intake, the indices of the lumen of the capillaries of the brain approach to norm, an increase in the density of the capillary link is noted. The data obtained indicate a vasodilating effect of taurine on the capillary link of the microvasculature of the brain. Under the influence of taurine, the animal's body more easily and quickly reverses the state of intoxication.

The data obtained as a result of parallel studies confirm and indicate a positive (neuro- and angioprotective) effect of taurine on the cellular structures of the brain of rats subjected to ethanol intoxication. The foregoing provides for the possible use of taurine in clinical practice for various disorders of the central nervous system and cerebral circulation in connection with its effective protection. The results indicate the effectiveness and prospects of using the amino acid taurine as a metabolic therapy in the treatment of alcoholism and its consequences.