

УДК 616.858-008.6; 611.81

DOI:10.54503/0514-7484-2024-64.1-77

**Исследование морфофункционального состояния
головного мозга крыс на модели болезни Паркинсона под
воздействием терапевтических агентов животного
и синтетического происхождения**

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

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

Ключевые слова: нейроны, околосинаптическое серое вещество, большое ядро шва, синэстрол, бактериальный меланин, болезнь Паркинсона

Введение

Нейродегенеративные заболевания – это заболевания, возникающие в результате прогрессирующей дегенерации и гибели нейронов, входящих в определенные структуры ЦНС, приводящие к разрыву связей между отделами ЦНС и дисбалансу в синтезе и выделении соответствующих нейромедиаторов и, как следствие, вызывающие нарушение памяти, расстройства движений и мыслительных способностей человека. Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание ЦНС, вызванное прогрессирующим разрушением и гибелью нейронов чёрной субстанции и других отделов ЦНС, использующих в качестве нейромедиатора дофамин, клинически проявляющееся нарушением произвольных движений. Помимо классических двигательных нарушений для БП характерен широкий спектр немоторных проявлений, включающий психические, вегетативные, сенсорные симптомы, нарушения сна и бодрствования [8]. Дефицит дофамина приводит к эмоциональным и другим психическим нарушениям. Боль является одним из наиболее дезадаптирующих немоторных симптомов БП. Частота боли у больных БП, по данным разных авторов [11, 17], колеблется от 40 до 80% и превышает таковую в общей популяции (10-40%). Боль часто игнорируется врачами, ведущими пациента с БП, но именно она нередко бывает основным симптомом, снижающим качество жизни пациента [2]. Несмотря на высокую частоту боли, ее причины, связь с самим заболеванием и подходы к ее коррекции остаются плохо разработанными. Те-

рапевтическая стратегия ограничивается лишь неопиоидными анальгетиками, опиоидами, антидепрессантами и/или антиконвульсивными средствами [10].

Описаны различные типы боли при БП [23]. Большинство болевых синдромов по своему происхождению нейропатические или ноцицептивные. В частности, при БП выявлено преобладание нейропатической боли. В то время как ноцицептивная боль встречается у пациентов с нормальной соматосенсорной нервной системой, возникновение нейропатической боли связано с нейродегенерацией структур, участвующих в болевой модуляции [16]. Сложные механизмы боли при БП связаны с патологическими изменениями в структурах мозга, вовлекаемых в ноцицептивные механизмы, и подвержены воздействию различных факторов (возрасту, полу, депрессии, тяжести или продолжительности болезни). Некоторые из этих структур поражаются на ранних стадиях БП, в частности, нейроны большого ядра шва (*nucleus raphe magnus* – NRM) [12]. Так, одним из механизмов боли при БП является потеря норадренергических и серотонинергических нейронов голубого пятна и ядер шва; эти образования вместе с околотоводопроводным серым веществом (*periaqueductal gray* – PAG) играют важную роль в модуляции спинальной ноцицептивной передачи путей торможением ноцицептивных стимулов от нейронов дорзального рога [14]. Являясь важным участком эндогенной болевой тормозной системы, NRM воспринимает проекции от PAG [18]. Нарушения в данных областях мозга могут приводить к увеличению интенсивности боли [24].

В настоящем исследовании в качестве возможного нейропротектора при БП использовался бактериальный меланин (БМ). БМ был получен биотехнологическим путем в НППЦ «Армбиотехнология» НАН РА на базе производственного штамма *Bacillus thuringiensis* под действием нитрозогуанидина. Он обладает высокой биологической активностью и биостимулирующим эффектом; его низкие концентрации (4,5–6 мг/мл) не вызывают микроглиоза и не имеют побочных токсических эффектов [1]. Установлено, что БМ обладает рядом протекторных и противовоспалительных свойств [5, 15], поэтому высока вероятность протекторного и репаративного влияния БМ на поражаемые на ранних стадиях БП структуры мозга. Показано, что БМ и синэстрол успешно противодействуют эксайтотоксичности (являющейся показателем нейродегенерации), выявляемой в NRM и PAG на ротеноновой модели БП у крыс [6,7].

Исходя из вышеуказанного, целью исследования являлось изучение морфофункциональных изменений нейронов NRM и PAG мозга крыс на ротеноновой модели БП под воздействием БМ и синэстрола с целью выявления их возможных протекторных влияний как отдельно, так и в сочетании друг с другом на вышеупомянутые структуры мозга, которые избирательно поражаются при данном заболевании.

Материал и методы

Морфофункциональные исследования проводились на ротеноновой модели БП крыс, которая считается наиболее приемлемой для изучения механизмов повреждения нейронов и оценки нейрохимических, поведенческих и когнитивных проявлений, в особенности до 4 недель выживания [19]. Эксперименты проводили в 4 группах на 20 белых крысах линии Альбино (220-250 г): группа 1—ложнооперированные (5 крыс, контроль), инъекцированные стерильной дистиллированной водой в сочетании с в/б введением изотонического раствора NaCl; группа 2—унилатерально инъекцированные ротеноном (5 крыс) с в/б введением физиологического раствора через день в течение 4 недель; группа 3—унилатерально инъекцированные ротеноном, аналогично группе 2, в сочетании с в/б инъекцией БМ (6 мг/мл) двукратно в течение 4 недель (5 крыс); группа 4—унилатерально инъекцированные ротеноном, аналогично группе 2, в сочетании с в/б инъекцией БМ (6 мг/мл) двукратно в течение 4 недель (5 крыс) и с в/б инъекциями синэстрола (2% раствор, по 14 инъекций через день в дозах 1мг/кг). Ротенон (*Sigma-Aldrich*, 557368) вводили под наркозом (пентобарбитал, 40 мг/кг, в/б), в дозе 12 мкг в 0,5 мкл димексида со скоростью 1 мкл/мин, в медиальный пучок переднего мозга по координатам (AP+0,2; L±1,8; DV+8 мм) стереотаксического атласа [20]. При введении БМ объем вводимого раствора соответствующей концентрации вычисляют из расчета оптимально переносимой дозы в 0,17 г/кг. После инъекции ротенона животных содержали в одинаковых условиях в течение всего послеоперационного времени до острого эксперимента в виварии Института физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА. Все процедуры были проведены в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 2010/63/EU) и одобрены этическим Комитетом ЕГМУ им. М. Гераци (15 ноября 2018г., Одобрение IRB N4).

С целью изучения морфофункционального состояния клеточных структур PAG и NRM крыс был применён гистохимический метод выявления активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы (КФ) [4]. Применяемый гистохимический метод позволяет делать выводы об активности изучаемых структур, поскольку он основан на гистохимическом принципе выявления в ткани химически активной группы, в данном случае на выявлении активности Ca^{2+} -зависимой КФ. Все необходимые для данного принципа требования соблюдены в применяемом методе. В живых организмах ферменты служат биокатализаторами, способствующими протеканию метаболических реакций благодаря наличию в них активных центров, преобразующих строго определенный для каждого из ферментов субстрат [3]. Данный методический подход основан на

выявлении внутриклеточных фосфорсодержащих соединений, занимающих ключевые позиции в обменных энергетических процессах, направленных на сохранение и самовоспроизведение витальных систем. Полученная картина адекватна, обладает большой информативностью и позволяет судить об определенных звеньях метаболизма исследуемых структур.

Для исследования животные были наркотизированы пентобарбиталом (40 мг/кг, в/б) с последующим изъятием мозга, который фиксировали в 5% растворе нейтрального формалина, приготовленном на 0,1 М фосфатном буфере (рН=7,4), в течение 48 часов при +4°C. Готовили срезы соответствующих отделов головного мозга во фронтальной плоскости. Замороженные срезы, толщиной 50-60 мкм, переносились в свежеприготовленные соответствующие инкубационные смеси, предназначенные для выявления активности Ca^{2+} -зависимой КФ. Инкубацию проводили в термостате при 37°C в течение 1,5 ч. Затем следовали промывка срезов в дистиллированной воде, проявка в растворе сульфата натрия и, после повторной промывки, заключение в балзам с последующим описанием препаратов под световым микроскопом. Последующие съемки полученных препаратов производились с помощью фотоаппарата OPTON M-35 и с помощью фотонасадки AmScope MU800 через микроскоп OPTON (West Germany).

Результаты и обсуждение

Околоводопроводное серое вещество (РАГ) является одним из основных центров нисходящей регуляции болевой чувствительности, то есть одним из основных центров антиноцицептивной системы. РАГ расположен вокруг сильвиева водопровода и представлен рассеянными нейронами, производящими энкефалины и уменьшающими восприятие восходящих болевых импульсов из спинного мозга. Содержит очень тонкое сплетение осевых цилиндров, в котором заложено множество мелких клеток, в основном треугольной формы, из острых углов которых выходят тонкие дендриты (рис. 1 А). РАГ также состоит из больших мультиполярных нейронов, больших треугольных нейронов и больших веретенообразных нейронов (рис. 1 А-В). Интенсивность окрашивания этих клеток выражена умеренно, что свидетельствует об умеренном протекании обменных процессов в нейронах РАГ крыс. Ядра светлые, видны ядрышки (рис. 1 В).

Анализ данных показал, что в условиях ротеноновой интоксикации (модель БП) отмечается нарушение морфологической картины РАГ по сравнению с нормой (рис. 1 Г-Е). Поражение нейронов идет в разной степени выраженности – сегментарный или перинуклеарный хроматолиз базофильного вещества цитоплазмы (рис. 1 Д, Е). В цитоплазме нервной

клетки выявляется лизис гранул хроматофильного вещества вплоть до ее просветления. У подобных нейронов отмечается заметное понижение активности КФ, постепенное исчезновение гранулярного осадка в перикарионе клетки, из-за чего наблюдается резкое просветление цитоплазмы (рис. 1 Е). В телах части поврежденных клеток осадок фосфата свинца распределен гомогенно. У других пораженных нейронов тёмноокрашен-

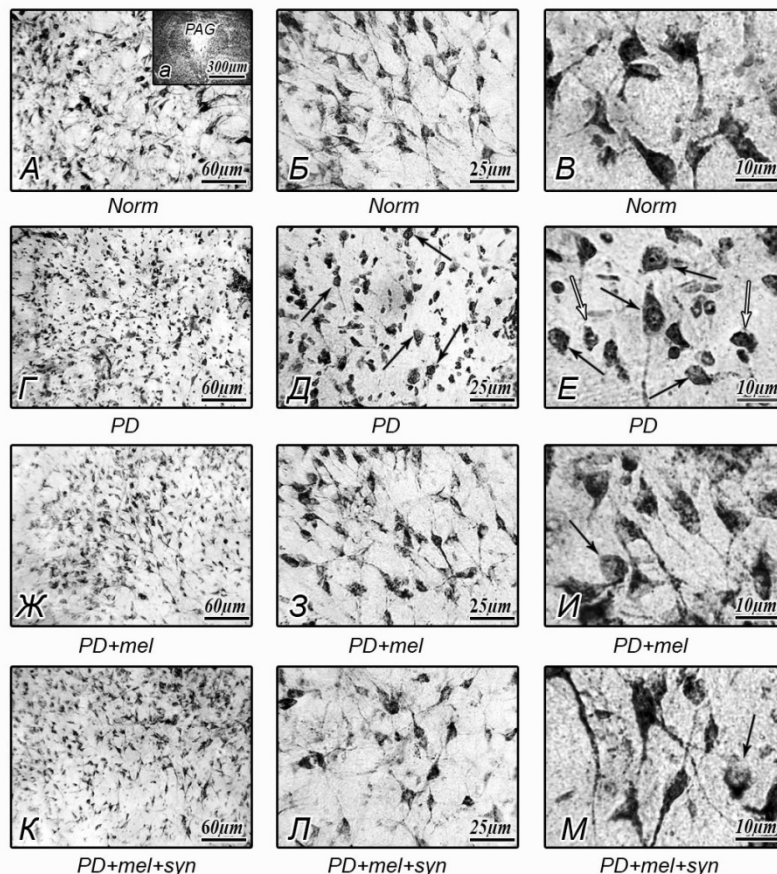


Рис. 1. Микрофотографии клеточных структур околосинаптического серого вещества (PAG) intactных (А-В, Norm) и экспериментальных (Г-М) крыс (Г-Е – в условиях ротеноновой интоксикации (PD); Ж-И – в условиях ротеноновой интоксикации в сочетании с бактериальным меланином (PD+mel); К-М – в условиях ротеноновой интоксикации в сочетании с одновременным введением бактериального меланина и синэстрола (PD+mel+syn)). Г-Е – нарушение формы, дегенерированные клетки с нечёткими контурами, просветленная цитоплазма; Ж-И – сохранение морфологической картины нейронов, высокая фосфатазная активность в цитоплазме и отростках, чёткие контуры, ядра центрально расположены (чёрная стрелка – хроматолиз; белая стрелка – эксцентрично расположенное ядро). Выявление активности Ca^{2+} -зависимой КФ. Оптич.ув.: $\times 25$ (a); $\times 160$ (А, Г, Ж, К); $\times 400$ (Б, Д, З, Л); $\times 1000$ (В, Е, И, М)

ный крупноглыбчатый осадок фосфата свинца неравномерно распределён по телу клетки, что свидетельствует о возможном полном распаде, дендриты утолщены и укорочены (рис. 1 Д, Е). Из-за того, что внутрицитоплазматическая грануляция крупноглыбчатая, эти нейроны выглядят интенсивно окрашенными. У клеток РАГ нарушена характерная им форма, нет чёткого разграничения групп клеток. Некоторые клетки теряют характерную форму, приобретают шарообразную форму из-за набухания тел и потери отростков (рис. 1 Е). Встречаются нейроны вытянутой или треугольной формы, но контуры клеток неправильные, нечёткие, не просматривается граница между телом и отростками. У них реагируют длинные отростки, в которых осадок фосфата свинца пылевидный. Ядро набухшее, занимает эксцентричное положение, на его светлом фоне выявляется темное ядрышко (рис. 1 Е).

Итак, при ротеноновой интоксикации мозга в нейронах РАГ отмечаются метаболические и морфологические нарушения, сопровождаемые морфологическими изменениями внутриклеточных структур. При поражении нервных клеток отмечается нарушение морфологической картины. Встречаются нейроны с просветленной цитоплазмой, то есть со сниженным уровнем обменных процессов. В цитоплазме же некоторых нейронов РАГ обнаруживается высокая фосфатазная активность, что указывает на активацию обменных процессов, направленных на поддержание нарушаемого в результате ротеноновой интоксикации гомеостаза организма, то есть клетки ищут оптимальные условия для процессов клеточного выживания. Видимо, повышение метаболизма, отражает мобилизацию защитных возможностей клетки и запускает адаптивно-компенсаторные механизмы.

У животных, получивших инъекцию ротенона в сочетании с инъекциями БМ, характерные формы клеток РАГ чаще всего сохранены, размеры близки к норме. У большинства нейронов на фоне умеренно окрашенной цитоплазмы просматриваются светлоокрашенные центрально расположенные ядра; выявляются тонкие длинные отростки, что указывает на сохранение их связей с соседними клетками и другими областями мозга (рис. 1 Ж-И). Внутрицитоплазматическая грануляция мелкозернистая (рис. 1 З, И). Среди сохранивших форму и размеры клеток местами выявляются пораженные нейроны, в которых активность КФ слабая, отростки не выявляются, однако заметны ядра с темным ядрышком (рис. 1 З). Местами встречаются интенсивно окрашенные клетки, их ядра смещены к периферии (рис. 1 Ж-И). В целом, под воздействием БМ наблюдается близкая к норме морфологическая картина нейронов РАГ, уровень обменных процессов также близок к норме.

У животных, получивших инъекцию ротенона в сочетании с одновременными инъекциями БМ и синэстрола, формы клеток РАГ сохранены, есть тенденция к сохранению характерных для нейронов размеров (рис. 1

К-М). Цитоплазма интенсивно окрашена, в ней просматривается светлоокрашенное центрально расположенное ядро. Осадок фосфата свинца в цитоплазме клеток мелкогранулярный или глыбчатый. У нейронов выявляются тонкие длинные отростки (рис. 1 К, Л). В PAG, наряду с сохранившими форму и размеры клетками, изредка выявляются пораженные нейроны, в которых активность КФ слабая, контуры нарушены, отростки не выявляются, однако ядро центрально расположено (рис. 1 Л, М).

Таким образом, под воздействием БМ и синэстрола наблюдается морфологическая картина нейронов PAG, близкая к норме, изредка можно встретить пораженные нейроны. По сравнению с воздействием только БМ, интенсивность окраски цитоплазмы в теле и отростках нейронов PAG выше при одновременном введении БМ и синэстрола, что свидетельствует о повышенном уровне обменных процессов и сохранении контактов нейронов PAG с остальными областями мозга, с которыми они анатомически связаны.

Большое ядро шва (NRM) — это скопление нейронов, расположенное по средней линии продолговатого мозга. NRM является серотонинергическим ядром, расположено в ростральном вентромедиальном отделе ствола головного мозга. Аксоны NRM проецируются в спинной мозг, оканчивающийся преимущественно в спинном роге. Они регулируют высвобождение энкефалинов, подавляющих болевые ощущения [9]. В основном, нейроны NRM треугольные или несколько вытянуты (рис. 2 А-В). В цитоплазме этих нейронов хроматофильное вещество диффузно распределено, грануляция наблюдается в цитоплазме и отростках нейронов, в то время как ядра выглядят светлыми (рис. 2 Б, В). Все клетки имеют длинные аксоны и несколько умеренно или слабо ветвящихся дендритов. Осадок фосфата свинца в виде гранул отчетливо прослеживается в отростках (рис. 2 Б, В).

Анализ данных при ротеноновой интоксикации показал в NRM поражения нервной ткани, затрагивающие, прежде всего, нервные клетки, их отростки (рис. 2 Г-Е). Форма и размеры нейронов нарушены. Встречаются вытянутые веретенообразные клетки с просветленной цитоплазмой. Часть клеток подвергается кариоцитолиту, нейроны находятся в состоянии тяжёлого изменения. Отдельные нейроны сморщиваются, уменьшаясь в размере и приобретая вытянутую изогнутую форму. Отростки истончаются, укорачиваются (рис. 2 Д). В цитоплазме большинства нейронов NRM отмечается распыление тигроидного вещества – просветление цитоплазмы, по сравнению с нормой. Уровень метаболизма КФ снижен в цитоплазме, и в перикарионах виден мелкий разреженный гранулярный осадок (рис. 2 Д, Е). У многих нейронов реагируют длинные отростки, но фосфатазная активность в них очень снижена. Среди клеток, подвергнутых хроматолизу, встречаются также нейроны с активацией КФ

в цитоплазме и ядре. В подобных поврежденных нейронах темноокрашенный крупноглыбчатый осадок фосфата свинца неравномерно распределен по телу клетки, из-за чего не просматривается граница между телом и отростками. Нейроны не имеют четких контуров, их отростки укорочены, ядро эктопировано и деформировано (рис. 2 Е). Наблюдаемые внутриядерные гранулы являются новыми структурами, вызванными воздействием ротенона, и служат доказательством того, что в условиях ротеноновой интоксикации ядро нервной клетки подвергается динами-

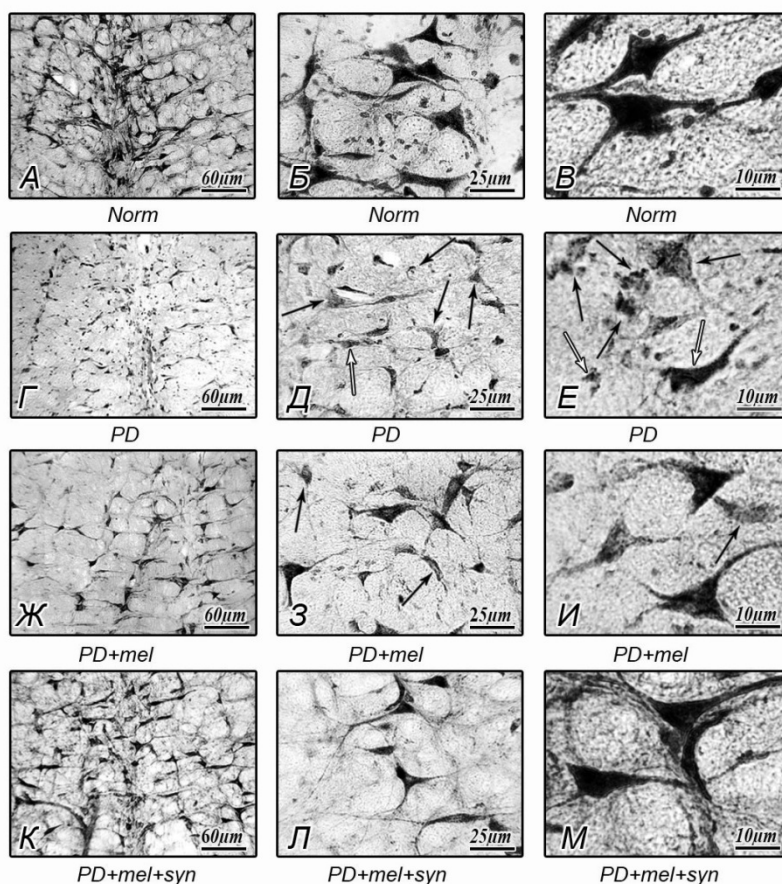


Рис. 2. Микрофотографии клеточных структур большого ядра шва (NRM) intactных (А-В, Norm) и экспериментальных (Г-М) крыс (Г-Е – в условиях ротеноновой интоксикации (PD); Ж-И – в условиях ротеноновой интоксикации в сочетании с бактериальным меланином (PD+mel); К-М – в условиях ротеноновой интоксикации в сочетании с одновременным введением бактериального меланина и синэстрола (PD+mel+syn)). Г-Е – нарушение формы и размеров, просветление цитоплазмы, эктопия ядра и утолщение отростков; Ж-И, К-М – сохранение структурных свойств нейронов, высокая фосфатазная активность в цитоплазме и отростках, ядра центрально расположены (чёрная стрелка – хроматоллиз; белая стрелка – эксцентрично расположенное ядро). Выявление активности Ca^{2+} -зависимой КФ. Оптич.ув.: $\times 160$ (А, Г, Ж, К); $\times 400$ (Б, Д, З, Л); $\times 1000$ (В, Е, И, М)

ческой реорганизации [13]. Таким образом, в условиях ротеноновой интоксикации в NRM поражение большинства нейронов сопровождается лизисом хроматофильного вещества в цитоплазме и отростках, снижением уровня метаболизма. Выявляются различные типы клеточной атрофии, в NRM развиваются нейродегенеративные изменения, характерные для патологии БП.

У животных, получивших инъекцию ротенона в сочетании с введением БМ, формы клеток NRM значительно сохранены, размеры близки к норме (рис. 2 Ж-И). У сохранивших форму и размеры нейронов просматриваются светлоокрашенные центрально расположенные ядра, которые выделяются на фоне умеренно окрашенной цитоплазмы. Осадок фосфата свинца в цитоплазме клеток мелкогранулярный, локализован равномерно, отмечается незначительное снижение фосфатазной активности, в сравнении с нормой. У них выявляются тонкие длинные отростки с высокой активностью КФ, что указывает на сохранение их связей с соседними клетками и другими областями мозга. На фоне сохранивших форму и размеры клеток местами выявляются нейроны, в которых активность КФ очень слабая в цитоплазме и отростках, но форма и размеры сохранены, ядра центрально расположены (рис. 2 З, И). Изредка выявляются светлоокрашенные пораженные дегенерированные нейроны, потерявшие форму и размеры, у них не выявляются отростки (рис. 2 И). Итак, под воздействием БМ морфологическая картина нейронов NRM близка к норме, уровень обменных процессов незначительно снижен по сравнению с нормой, местами встречаются нейроны с низкой активностью КФ.

В условиях ротеноновой интоксикации при сочетанном введении БМ и синэстрола в NRM наблюдаются нейроны, сохранившие форму и размеры, характерные для данной области мозга (рис. 2 К-М). У большинства из них на фоне гиперхромной цитоплазмы выделяются светлоокрашенные центрально расположенные ядра, выявляются длинные отростки с высокой активностью КФ, что характерно для нормы. Осадок фосфата свинца представлен внутри цитоплазмы в виде глыбчатых образований (рис. 2 М), что свидетельствует о повышенном уровне активности КФ по сравнению с интактными животными.

Таким образом, в ротеноновой модели БП изменения нейронов PAG и NRM характеризуются морфологическими изменениями внутриклеточных структур, свидетельствующими о метаболических нарушениях. Нейродегенеративное поражение важных антиноцицептивных структур NRM и PAG содействует возникновению стойкой хронической боли при БП. В условиях протекции БМ на модели БП получены положительные данные о повышении метаболизма, сохранении и нормализации структур, об усилении Ca^{2+} -зависимого фосфорилирования, характеризующих клеточное выживание и предотвращающих нейродегенерацию. Терапевтический эффект БМ, вероятно, связан с его благоприятной модуляцией вторичного

воспалительного процесса, ингибированием микроглиоза и улучшением трофики тканей головного мозга [22]. Биологическое компенсаторное действие БМ, наряду с иммуномодулирующим действием, позволяет облегчить проявления нейродегенеративных нарушений. Фармакокинетические исследования подтвердили способность БМ преодолевать гематоэнцефалический барьер, кроме того, БМ выводится через печень и почки, что указывает на благоприятный фармакокинетический профиль для его использования в качестве терапевтического и нейропротекторного средства [21]. При сочетанном введении БМ и синэстрола отмечается более эффективный нейропротекторный эффект, что, видимо, обусловлено усилением протекторных свойств обоих компонентов при их одновременной инъекции, активации механизмов воздействия их терапевтических доз на поражаемые при БП структурные мишени. Полученные данные дают основание полагать, что БМ и синэстрол действуют в качестве нейропротекторных агентов, и это предусматривает возможность предложения их для терапии БП изолированно или комбинированно.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета по науке РА в рамках научного проекта № 21T-IF282.

Поступила 24.11.23

Պարկինսոնի հիվանդության մոդելում առնետների գլխուղեղի մոթոֆունկցիոնալ վիճակի հետազոտությունը կենդանական և սինթետիկ ծագման թերապևտիկ նյութերի ազդեցության ներքո

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

Նյարդադեգեներատիվ հիվանդությունների ժամանակ, առավել հաճախ Պարկինսոնի հիվանդության (ՊՀ) դեպքում, նյարդադեգեներատիվ գործընթացներում ներգրավված են լինում հակացավային կենտրոնները, ինչն էլ ուղեկցվում է մշտական ցավով, որը չի դադարում թմրանյութեր կիրառելուց հետո: Սույն աշխատանքում ուսումնասիրվել են հարջրածորանային գորշ նյութը (PAG) և կարի մեծ կորիզը (NRM), որոնք գլխուղեղի հակացավային համակարգի բաղադրիչներն են: Ռոտենոնային թունավորման պայմաններում ՊՀ փորձարարական մոդելում ներբջջային կառույցների մոթոֆունկցիական փոփոխություններ են նկատվում PAG և NRM նյարդաբջջներում, ինչը վկայում է տվյալ պաթոլոգիային բնորոշ նյութափոխանակության խանգարումների ի հայտ գալու մասին (նյարդաբջջների մարմնի և ելուստների ձևի և չափսի փոփոխություններ, ցիտոպլազմում թթվային ֆոսֆատազայի

ակտիվության խախտում): Բակտերիալ մելանինի (ԲՄ) ազդեցության տակ և ԲՄ-ի և սինեստրոլի համակցված ընդունման պարագայում PAG և NRM նյարդաբջջներում նկատվում են կառուցվածքային հատկությունների դրական փոփոխությունների համեմատ ՊՀ ռոտենոնային մոդելի, ուղեղի այս հատվածներին բնորոշ մորֆոլոգիական պատկերի պահպանում (բջջների ձևն ու չափսը մոտ են նորմային): Վերոհիշյալ թերապևտիկ միջոցների ազդեցության ներքո բջջների ցիտոպլազմում հատկանշական է ֆոսֆատազային ակտիվության բարձրացում, ինչը վկայում է նյութափոխանակային գործընթացների արագացման (ակտիվացման) մասին, որոնք խաթարվել էին ռոտենոնային թունավորման հետևանքով: Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ ՊՀ ռոտենոնային մոդելում ԲՄ-ն և սինեստրոլը հանդես են գալիս որպես հնարավոր նյարդապաշտպան միջոցներ առնետների գլխուղեղի PAG և NRM նյարդաբջջների հանդեպ, ինչը ենթադրում է հետագա հետազոտության անհրաժեշտություն՝ բացահայտելու տվյալ նյութերի թերապևտիկ չափաբաժինների ազդեցության մեխանիզմները և առաջարկելու դրանք ՊՀ բուժման նպատակով՝ առանձին կամ համակցված կիրառմամբ:

Study of the Morphological and Functional State of a Rat Brain on a Model of Parkinson's Disease under the Influence of Therapeutic Agents of Animal and Synthetic origin

**M. H. Danielyan, K. A. Nebogova, Z. A. Avetisyan, V. P. Khachatryan,
M. V. Poghosyan, J. S. Sarkissian, K. V. Karapetyan**

In neurodegenerative diseases, more often in Parkinson's disease (PD), antinociceptive centers are involved in neurodegeneration, which is accompanied by constant pain that is not relieved by narcotic substances. This study examined the periaqueductal gray matter (PAG) and the nucleus raphe magnus (NRM), which are components of the brain's antinociceptive system. Under conditions of rotenone intoxication (an experimental model of PD), morphological changes in intracellular structures are observed in PAG and NRM neurons, indicating metabolic disorders that are characteristic of this pathology (changes in the shape and size of the bodies and processes of neurons, disruption of AP activity in the cytoplasm of neurons). Under the influence of bacterial melanin and with the combined administration of bacterial melanin and synoestrol, positive changes in structural properties are observed in PAG and NRM neurons compared to the rotenone model of PD; preservation of the morphological picture characteristic of these areas of the brain (the shape and size of the cells are close to normal). Under the influence of these therapeutic agents, an increase in phosphatase activity in the cytoplasm of cells is detected, which indicates an acceleration of metabolic processes (metabolic activation), which were disrupted as a result of rotenone intoxication. The data obtained suggest that BM and synoestrol act as possible neuroprotective agents against PAG and NRM neurons of the rat brain in the rotenone model of PD, which requires further research to identify the mechanisms of action of their therapeutic doses and propose them for the treatment of PD in isolation or combined.

Литература

1. *Аветисян С.В., Паронян М.Г., Оганнисян С.С., Овсепян А.С.* Меланиногенные штаммы *Bacillus thuringiensis*: перспективы применения. Биотехнология, 2020, т. 120(1), с. 74-80.
2. *Левин О.С., Федорова Н.В.* Болезнь Паркинсона. М., 2012. ISBN 978-5-98322-863-4
3. *Мавликеев М.О., Архипова С.С., Чернова О.Н., Титова А.А., Певнев Г.О., Шафигуллина А.К., Киясов А.П.* Краткий курс гистологической техники. Учебно-методическое пособие. Казань, Казан.ун-т, 2020.
4. *Меликсетян И.Б.* Выявление активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы в клеточных структурах мозга крыс. Морфология. СПб., 2007, т. 131, 2, с. 77-80.
5. *Петросян Т.* Бактериальный меланин в животных моделях нейродегенерации. LAP LAMBERT Academic Publishing RU, 2012.
6. *Тадевосян Л.Ж., Погосян М.В., Даниелян М.А., Степанян А.Ю., Минасян А.Л., Аветисян З.А., Саркисян Дж.С.* Синаптические постстимульные процессы в антиноцицептивном околосинаптическом сером веществе мозга при активации большого ядра шва на модели болезни Паркинсона в условиях протекции синэстролом. Мед. наука Армении НАН РА, 2021, т. LXI, 3, с. 38-49.
7. *Тадевосян Л.Ж., Погосян М.В., Степанян А.Ю., Даниелян М.А., Минасян А.Л., Саркисян Дж.С.* Синаптические постстимульные проявления активности в антиноцицептивном большом ядре шва мозга при активации околосинаптического серого вещества мозга на модели болезни Паркинсона в условиях протекции меланином. Мед. наука Армении НАН РА, 2021, т. LXI, 2, с. 44-55.
8. *Угрюмов М.В.* Новые представления о патогенезе, диагностике и лечении нейродегенеративных заболеваний. Вестник Российской Академии медицинских наук. 2010, 8, с. 6-18.
9. *Bitner R. S., Nikkel A. L., Curzon P., Arneric S. P., Bannon A. W., Decker M. W.* Role of the nucleus raphe magnus in antinociception produced by ABT-594: immediate early gene responses possibly linked to neuronal nicotinic acetylcholine receptors on serotonergic neurons. J Neurosci., 1998, v. 18(14), pp. 5426-5432. doi: 10.1523/JNEUROSCI.18-14-05426.1998.
10. *Broen M. P. G., Braaksma M. M., Patijn, Weber W. E. J.* Prevalence of pain in Parkinson's disease: a systematic J. review using the modified QUADAS tool. Movement Disorders, 2012, v. 27(4), pp. 480-484.
11. *Buzas B., Max M. B.* Pain in Parkinson disease. Neurology, 2004, v. 62(12), p. 2156-2157. doi: 10.1212/01.wnl.0000130384.56476.75.
12. *Conte A., Khan N., Defazio G. et al.* Pathophysiology of somatosensory abnormalities in Parkinson disease. Nat Rev Neurol., 2013 Dec, v. 9 (12), pp. 687-697.
13. *Cotto J. J., Fox S. G., Morimoto R. I.* HSF1 granules: a novel stress-induced compartment of human cells. Journal of Cell Science, 1997, v. 110(23), pp. 2925-2934. doi: 10.1242/jcs.110.23.2925.
14. *Gebhart G. F.* Descending modulation of pain. Neurosci Biobehav Rev., 2004, v. 27, pp.729-737.
15. *Handl J., Nyvltova P., Capek J., Cesla P., Hovsepyan A., Aветисян S., Micankova P., Bruckova L., Stankova P., Knotkova K., Petrosyan T., Rousar T.* The comparison of biological effects of bacterial and synthetic melanins in neuroblastoma cells. Food Chem Toxicol., 2022;168:113355.
16. *Jensen T. S., Baron R., Haanpää M., Kalso E. et al.* A new definition of neuropathic pain. Pain, 2011, v. 152, № 10, p. 2204-2205.
17. *Lee M. A., Walker R. W., Hildreth T. G. et al.* A survey of pain in idiopathic Parkinson's disease. J. Pain Symptom Manage, 2006, v. 32, pp. 462-469.
18. *Mai J. K., Paxinos G.* The Human Nervous System (Third Edition). Academic Press is an imprint of Elsevier, 2012, p. 1428, ISBN:978-0-12-374236-0.
19. *Moreira C. G., Barbiero J. K., Ariza D., Dombrowski P. A., Sabioni P., Bortolanza M., Cunha C. D., Vital M. A., Lima M. M.* Behavioral, neurochemical and histological

- alterations promoted by bilateral intranigral rotenone administration: A new approach for an old neurotoxin. *Neurotox. Res.*, 2012, v. 21(3), pp. 291-301.
20. Paxinos G., Watson C. The rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Elsevier, Academic Press, 5th ed., 2005, p. 367.
21. Petrosyan T., Hovsepyan A. Bacterial melanin crosses the blood-brain barrier in rat experimental model. *Fluids Barriers CNS*, 2014 Aug, 11:20. doi: 10.1186/2045-8118-11-20.
22. Petrosyan T. R., Gevorkyan O. V., Chavushyan V. A., Meliksetyan I. B., Hovsepyan A. S., Manvelyan L. R. Effects of bacterial melanin on motor recovery and regeneration after unilateral destruction of Substantia Nigra pars compacta in rats. *Neuropeptides*. 2014, v. 48(1), p. 37-46, doi: 10.1016/j.npep.2013.10.001.
23. Ramiro-González M., Fernández-de-las-Peñas C. Pain in Parkinson disease: A review of the literature. *Parkinsonism & Related Disorders*, 2013, v.19(3), p. 285-294.
24. Scherder E., Wolters E., Polman C. et al. Pain in Parkinson's disease and multiple sclerosis: its relation to the medial and lateral pain systems. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2005, v. 29(7), p. 1047-1056.