



5%-ный раствор этанола получали в течение 3-10 дней (ранний срок алкоголизации), а 10%-ный – 3-6 недель (средний срок алкоголизации). Электрофизиологические исследования проводили на препарате *encephale isole* у крыс, подвергнутых перерезке спинного мозга на уровне T<sub>2</sub>-T<sub>3</sub> под нембуталовым наркозом (40 мг/кг). Регистрацию спайковой активности одиночных нейронов черной субстанции (SN) производили по координатам (SNc AP-5.0, L±2.0, DV+7.5-8.0 мм; SNr AP-5.2, L±2.0-3.0, DV+7.5-8.5 мм; SNl AP-5.0, L±3.0, DV+7.0 мм). Высокочастотную стимуляцию (ВЧС) хвостатого ядра (NC, caudate putamen) мозга ипсилатеральной стороны по координатам AP+1.7, L±2.0, DV+4.0 мм осуществляли вольфрамовыми биполярными электродами током длительностью 0.5 мс, частотой 100 Гц в течение 1 с. В онлайн режиме импульсный поток после регистрации подвергался программному анализу с последующим выводом распределенной в реальном времени пре- и постстимульной спайковой активности единичных нейронов и построенных на их основе гистограмм суммы спайков (разработчик В.С. Каменецкий). Морфогистохимические исследования проводились по методу определения активности Ca<sup>+2</sup>-зависимой кислой фосфатазы (КФ) [4], основанному на выявлении внутриклеточных фосфорсодержащих соединений, занимающих ключевые позиции в обменных энергетических процессах.

**Результаты и их обсуждение.** На поперечном разрезе среднего мозга интактных крыс, между петлевым слоем и основанием, начиная с уровня нижних холмов выделяется черное вещество (рис.1, а), относящееся к экстрапирамидной системе. Черная субстанция, являясь филогенетически довольно древним образованием, имеет сложную структуру и обильное кровоснабжение, что говорит о высокой роли ее компонентов в системе координации жизнедеятельности. Основной частью черной субстанции являются нейроны, богатые пигментом нейромеланином. По полученным нами данным осадок фосфата свинца в виде гранул равномерно локализован в цитоплазме перикариона, окружает со всех сторон светлоокрашенное и центрально расположенное ядро и распространяется в довольно длинных отростках нейрона (рис.1, А). Средние мультиполярные нейроны отличаются мелкими гранулами хроматофильного вещества цитоплазмы. В аксонах наблюдаются чередующиеся на равном расстоянии светлые и темные участки, что создает впечатление поперечной исчерченности (рис.1, Б). Нервные клетки средних размеров отличаются веретенообразной или удлинненной отростчатой формой. По литературным данным, мелкие нейроны чаще звездчатой формы, с более мелкими ядрышками и диффузным распределением хроматофильного вещества цитоплазмы. Существует тесная связь клеточных структур черного вещества с кровеносными сосудами, отражающая высокий уровень обменных процессов в ядре.

Изучение морфофункционального состояния черной субстанции при 5%-ной этанольной интоксикации показало нарушение нейроархитектоники в ранние сроки алкоголизации (рис.1, В). Уменьшаются объем и удельная плотность нейронов. У некоторых гипертрофированных шарообраз-

ных клеток, напоминающих клетки тени, отсутствуют отростки, наблюдается сильно выраженный хроматолиз. У этих клеток осадок фосфата свинца расположен под клеточной мембраной в виде кольца (из-за негативной фосфатазной активности ядра клеток не выявляются). Встречаются также гомогенно окрашенные сморщенные нейроны, вокруг которых имеются поперечно срезанные расширенные кровеносные сосуды. У некоторых нейронов в цитоплазме хроматолиз наблюдался в разной степени выраженности: сегментарный, перинуклеарный и субтотальный.

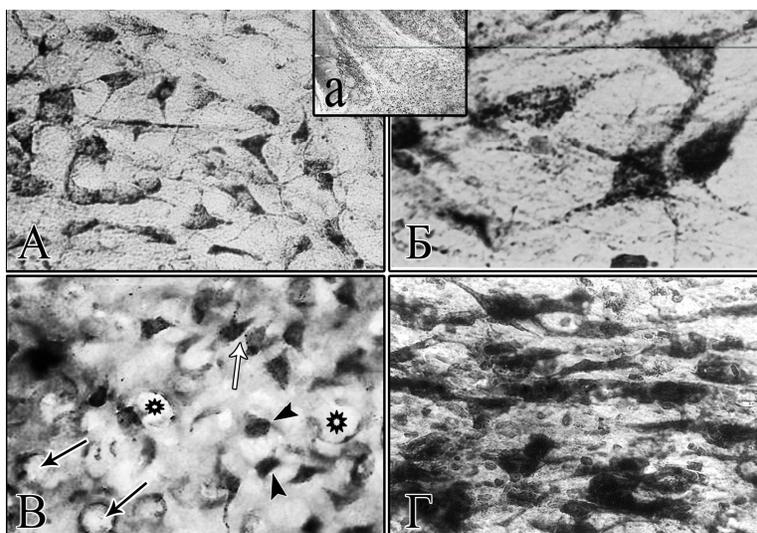


Рис 1. Клеточные структуры черного вещества intactных (А,Б) и экспериментальных (Б,Г) крыс. А,Б: у мультиполярных нейронов крупных и средних размеров выделяются центрально расположенные ядра, равномерно локализованный осадок свинца и длинные отростки. При хронической алкоголизации (В) 5%-ным этанолом видны: гипертрофированные шарообразные клетки тени (черные стрелки), сохранившие форму и отростки клетки (белая стрелка), лишенные отростков клетки (головки стрелок) и расширенные капилляры (звездочки). Под воздействием 10%-ного этанола (Г) видны: веретенообразные дегенерированные клетки с нечеткими контурами, вокруг которых выделяются гомогенно окрашенные ядра глиальных клеток. Увеличение: 100 (а); 400 (А,В,Г); 1000 (Б).

При воздействии 10%-ного раствора этанола в течение 3-6 недель у гипертрофированных или же веретенообразных нейронов темноокрашенный крупноглыбчатый осадок фосфата свинца неравномерно распределен по телу клетки, из-за чего не просматривается граница между телом и отростками, а также между ядром и цитоплазмой (рис. 1, Г). В некоторых случаях от тел нейронов отходит короткий утолщенный отросток. Дендриты представлены в виде коротких обрубков, соответствующих месту их отхождения от тела. Среди бесформенных дегенерированных нейронов четко выделяются ядра глиальных клеток. На фоне таких дегенерированных клеток

выделяются также нейроны, у которых прослеживаются отдельные отростки, а их эктопированные ядра интенсивно окрашены (рис.1, Г).

Экстраклеточной регистрацией фоновой и вызванной спайковой активности одиночных нейронов черного вещества (SN) при ранних сроках алкоголизации 5%-ным раствором этанола выявлены: возбудительные ответы на время ВЧС Caudat putamen, выраженные сильнее в 8.26 раза (88.92:10.76 спайк/с) (рис. 2, А) и 4.83 раза (62.00:12.83 спайк/с) (рис. 2, Б), а на постстимульный временной отрезок в 2.28 раза (24.51:10.76 спайк/с) (рис. 2, А) и 1.83 раза (18.21:9.93 спайк/с) (рис. 2, В). Тормозные ответы на время ВЧС Caudat putamen выражены сильнее в 2.48 раза (9.93:4 спайк/с) (рис. 2, В) и 3.08 раза (11.57:3.75 спайк/с) (рис.3, Г), а на постстимульный временной отрезок в 2.6 раза (12.83:4.94 спайк/с) (рис.2, Б) и 2.55 раза (11.57:4.54 спайк/с) (рис.2, Г). Доля нейронов с ТП-ПТП и ТП-ПТД ответами составляет по 38,7% (12 из 31), а с ТД-ПТП и ТД-ПТД ответами составляет 9.68% (3 из 31) и 12.9% (4 из 31) соответственно (рис.2, А-Г). Пачечный тип перистимульного спайкинга встречается в нейронах, проявляющих как тормозные, так и возбудительные ответы (рис.2, Б-Г).

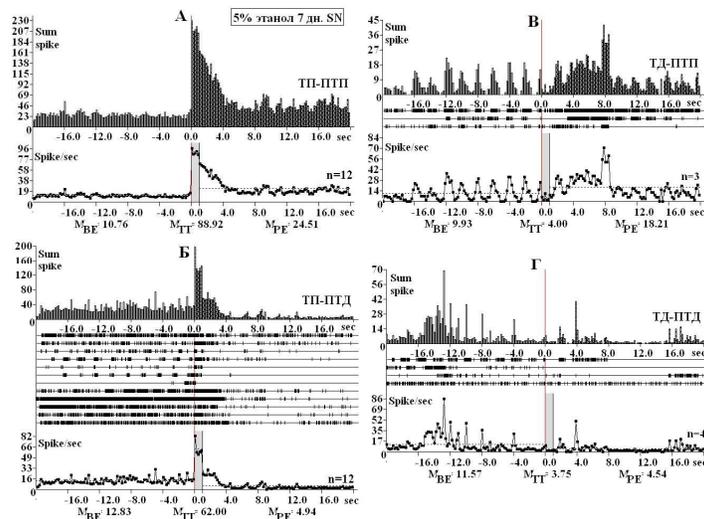


Рис. 2. Перистимульные гистограммы суммы спайков, построенные на основе анализа спайковой активности нейронов Substantia nigra с возбудительными (А), ТП-ПТД (Б) и ТД+ПТП (В) и тормозными (Г) ответами на ВЧС Caudat putamen в группе «5%-ный этанол 7 дней»; снизу – диаграммы средней частоты спайков с указанием цифровых значений средней частоты (спайк/с) для данного типа ответов в реальном времени 20 с до ВЧС ( $M_{BE}$ ), 20 с после ВЧС ( $M_{PE}$ ) и на время ВЧС в течение 1 с ( $M_{PT}$ ); n – количество нейронов, частота спайковой активности которых усреднена на данной диаграмме.

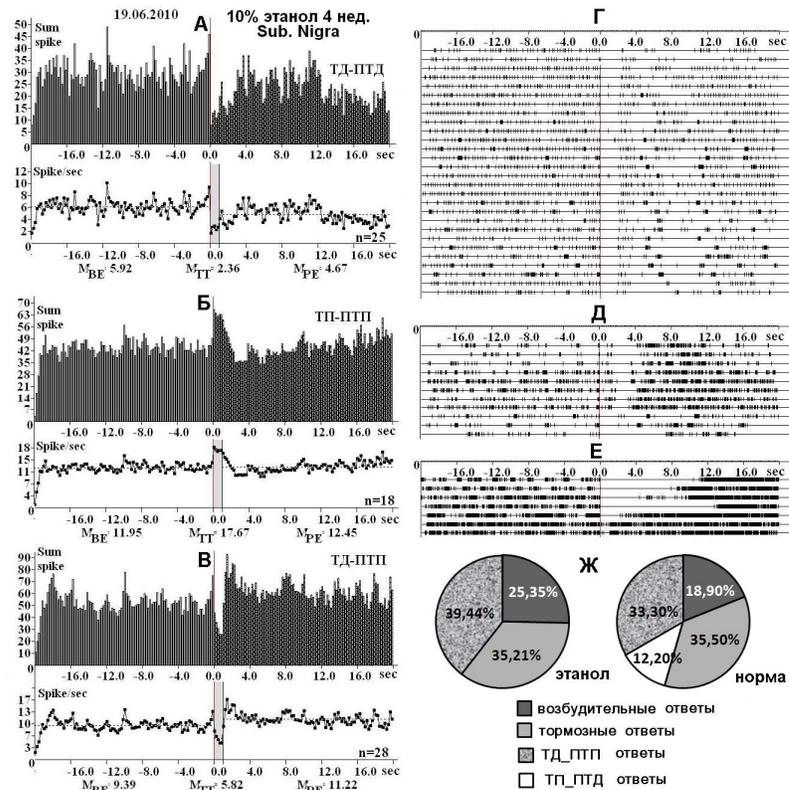


Рис. 3. Перистимульные гистограммы суммы спайков, построенные на основе анализа спайковой активности нейронов Substantia nigra с тормозными (А), возбудительными (Б) и ТД+ПТП (В) ответами на ВЧС Caudat putamen в группе «10%-ный этанол 4 недели»; снизу – диаграммы средней частоты спайков с указанием цифровых значений средней частоты (спайк/с) для данного типа ответов в реальном времени 20 с до ВЧС ( $M_{BE}$ ), 20 с после ВЧС ( $M_{PE}$ ) и на время ВЧС в течение 1 с ( $M_{TT}$ ); n – количество нейронов, частота спайковой активности которых усреднена на данной диаграмме. Г-Е – перистимульный спайкинг много-кратного испытания единиц с пачечной активностью. Ж – процентное долевое соотношение нейронов с указанным типом ответов в группах «10%-ный этанол 4 недели» и «норма».

Для нейронов SN группы при средних сроках алкоголизации 10%-ным раствором этанола характерны: тормозные ответы на время ВЧС Caudat putamen, выраженные в 2.5 раза сильнее (5.92:2.36 спайк/с) (рис.3, А) и 1.6 раза (9.39:5.82 спайк/с) (рис.3, В), а также слабо выраженное постстимульное возбуждение в 1.04 раза (12.45:11.95 спайк/с) (рис.3, Б) и 1.15 раза (11.22:9.39 спайк/с) (рис.3, В). Пачечный тип перистимульного спайкинга со стойким воспроизведением данного типа ответа в многократных испытаниях встречается в нейронах, проявляющих как тормозные (Г, Е), так и возбудительные ответы (Д, Е). В группе «10%-ный этанол 4 недели» долевое соотношение нейронов SN с ТД-ПТД и ТД-ПТП отве-

тами практически одинаковое, ТП-ПТД ответы отсутствуют, в то время как таковые в норме составляли 12.20% (рис.3, Ж).

У интактных животных доленое соотношение нейронов SN с ТД-ПТД (32 из 90) и ТД-ПТП (30 из 90) ответами практически одинаковое (35.50 и 33.30% соответственно), ТП-ПТП ответы в норме составляли 18,90% (17 из 90) (рис.3, Ж). По выраженности тормозные/возбудительные ответы незначительно превосходят таковые в патологии. Так, на время ВЧС Caudat putamen тормозные ответы выражены сильнее в 6.9 раза (7.32:1.06 спайк/с) и 5 раза (12.20:2.44 спайк/с), а на постстимульное время в 1.8 раза (7.32:3.90 спайк/с) и 2.1 раза (5.06:2.37 спайк/с). Возбудительные ответы на время ВЧС Caudat putamen выражены сильнее в 2.28 раза (11.55:5.06 спайк/с) и 1.75 раза (11.52:6.60 спайк/с), а на постстимульный временной отрезок в 1.2 раза (14.64:12.20 спайк/с) и 1.93 раза (12.73:6.60 спайк/с).

Существует тесная и неразрывная морфологическая и функциональная связь между строением клеток и волокон, а также отдельными их структурами, которая проявляется в условиях нормального функционирования и при различных патологических процессах. По полученным данным, морфогистохимическая картина нейронов черного вещества на ранних сроках 5%-ной этанольной интоксикации выявила изменения по типу ретроградной дегенерации (первичного раздражения нервной клетки). Обычно это состояние является обратимым клеточным процессом, однако при большой силе патологического воздействия этанола оно может перейти в уже необратимые формы клеточной патологии.

При средних сроках 10%-ной алкоголизации наблюдается значительная нейродегенерация. Кроме того, при этих сроках патологические сдвиги в нейронах черной субстанции привели к реакции сателлитной нейроглии, что согласуется с представлениями о повышении астроцитарной активности под воздействием этанола [5]. В данном случае, возможно имеет место защитная реакция глиальных клеток по отношению к нейронам, что отвечает современным представлениям о существовании тесного взаимодействия между нейронами и глиальными клетками. Глия, как известно, играет важную роль в выживании нейронов и вовлекается в регуляцию ионного состава окружающей среды, необходимого для физиологической функции нейронов [6].

Анализ электрофизиологических результатов дает основание заключить, что установленный в данном патологическом состоянии баланс возбудительных/тормозных ответов, а также степень выраженности ответов на время ВЧС направлены на адаптативное поддержание активности SN за счет пластичности синаптического аппарата. Нейрон-астроцит сигнальный путь выступает в качестве неотъемлемой единицы, обслуживающей множественность и диверсифицированность (многообразие) ролей. В конечном счете, эта мультифункциональная единица способствует достижению богатого разнообразия в нейрональной трансмиссии, которая является фундаментальным аспектом функции мозга [7].

<sup>1</sup> Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА

<sup>2</sup> Институт биохимии им. Г. Х. Бунятына НАН РА

**А. А. Саваян, В. А. Чавушян, Л. Р. Геворгян, С. С. Абрамян**

**Морфогистохимическое и электрофизиологическое исследование черной субстанции мозга крысы при этанольной интоксикации**

Выявлено, что при ранних сроках алкоголизации 5%-ным раствором этанола нейроны черной субстанции подвергаются изменению по типу ретроградной дегенерации. Воздействие 10%-ного раствора этанола вызывало значительную нейродегенерацию и реакцию со стороны глии. Анализ электрофизиологических результатов дает основание заключить, что установленный в данном патологическом состоянии баланс возбудительных/тормозных ответов, а также степень выраженности ответов направлены на адаптивное поддержание активности SN за счет пластичности синаптического аппарата.

**Ա. Ա. Սավայան, Վ. Ա. Չավուշյան, Լ. Ռ. Գևորգյան, Ս. Ս. Աբրահամյան**

**Առնետի ուղեղի substantia nigra-ի նեյրոնների մորֆոհիստոքիմիական և էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրությունը էթանոլային ինտոքսիկացիայի պայմաններում**

Հայտնաբերված է, որ 5% էթանոլի լուծույթի միջոցով առաջացած ակոնոլիզի վաղ փուլերում substantia nigra-ի նեյրոնները ենթարկվում են փոփոխությունների՝ ռետրոգրադ դեգեներացիայի տարբերակով: 10% էթանոլի լուծույթի ազդեցության արդյունքում առաջացել է զգալի նեյրոդեգեներացիա և գլիոզ: Էլեկտրաֆիզիոլոգիական վերլուծության արդյունքները հիմք են հանդիսացել եզրակացնելու, որ տվյալ ախտաբանական պայմաններում հաստատված արգելակիչ և դրդիչ պատասխանների հավասարակշռությունը, ինչպես նաև պատասխանների արտահայտման աստիճանը ուղղված են substantia nigra-ի ակտիվության հարմարվողականության պահպանմանը՝ սինապտիկ համակարգի պլաստիկության միջոցով:

**A. A. Savayan, V. A. Chavushyan, L. R. Gevorgyan,  
S. S. Abrahamyan**

**Morphohistochemical and Electrophysiological Studies of Rats Brain Substantia Nigra Neurons after Ethanol Intoxication**

In the morphological experiments, it was revealed that the transformation of the neurons in substantia nigra in the early stages of alcoholization by 5% ethanol solution is of the retrograde degeneration type. Exposure to the 10% ethanol solution induced significant neurodegeneration and gliosis. Electrophysiological analysis of the results allows concluding that the established balance of the excitatory/inhibitory responses in this pathological state, as well as degree of the responses expression, is aimed at adaptive maintaining of SN activity through the synaptic system plasticity.

## Литература

1. *Taffe M. A., Kotzebue R. W., Crean R. D., Crawford E. F., Edwards S., Mandyam C. D.* - Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010.V. 107. N 24. P. 11104–1109.
2. *Sable H. J., Rodd Z. A., Bell R. L., Schultz J. A., Lumeng L., McBride W.J.* - Alcohol. 2005. V. 35. N 2. P.129-35.
3. *Diana M., Peana A. T., Sirca D., Lintas A., Melis M., Enrico P.*- Ann N Y Acad Sci. 2008. V. 1139. P. 307-17.
4. *Меликсетян И. Б.* - Морфология (СПб.). 2007. Т. 131. №2. С. 77-80.
5. *Baydas G, Tuzcu M.*- Exp Neurol. 2005 . V. 194. N 1. P. 175-81.
6. *Moonen G., Rogister B., Leprince P., Rigo J. M., Delree P., Lefebvre P.P., Schoenen J.* - Prog. Brain Res. 1990. V. 86. P. 63–73.
7. *Matute C., Domercq M., Sanchez-Gomez M.-V.* - GLIA. 2006. V. 53. P. 212–224.