

**А. В. Смирнов<sup>1,3</sup>, В. П. Туманов<sup>2</sup>, Н. В. Григорьева<sup>1</sup>, Л. С. Быхалов<sup>1</sup>, Р. П. Самусев<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Волгоградский государственный медицинский университет;

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова;

<sup>3</sup> Волгоградский медицинский научный центр

## **НЕЙРОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОСТАТОГО ЯДРА КРЫС, СКЛОННЫХ К ФОРМИРОВАНИЮ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ**

УДК 616-091.8

В работе проведена морфологическая характеристика хвостатого ядра крыс, предрасположенных к алкогольной зависимости, отобранных с использованием метода определения алкогольной мотивации, основанного на определении уровня общей неспецифической реактивности организма. Парафиновые срезы толщиной 4–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, тионином по методу Ниссля. В хвостатых ядрах крыс, предрасположенных к алкогольной зависимости, выявлены морфофункциональные различия в структурной организации: достоверно большая объемная плотность перикарионов нейронов, их ядер, среднего объема перикарионов нейронов, на фоне пониженной объемной плотности нейропила по сравнению с животными, не склонными к алкоголизации, что свидетельствует о наличии конституциональнообусловленных различий в нейроанатомии хвостатых ядер крыс.

*Ключевые слова:* хвостатое ядро, крыса, алкоголь, предрасположенность.

**A. V. Smirnov, V. P. Tumanov, N. V. Grigoryeva, L. S. Bykhalov, R. P. Samusev**

## **NEUROMORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CAUDATE NUCLEUS OF PREDISPOSED TO ALCOHOL DEPENDENCE**

We analyzed morphological changes in neurons of caudate nucleus of rats predisposed to alcohol dependence. Rats were selected using the method of determining alcohol motivation, based on determining the level of general nonspecific reactivity of the body. Paraffin sections 4–6 μm thick were stained with hematoxylin and eosin, thionine according to the Nissl method. Morphological and functional differences in the structural organization were revealed in the caudate nuclei of rats predisposed to alcohol dependence: a significantly higher bulk density of perikarya of neurons, their nuclei, average volume of perikarya of neurons, against a background of a reduced bulk density of neuropil compared to animals not prone to alcoholization, which indicates the presence of constitutionally determined differences in neuroanatomy of rat caudate nuclei.

*Key words:* caudate nucleus, rat, alcohol, predisposition..

В связи с ростом интереса к проблеме формирования алкогольной зависимости исследование различных отделов ЦНС с позиций конституциональной генетической детерминированности влечения к алкоголю и лечению хронического алкоголизма остается актуальным [1].

Высказываются предположения, что механизм влечения к алкоголю связан с изменением локального уровня ацетальдегида в мозге, возникающим при употреблении алкоголя и зависящим от активности систем метаболизма этанола и ацетальдегида печени и мозга. Все эти исследования указывают на то, что феномен предпочтения этанола животными и предрасположенность к потреблению алкоголя у людей генетически обусловлены и могут быть связаны с интенсивностью обмена алкоголя в организме и зависят от активности ферментных систем метаболизма спиртов и альдегидов, являющихся мощными регуляторами уровня ацетальдегида в клетке. В этой связи представляется актуальным исследование процессов адаптации

систем, окисляющих экзогенный этанол (каталаза, микросомальная этанол-окисляющая система, алкогольдегидрогеназа) и являющихся мощными регуляторами уровня ацетальдегида в клетке у животных, различающихся по предпочтению к алкоголю [2, 3].

Обширные связи между отделами головного мозга, которые включают кору головного мозга и базальные ганглии, составляют основную часть переднего мозга и обеспечивают взаимовлияние нейронов различных локализаций и нейромедиаторных систем на поведение, связанное почти со всеми аспектами аффективных, когнитивных и сенсомоторных функций [3, 4].

При длительной алкоголизации может развиться дефицит нейромедиаторов, сам по себе угрожающий жизнедеятельности организма. В качестве механизма компенсации этого явления выступают усиленный синтез катехоламинов и подавление активности ферментов их метаболизма, в первую очередь моноаминоксидазы и

дофамин-β-гидроксилазы, контролирующих превращение дофамина в норадреналин [5, 6].

Алкоголь и другие вещества оказывают влияние на функционирование дофаминергических нейронов, что может стимулировать появление вегетативных расстройств, нарушения сна и др. [7].

В сложной иерархии структур головного мозга система кортико-базиллярных взаимодействий является мишенью для всех наркотиков, включая алкоголь, что делает её восприимчивой к действиям хронического воздействия алкоголя и приводит к многочисленным функциональным нарушениям, способствуя формированию когнитивных расстройств, связанным с употреблением психоактивных веществ [3, 8].

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести морфологическую характеристику хвостатого ядра крыс, предрасположенных к алкогольной зависимости.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе нами использован метод определения алкогольной мотивации, основанный на определении уровня общей неспецифической реактивности организма (УОНРО) – интегративного генетически обусловленного показателя, отражающего степень общей чувствительности организма к различным экзогенным воздействиям («Способ определения предрасположенности к алкоголизации у лабораторных крыс» № 204120726/14(022241 от 06 июля 2004 г.). При отборе крыс с различными уровнями начальной алкогольной мотивации использовали 180 белых крыс-самцов весом 180–220 г. Все экспериментальные животные были выведены в питомнике ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт». Важное внимание при проведении экспериментальной части исследования было уделено вопросам содержания, отбора, группировки животных, что позволило выполнить запланированные научные задачи. Содержание экспериментальных животных осуществляли в стандартных клетках Т-3 (Чехия). Кормление осуществлялось по стандартному лабораторному рациону со свободным доступом к воде, при температуре воздуха в виварии 18–22 °С, относительной влажности воздуха – 50–60 %.

Наиболее приемлемым для распределения животных по УОНРО является подход, основанный на определении болевой (ноцицептивной) чувствительности посредством дозированного электроболевого воздействия [9]. В результате тестирования было установлено, что средний порог вокализации в группе «короткоспящих» животных составил ( $17,4 \pm 1,1$ ) В

и был достоверно ниже, чем в группе «долгоспящих» животных, где этот показатель составил ( $26,2 \pm 0,8$ ) В ( $P \pm 0,05$ ). Таким образом, «короткоспящие» животные, потенциально склонные к приему алкоголя, отличались большей чувствительностью к действию электроболевого стресса (высокий уровень УОНРО).

Результаты теста послужили основанием для отбора 15 крыс с коротким сном, средняя продолжительность анестезии этанолом, у которых было ( $45,6 \pm 3,9$ ) минуты, и 17 крыс с длительным сном продолжительностью ( $184,3 \pm 11,4$ ) минут. «Длительноспящие» животные имеют отрицательную алкогольную мотивацию по сравнению с «коротко спящими» крысами, у которых предрасположенность к алкогольной зависимости высокая [4, 9].

После эутаназии производили вскрытие животного и осмотр внутренних органов на предмет патологических изменений. Вскрывали череп, извлекали головной мозг и быстро проводили забор материала, который помещали в 10%-й раствор нейтрального формалина. После фиксации в формалине в течение 48 часов образцы тканей обезвоживали и заливали в парафин. С парафиновых блоков готовили срезы толщиной 4–6 мкм. Их окрашивали по хорошо разработанным и описанным ранее методикам гематоксилином и эозином, тионином по методу Ниссля [10, 11].

Фотодокументирование производили с использованием цифровой фотокамеры Canon (Japan) и светового микроскопа Axiostar plus (Карл Цейс, Германия) с объективами x10, x40, x100.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При морфологическом исследовании крыс, склонных к формированию алкогольной зависимости, в хвостатом ядре обнаруживается увеличение плотности расположения нейронов в роstralной области и постепенное её снижение в каудальном направлении. Нейроны располагаются внутри нечетко отграниченных областей, окруженных пучками нервных волокон. При окраске по Ниссля обнаруживаются пузырьковидные округлые ядра в центральной части перикариона нейрона, реже встречаются нейроны с ядрами овальной формы. Ядрышко, как правило, выражено, расположено в центральной части ядра, в некоторых случаях эктопировано. Цитоплазма перикарионов большинства нейронов умеренно базофильна.

У крыс, не склонных к формированию алкогольной зависимости, плотность расположения нейронов меньше (см. табл.), в состав группы входит в среднем около десяти нейро-

нов. Перикарионы большинства нейронов имеют полигональную форму и меньшие размеры по сравнению с перикарионами крыс, склонных к формированию алкогольной зависимости. При окраске по методу Ниссля в нейронах хорошо определяется центрально расположенное крупное круглое ядро с базофильной нуклеолеммой и центральным достаточно крупным ядрышком. Цитоплазма перикариона слабо базофильная.

Гранулы базофильной субстанции не визуализируются в большинстве перикарионов.

При морфометрическом исследовании хвостатого ядра обнаружено, что объемная плотность нейропиля у крыс, не склонных к формированию алкогольной зависимости, составляет  $(10,0 \pm 0,9) \%$  (см. табл.), что на 2,6 % ниже по сравнению с животными, склонными к алкоголизации, у которых данный морфометри-

ческий показатель составляет  $(12,6 \pm 0,8) \%$  (при  $P < 0,05$ ).

Средний объем перикарионов нейронов у крыс, не склонных к формированию алкогольной зависимости, составляет  $(654,2 \pm 32,2) \text{ мкм}^3$ , что на 15 % ниже по сравнению с животными, склонными к алкоголизации, у которых данный морфометрический показатель составляет  $(769,3 \pm 41,1) \text{ мкм}^3$  (при  $P < 0,05$ ). Изменение данного параметра сопровождается значимым снижением среднего объема цитоплазмы перикарионов нейронов у крыс, не склонных к формированию алкогольной зависимости, который составляет  $(345,3 \pm 18,9) \text{ мкм}^3$ , что на 16,6 % ниже по сравнению с животными, склонными к алкоголизации, у которых данный морфометрический показатель составляет  $(414,0 \pm 31,7) \text{ мкм}^3$  (при  $P < 0,05$ ).

#### Морфометрические показатели хвостатого ядра крыс с различной конституциональной алкогольной мотивацией, $M \pm m$

Показатели	Экспериментальные группы крыс	
	Не склонные к формированию алкогольной мотивации	Склонные к формированию алкогольной мотивации
Объемная плотность перикарионов нейронов, %	$16,6 \pm 0,9$	$19,8 \pm 1,06^*$
Объемная плотность ядер нейронов, %	$6,6 \pm 0,7$	$7,2 \pm 0,7$
Объемная плотность цитоплазмы перикарионов нейронов, %	$10,0 \pm 0,9$	$12,6 \pm 0,8^*$
Объемная плотность нейропиля, %	$83,4 \pm 1,8$	$80,2 \pm 1,4^*$
Средний объем перикарионов нейронов, $\text{мкм}^3$	$654,2 \pm 32,2$	$769,3 \pm 41,1^*$
Средний объем ядер нейронов, $\text{мкм}^3$	$342,9 \pm 14,6$	$355,3 \pm 19,2$
Средний объем цитоплазмы перикарионов нейронов, $\text{мкм}^3$	$345,3 \pm 18,9$	$414,0 \pm 31,7^*$
Ядерно-цитоплазматическое отношение	$0,99 \pm 0,08$	$0,85 \pm 0,07$
Объемное отношение перикарионов нейронов к нейропилю	$0,20 \pm 0,03$	$0,25 \pm 0,02^*$

\*  $P < 0,05$

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нейрохимическое взаимодействие различных медиаторных систем на уровне отдельно взятого нейрона создает определенное пространственно-временное состояние микроокружения при хроническом алкоголизме. При этом различные типы нейромедиаторов могут оказывать синергичное и антагонистичное воздействие на нейроны гипоталамуса [5]. Считается, что нарушения в дофаминергической передаче тесно связаны с глутаматергической системой. Этот феномен особенно важен, поскольку помимо основной роли возбуждающего нейромедиатора, глутамат может проявлять нейротоксические свойства [4]. При хронической алкогольной интоксикации отмечено снижение экспрессии метаболических глутаматных рецепторов в головном мозге крыс [12]. При гиперактивации глутаматергической передачи происхо-

дит интенсивное поступление ионов кальция в клетку индуцирующего процессы образования активных форм кислорода, а также активацию протеинкиназ. Следствием этих процессов может стать глутаматиндуцированное повреждение и гибель нейронов, которая ингибируется дофамином, оказывающим защитное действие [7].

В головном мозге крыс, предрасположенных к алкогольной зависимости, определяются морфофункциональные отличия в неостриатуме, которые выражаются в различиях структурной организации на тканевом и клеточном уровнях, в том числе достоверно большей объемной плотностью перикарионов нейронов, их ядер, среднего объема перикарионов нейронов, на фоне пониженной объемной плотности нейропиля хвостатого ядра, по сравнению с аналогичными морфометрическими параметрами, исследованными у животных, не склонных к алкоголизации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Azevedo, C. A.* Neuromodulation Therapies for Alcohol Addiction: A Literature Review / C. A. Azevedo, A. Mammis // *Neuromodulation*. – 2018. – Vol. 21 (2). – P. 144–148.
2. Genotypic differences in ethanol sensitivity in two tests of motor incoordination / J. C. Crabbe [et al.] // *J. Appl. Physiol.* – 2003. – Vol. 4. – P. 1338–1351.
3. *Lovinger, D. M.* Alcohol and basal ganglia circuitry: Animal models / D. M. Lovinger, V. A. Alvarez // *Neuropharmacology*. – 2017. – Vol. 122. – P. 46–55.
4. Морфофункциональные изменения дорсального и вентрального отделов гиппокампа крыс при моделировании комбинированного стресса с учетом экспрессии Caspase-3 И GFAP / А. В. Смирнов [и др.] // *Вестник ВолгГМУ*. – 2018. – № 1 (65). – С. 82–86.
5. Vasopressin and alcohol: a multifaceted relationship / K. M. Harper [et al.] // *Psychopharmacology (Berl)*. – 2018. – Vol. 235 (12). – P. 3363–3379.
6. *Engel, J. A.* Alcohol: mechanisms along the mesolimbic dopamine system / J. A. Engel, E. Jerlhag // *Prog Brain Res*. – 2014. – Vol. 211. – P. 201–233.
7. *Kodirov, S. A.* Addictive neurons / S. A. Kodirov // *The Targets Neurol Dis*. – 2017. – Vol. 4. – P. 1498.
8. *Rivier, C.* Role of hypothalamic corticotropin-releasing factor in mediating alcohol-induced activation of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis / C. Rivier // *Front Neuroendocrinol*. – 2014. – Vol. 35 (2). – P. 221–233.
9. Мулик, А. Б. Оптимизация медико-биологического эксперимента in vivo / А. Б. Мулик. – Волгоград, 2003. – С. 212 с.
10. Особенности структурных изменений головного мозга при моделировании алиментарного дефицита магния [Электронный ресурс] / А. В. Смирнов [и др.] // *Современные проблемы науки и образования*. – 2013. – № 4. – Режим доступа : URL: [www.science-education.ru/110-9713](http://www.science-education.ru/110-9713)
11. *Ermilov, V. V.* The role of  $\beta$ -amyloidopathy in the pathogenesis of age-related macular degeneration in correlation with Alzheimer's disease / V. V. Ermilov // *Neurodegenerative diseases*. – 2017. – Vol. 17, S1. – P. 606.
12. *Muram, S.* Presynaptic G Protein-Coupled Receptors Differentially Modulate Spontaneous Glutamate Release in the Supraoptic Nucleus / S. Muram, T. M. Rowe, M. Hirasawa. – 2016. – Vol. 28 (4).