

Григорян Мигран Самвелович

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГИППОКАМПА ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ
МИРИЦЕТИНА В МОДЕЛИ PTZ-ИНДУЦИРОВАННЫХ СУДОРОГ**

1.5.24. Нейробиология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в НОРЦ «Инновационные технологии иммунофенотипирования, цифрового пространственного профилирования и ультраструктурного анализа» федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

Научный руководитель:

Демяшкин Григорий Александрович, доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Бурд Сергей Георгиевич, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики Института нейронаук и нейротехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Гуляев Сергей Александрович, доктор медицинских наук, начальник отдела симуляционных технологий Инженерно-физического института биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»

Ведущая организация:

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__» _____ 2026 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета ПДС 2105.001 при Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. __ С диссертацией можно ознакомиться в Учебно-научном информационном библиотечном центре и на сайте ФГАОУ ВО «РУДН имени Патриса Лумумбы» (г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6; URL: <https://www.rudn.ru/science/dissovet>).

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета ПДС 2105.001
кандидат медицинских наук

Людуп Алексей Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Эпилепсия – это одно из наиболее распространённых хронических заболеваний нервной системы, которое поражает более 50 миллионов человек во всем мире и характеризуется повторяющимися эпилептическими припадками, вызванными патологической, синхронной и гиперсинхронной активностью нейронов головного мозга (А.Б. Салмина и др., 2023; О.В. Семячкина-Глушкова и др., 2023; Д.В. Блинов и др., 2022).

Сложность патогенеза эпилепсии и ограниченная эффективность существующей фармакотерапии обуславливают необходимость поиска новых терапевтических мишеней и подходов к лечению заболевания. Одним из перспективных направлений является использование природных соединений с антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, которые могут снижать нейрональную гибель, оксидативный стресс и воспаление в тканях мозга. В этом контексте, мирицетин (3,3',4',5, 5',7-гекса-гидроксифлавонон) – природный флавоноид, обладающий широким спектром нейробиологической активности, включая нейропротективные, антиоксидантные и противовоспалительные эффекты, рассматривается как перспективный кандидат в качестве потенциального противоэпилептического средства (Bruxel, E.M. et al., 2022; Imran M. et al., 2021). Дальнейшее изучение нейропротективных свойств мирицетина, в частности его воздействия на гиппокамп, может открыть новые терапевтические возможности для профилактики и лечения различных форм эпилепсии, а также способствовать созданию более эффективных подходов к профилактике нейрональной дисфункции.

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на широкую распространенность эпилепсии и многочисленные исследования патогенеза заболевания, ключевые молекулярные и клеточные механизмы, лежащие в основе эпилептогенеза и нейродегенеративных процессов, остаются недостаточно изученными. Современные работы в основном сосредоточены на экспериментальных моделях хронической эпилепсии, таких как киндлинг-эффект (Mátyás A. et al., 2022; П.П. Трегуб и др., 2019), тогда как данные об изменениях в острой фазе эпилептического приступа, особенно касающиеся гиппокампа и других лимбических структур, ограничены. В частности, остаются неясными молекулярно-биологические и нейрохимические механизмы апоптоза и воспаления в ответ на судорожную активность, что затрудняет разработку новых терапевтических подходов для предотвращения прогрессирующего нейродегенеративного процесса.

В рамках поиска новых стратегий лечения антиоксидантные и противовоспалительные соединения, такие как мирицетин, представляют собой перспективные терапевтические средства. Тем не менее, их влияние на ключевые звенья патогенеза – такие как каспаз-зависимый путь

апоптоза, модуляция провоспалительных цитокинов и активация антиоксидантных ферментов в острой фазе эпилептических судорог – остается малоизученными. Дальнейшие исследования необходимы для углубленного понимания специфических молекулярных и морфофункциональных изменений. Эти данные могут стать фундаментальной основой для разработки новых терапевтических стратегий, направленных на замедление прогрессирующего нейронального повреждения и предотвращение развития резистентных форм эпилепсии.

Цель и задачи исследования

Цель исследования – выявление морфофункциональных изменений в гиппокампе при введении мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог.

Задачи исследования:

1. Оценить влияние мирицетина на поведенческий фенотип мышей линии СВА в модели PTZ-индуцированных судорог.

2. Оценить значения ключевых маркеров функционирования системы перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (MDA) и антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы (SOD) и глутатиона (GSH) в гомогенате головного мозга мышей линии СВА после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог.

3. Проанализировать концентрацию провоспалительных (IL-1 β , IL-6, TNF- α) цитокинов в сыворотке крови мышей линии СВА после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог.

4. Оценить уровень экспрессии маркера нейрональной дегенерации – NeuN в гиппокампе мышей линии СВА после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог.

5. Определить уровень экспрессии маркера внешнего пути апоптоза – каспазы-8 в нейронах гиппокампа мышей линии СВА после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог.

Научная новизна

Новизна диссертационного исследования заключается в получении данных о структурно-функциональных изменениях в гиппокампе и других лимбических структурах головного мозга, возникающих при острых PTZ-индуцированных судорогах. Впервые проведена оценка нейрональной дифференцировки и зрелости нейронов с использованием маркера NeuN, что позволило оценить характер структурных изменений в различных регионах гиппокампа при острых припадках. Установлено, что PTZ-индуцированные судороги характеризуются повышением концентрации маркера дисфункции системы перекисного окисления липидов – малонового диальдегида и снижением концентрации ферментов эндогенной антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы и глутатиона в гомогенате головного мозга. Проведена оценка воспалительного ответа микроглии в гиппокампе с анализом уровней провоспалительных

цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α), что позволило выявить роль нейровоспаления в патогенезе острого PTZ-индуцированного приступа, что значительно расширяет представления о молекулярных и клеточных механизмах воспалительной активности в ответ на судорожные приступы.

Особую научную значимость представляют новые данные о молекулярных механизмах апоптоза в патогенезе PTZ-индуцированных судорог с подробным изучением активации каспаз-зависимого пути (активация каспазы-8), что позволило определить важный молекулярный маркер гибели нейронов гиппокампа в модели острого приступа. Выявлена корреляция между каспаза-8-позитивными нейронами, NeuN-позитивными нейронами и судорожной активностью в гиппокампе после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог. Уровень NeuN-позитивных нейронов в гиппокампе был обратно пропорционален уровню каспаза-8-позитивных клеток и коррелировал с интенсивностью поведенческих реакций.

Впервые показано, что введение мирицетина в условия PTZ-индуцированного приступа способствует снижению уровня маркеров активности оксидативного стресса, снижению интенсивности дегенеративных изменений и апоптоза нейронов гиппокампа, что не исключает его нейропротекторную эффективность.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость данного диссертационного исследования заключается в получении новых сведений о молекулярных и морфофункциональных изменениях в гиппокампе при остром PTZ-индуцированном приступе, что позволяет расширить современные представления о патогенетических механизмах эпилептогенеза. Острые PTZ-индуцированные приступы, приводят к значительным структурно-функциональным изменениям в гиппокампе, включая нейрональную гибель, активацию каспаз-зависимого пути апоптоза (каспазы-8) и выраженную воспалительную реакцию. Эти изменения сопровождаются нарушением межнейронных связей и морфологических изменений в нейрональной сети гиппокампа. Установленная нейропротективная эффективность мирицетина в условиях PTZ-индуцированного приступа расширяет представления о значении новых терапевтических мишеней, что делает эту работу значимым вкладом в развитие науки и медицины, а также в формирование стратегий персонализированного подхода к лечению эпилепсии.

Практическая значимость работы состоит в том, что результаты исследования позволяют определить перспективные молекулярные мишени для фармакологического воздействия и оптимальные условия применения нейропротективных агентов, таких как мирицетин, в комплексной терапии острых эпилептических состояний. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых подходов к защите нейронов и купированию нейродегенеративных изменений, что открывает возможности для создания клинических

рекомендаций по профилактике и лечению острых эпилептических приступов.

Таким образом, результаты настоящего исследования могут служить основой для разработки новых подходов к лечению и профилактике эпилептических поражений головного мозга. Полученные данные открывают перспективы для применения нейропротективных средств в комплексной терапии острых эпилептических состояний и могут быть использованы при создании клинических рекомендаций для неврологов, нейрофармакологов и исследователей в области эпилептологии.

На основании результатов проведенного диссертационного исследования решена **актуальная научная задача** – в условии острого PTZ-индуцированного приступа выявлена корреляция интенсивности поведенческих реакций с морфологическими изменениями нейронов гиппокампа; введение мирицетина обеспечивает поддержание локального гомеостаза – баланс маркеров редокс-системы, снижает степень нейровоспаления и нейродегенерации в гиппокампе.

Методология и методы исследования

Методологическая основа исследования базировалась на совокупности теоретических и экспериментальных подходов, обеспечивающих достоверность, объективность и воспроизводимость полученных данных. На этапе планирования был проведен детальный анализ специальной научной литературы, что позволило обосновать выбор методов и подходов, используемых в настоящем исследовании, и обеспечило высокое качество и точность результатов.

Экспериментальное исследование было проведено на половозрелых самцах мышей линии СВА (n=340) с применением комплекса методов: морфологического, иммуногистохимического, гистологического, а также функциональных и поведенческих тестов. Дополнительно использовались методы оценки нейрональной активности и уровня апоптоза в тканях головного мозга. Результаты исследования подвергались дальнейшей количественной и статистической обработке для выявления достоверных изменений между экспериментальными группами.

Положения, выносимые на защиту

1. Превентивное введение мирицетина в модели острого PTZ-индуцированного приступа снижает у мышей линии СВА выраженность нарушений сенсомоторных функций, двигательной координации, общей двигательной активности и когнитивных способностей, что позволяет рассматривать его как потенциально эффективное нейропротекторное средство при острых эпилептических припадках.

2. Мирицетин, введенный перед PTZ-индукцией острого приступа, нормализует в тканях головного мозга мышей линии СВА концентрации маркеров системы перекисного окисления

липидов и антиоксидантной защиты (MDA, SOD и GSH), а также снижает значения провоспалительных (IL-1 β , IL-6, TNF- α) цитокинов в сыворотке крови.

3. Мирицетин, введенный перед PTZ-индукцией острого приступа, снижает степень нейродегенеративных изменений и апоптоз нейронов гиппокампа у мышей линии CBA, которые коррелируют с интенсивностью поведенческих реакций.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень обоснованности результатов обеспечена достаточным объемом репрезентативного материала. В работе применены современные методы статистического анализа. Выполнено сопоставление собственных данных с результатами, полученными другими исследователями изучаемой проблемы. На основании разработанных критериев включения и исключения сформированы группы из животных – самцы мышей линии CBA (вес 30 – 35 г; возраст 12 недель; n=340), что соответствует применяемым методикам согласно современным стандартам экспериментальных (доклинических) исследований в области нейробиологии. Корректная статистическая обработка данных, использование валидированных иммуногистохимических, морфологических и поведенческих тестов, а также контрольные и экспериментальные группы позволили обеспечить высокую степень воспроизводимости и объективности полученных результатов.

Фактический материал, проанализированный в диссертации, полностью соответствует первичной документации.

Личный вклад автора

Все этапы проведенного научного исследования: постановка цели и задач, выбор методов, получение, анализ и статистическая обработка результатов, формулирование основных положений и выводов, теоретической и практической значимости, а также новизны полученных результатов, выполнены автором самостоятельно. Автором лично проведен подбор и анализ научной литературы в русле выбранной темы, разработан дизайн исследования, скомплектованы базы данных и цифровой архив изображений, к анализу привлечен комплекс современных методов нейробиологии для анализа влияния мирицетина на поведенческий фенотип мышей линии CBA в модели PTZ-индуцированных судорог. В ходе реализации научной работы диссертант лично проводил комплекс поведенческих тестов, гистологическое, гистохимическое (окрашивание по Нисслю), иммуногистохимическое (на маркеры NeuN, каспазу-8) исследования, проводил статистический анализ полученных результатов. Диссертантом в соавторстве подготовлены к печати публикации по теме диссертационной работы.

Внедрение результатов диссертации в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в практическую деятельность неврологического отделения ГБУЗ «Ейская ЦРБ» Минздрава Краснодарского края, а также в учебный процесс НОРЦ «Молекулярная морфология» ФГАОУ ВО РУДН им. П. Лумумбы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация на тему «Морфофункциональные особенности гиппокампа после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук соответствует шифру специальности 1.5.24. Нейробиология. Области исследования диссертационной работы соответствуют пунктам 9, 10, 11 паспорта научной специальности 1.5.24. Нейробиология.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 6 работ, в том числе 1 научная статья в издании из базы данных RSCI, 2 статьи в журналах, включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 1 статья в издании, индексируемом в международной базе цитирования (Scopus), 2 публикация в сборнике материалов научной конференции.

Структура и объем диссертации

Диссертация написана на 129 страницах машинописного текста, построена по традиционному плану – состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Таблиц – 2, рисунков – 50. Характеристика списка литературы: всего – 152 источников, отечественных – 25, зарубежных – 127.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Дизайн эксперимента

В экспериментальном исследовании использовали животных – самцов мышей линии СВА (вес 30–35 г; возраст 12 недель; n=340), которые были поделены на шесть групп: I группа – контрольная (n=20), которым вводили физиологический 0,9% раствор NaCl; II группа (n=110) – опытная (n=110), которым однократно вводили пентилентетразол в дозе 45 мг/кг для индукции судорог без предварительной терапии; III группа – опытная (n=90), которым вводили мирицетин, доза – 200 мг/кг, перорально (через зонд), в течение 5 дней, после чего вводили PTZ в дозе 45 мг/кг для индукции судорог; IV группа – опытная (n=80), которым вводили препарат сравнения – вальпроевую кислоту, доза – 100 мг/кг, интраперитонеально, в течение 5 дней, после чего вводили PTZ в дозе 45 мг/кг для индукции судорог; V группа – опытная (n=20), которым вводили мирицетин в дозе 200 мг/кг перорально (через зонд) в течение 5 дней, после чего вводили

физиологический 0,9% раствор NaCl; VI группа – опытная (n=20), которым вводили вальпроевую кислоту в дозе 100 мг/кг интраперитонеально в течение 5 дней, после чего вводили физиологический 0,9% раствор NaCl. Анализ поведенческих реакций и изучение фрагментов головного мозга (гиппокампа) в нескольких временных точках: через 3 часа, 1 сутки, 3 суток, 5 суток после интраперитонеального введения пентилтетразола.

Методы исследования

Методы: 1) Нейробиологические: после введения PTZ проводилась оценка степени судорожной активности у подопытных животных с использованием модифицированной шкалы Расина, специально адаптированной для количественного анализа эпилептической активности у мышей: поведенческие реакции для оценки сенсомоторных, двигательных, когнитивных функций (Рисунок 1); 2) Анализ маркеров системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты – малонового диальдегида (MDA) и антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы (SOD) и глутатиона (GSH) в гомогенате головного мозга; 3) Определение уровней провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α в сыворотке крови; 4) Морфологические: а) гистохимический (окраска по Нисслю), б) иммуногистохимический (антитела к NeuN и антитела к Caspase 8); 5) статистические.

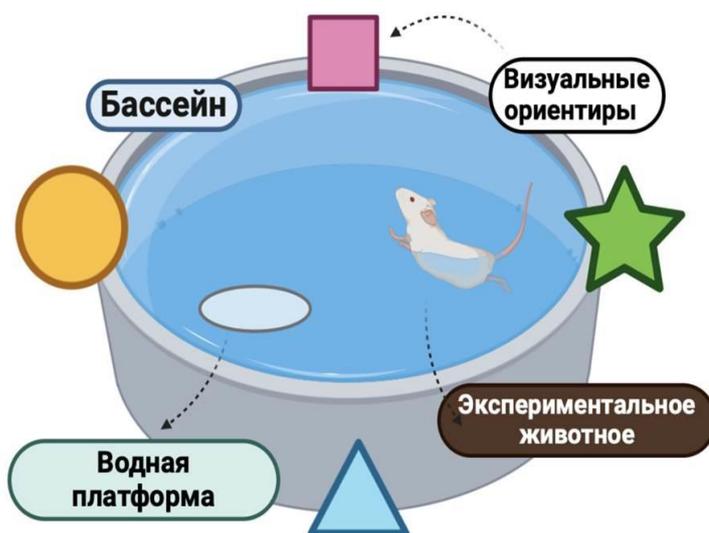


Рисунок 1. – Схематическое изображение водного лабиринта Морриса с визуальными подсказками на стенах

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Поведенческие тесты

Перед инициацией исследования во всех группах животных проводилась оценка исходного поведенческого статуса для выявления признаков судорожной активности. В ходе пятидневного периода приема мирицетина и вальпроевой кислоты у подопытных животных не отмечалось

признаков судорожной активности, что соответствовало – 1 баллу по модифицированной шкале Расина и свидетельствовало о стабильном исходном состоянии.

Оценка судорожной активности. В группе «Мирицетин + PTZ» судорожная активность была значительно снижена по сравнению со значениями у животных II-ой группы (Рисунок 2). Частота миоклонических, клонических и тонических судорог по временным точкам составила – 85%, 70% и 50% соответственно, а смертность снизилась до 25%. Это свидетельствует о выраженном протекторном эффекте мирицетина против судорожных приступов, вызванных введением PTZ.

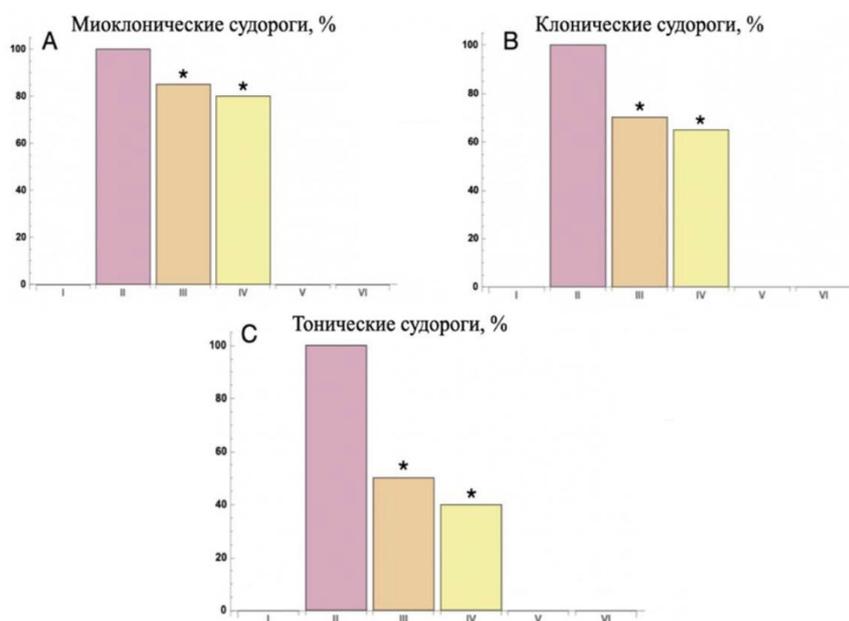


Рисунок 2. – Процентное соотношение животных с миоклоническими, клоническими и тоническими судорогами, индуцированными PTZ, в различных группах: А – процент миоклонических судорог; В – процент клонических судорог; С – процент тонических судорог. Примечание: * – сравнение с группой II (только PTZ) ($p < 0,05$). Группы: I – контрольная; II – только PTZ; III – Мирицетин + PTZ; IV – Вальпроевая кислота + PTZ; V – Мирицетин + NaCl; VI – Вальпроевая кислота + NaCl

Латентный период до начала судорог. Латентный период до начала судорог был значительно увеличен в III-ей и IV-ой группах по сравнению с группой, получавшей только PTZ. В II-ой группе миоклонические судороги начинались через $1,02 \pm 0,1$ мин, клонические судороги – через $2,10 \pm 0,18$ мин, а тонические судороги – через $23,4 \pm 1,90$ мин. В III-ей группе наблюдалось значительное увеличение латентного периода: миоклонические судороги развивались через $1,45 \pm 0,10$ мин, клонические – через $2,85 \pm 0,22$ мин, а тонические – через $25,7 \pm 1,80$ мин.

Тяжесть судорожных приступов. У животных II-ой группы средний балл для оценки тяжести судорог составил $5,6 \pm 0,3$, что указывает на частое возникновение тонико-клонических

судорог и хаотичных прыжков. В отличие от них, в III-ей и IV-ой группах данный показатель составил $3,4 \pm 0,2$ и $3,1 \pm 0,2$ соответственно, что свидетельствует о значительном снижении тяжести судорожных приступов ($p < 0,05$ по сравнению с II-ой группой) (Рисунок 3).



Рисунок 3. – Оценка тяжести судорожной активности в баллах (согласно модифицированной шкале Расина). Примечание: * – сравнение с группой II (только PTZ) ($p < 0,05$). Группы: II – только PTZ; III – Мирицетин + PTZ; IV – Вальпроевая кислота + PTZ

Удаление инородного предмета. Тест на удаление инородного предмета проводился для оценки влияния мирицетина и вальпроевой кислоты на судорожную активность, вызванную PTZ, показатели фиксировали в секундах (Рисунок 4). В исходных условиях в I-ой, V-ой и VI-ой группах определяются стабильные результаты (значения на уровне нормы), демонстрируя среднее время обнаружения и удаления инородного объекта в диапазоне $25,29 \pm 8,19$ с. В II-ой группе время распознавания и удаления предмета существенно увеличилось до $151,75 \pm 5,76$ с через три часа после введения PTZ ($p < 0,05$). На 1-й день показатель уменьшился до $135,62 \pm 5,45$ с, на 3-й день – до $102,45 \pm 5,23$ с, а на 5-й день – до $70,78 \pm 4,90$ с. В III-ей группе наблюдалось менее выраженное ухудшение когнитивных функций: через три часа после введения PTZ время составило $130,34 \pm 6,12$ с ($p < 0,05$ по сравнению с группой II), на 1-й день – $105,67 \pm 6,45$ с, на 3-й день – $58,45 \pm 5,67$ с, а на 5-й день – $40,23 \pm 5,12$ с. В IV-ой группе улучшение также было значительным: время составило $109,45 \pm 5,98$ с через три часа ($p < 0,05$ по сравнению с группой II), $89 \pm 6,12$ с на 1-й день, $45,67 \pm 5,45$ с на 3-й день и $38,90 \pm 4,78$ с на 5-й день. В исходном состоянии двигательная активность всех исследуемых групп оставалась на уровне нормы (общая дистанция, пройденная за 3 минуты, составляла около 5,56 м) (Рисунок 5). Через 3 часа после введения PTZ в II-ой группе наблюдалось значительное снижение двигательной активности до 3,20 м. В течение следующих дней активность постепенно восстанавливалась: на 1-е сутки – до 4,10 м, на 3-е сутки – до 4,90 м и на 5-е сутки – до 5,10 м. В III-ей группе наблюдалось более быстрое восстановление двигательной активности: 3,85 м через 3 часа, 4,75 м на 1-е сутки, 5,40 м на 3-е сутки и 5,65 м на 5-е сутки. В IV-ой группе также отмечалась значительная динамика улучшения: 3,90 м через 3 часа, 4,85 м на 1-е сутки, 5,50 м на 3-е сутки и 5,70 м на 5-е сутки.

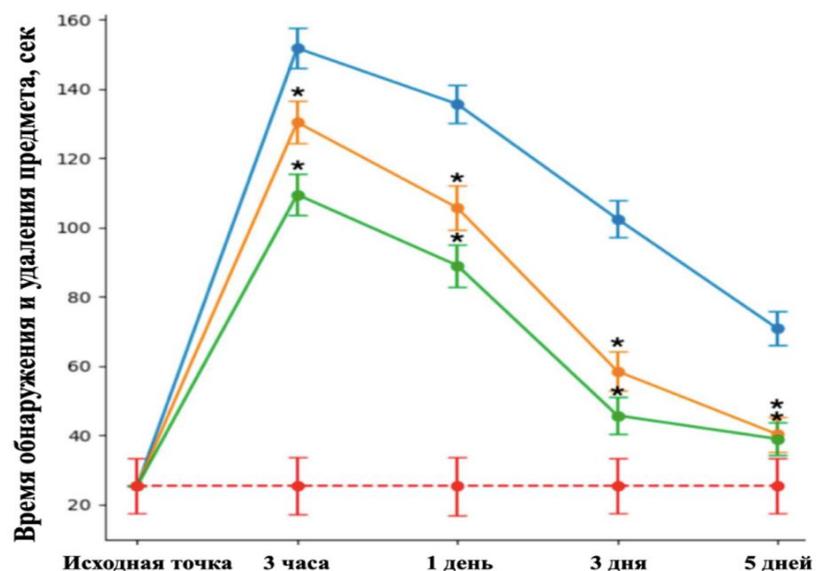


Рисунок 4. – Время обнаружения и удаления инородного предмета в различных экспериментальных группах. Данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$). Примечание: * – по сравнению с группой II (только PTZ) ($p < 0,05$). Группы: II – только PTZ; III – Мирицетин + PTZ; IV – Вальпроевая кислота + PTZ; V – Мирицетин + NaCl; VI – Вальпроевая кислота + NaCl

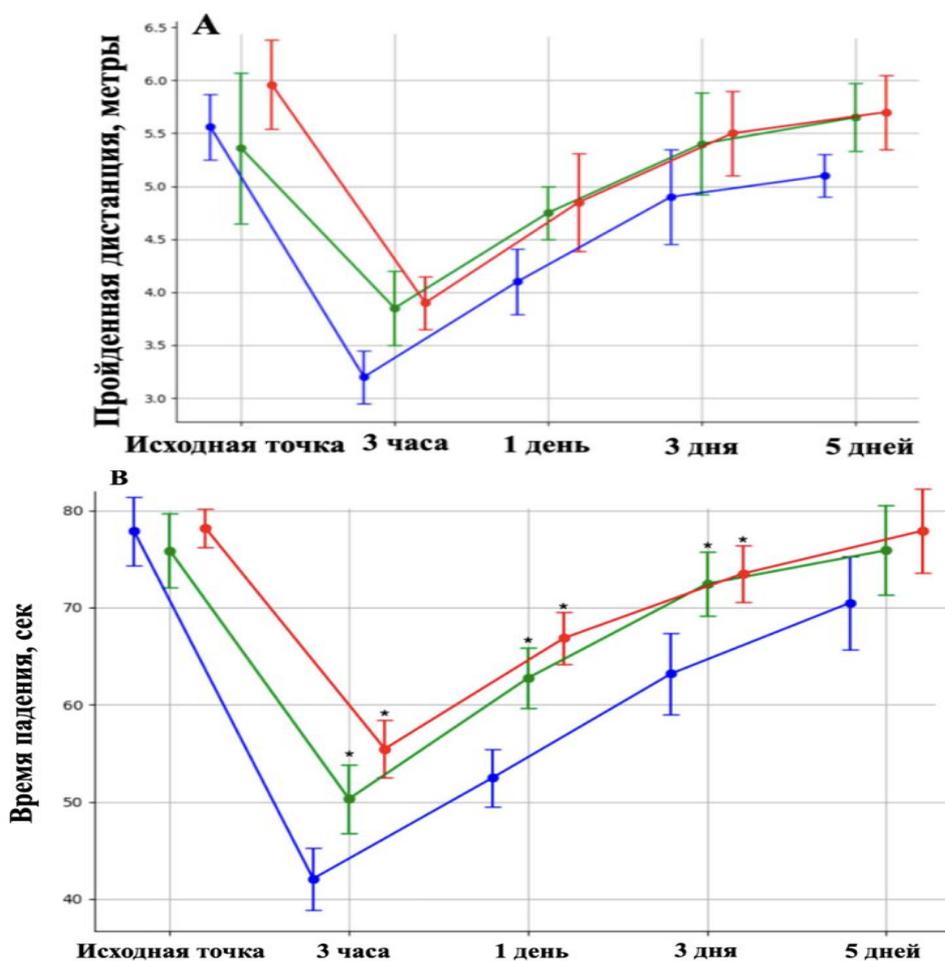


Рисунок 5. – А – тестирование на двигательную активность для различных групп; В – тестирование на координацию движений для различных групп. Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$). Примечание: * – сравнение с группой II ($p < 0,05$). Группы: II – только PTZ; III – Мирицетин + PTZ; IV – Вальпроевая кислота + PTZ

Таким образом, введение мирицетина и вальпроевой кислоты способствовало более быстрому восстановлению двигательной активности после воздействия PTZ, что подтверждается улучшенными значениями пройденного расстояния по сравнению с группой введения только PTZ. Для оценки координации движений использовался тест на вращающейся платформе (Рисунок 2). В исходных условиях (до начала исследования) животные всех групп демонстрировали сопоставимые показатели, со средним временем падения около 77,87 с. Через 3 часа после введения PTZ в II-ой группе координация движений значительно ухудшилась, со средним временем падения, равным 42,08 с. В течение эксперимента у животных этой группы наблюдалось постепенное улучшение координации: на 1-е сутки время увеличилось до 52,45 с, на 3-е сутки – до 63,20 с, и на 5-е сутки – до 70,50 с. Пространственная память и когнитивные функции: тренировка всех животных проводилась до начала эксперимента без деления на подгруппы. В последний день обучения время выполнения задания фиксировалось и использовалось в качестве исходного значения (контроль). Через 3 часа после введения PTZ время пребывания в целевом секторе у животных II-ой группы было значительно меньше по сравнению с контрольной группой (контрольное значение). Существенные различия наблюдались также на 1-й и 3-й день после введения PTZ в III-ей и IV-ой группах по сравнению со II-ой группой. На остальных временных промежутках статистически значимых различий не было зафиксировано.

Оценка маркеров системы перекисного окисления липидов антиоксидантной защиты

Уровень MDA был значительно повышен в II-ой группе по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Это повышение уровней MDA свидетельствует о возросшем окислительном стрессе вследствие судорог, вызванных PTZ. Введение мирицетина (200 мг/кг) и вальпроевой кислоты (100 мг/кг) привело к заметному снижению уровней MDA. Концентрация SOD была ниже у животных II-ой группы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) через 3 часа после введения PTZ. Это снижение активности SOD свидетельствует о инициации оксидативного стресса. Введение мирицетина и вальпроевой кислоты способствовало частичному восстановлению активности SOD. В частности, мирицетин значительно ослабил снижение уровня SOD по сравнению с группой, получавшей только PTZ ($p < 0,01$), тогда как вальпроевая кислота продемонстрировала еще более выраженный эффект ($p < 0,001$). Уровни глутатиона значительно снизились у животных во II-ой группе по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) через 3 часа после введения PTZ, что подчеркивает повышенный уровень оксидативного стресса, вызванного PTZ. Однако введение мирицетина и вальпроевой кислоты способствовало снижению этого негативного эффекта. В III-ей группе было отмечено значительное смягчение снижения уровня GSH по сравнению с группой только PTZ ($p < 0,01$), а в IV-ой группе наблюдался еще более выраженный эффект ($p < 0,001$). На 1 день после введения PTZ уровни

GSH в группах, получавших мирицетин и вальпроевую кислоту, продолжали демонстрировать значительное улучшение по сравнению с II-ой группой. В III-ей группе уровни GSH оставались значительно выше ($p < 0,01$), а в IV-ой группе наблюдалось значительное увеличение уровня GSH ($p < 0,001$). К 3 дню после введения PTZ уровни GSH в группах с мирицетином и вальпроевой кислотой были сопоставимы с контрольной группой, что свидетельствует о возвращении к исходным показателям антиоксидантной активности ($p > 0,05$ для обеих групп).

Оценка уровней провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α в сыворотке крови

Уровни цитокинов на всех временных точках: исходная, до введения PTZ и через 3 часа, 1 день, 3 дня и 5 дней после индукции судорог (Рисунок 6).

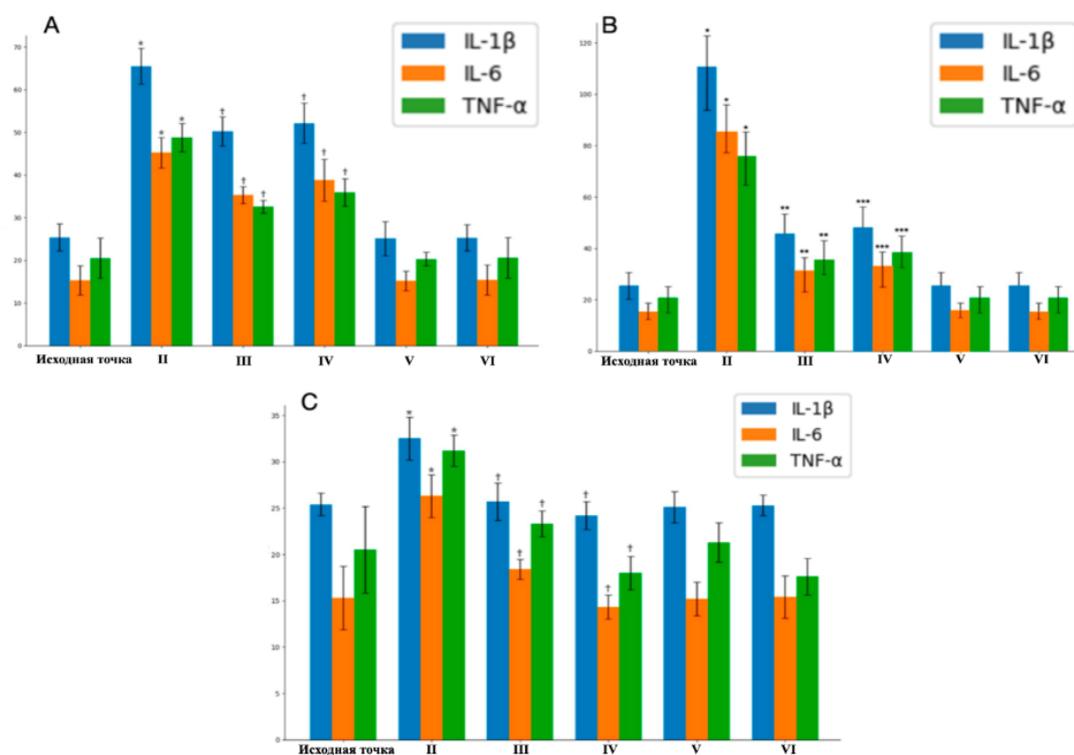


Рисунок 6. – Уровни цитокинов (пг/мл) в сыворотке крови после судорог, индуцированных PTZ, в различных группах: (А) – через 3 часа; (В) – через 24 часа; (С) – через 3 дня. Данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$). Примечание: * ($p < 0,05$); различия между III-ей и II-ой группами обозначены – ** ($p < 0,01$), и † ($p < 0,05$); статистически значимые различия между IV-ой и II-ой группами обозначены – *** ($p < 0,001$), и † ($p < 0,05$). Группы: I – контрольная; II – только PTZ; III – Мирицетин + PTZ; IV – Вальпроевая кислота + PTZ; V – Мирицетин + NaCl; VI – Вальпроевая кислота + NaCl

Так, через 3 часа после PTZ-индуцированных судорог уровни IL-1 β , IL-6 и TNF- α в сыворотке значительно повысились в II-ой группе, по сравнению с контролем, хотя это повышение было менее выраженным по сравнению с 24-часовой отметкой. Уровень IL-1 β увеличился до $65,5 \pm 8,2$ пг/мл с базового уровня $25,4 \pm 5,2$ пг/мл ($p < 0,05$), уровень IL-6 увеличился до $45,2 \pm 7,6$ пг/мл с $15,3 \pm 3,4$ пг/мл ($p < 0,05$), а уровень TNF- α повысился до $48,8 \pm 7,3$ пг/мл с $20,5 \pm 4,7$ пг/мл ($p < 0,05$). В III-ей группе наблюдалось умеренное снижение уровней цитокинов по

сравнению со II-ой группой. Уровни IL-1 β составили 50,2 \pm 6,4 пг/мл ($p < 0,05$ по сравнению со II-ой группой), уровни IL-6 – 35,3 \pm 6,0 пг/мл ($p < 0,05$), а уровни TNF- α – 32,6 \pm 5,5 пг/мл ($p < 0,05$). Аналогично в IV-ой группе также наблюдалось снижение уровней цитокинов. Уровни IL-1 β составили 52,1 \pm 6,7 пг/мл ($p < 0,05$ по сравнению со II-ой группой), уровни IL-6 – 38,8 \pm 5,9 пг/мл ($p < 0,05$), а уровни TNF- α – 35,9 \pm 6,2 пг/мл ($p < 0,05$). Для контрольных групп, получавших мирицетин или вальпроевую кислоту без PTZ-индукции, уровни IL-1 β , IL-6 и TNF- α не отличались от контрольных значений. В то же время, через 24 часа уровни IL-1 β , IL-6 и TNF- α в группе, получавшей только PTZ, были значительно повышены по сравнению с контролем и аналогичными результатами (той же группы) через 3 часа после индукции PTZ. Уровень IL-1 β достиг 110,5 \pm 12,3 пг/мл, уровень IL-6 увеличился до 85,2 \pm 10,8 пг/мл, а уровень TNF- α поднялся до 75,8 \pm 9,6 пг/мл. В группе мирицетин + PTZ повышение уровней цитокинов было ниже по сравнению со II-ой группой. Уровень IL-1 β составил 45,7 \pm 7,8 пг/мл ($p < 0,01$ по сравнению со II-ой группой), уровень IL-6 – 30,4 \pm 6,1 пг/мл ($p < 0,01$), а уровень TNF- α – 35,6 \pm 7,4 пг/мл ($p < 0,01$). Аналогично, в группе Вальпроевая кислота + PTZ также наблюдалось значительное снижение уровней цитокинов. Уровень IL-1 β – 48,2 \pm 8,0 пг/мл ($p < 0,01$ по сравнению со II-ой группой), уровень IL-6 – 32,8 \pm 5,9 пг/мл ($p < 0,01$), а уровень TNF- α – 38,1 \pm 6,8 пг/мл ($p < 0,01$). Для контрольных групп, получавших мирицетин и вальпроевую кислоту без индукции PTZ, уровни IL-1 β , IL-6 и TNF- α не отличались от контрольных значений.

Морфологическое исследование

В микропрепаратах головного мозга, и гиппокампа в частности, крашенных гематоксилином и эозином животных контрольной группы наблюдали типичную гистологическую картину: нейроны округлой или овальной формы с голубой цитоплазмой и светло-голубым ядром, четкие границы. В гиппокампе животных 2-ой группы обнаружили нейрональные изменения в организации зубчатой извилины гиппокампа, нарушение гистоархитектоники пирамидных и гранулярных клеток: некоторые нейроны были сморщены, «тёмные», без различимой границы между ядром и цитоплазмой. В образцах гиппокампа животных которым вводили мирицетин (доза – 200 мг/кг, перорально, в течение 5 дней) и индуцировали острые припадки последующем введением PTZ (доза – 45 мг/кг), а также в группе, которым вводили вальпроевую кислоты и индуцировали припадки введением PTZ (доза – 45 мг/кг) наблюдали незначительные изменения гистоархитектоники вещества головного мозга и зон гиппокампа и его нейронного состава, степень дистрофических изменений нейронов был менее выражен. В микропрепаратах головного мозга животных V-ой группы (мирицетин в дозе 200 мг/кг) и VI-ой группа (вальпроевая кислота в дозе 100 мг/кг) морфологическая картина тождественна контрольной группе. Исследование срезов гиппокампа, окрашенных по Нисслю через 3 часа после введения PTZ, не выявило изменений в структуре тканей. Однако через 24 часа

после введения PTZ наблюдалось увеличение количества «темных» нейронов с признаками пикноза и гиперхромного окрашивания, что указывало на необратимое повреждение клеток. На 3-й и 5-й день после введения PTZ отмечалась тенденция к снижению числа патологически измененных нейронов. Клетки с характерным профилем повреждения положительно окрашивались на каспазу-8. Границы клеток некоторых нейронов гиппокампа в областях СА3, зубчатой извилины и хилуса были менее четкими, но пикнотические ядра не были видны. Также отмечалось увеличение числа «темных» нейронов в таламусе и гипоталамусе, а также в моторных структурах, таких как хвостатое ядро и черная субстанция (Рисунки 7 и 10).

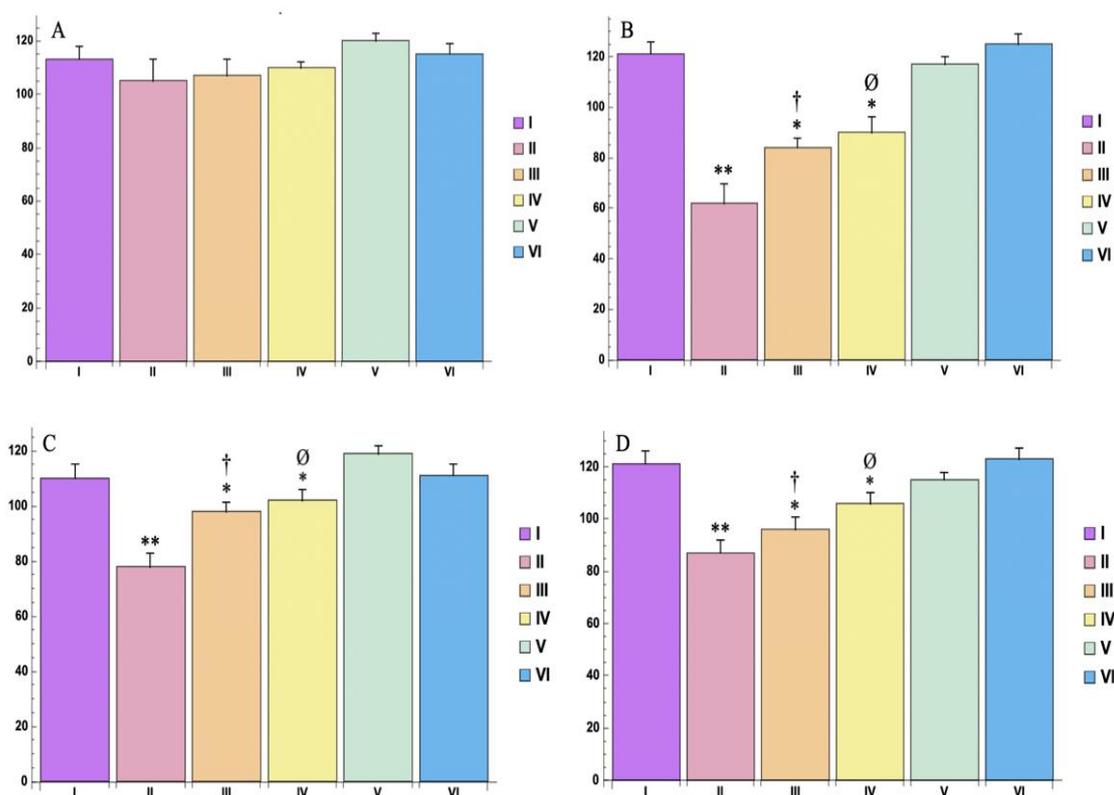


Рисунок 7. – Количество нейронов, позитивных по Нисслию, в зубчатой извилине (зона гиппокампа) на разных временных точках, на мм²: А – через 3 часа, В – через 1 день, С – через 3 дня, D – через 5 дней. Данные представлены как среднее значение ± стандартное отклонение (M ± SD). Примечание: * (p < 0,05); статистически значимые различия между III-ей и II-ой группами обозначены † (p < 0,01); статистически значимые различия между IV-ой и II-ой группами обозначены ∅ (p < 0,001). Группы: I – контрольная; II – только PTZ; III – Мирицетин + PTZ; IV – Вальпроевая кислота + PTZ; V – Мирицетин + NaCl; VI – Вальпроевая кислота + NaCl

Иммуногистохимические реакции с антителами к маркеру дегенеративных изменений нейронов – NeuN. PTZ-индуцированные судороги во II-ой группе привели к значительному снижению количества NeuN-позитивных клеток в гиппокампе через 24 часа (после инъекции PTZ), что свидетельствует о повреждении нейронов. NeuN-позитивные клетки были распределены в гиппокампе (области СА1 и СА3) и в гранулярном слое зубчатой извилины. Хотя интенсивность окраски NeuN варьировала в разных областях и временных точках, область СА3

демонстрировала наибольшие признаки повреждения, характеризующиеся светлыми ядрами, что указывало на утрату нейронов ($p < 0,05$) (Рисунки 8 и 10).

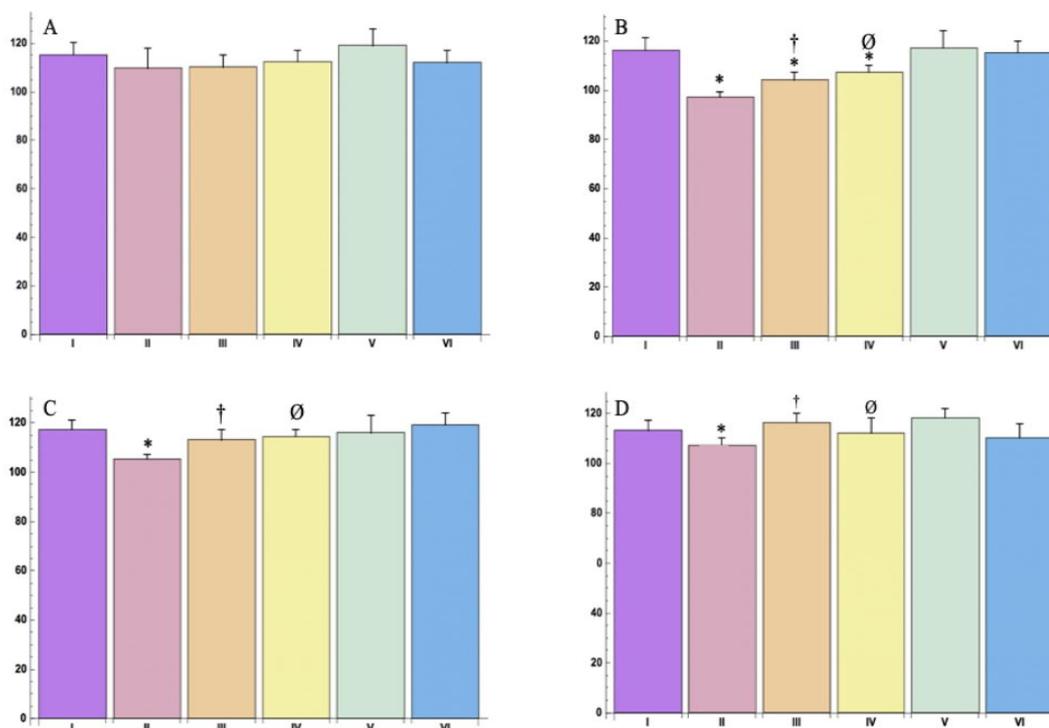


Рисунок 8. – Количество NeuN-положительных клеток зубчатой извилины (область гиппокампа) на разных временных этапах, на мм²: А – 3 часа, В – 1 день, С – 3 дня, D – 5 дней. Данные представлены как среднее значение ± стандартное отклонение ($M \pm SD$). Примечание: * ($p < 0,05$); статистически значимые различия между III-ей и II-ой группами обозначены † ($p < 0,05$); статистически значимые различия между IV-ой и II-ой группами обозначены ∅ ($p < 0,001$). Группы: I – контрольная; II – только PTZ; III – Мирицетин + PTZ; IV – Вальпроевая кислота + PTZ; V – Мирицетин + NaCl; VI – Вальпроевая кислота + NaCl

Аналогичное снижение количества NeuN-положительных клеток наблюдалось в областях СА1 и СА4, а также в зубчатой извилине, таламических и гипоталамических ядрах и двигательных структурах, таких как хвостатое ядро и черная субстанция ($p < 0,05$). На 3-й и 5-й дни после введения PTZ наблюдалась тенденция к увеличению количества NeuN-положительных нейронов в гиппокампе и других областях мозга. Однако количество NeuN-положительных клеток не вернулось к исходным значениям. В группе III-ей и IV-ой группах количество NeuN-положительных клеток было близко к контрольным значениям на всех последующих временных точках. На 5-й день окрашивание NeuN в этих группах оставалось на уровне контрольных значений, что свидетельствует о стойком нейропротекторном эффекте. В контрольных группах, получавших мирицетин или вальпроевую кислоту в комбинации с 0,9% NaCl, количество NeuN-положительных клеток не отличалось от исходных значений контрольной группы.

Иммуногистохимическое исследование уровня каспазы-8. Во II-ой группе были обнаружены значительные иммунохимические изменения в гиппокампе с использованием антител против каспазы-8 (наблюдали диффузное окрашивание цитоплазмы) (Рисунки 8 и 10).

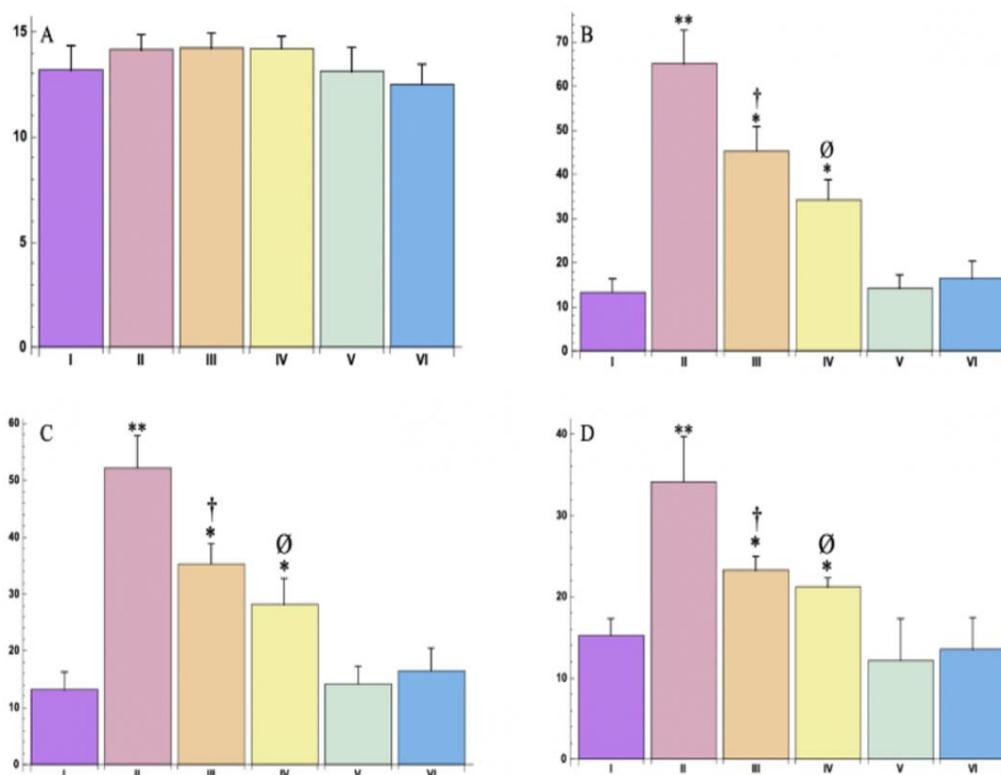


Рисунок 9. – Количество каспаза-8-позитивных клеток зубчатой извилины (зона гиппокампа) на разных временных точках, на мм²: А – 3 часа, В – 1 день, С – 3 дня, D – 5 дней. Экспериментальные группы пронумерованы в соответствии с дизайном исследования. Данные представлены как среднее значение ± SD. Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой обозначены – * (p <0,05), ** (p <0,01), *** (p <0,001). Группы: I – контрольная; II – PTZ; III – Мирицетин + PTZ; IV – Вальпроевая кислота + PTZ; V – Мирицетин + NaCl; VI – Вальпроевая кислота + NaCl

Через 24 часа после введения PTZ было выявлено значительное увеличение количества каспаза-8-позитивных нейронов гиппокампа, что свидетельствует о нейрональном апоптозе на фоне уменьшения количества NeuN-позитивных клеток, что указывает на гибель нейронов в областях CA1, CA3 и зубчатой извилины. На 3-й и 5-й дни после введения PTZ наблюдалась тенденция к снижению количества каспаза-8-позитивных клеток в структурах гиппокампа и других областях мозга. В группе Мирицетин + PTZ был явно выражен нейропротекторный эффект мирицетина. Количество каспаза-8-позитивных нейронов в областях CA1, CA4 и зубчатой извилины было ниже, чем в группе, получавшей только PTZ, что указывает на снижение нейронального апоптоза. Группы, получавшие мирицетин или вальпроевую кислоту с NaCl 0,9%, не продемонстрировали значительных различий в количестве клеток с каспазой-8 по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о том, что эти препараты не приводили к нейрональному повреждению.

группа по Нисслю NeuN Caspase 8

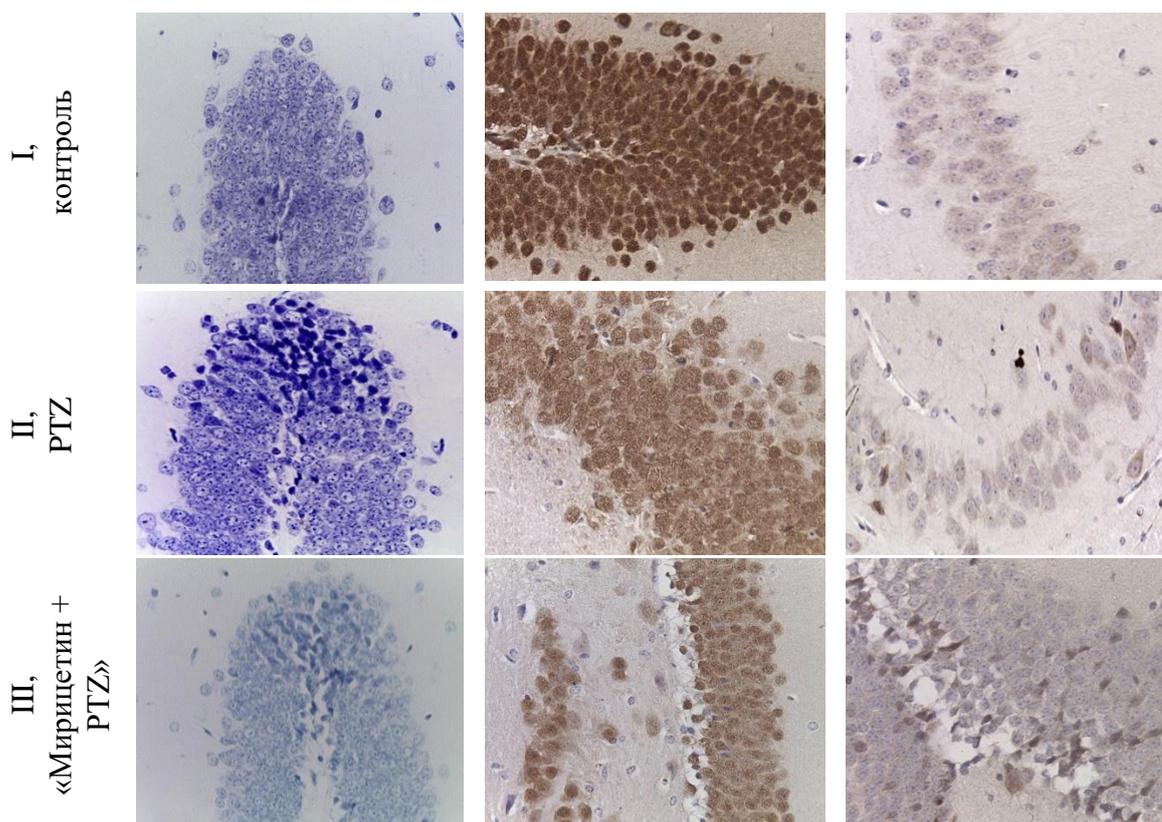


Рисунок 10. – Морфологическая картина в гиппокампе (зубчатая извилина) опытных групп через 24 часа; иммуногистохимическое окрашивание с антителами к NeuN и к Caspase 8, докрасивание ядер – гематоксилином; увелич. $\times 400$

Корреляция между каспаза-8-позитивными клетками, NeuN-позитивными клетками и судорожной активностью в гиппокампе

Для количественного подтверждения этой взаимосвязи был проведен корреляционный анализ, который установил сильную, статистически значимую отрицательную корреляцию между уровнем каспаза-8-позитивных клеток и числом NeuN-позитивных нейронов в гиппокампе (коэффициент корреляции Спирмена $\rho = -0.91$, $p < 0.01$). Напротив для группы введения мирицетина наблюдалась менее выраженная корреляционная зависимость (коэффициент корреляции Спирмена $\rho = -0.74$, $p < 0.01$) (Рисунки 11, 12, 13).

Выявленные морфологические и иммуногистохимические изменения (NeuN и каспаза-8) в составе нейронов различных областей мозга, в первую очередь гиппокампа, также статистически значимо коррелировали с интенсивностью поведенческих реакций, что подтверждает функциональную значимость наблюдаемой нейродегенерации.

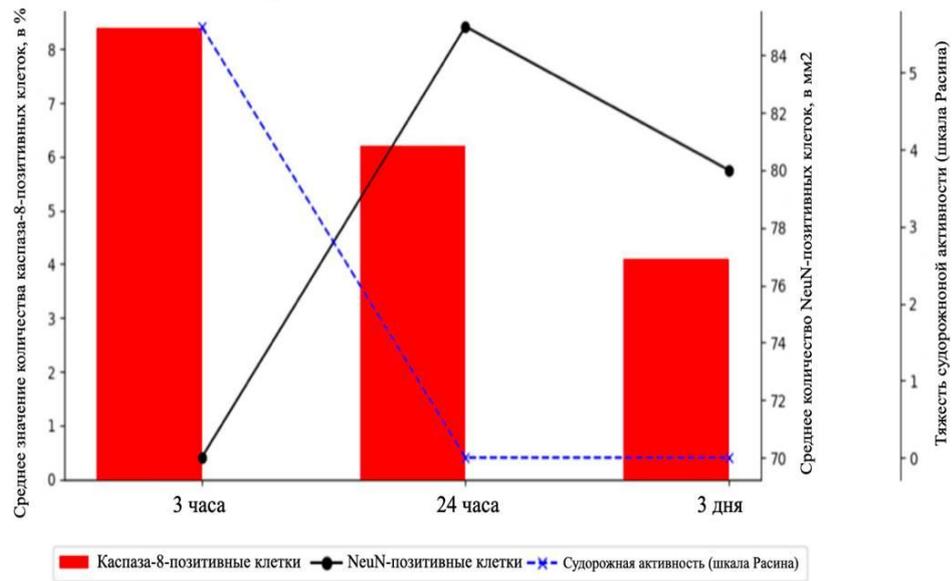


Рисунок 11. – Взаимосвязь между каспаза-8- и NeuN-позитивными клетками в гиппокампе и судорожной активностью. График иллюстрирует процент каспаза-8-позитивных клеток (указывает на нейрональный апоптоз), количество NeuN-позитивных клеток (указывает на дегенерацию нейронов) и степень судорожной активности (по шкале Расина) после введения PTZ. Данные представлены для временных точек: 3 часа, 24 часа, 72 часа после введения PTZ. Результаты показывают снижение количества каспаза-8-позитивных клеток, увеличение количества NeuN-позитивных клеток и снижение степени судорожной активности только в начале эксперимента после введения PTZ

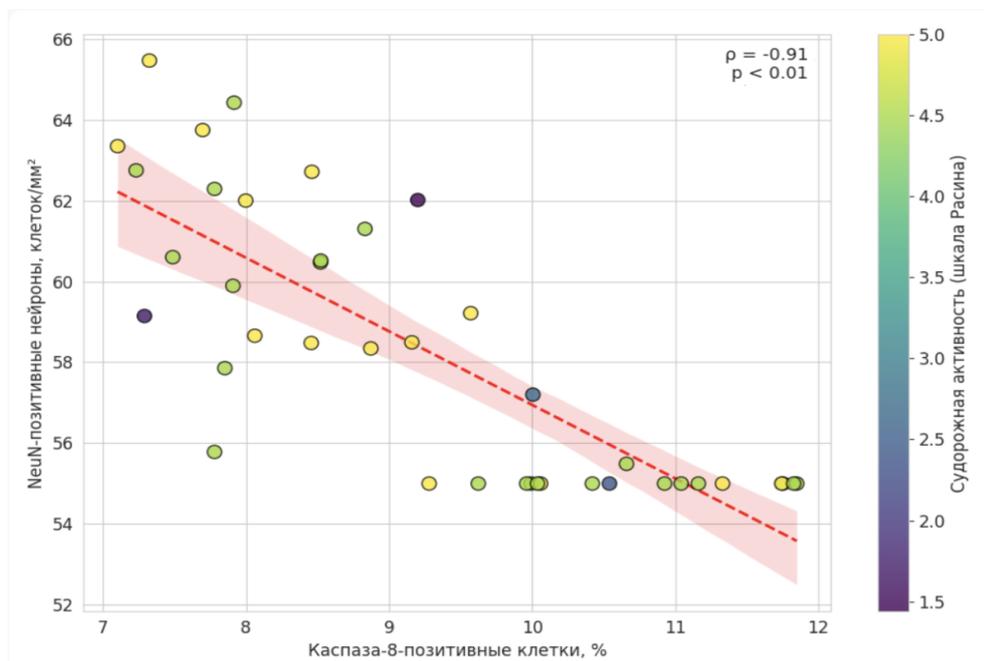


Рисунок 12. – Корреляция между каспаза-8- и NeuN-позитивными клетками в гиппокампе и судорожной активностью для животных II-ой группы. График иллюстрирует корреляционную зависимость каспаза-8-позитивных клеток, количество NeuN-позитивных клеток и степень судорожной активности (по шкале Расина) после введения PTZ

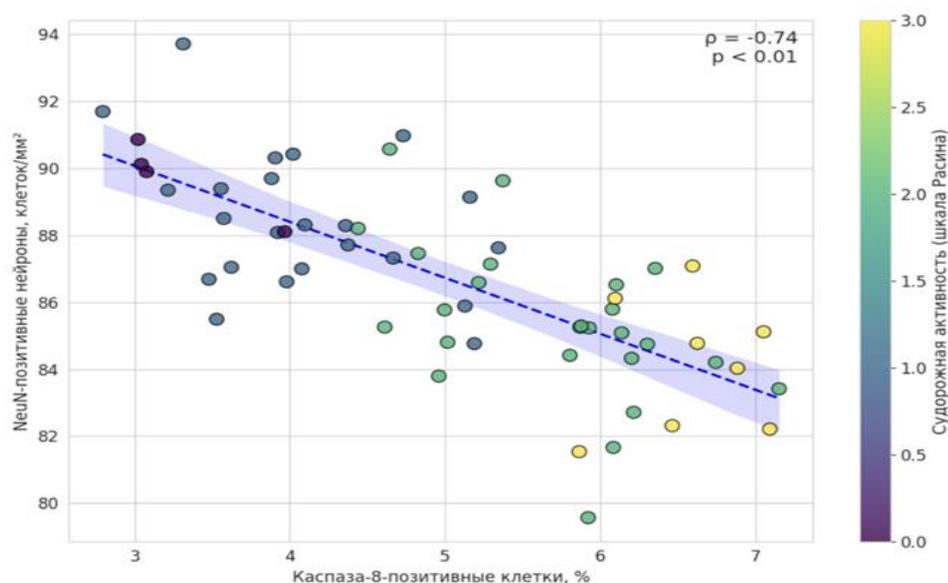


Рисунок 13. – Корреляция между каспаза-8- и NeuN-позитивными клетками в гиппокампе и судорожной активностью для животных III-ей группы График иллюстрирует корреляционную зависимость каспаза-8-позитивных клеток, количество NeuN-позитивных клеток и степень судорожной активности (по шкале Расина) после введения PTZ

Итоги выполнения диссертационной работы

В ходе работы установлено, что системные PTZ-индуцированные судороги у мышей приводят к значительным нарушениям нейрональных функций через 24 часа после судорог, которые нормализуются к 5-му дню эксперимента. Вероятно, нейрональная гибель происходит через внешний путь апоптоза, опосредованный активацией каспазы-8. Наибольшие отклонения в поведенческих тестах были зафиксированы через 3 часа после судорог, что указывает на предположительный критический период эпилептогенеза, требующий дальнейшего изучения. Значительное повышение уровней провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6 и TNF- α) через 24 часа после введения PTZ свидетельствует о мощной воспалительной реакции, которая была смягчена благодаря применению мирицетина и вальпроевой кислоты. Эти препараты также продемонстрировали выраженное антиоксидантное действие, что подтверждается снижением уровней маркеров оксидативного стресса (MDA) и восстановлением активности антиоксидантных ферментов (SOD и GSH). Иммуногистохимические данные, включая окрашивание NeuN и каспазы-8, подкрепляют защитные эффекты мирицетина и вальпроевой кислоты в предотвращении PTZ-индуцированного апоптоза нейронов. Улучшенные результаты в поведенческих тестах дополнительно подтверждают их нейропротекторный и терапевтический потенциал.

Таким образом, мирицетин продемонстрировал значительные нейропротекторные свойства в условиях PTZ-индуцированных судорог, снижая воспаление, апоптоз и оксидативный стресс (Рисунок 14).

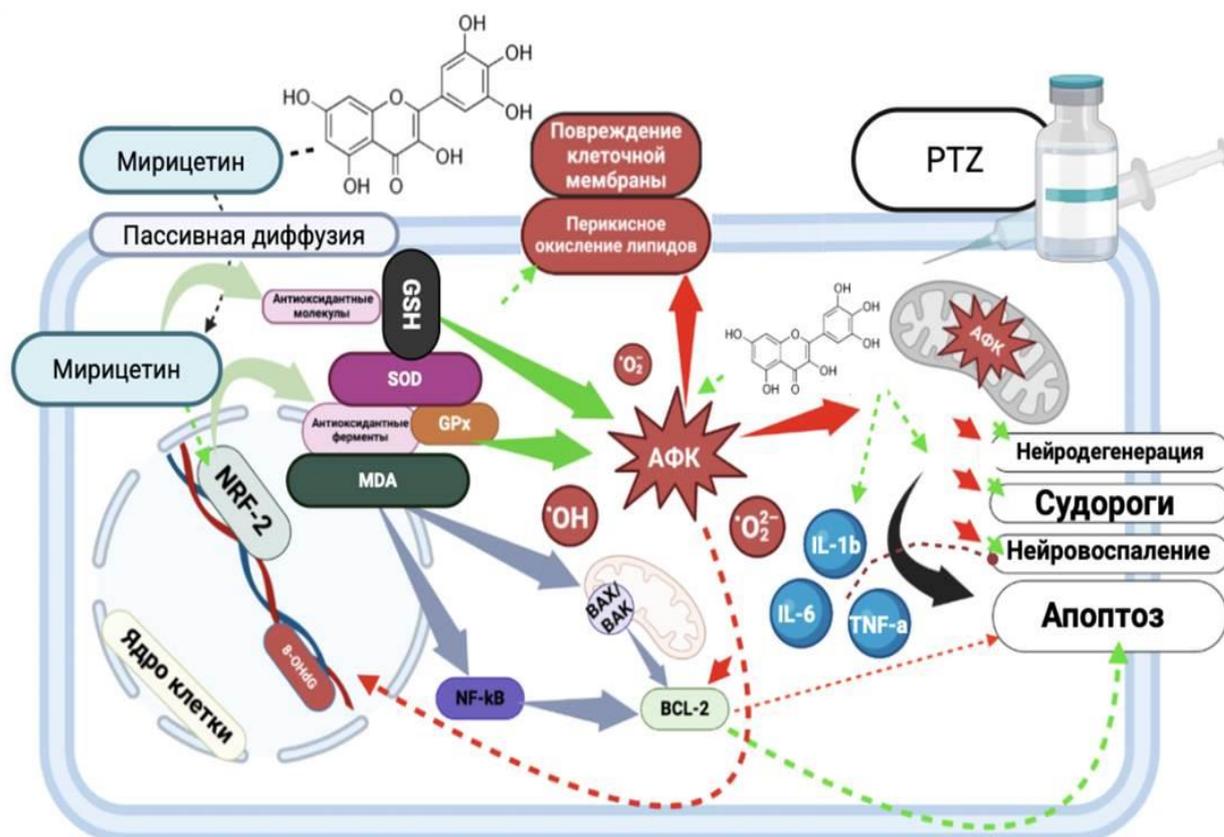


Рисунок 14. – Схема молекулярно-клеточного действия мирицетина при PTZ-индуцированных судорогах: механизмы антиоксидантной и противовоспалительной активности. Красные стрелки – указывают на процессы клеточного повреждения, активации сигнальных путей апоптоза и индукции нейровоспаления. Зеленые стрелки – обозначают защитные механизмы мирицетина. АФК – активные формы кислорода, SOD (англ. superoxide dismutase) – супероксиддисмутаза, GPx (англ. glutathione peroxidase) – глутатионпероксидаза, NRF-2 (англ. nuclear factor Erythroid 2-Related factor 2) – ядерный фактор, ассоциированный с эритроидным фактором 2 (NRF-2), NF-kB – транскрипционный ядерный фактор-kB, BCL-2 (B-Cell Lymphoma 2) – белок В-клеточной лимфомы 2, BAX/BAK (Bcl-2-Associated X Protein / Bcl-2 antagonist killer) – белки, регулирующие апоптоз (BAX/BAK)

ВЫВОДЫ

1. Превентивное введение мирицетина (200 мг/кг, перорально) в течение 5 дней до введения PTZ в дозе 45 мг/кг для индукции судорог, снижает у мышей выраженность нарушений сенсомоторных функций, двигательной координации, общей двигательной активности и когнитивных функций.

2. Превентивное введение мирицетина (200 мг/кг, перорально) в течение 5 дней до введения PTZ в дозе 45 мг/кг, сохраняет баланс ключевых маркеров системы перекисного окисления липидов – малонового диальдегида и антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза и глутатиона) в гомогенате головного мозга мышей: связывает активные формы кислорода и продукты пероксидации (MDA↓), активирует продукцию ферментов эндогенной антиоксидантной защиты (SOD ↑, GLU ↑).

3. Мирицетин (200 мг/кг, 5 дней) поддерживает относительно нормальную концентрацию провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α) в системном кровотоке у мышей до появления PTZ-индуцированных судорог, что указывает на его противовоспалительный эффект.

4. Превентивное введение мирицетина (200 мг/кг, перорально) в течение 5 дней до введения PTZ в дозе 45 мг/кг для индукции судорог, снижает количество дегенеративных нейронов гиппокампа у мышей, что подтверждается уровнем экспрессии и распределением NeuN, близком значениям контрольной группы.

5. Мирицетин в дозировке 200 мг/кг, в отличие от вольпроевой кислоты, частично предотвращает апоптотическую гибель нейронов гиппокампа по данным оценки уровня экспрессии каспазы-8.

6. Выявленные гистологические и иммунохимические изменения (NeuN и каспаза-8) в составе нейронов гиппокампа коррелировали с интенсивностью поведенческих реакций: введение мирицетина направлено на поддержание локального гомеостаза, обеспечивая баланс маркеров системы перекисного окисления липидов – малонового диальдегида и антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы и глутатиона в гомогенате, снижает степень нейровоспаления и нейродегенерации в гиппокампе.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Применение мирицетина в неврологической практике может рассматриваться как перспективное средство для снижения оксидативного стресса, уменьшения воспалительного ответа и предотвращения нейрональной гибели в гиппокампе. Целесообразно рассмотреть мирицетин как потенциальный компонент комплексной терапии эпилептических расстройств, направленной на защиту нейронов от повреждений, вызванных оксидативным стрессом и воспалением. Он может быть рекомендован в качестве дополнительного средства наряду с традиционными противоэпилептическими лекарственными препаратами для улучшения когнитивных и моторных функций у неврологических пациентов.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Научные статьи, опубликованные в журналах, индексируемых в международных базах научного цитирования:

1) Demyashkin G, Blinova E, **Grigoryan M**, Parshenkov M, Skovorodko P, Ius V, Lebed A, Shegay P, Kaprin A. Neuroprotective Effects of Myricetin on PTZ-Induced Seizures in Mice: Evaluation of Oxidation, Neuroinflammation and Metabolism, and Apoptosis in the Hippocampus. *Curr Issues Mol Biol.* 2024 Aug 15;46(8):8914-8944.

Научные статьи, опубликованные в журналах, входящих в Перечень ВАК:

2) Особенности нейрональной потери в гиппокампе при остром генерализованном припадке (экспериментальное исследование) / Демяшкин Г.А., Григорян М.С., Ветров И.В., Ветров Ф.В., Раужева В.П., Зорин И.А., Шаповалова Е.Ю.// Медицинский академический журнал. – 2023. – Т. 23, № 2. – С. 75-85.

3) Морфологические особенности гиппокама при моделировании эпилептического припадка / Г.А. Демяшкин, Е.Ю. Шаповалова, М.С. Григорян, И.А. Зорин // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2022. – Т. 12, № 3 – С. 13-19.

4) Особенность экспрессии Каспазы-3 в гиппокампе при моделировании острого эпилептического припадка / Г.А. Демяшкин, Е.Ю. Шаповалова, М.С. Григорян, И.А. Зорин // Морфологические ведомости. – 2023. – Т. 31, № 2. – С. 77-81.

Другие публикации:

5) Характеристика нейронального повреждения в ПТЗ-модели эпилепсии / М.С. Григорян, И.А. Зорин, Е.Ю. Шаповалова, Г.А. Демяшкин // В сборнике: Окружающая среда и здоровье населения. Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции. Сост. В.А. Ряднова, отв. редактор А.М. Черных. Курск, 2023. С. 30-32.

6) Мирицетин как перспективное средство нейропротекции в модели PTZ-индуцированных судорог/ Паршенков М.А., Сковородко П.П., Григорян М.С.// Первая международная конференция «Инновационные лекарственные средства: от молекулы до пациента» (Москва, 19–21 ноября 2024 г.): сборник материалов конференции / гл. ред. Г.В. Раменская; ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). – М.: Издательство Сеченовского Университета, 2025. – С. 127-130.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

GSH (англ. Glutathione) – глутатион
MDA (анг. Malondialdehyde) – малоновый диальдегид
SOD (англ. Superoxide dismutase) – супероксиддисмутаза
PTZ (анг. Pentylenetetrazole) – пентилентетразол
АФК – активные формы кислорода
АЛТ – аланинаминотрансфераза
ИЛ – интерлейкин

Григорян Мигран Самвелович (Российская Федерация)
«Морфофункциональные особенности гиппокампа после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог»

Диссертационная работа посвящена выявлению морфофункциональных изменений в гиппокампе при введении мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог. Получены данные о структурно-функциональных изменениях в гиппокампе и других лимбических структурах головного мозга, возникающих при острых PTZ-индуцированных судорогах. Впервые проведена оценка нейрональной дифференцировки и зрелости нейронов с использованием маркера NeuN, что позволило оценить характер структурных изменений в различных регионах гиппокампа при острых припадках. Установлено, что PTZ-индуцированные судороги характеризуются повышением концентрации маркера дисфункции системы перекисного окисления липидов – малонового диальдегида и понижением концентрации ферментов эндогенной антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы и глутатиона в гомогенате головного мозга. Проведена оценка воспалительного ответа микроглии в гиппокампе с анализом уровней провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF α), что позволило выявить роль нейровоспаления в патогенезе острого PTZ индуцированного приступа, что значительно расширяет представления о молекулярных и клеточных механизмах воспалительной активности в ответ на судорожные приступы. Особую научную значимость представляют новые данные о молекулярных механизмах апоптоза в патогенезе PTZ-индуцированных судорог с подробным изучением активации каспаз-зависимого пути (активация каспазы-8), что позволило определить важный молекулярный маркер гибели нейронов гиппокампа в модели острого приступа. Выявлена корреляция между каспаза-8-позитивными 7 нейронами, NeuN-позитивными нейронами и судорожной активностью в гиппокампе после введения мирицетина в модели PTZ-индуцированных судорог. Уровень NeuN-позитивных нейронов в гиппокампе был обратно пропорционален уровню каспаза-8-позитивных клеток и коррелировал с интенсивностью поведенческих реакций. Впервые показано, что введение мирицетина в условия PTZ индуцированного приступа способствует снижению уровня маркеров активности оксидативного стресса, снижению интенсивности дегенеративных изменений и апоптоза нейронов гиппокампа, что не исключает его нейропротекторную эффективность. Таким образом, результаты настоящего исследования могут служить основой для разработки новых подходов к лечению и профилактике эпилептических поражений головного мозга. Полученные данные открывают перспективы для применения нейропротективных средств в комплексной терапии острых эпилептических состояний и могут быть использованы при создании клинических рекомендаций для неврологов, нейрофармакологов и исследователей в области эпилептологии.

Migran Samvelovich Grigoryan (Russian Federation)
"Morphofunctional Features of the Hippocampus after Myricetin Administration in a PTZ-Induced Seizure Model"

This dissertation examines morphofunctional changes in the hippocampus following myricetin administration in a PTZ-induced seizure model. Data on structural and functional changes in the hippocampus and other limbic brain structures that occur during acute PTZ-induced seizures were obtained. Neuronal differentiation and neuronal maturity were assessed for the first time using the NeuN marker, allowing for the characterization of structural changes in various hippocampal regions during acute seizures. It was established that PTZ-induced seizures are characterized by increased levels of malondialdehyde, a marker of lipid peroxidation dysfunction, and decreased levels of endogenous antioxidant enzymes, superoxide dismutase and glutathione, in brain homogenate. An assessment of the microglial inflammatory response in the hippocampus, including analysis of proinflammatory cytokine levels (IL-1 β , IL-6, and TNF α), revealed the role of neuroinflammation in the pathogenesis of acute PTZ-induced seizures, significantly expanding our understanding of the molecular and cellular mechanisms of inflammatory activity in response to seizures. Of particular scientific significance are new data on the molecular mechanisms of apoptosis in the pathogenesis of PTZ-induced seizures, including a detailed study of the activation of the caspase-dependent pathway (caspase-8 activation), which identified an important molecular marker of hippocampal neuron death in an acute seizure model. A correlation was found between caspase-8-positive neurons, NeuN-positive neurons, and seizure activity in the hippocampus after myricetin administration in a PTZ-induced seizure model. The level of NeuN-positive neurons in the hippocampus was inversely proportional to the level of caspase-8-positive cells and correlated with the intensity of behavioral responses. This study demonstrates for the first time that myricetin administration during a PTZ-induced seizure reduces the level of oxidative stress markers, the intensity of degenerative changes, and apoptosis in hippocampal neurons, suggesting its neuroprotective efficacy. Thus, the results of this study can serve as a basis for developing new approaches to the treatment and prevention of epileptic brain lesions. The data obtained open up prospects for the use of neuroprotective agents in the complex treatment of acute epileptic conditions and can be used to create clinical guidelines for neurologists, neuropharmacologists, and epileptology researchers.