

УДК 547.262; 612.82

## **Синаптические процессы в нейронах гиппокампа, активированных энторинальной корой, на модели этанольной интоксикации с протекцией таурином**

**М.А. Даниелян, В.П. Хачатрян, К.В. Карапетян,  
М.В. Погосян, Дж.С. Саркисян**

*Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА  
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22*

*Ключевые слова:* одиночная спайковая активность, этанольная интоксикация, гиппокамп, энторинальная кора, таурин

Большинство хронически принимающих алкоголь страдает значительными когнитивными нарушениями, снижением внимания, приобретенной и рабочей памяти и потерей объема правого гиппокампа (Г) [15]. Хроническая алкогольная интоксикация вызывает кумулятивное повреждение тканей и органов. В частности, у алкоголиков выявлена редукция уровней цитоскелета вокруг ядер префронтальных корковых нейронов, протеасомной активности и потеря цитозольных  $\alpha$ - и  $\beta$ -тубулинов в Г, хвостом ядре и мозжечке [5]. На мышинной модели алкоголизма в Г описано внутриядерное структурное переустройство хроматина [18].

Как известно, нервные стволовые клетки пролиферируют на протяжении всей жизни, формируя нейроны, астроциты и олигодендриты. Зубчатая извилина – одна из нейрогенных областей зрелого мозга, на которой впервые показано этаноловое снижение нейрогенеза [12]. У подверженных алкогольной интоксикацией мышей выявили нарушение многих шагов нейрогенеза, включая выработку и развитие новых нейронов. Показано, что злоупотребление алкоголем вызывает истощение стволовых клеток, а незрелые нейроны аффецируются вторично [8]. Чрезмерное потребление алкоголя ассоциируется с деформированной экспрессией генов, кодирующих глутаматные рецепторы в мозге [7]. Пренатальная обработка этанолом также изменяет глиальные глутаматные транспортеры [2]. Хроническое потребление алкоголя ведет к уменьшению белого вещества, потере олигодендроцитов, других глиальных клеток, торможению нейрогенеза в Г и обеднению олигодендроцитного миелина гликопротеина [13]. Выдвинута гипотеза, что сопутствующая этому демиелинизация содействует когнитивному дефициту при этанольном отравлении [13].

Подкреплено вовлечение ГАМКергической системы в алкоголизм

[4]. Развитие алкогольной зависимости ассоциируется с тремя мозговыми областями (Г, орбитофронтальной и префронтальной корой), в которых исследовали mRNA экспрессию субъединиц генов ГАМК(A), что повышает роль ГАМК(A) каналов в развитии алкогольной зависимости [6]. У крыс после острой и хронической интоксикации этанолом оценивалась экспрессия ионотропных ГАМК(A) рецепторов, кодирующих индивидуальные субъединицы [14]. Определены 24 дифференциально экспрессированных гена, которые могут играть роль в риске алкоголизма, и показана активация путей, ведущих к воспалению, гипоксии или стрессу и снижению таковых, играющих роль в нейрогенезе и миелинизации [11]. Однако точный субстрат хронической алкогольной подверженности, ведущий к структурным и функциональным нарушениям Г, во многом неизвестен, а уникальная клеточная композиция Г и когнитивные нарушения выделяются в контексте алкогольной зависимости [19]. Выдвинута гипотеза, что алкоголь редуцирует количество гранулярных клеток в человеческой зубчатой извилине и поэтому имеет вклад в наблюдаемую потерю объема Г[3]. Механизм снижения нейрогенеза в Г вследствие злоупотребления алкоголем остается полностью нераскрытым, и точные механизмы, лежащие в основе алкоголизма, продолжают оставаться неясными [17].

В настоящем исследовании предпринято изучение соотношения тетанических возбудительных и депрессорных постстимульных проявлений активности одиночных нейронов Г на высокочастотную стимуляцию (ВЧС) энторинальной коры (ЭК) мозга в условиях хронической этаноловой интоксикации, в сравнении с нормой, контролем без протекции и с протекцией таурином, с целью исключения эксайтотоксичности, свидетельствующей о его нейродегенеративном поражении и восстановлении исходного соотношения углублением депрессорных реакций.

### Материал и методы

Проведены электрофизиологические исследования на 6 крысах линии Альбино ( $230 \pm 30$ г): интактных ( $n=2$ ), на модели хронической интоксикации 15% этанолом на протяжении 10 дней ( $n=2$ ) и в условиях ежедневной однократной протекции таурином в последующие 7 дней ( $n=2$ ). Указанные животные находились на сухом корме и в качестве единственного источника жидкости получали 15% раствор этилового спирта. Все процедуры совершали согласно «Правилам по уходу за лабораторными животными» (НИН публикация за № 85-23, пересмотренная в 1985г.), а также особому руководству, предусматривающему заботу о животных, и комитетом национальной медицинской службы и здоровья (НИН публикация за № 80-23, пересмотренная в 1996г.). В стереотаксическом аппарате производили трепанацию черепа от брегмы до лямбды и вскрывали твердую мозговую оболочку. Стекланные микроэлектроды с диаметром кончика 1-2  $\mu$ М, заполненные 2MNaCl, вводили в Г, согласно стереотакси-

ческим координатам (AP-3.5;  $L \pm 1.5-3.5$ ;  $DV + 2.8-4.0$  мм) [16] для экстраклеточной регистрации спайковой активности одиночных нейронов. Стереотаксически ориентированный раздражающий биполярный электрод вводили в ЭК по координатам (AP-9,  $L \pm 3.5$ ,  $DV + 4.0$  мм). Осуществляли ВЧС ЭК (прямоугольными толчками тока длительностью 0.05 мс, амплитудой 0.12–0.18 мВ, силой тока 0.32 мА и частотой 50 и 100 Гц в течение 1 сек). Операции осуществляли на наркотизированных животных (пентобарбитал натрия 40 мг/кг, в/б) в следующей очередной последовательности: фиксация черепа в стереотаксическом аппарате, краниотомия с удалением костей от брегмы до лямбды и отсепаровкой твердой мозговой оболочки. Предварительно животные обездвигивались 1% дитилином (25 мг/кг, в/б) и переводились на искусственное дыхание.

Активность проявлялась в виде тетанической депрессии и потенциации (ТД и ТП), сопровождаемых посттетанической депрессией и потенциацией (ПТД и ПТП). Проводили анализ одиночной спайковой активности 307 нейронов Г. Постстимульные проявления активности оценивали on-line регистрацией и программным математическим анализом, позволяющим проводить селекцию спайков амплитудной дискриминацией, с выводом «растеров» перистимульного спайкинга нейронов, построением гистограмм суммы и диаграмм усредненной частоты спайков. Производили далее многоуровневую статистическую обработку для пре- и постстимульного отрезков времени. Для избираемых сравниваемых групп спайкинга строили суммированные и усредненные перистимульные (PETH Average) гистограммы и гистограммы частоты (Frequency Average). Анализ полученных данных производили по специально разработанному алгоритму, обеспечивающему достоверность перистимульных изменений межспайковых интервалов. Однородность двух независимых выборок контролировалась t-критерием Стьюдента. С целью повышения статистической достоверности перистимульных изменений межспайковых интервалов использовали также двухвыборочный критерий Вилкоксона-Манна-Уитни (Wilcoxon-Mann-Whitney test), в качестве непараметрического, оценивающего однородность независимых двух выборок. Использовалась также разновидность указанного теста – z-тест, определяющий его асимптотическую нормальность. Учет критических значений в сравнении с таковыми нормального распределения при уровнях значимости 0.05, 0.01 и 0.001 показывает, что в большинстве случаев спайкинга при ВЧС статистически значимое изменение достигало, как минимум, уровня 0.05.

## Результаты и обсуждение

Производили экстраклеточную регистрацию спайковой активности одиночных нейронов Г в норме (198 нейронов,  $n=2$ ), на подверженных хронической интоксикации этанолом (66 нейронов,  $n=2$ ) и с протекцией таурином (43 нейрона,  $n=2$ ).

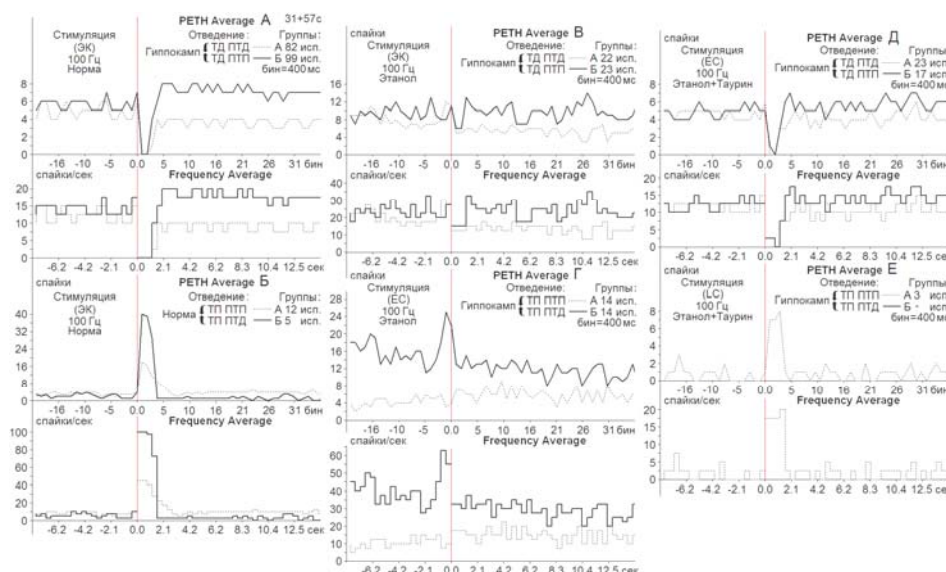


Рис. 1. Усредненные перистимульные (PETN Average) и гистограммы частоты (Frequency Average) депрессорных (А, В, Д) и возбудительных (Б, Г, Е) постстимульных проявлений активности нейронов Г в норме (А, Б), на модели этаноловой интоксикации (В, Г) и с протекцией турином (Д, Е). Остальные обозначения в тексте

Анализ данных показал, что в нейронах Г на ВЧС ЭК тетаническая депрессия в постстимульных депрессорных и разнонаправленных последовательностях в норме оценивалась в пределах 6.0- и 7.0-кратного занижения престимульной активности, а тетаническая потенция – порядка 4.5- и 10.0-кратного превышения соответственно (рис. 1 А, Б). В условиях этаноловой интоксикации значения постстимульных депрессорных проявлений активности нейронов Г оказались в пределах лишь 2.2- и 1.83-кратного занижения престимульной активности, а возбудительных – проявлялись также в незначительных пределах – 1.75- и 1.7-кратного превышения (рис. 1 В, Г). Иными словами, имело место резкое снижение параметров как депрессорных, так и возбудительных постстимульных эффектов (2.72-, 4.02-, 2.57- и даже 6.1-кратно соответственно). С использованием таурина обстоятельства изменились следующим образом: постстимульные депрессорные эффекты проявили тенденцию практического приближения к норме, достигнув 6.0- и 5.0-кратного снижения престимульной активности против 6.0- и 7.0-кратного в норме (рис. 1 Д). Что же касается потенции, 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) (рис. 1Б, Г, Е). Однако не было зарегистрировано возбуждительно-депрессорной последовательности. Таким образом, очевиден протекторный эффект таурина.

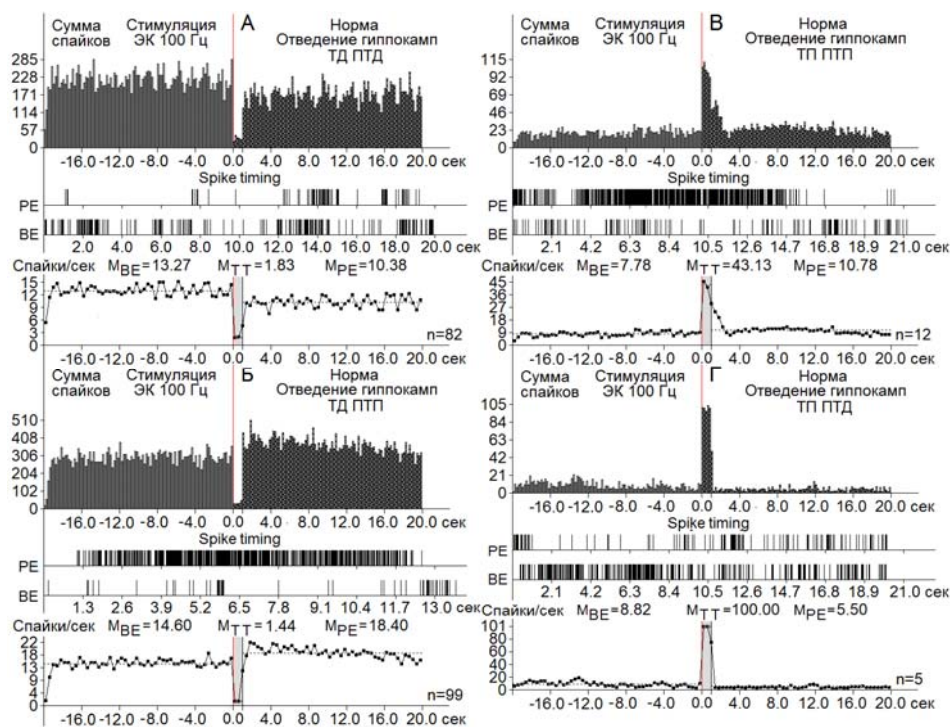


Рис. 2. А-Г – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных депрессорных (ТД ПТД и ТД ПТП) (А, Б) и возбудительных (ТП ПТП и ТП ПТД) (В, Г) проявлений активности в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции) нейронов Г, вызванных ВЧС ЭК в норме. Здесь и на остальных рисунках: диаграммы частоты спайков, представленных в гистограммах, с усредненными значениями (М) для временных отрезков до стимуляции (BE – before event), на время тетанизации (ТТ – time tetanization) и после стимуляции (PE – post event). Справа от диаграмм – количество испытаний (n)

В обеих депрессорных последовательностях в нейронах Гна ВЧС ЭК значения ТД в норме достигали 7.25- и 10.14-кратного занижения частоты престимульной активности (рис. 2 А, Б; рис.4 А). В условиях этаноловой интоксикации те же значения распределялись в пределах лишь 1.53- и 1.50-кратного занижения престимульной активности, т.е. имело место резкое снижение порядка 4.74- и 6.76-кратного (рис. 3 А, Б), а с использованием таурина степень выраженности депрессорных постстимульных эффектов резко повысилась, достигнув 9.03- и 6.43-кратного занижения престимульной активности (рис. 3 А, Б; рис. 4 В). Иными словами, с протекцией имело место приближение к норме (7.25- и 10.14-кратное) и превышение патологии (7.25- и 4.3-кратное). В норме степень выраженности тетанической потенциации в обеих последовательностях выявлялась порядка 5.54- и 11.34-кратного превышения постстимульной последова-

тельности в норме, в то время как в патологии она достигала лишь 1.6- и 1.3-кратного превышения (рис. 2 и 3; 4 А, Б). Иными словами, имелось резкое снижение в пределах 3.46- и 8.72-кратного. Наконец, возбуждательные постстимульные эффекты в условиях протекции не регистрировались вообще.

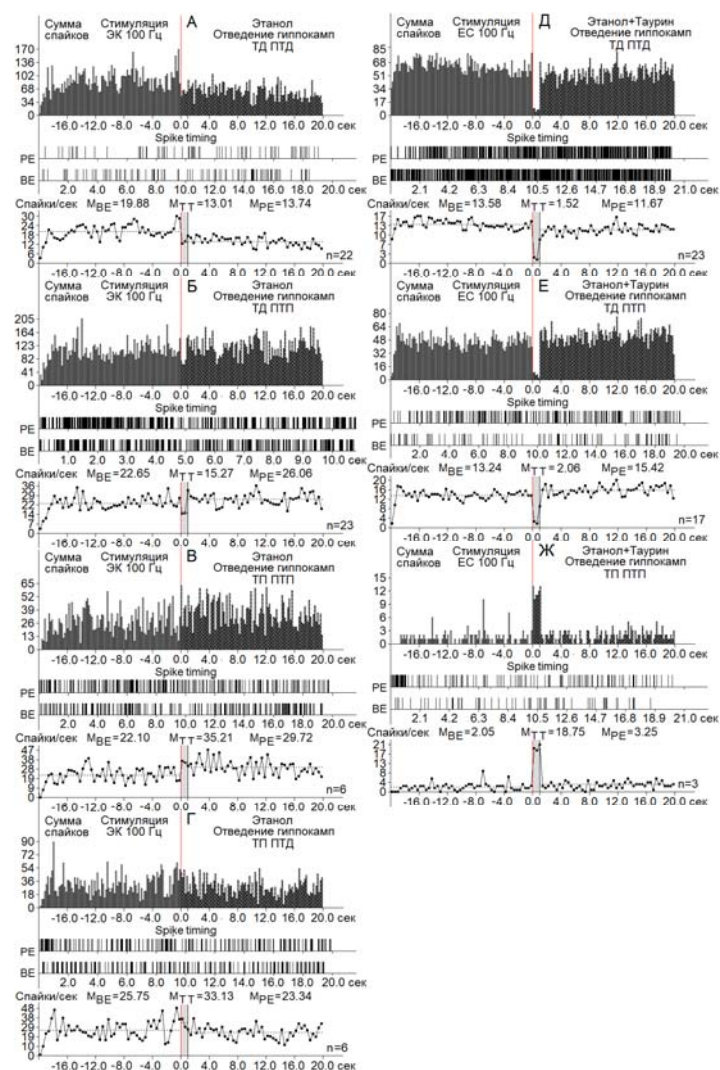


Рис. 3. А-Г – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных депрессорных (ТД ПТД и ТД ПТП) (А, Б, Д, Е) и возбуждательных (ТП ПТП и ТП ПТД) (В, Г, Ж) проявлений активности в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции) нейронов Г на вызванных ВЧС ЭК 10 дней спустя после этаноловой интоксикации (А-Г) и в условиях протекции таурином.

Справа от диаграмм – количество испытаний (n)

Престимульная частота активности нейронов Г при ВЧС ЭК в норме, предшествуемая депрессорными постстимульными эффектами, опре-

делялась в пределах 13.27 и 14.60, в патологии – 19.88 и 22.65, а с протекцией – 13.58 и 13.24 (рис. 2, 3 А, Б, Д, Е; рис. 5 А, Б). То есть, имело место 1.5-кратное превышение частоты престаимпульной активности в условиях интоксикации, с приближением к норме с протекцией. Престаимпульная частота активности, предшествуемая возбуждательными последовательностями, исчислялась в пределах 7.78 и 8.82 в норме, 22.10 и 25.75 – в патологии, с резким снижением даже ниже нормы – с протекцией (2.05), что оказалось 10.78-кратно ниже патологии (рис. 2 и 3 В, Г, Ж; рис. 5 В, Г). Таким образом, было выявлено резкое превышение частоты престаимпульной активности в условиях интоксикации без протекции, в сравнении с нормой, в пределах 2.84- и 3.0-кратного, и такое же резкое снижение с протекцией, даже ниже нормы, порядка 10.78-кратного – в сравнении с патологией, но только в случае, предшествуемом возбуждательной последовательностью. Очевидно значительное превышение частоты престаимпульной (фоновой) активности нейронов Г, в результате неизбежного развития в них эксайтотоксичности, что чревато апоптозом и гибелью, и успешное исключение эксайтотоксичности с протекцией.

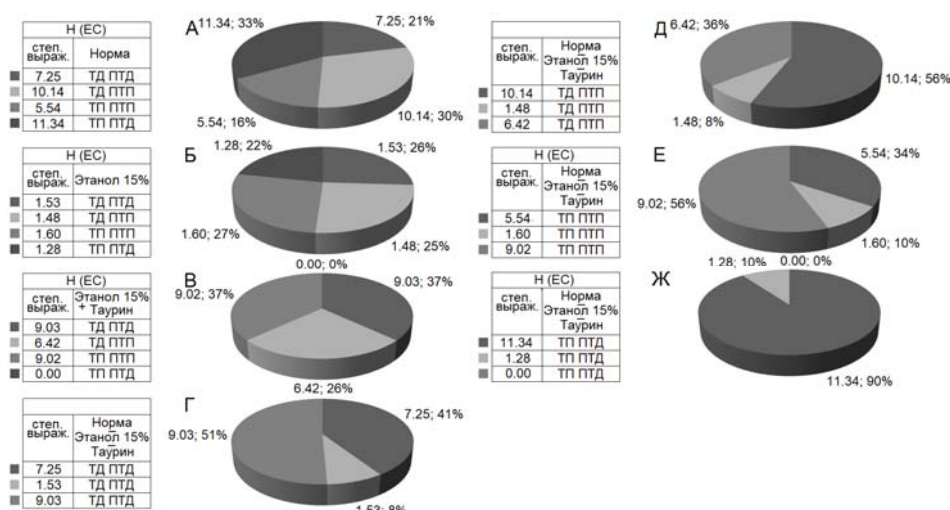


Рис. 4. Соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) депрессорных (ТД ПТД), депрессорно-возбудительных (ТД ПТП), возбудительных (ТП ПТП) и возбужденно-депрессорных (ТП ПТД) постстимульных эффектов в одиночных нейронах Г на ВЧС ЭК в норме и на модели этаноловой интоксикации

В случае таковых депрессорных эффектов постстимульная частота нейронов Г достигала 1.83 и 1.44 в норме, 13.01 и 15.27 – при интоксикации и 1.52 и 2.06 – с протекцией (рис. 2 А, Б; рис. 3 А, Б, Д, Е; рис. 5 Д, Е). Очевидно резкое превышение постстимульной частоты в патологии порядка 7.11- и 10.60-кратного, в сравнении с нормой, и опять прибли-

жение к норме – с протекцией, что также свидетельствует об успешном противостоянии эксайтотоксичности, а следовательно – протекции. Наконец, постстимульная частота, сопровождающая постстимульные возбуждающие эффекты, оказалась порядка 43.13 и 100.0 в норме, 35.21 и 33.13 – при интоксикации и 18.75 с протекцией, но с исчезновением возбуждительно-депрессорной последовательности (рис. 2 В, Г; рис. 3 В, Г, Ж; рис. 5 Ж, З). Тем не менее, есть все основания констатировать успешный протекторный эффект таурина при алкогольной интоксикации.

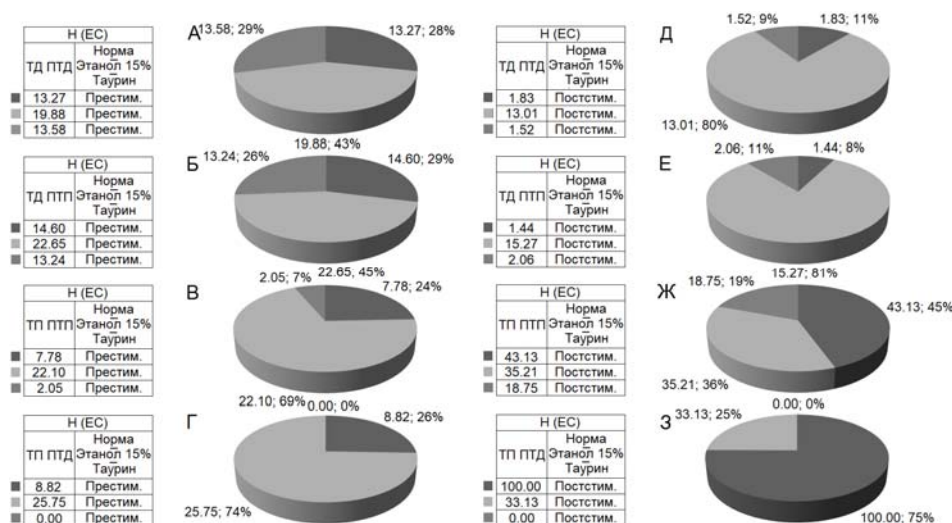


Рис. 5. Процентное соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) пре- и постстимульной частоты активности нейронов Г на ВЧС ЭК, предшествующих и сопровождаемых постстимульными депрессорными (А, Б, Д, Е) и возбуждающими (В, Г, Ж, З) эффектами в норме, в условиях интоксикации этанолом и с протекцией таурином. Остальные обозначения на рисунке

В заключение, на модели этаноловой интоксикации в нейронах Г на ВЧС ЭК выявлена эксайтотоксичность, ведущая к нейродегенеративному поражению этой важной структуры мозга, ведающей кратковременной памятью, и апробированы возможности таурина, позволяющие рекомендовать его в качестве протектора. Эксайтотоксичность компенсирует недостаток возбуждения из-за гибели нейронов и возникает в результате нарушения кальциевой буферизации, генерации свободных радикалов, активации, сверхактивации глутаматных NMDA и AMPA рецепторов, приводящих к серьезным повреждениям нейронов [10] и их гибели [9]. Отмеченное в очередной раз свидетельствует о необходимости не только протекторного сохранения депрессорных эффектов, но и снижения чрезмерных возбуждающих эффектов [1].

Поступила 11.07.19

**Էնտորինալ կեղևից ակտիվացված հիպոկամպի նյարդաբջիջների սինապտիկ պրոցեսները՝ տաուրինի պրոտեկցիայով, էթանոլային թունավորման մոդելում**

**Մ.Հ. Դանիելյան, Վ.Պ. Խաչատրյան, Բ.Վ. Կարապետյան,  
Մ.Վ. Պողոսյան, Ջ.Ս. Սարգսյան**

Հիպոկամպում երկու դեպրեսոր հետստիմուլային հաջորդականություններում պաթոլոգիայում տաուրինի կիրառմամբ բացահայտվել է ցուցանիշների նշանակալի բարձրացման արդյունքում (7.25- և 4.3-անգամյա) նորմային մոտեցում, որը վկայում է հաջողակ պրոտեկցիայի մասին: Ինտոքսիկացիայի պայմաններում ստացվել է հիպոկամպի նյարդաբջիջների ակտիվության նախաստիմուլային (ֆոնային) հաճախականության կտրուկ (1.5-անգամյա) բարձրացում, դեպրեսոր ռեակցիաներին նախորդողի դեպքում՝ մոտեցում նորմային պրոտեկցիայի պայմաններում: Դրդող ռեակցիաներին նախորդողի դեպքում առկա է եղել նախաստիմուլային ակտիվության հաճախականության ավելի կտրուկ բարձրացում (2.84- և 3,0-անգամյա) նորմայից և ուժգին (10.78-անգամյա) իջեցում պրոտեկցիայի ժամանակ՝ նույնիսկ նորմայից ցածր: Ակնհայտ է հետստիմուլային ակտիվության հաճախականության կտրուկ բարձրացումը, ուղեկցվող դեպրեսոր ռեակցիաներով պաթոլոգիայում՝ 7,11- և 10,60-անգամյա, համեմատած նորմայի հետ, և պրոտեկցիայի պայմաններում՝ կրկին նորմային մոտեցում: Այս ամբողջը վկայում է էթանոլի թունավորման ենթարկված հիպոկամպի նյարդաբջիջների, անխուսափելի էքսայտոտոքսիկություն զարգանալու արդյունքում, չափազանց դրդող էֆեկտների և տաուրինով, դեպրեսոր էֆեկտների վերականգնման միջոցով, վերջիններիս հաջողակ և պաշտպանիչ հակազդեցության մասին:

**The Synaptic Processes in Hippocampal Neurons Activated by Entorhinal Cortex on the Model of Ethanol Intoxication with Protection by Taurine**

**M.H. Danielyan, V.P. Khachatryan, K.V. Karapetyan,  
M.V. Poghosyan, J.S. Sarkissian**

In both depressor post-stimulus sequences using taurine approaching to normal as a result of significant exceeding (7.25- and 4.3-fold) the indicators in pathology of hippocampal (H) has been revealed, that testify on the successful protection. The sharp (1.5-fold) exceeding of pre-stimulus (background) frequency of H neurons activity in condition of intoxication, in the case of the

preceded by depressor reactions, approaching to normal in condition of protection has been received. In the case of the preceded by excitatory reactions, there was even more dramatic (2.84- and 3.0-fold) exceeding of pre-stimulus activity frequency, in comparison with the norm, and powerful (10.78-fold) reducing protected, even below normal. Obviously sharp exceeding of post-stimulus activity frequency, accompanied by depressor reactions in pathology, order 7.11- and 10.60-fold, in comparison with the norm, and again approaching normal – with the protection. It in general, testifies about excessive excitatory effects in neurons of H, subjected by ethanol intoxication, as a result of the inevitable development excitotoxicity, and successful protective confronting her by taurine, through the restoration of depressor effects.

### Литература

1. Саркисян Дж.С., Погосян М.В., Даниелян М.А. и др. Назначение депрессорных синаптических процессов в условиях специфической нейродегенеративной патологии и протекции. LAP LAMBERT Academic Publishing RU. 2018. 406(1-2):76-80.
2. Brolese G., Lunardi P., de Souza D.F., Lopes F.M., Leite M.C., Gonçalves C.A. Pre- and postnatal exposure to moderate levels of ethanol can have long-lasting effects on hippocampal glutamate uptake in adolescent offspring. PLoS One. 2015, 10(5):e0127845.
3. Dhanabalan G., Le Maître T.W., Bogdanovic N., Alkass K., Druid H. Hippocampal granule cell loss in human chronic alcohol abusers. Neurobiol Dis., 2018, 120: 63-75.
4. Enoch M.A., Zhou Z., Kimura M., Mash D.C., Yuan Q., Goldman D. GABAergic gene expression in postmortem hippocampus from alcoholics and cocaine addicts; corresponding findings in alcohol-naïve P and NP rats. PLoS One, 2012, 7(1):e29369.
5. Erdozain A.M., Morentin B., Bedford L., King E., Tooth D., Brewer C., Wayne D., Johnson L., Gerdes H.K., Wigmore P., Callado L.F., Carter W.G. Alcohol-related brain damage in humans. PLoS One, 2014, 9(4): e93586.
6. Jin Z., Bazov I., Kononenko O., Korpi E.R., Bakalkin G., Birnir B. Selective Changes of GABA(A) Channel Subunit mRNAs in the Hippocampus and Orbitofrontal Cortex but not in Prefrontal Cortex of Human Alcoholics. Front Cell Neurosci, 2012, 5:30.
7. Jin Z., Bhandage A.K., Bazov I., Kononenko O., Bakalkin G., Korpi E.R., Birnir B. Selective increases of AMPA, NMDA, and kainate receptor subunit mRNAs in the hippocampus and orbitofrontal cortex but not in prefrontal cortex of human alcoholics. Front Cell Neurosci, 2014, 8:11.
8. Le Maître T.W., Dhanabalan G., Bogdanovic N., Alkass K., Druid H. Effects of Alcohol Abuse on Proliferating Cells, Stem/Progenitor Cells, and Immature Neurons in the Adult Human Hippocampus., Neuropsychopharmacology, 2018, 43(4): 690-699.
9. Lucas D.R., Newhouse J.P. The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. AMA Archives of ophthalmology, 1957, 58(2): 193–201.
10. Matthew R.H., Heather L.S., Peter R.D. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. NCI, 2004, 45(5): 583–595.
11. McClintick J.N., Xuei X., Tischfield J.A., Goate A., Foroud T., Wetherill L., Ehringer M.A., Edenberg H.J. Stress-response pathways are altered in the hippocampus of chronic alcoholics. Alcohol, 2013, 47(7): 505-15.
12. Nixon K., Crews F.T. Binge ethanol exposure decreases neurogenesis in adult rat hippocampus. J Neurochem, 2002, 83(5):1087-1093.
13. Okamoto H., Miki T., Lee K.Y., Yokoyama T., Kuma H., Wang Z.Y., Gu H., Li H.P., Matsumoto Y, Irawan S, Bedi KS, Nakamura Y, Takeuchi Y. Oligodendrocyte

- myelin glycoprotein (OMgp) in rat hippocampus is depleted by chronic ethanol consumption. *Neurosci Lett.*, 2006, 406(1-2):76-80.
14. *Osechkina N.S., Ivanov M.B., Nazarov G.V., Batotsyrenova E.G., Lapina N.V., Babkin A.V., Berdinskikh I.S., Melekhova A.S., Voitsekhovich K.O., Lisitskii D.S., Kashina T.V.* Assessment of Expression of Genes Coding GABAA Receptors during Chronic and Acute Intoxication of Laboratory Rats with Ethanol. *Bull Exp Biol Med.*, 2016, 160(4): 452-454.
  15. *Ozsoy S., Durak A.C., Esel E.* Hippocampal volumes and cognitive functions in adult alcoholic patients with adolescent-onset. *Alcohol*, 2013, 47(1):9-14.
  16. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, Academic Press, 5th ed., 2005, p.367.
  17. *Rowsey P.J., Crews F.T.* Persistent Adult Neuroimmune Activation and Loss of Hippocampal Neurogenesis Following Adolescent Ethanol Exposure: Blockade by Exercise and the Anti-inflammatory Drug Indomethacin. *Front Neurosci*, 2018, 28(12):200.
  18. *Sahay P., Shukla P.K., Ghimire H.M., Almagadi H.M., Tripathi V., Mohanty S.K., Rao R., Pradhan P.* Quantitative analysis of nanoscale intranuclear structural alterations in hippocampal cells in chronic alcoholism via transmission electron microscopy imaging. *Phys Biol.*, 2017, 14(2): 026001.
  19. *Staples M.C., Mandyam C.D.* Thinking after Drinking: Impaired Hippocampal-Dependent Cognition in Human Alcoholics and Animal Models of Alcohol Dependence. *Front Psychiatry*, 2016, Sep. 30, 7:162.