

На правах рукописи

Солонский Анатолий Владимирович

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАННИХ
СТАДИЙ РАЗВИТИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ
ПРЕНАТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ**

03.00.25 – гистология, цитология,
клеточная биология

14.00.45 – наркология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Томск – 2008

Работа выполнена в ГУ НИИ психического здоровья Томского научного центра СО РАМН и ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Росздрава

Научные консультанты:

доктор медицинских наук,
профессор

Логвинов Сергей Валентинович

доктор медицинских наук,
профессор, академик РАМН

Семке Валентин Яковлевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, доцент
доктор медицинских наук, профессор

Склянов Юрий Иванович
Плешко Раиса Ивановна
Мандель Анна Исаевна

Ведущая организация:

ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия Росздрава

Защита диссертации состоится «__»_____ 2008 г. в 10.00 часов на заседании специализированного совета Д 208.096.03 при СибГМУ (634050, г.Томск, Московский тракт, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научно–медицинской библиотеке ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Росздрава.

Автореферат разослан «__» _____ 2008 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Герасимов А.В.

Общая характеристика работы

Актуальность медицинских и социальных проблем, связанных с употреблением алкоголя и алкоголизмом, постоянно возрастает. По своей значимости эти проблемы (по прогнозам Всемирной Организации Здравоохранения) в первые годы нынешнего тысячелетия будут занимать первое место. В той же мере актуальным остается появление патологии в потомстве злоупотребляющих этанолом и больных алкоголизмом. Особое место отводится изучению патологии мозга, которая во многом определяет как развитие заболевания, так и формирование его клинических проявлений, особенности течения и исхода, эффективность лечения, возможности социальной адаптации больных (Семченко В.В., Боголепов Н.Н., Степанов С.С., 1995; Бочков Н.П., Васечкин В.Б., 2004).

Важнейшим аспектом проблемы алкоголизма является влияние употребляемого этанола на потомство. Речь идет о широком круге вопросов – от психологического влияния страдающих алкоголизмом родителей на детей (психологическая атмосфера семьи, дефекты воспитания) и «материнского фактора», до генетических и тератогенных воздействий самого алкоголя (Моховиков А.Н., 1986, 1987; Astley S.J., Omnell L.M., Clarren S.K., 2000; Barinaga M., 2000; Gardner J., 2000; Bichenkov E., Ellingson J.S., 2001; Schonfeld A.M. et al. 2001; Gilger J.W., Kaplan B.J., 2002; Yelin R. et al., 2007; Pollard I., 2007).

В связи с изучением повышенного риска развития психической патологии в потомстве больных алкоголизмом большой интерес представляет женский алкоголизм. Хорошо известны факты, когда злоупотребление алкоголем приводит к появлению на свет детей со значительными сомато–неврологическими и психическими аномалиями (Viljoen D., 1999, Moore E.S. et al., 2001; Moor E.S. et al. 2002; Viljoen D., et al., 2002; Ostrea E.M. Jr, et al., 2006).

Благодаря работам многих исследователей, проведенных на животных и человеке, был установлен широкий диапазон влияния алкоголя на потомство – от легких поведенческих отклонений до тяжелых форм органического мозгового синдрома, который получил название «алкогольного синдрома плода» (АСП) (Lemoine P., Harousseau H., Borteyru J.P., Menuet J.C., 1968, Jones K.L., Smith D.W. 1973, 1975; Bhatara V.S., et al. 2002; Moore E.S., et al., 2002). Основой этих расстройств являются разной степени выраженности изменения функции и структуры мозга. В наиболее легких формах алкогольного поражения мозга допускают существование измененной реакции на внешние воздействия («алкогольные эффекты») (Taylor A.N.,

1983; Earnest D.J., Chen W.J., West J.R., 2001), тогда как при алкогольном синдроме плода были обнаружены нарушения его развития. Эти исследования были проведены в основном в модельных опытах на животных, соответствующих же исследований при аналогичном синдроме у человека еще недостаточно. Существуют лишь единичные работы, касающиеся нейроморфологии мозга в потомстве больных алкоголизмом (Biesold D., Matthies H., 1977; Clarren S.K., Smith D.W. 1978; Clarren S.K. 1981; Tanaka H., Nasu F., Inomata K., 1991; Ikonomidou C. et al., 2000). В этих работах имеется описание структурных нарушений мозга в постнатальном периоде (16 случаев), и только в трех наблюдениях использован пренатальный материал (17, 18 и 20 недель развития). Понятно, что столь малое число наблюдений не позволяет выявить различные варианты повреждающего действия этанола на эмбриональный мозг при алкоголизме матери. Необходимо изучить различные участки мозга в процессе его развития, а также исследовать ультраструктурные проявления этих нарушений.

В связи с важностью рассматриваемой проблемы в ГУ НИИ психического здоровья Томского научного центра СО РАМН было начато изучение мозга плодов, развивающихся в организме алкоголизованных животных (Дремов Д.П., Муравьева Л.И., Солонский А.В., 1984; Дремов Д.П., Солонский А.В., Муравьева Л.И., 1985). Позднее были установлены разной степени выраженности нейрогистологические аномалии, вплоть до нарушения развития мозга эмбрионов и плодов человека (Ковецкий Н.С., Филатова Г.А., 1988; Ковецкий Н.С., 1989, 1989; Ковецкий Н.С., Коновалов Г.В., 1989; Коновалов Г.В., Федорова Л.А., Ковецкий Н.С., 1989; Ковецкий Н.С. и соавт., 1995; Солонский А.В., Прокопьева В.Д., Бохан Н.А., 2006). В настоящем исследовании отражены светооптический, ультраструктурный и морфометрический аспекты соответствующей программы исследований. Указанные аспекты изучения мозга при алкоголизме представляют интерес также в связи с вопросом о специфичности нейроморфологических изменений в мозге плодов, развивающихся в организме психически больной матери (Орловская Д.Д., Соловьева Ж.В., 1980; O'Malley K.D., Nanson J., 2002; Viljoen D. et al. 2002).

Для изучения патологии мозга эмбрионов, развивающихся в организме больной алкоголизмом матери, нами были использованы методы световой и трансмиссионной электронной микроскопии. Эти методы позволяют изучить ультраструктуру клеточных элементов развивающегося мозга, охарактеризовать степень повреждения или сохранности их органелл, мембранных структур, дать оценку уровню дифференцировки клеток и внутриклеточных образований.

В процессе настоящего исследования изучались все типы клеточных элементов эмбриональной мозговой ткани: нейробласты, глиобласты, микроглиальные клетки, а также эндотелиальные клетки развивающихся сосудов. Кроме того, большое внимание уделялось формированию межклеточных связей, характеризующихся установлением синаптических контактов. Требуется решения вопрос о характере влияния злоупотребления алкоголем на процесс синаптогенеза, который имеет решающее значение для реализации функций мозга. Известно также, что дифференцировка нейробластов и глиобластов зависит от степени развития и сохранности сосудистого русла растущего мозга, поэтому было проанализировано состояние сосудов.

Дополнительно к методам световой и электронной микроскопии использовался метод электронной цитохимии, который позволяет выявить некоторые особенности метаболизма клеток, а также принадлежность отдельных органелл к той или иной функциональной и биохимической системе. В качестве маркера для установления этих показателей использовался фермент кислая фосфатаза.

В связи с изложенным, имеется достаточно оснований утверждать, что изучение особенностей поражения мозга плодов у злоупотребляющих алкоголем матерей может иметь значение не только для познания патогенеза алкоголизма и профилактики его последствий у детей, но и более широкий интерес для теоретической и клинической психиатрии в рамках проблемы роли врожденной патологии мозга, как фактора риска развития психической патологии в потомстве больных с различными психическими заболеваниями.

Цель исследования.

Изучить общие закономерности и морфологические особенности влияния алкоголизации матери на нервные и глиальные клетки, а также морфометрические параметры кровеносных сосудов и синаптических контактов коры головного мозга эмбрионов и плодов 7–12 недель развития.

Задачи исследования.

1. Выявить ультраструктурные особенности нейробластов и глиобластов коры эмбрионального мозга, развивающегося в условиях алкоголизации матери в период беременности;
2. Выявить особенности формирования синаптических контактов в промежуточном слое коры головного мозга в процессе развития и провести компьютерно–морфометрический анализ параметров синаптических соединений в процессе дифференцировки;

3. Изучить ультраструктурные особенности строения капилляров эпендимного и промежуточного слоев коры развивающегося мозга;
4. Провести компьютерно–морфометрический анализ параметров развивающихся сосудов стенки переднего мозга в норме и при алкоголизации материнского организма и оценить степень ее воздействия на васкуляризацию ткани мозга.

Положения, выносимые на защиту:

1. Пренатальная алкоголизация приводит к нарушениям формирования корковой пластинки эмбрионального мозга человека.
2. Прием алкоголя во время беременности является причиной нарушений ультратонкого строения клеточных элементов развивающегося мозга человека. Алкоголь вызывает изменения мембран нейробластов и глиобластов, влияет на структуру органелл, нарушает синаптогенез, приводя к отставанию в формировании синаптических контактов клеток промежуточного слоя.
3. Алкоголизация материнского организма в период беременности оказывает значительное воздействие на динамику развития кровеносной системы эмбрионального мозга человека, что выражается в изменении характера васкуляризации растущего мозга.
4. Алкоголизация материнского организма в период беременности приводит к преходящим изменениям активности ацетилхолинэстеразы в ряде образований переднего мозга новорожденных животных.

Научная новизна исследования. В результате настоящего исследования получены ранее отсутствовавшие в научной литературе данные об ультраструктуре развивающегося мозга при алкоголизации матери в период беременности. Были впервые выявлены следующие изменения: повреждение цитоплазматической мембраны и внутренних мембранных систем клеток; появление и последующая трансформация разного типа сферических образований в перинуклеарном пространстве; многообразие вариантов митохондрий, как нормального строения, так и с признаками функциональной и структурной патологии; усиленное развитие комплекса Гольджи; появление липофусцина, мультивезикулярных телец и миелиноподобных образований; задержка развития синаптических контактов везикулярного типа, проявляющаяся в уменьшении длины постсинаптических уплотнений синаптических контактов, уменьшении площади, а также периметра пресинаптических терминалей в основной группе исследования; изменение характера васкуляризации ткани мозга, что выразилось в снижении средней площади сосудов, увеличении их

количества на единицу площади и уменьшении периметра сосудов мозга. Существенно, что перечисленные сдвиги развиваются на фоне достаточной зрелости ткани мозга в целом.

Практическая ценность работы. Результаты, представленные в настоящем исследовании, свидетельствуют о том, что при алкоголизме матерей и в случаях употребления женщинами алкоголя в период беременности в мозге развивающегося плода возможно возникновение целого комплекса ультраструктурных изменений, которые могут быть биологической основой широкого диапазона поведенческой патологии в потомстве больных алкоголизмом, а также более тяжелых нарушений в виде умственной отсталости. Полученные данные могут служить основой для дальнейшей разработки проблем врожденной мозговой патологии, а также общих вопросов развития мозга на его эмбриональной стадии. Это делает результаты настоящего исследования ценными для разработки профилактических (биологических и психологических) мероприятий, а также корректирующих воздействий в соответствующих группах пациентов. Полученные результаты внедрены в учебный процесс на кафедрах гистологии, цитологии и эмбриологии, морфологии и общей патологии СибГМУ при изучении развития нервной системы.

Апробация материалов диссертации. Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на отечественных и международных конференциях, симпозиумах и конгрессах, в том числе на региональной конференции «Психическое здоровье. Региональные аспекты» (Владивосток, 1992); на конференции «Современные аспекты эндогенной и экзогенно–органической патологии» (Томск, Кемерово, 1995); на заседании Президиума ТНЦ СО РАМН (Томск, 1998); на конференциях и Ученых советах ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН (1994, 1996, 1997, 2000, 2001, 2002–2008); на заседании Президиума Сибирского Отделения РАМН «Коморбидность аддиктивных состояний: патобиологические механизмы и возможности профилактики» (Новосибирск, апрель 2001 г.); на Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы биологической психиатрии и наркологии» (Томск, март 2003 г.); на XII национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, апрель 2004); на VII конгрессе международной ассоциации морфологов (Казань, сентябрь 2004 г.); на VIII Европейской коллегии по нейропсихофармакологии (Москва, апрель 2005 г.); на V Сибирском физиологическом съезде (Томск, июнь 2005 г.); на XIII Всемирном конгрессе по психиатрии (Египет, Каир, сентябрь 2005 г.); на XIV

национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, апрель 2007 г.); на региональной научно–практической конференции «Клинико–биологические проблемы охраны психического здоровья материнства и детства» (Томск, октябрь 2007 г.); на Второй Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы биологической психиатрии и наркологии» (Томск, март 2008 г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 42 печатные работы, из которых 17 статей опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК для изложения материалов диссертаций на соискание ученой степени доктора наук.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, 2 глав результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка литературы. Общий объем работы составляет 243 страницы машинописного текста. Список литературы включает 386 источников, из которых 126 наименований отечественных и 260 иностранных изданий. Иллюстративный материал представлен на 52 рисунках, в 8 таблицах и 2 схемах.

Материал и методы исследования

Для решения поставленных задач было изучено 53 эмбриона 7–12 недель развития. Составившие основную группу 23 эмбриона, были получены от матерей, употреблявших алкоголь в период беременности и страдающих алкоголизмом I – II стадии (F 10.201; F 10.202). Контрольную группу составили 30 эмбрионов, взятые от психически и соматически здоровых женщин.

Головной мозг эмбрионов получали непосредственно в процессе проведения операции по искусственному прерыванию беременности в роддомах и гинекологических отделениях больниц г.Томска, при этом все процедуры выполнялись с учетом требований этического комитета.

Больные, входящие в основную группу, состояли на учете в Областном наркологическом диспансере г.Томска. Диагностика осуществлялась специалистом–наркологом этой службы и врачами–наркологами отделения аддиктивных состояний ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН по Международной классификации болезней (МКБ–9, МКБ–10). В зависимости от времени набора материала, соответственно, шифр заболевания 303.1 и 303.2 (алкоголизм I стадии, алкоголизм II стадии) – по МКБ–9; F10.201 и F10.202 – по МКБ–10 (психические и поведенческие расстройства в результате

употребления алкоголя, синдром зависимости, в настоящее время – воздержание).

Возраст пациенток был от 25 до 41 года (средний возраст 37,1 лет). По срокам беременности они распределялись следующим образом: 7–8 недель – 7 случаев, 9–10 недель – 5, 11–12 недель – 11. Давность заболевания у обследованных больных составляла от 3 до 13 лет.

В период беременности больные употребляли в зависимости от толерантности от 500 до 800 мл 40% алкоголя в день. Все женщины лечились ранее от алкоголизма и прошли от 1 до 10 курсов лечения, но никто из них в период, предшествующий аборту не находился на лечении дисульфирамом.

Всего в контрольной группе было 30 женщин. По возрасту они распределялись следующим образом: 19–29 лет – 19 человек, 30–39 лет – 9 человек, 40–49 лет – 2 человека. Срок беременности у них к моменту ее прерывания был соответственно: 7–8 недель – 13 случаев, 9–10 недель – 7 случаев, 11–12 недель – 10 случаев.

Главным критерием для отбора женщин в контрольную группу являлся факт отсутствия употребления алкоголя в течение одного месяца до зачатия и в течение беременности. Кроме того, в эту группу включали только тех женщин, которые не страдали хроническими заболеваниями, не употребляли лекарств и не имели в быту и на производстве контакта с токсическими веществами, радиацией и др.

Головной мозг эмбрионов при подготовке к изучению методами световой микроскопии фиксировали 10% нейтральным формалином. Материал заключали в целлоидин, после чего изготавливали срезы толщиной 15 мкм и окрашивали крезильовым фиолетовым по Нисслю.

Для изучения влияния хронической алкогольной интоксикации материнского организма на холинергическую систему мозга у потомства крыс использовалась активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в различных структурах мозга. АХЭ (КФ 3.1.1.7) является ферментом, расщепляющим ацетилхолин. Она участвует в регуляции ионных сдвигов (в частности, ионов натрия и калия), обеспечивает быстрый эффект действия квантов ацетилхолина и ограничивает область постсинаптического распределения каждого кванта. При гистохимическом исследовании АХЭ обнаруживается в телах нейронов, их отростках и терминалях. Волокна, богатые АХЭ, имеют, подобно дофаминергическим, вполне определенную локализацию в человеческом мозге. АХЭ-содержащие волокна проходят через ствол мозга к структурам лимбической системы, полосатому телу, а также к коре больших полушарий.

Экспериментальная часть исследования заключалась в изучении головного мозга крысят в возрасте 5, 10, 15, 20 и 30 дней. На каждый срок

были взяты по 3 – 4 особи из разных пометов экспериментальной и контрольной материнских групп животных. Активность АХЭ определяли в хвостатом ядре, латеральном септальном, прилежащем (аккумбенс) ядрах и в диагональной полоске Брока (определение локализации проводили по атласу J. de Groot (1959).

В материнские группы были взяты самки беспородных белых крыс с массой тела 200 – 250 г. Животных содержали на стандартной диете (брикеты № 2) с добавлением свежих овощей, растительного масла и поливитаминов. 1-я (экспериментальная) группа крыс получала в качестве единственного источника жидкости раствор этанола, концентрация которого была повышена с 15 до 40% в течение 1-го месяца экспозиции. При таких условиях крысы находились в течение 3 – 5 мес. до зачатия, весь период беременности и вскармливания, потребляя в среднем 48 мл 40% этанола на 1 кг массы в сутки. 2-я (контрольная) группа животных получала вместо этанола воду без ограничения количества. Крысы обеих групп спаривались с самцами, не получавшими этанол. От них получили потомство: соответственно 20 и 16 животных.

Мозг крысят, взятый после быстрой декапитации, разрезали сагиттально и из двух половинок, принадлежащих животным 1-й и 2-й групп, формировали один блок. При монтаже соблюдалась идентичность плоскости фронтального среза. Материал замораживали в жидком азоте. Приготавливали срезы толщиной 15 мкм и помещали их в свежеприготовленную среду для выявления активности АХЭ по методу Карновского – Рутс на 120 мин при температуре 22 С°. Затем срезы постфиксировали в 1% СаСL₂, приготовленном на 10% нейтральном формалине, и обезвоживали в растворах этилового спирта, просветляли толуолом и заключали в бальзам.

Фотометрировали идентичные участки соответствующих структур мозга, принадлежащих подопытным и контрольным животным. Интенсивность реакций оценивали в условных единицах на микроскопе «Люмам Р-3», с приставкой ФМЭЛ-1 при длине волны 487 нм.

Оптическую плотность продукта реакции определяли по формуле:

$$E = \lg I_0/I,$$

где E – оптическая плотность продукта реакции; I₀ – интенсивность света, прошедшего через препарат без среза (фон); I – интенсивность света, прошедшего через препарат со срезом.

В каждом препарате промеряли по 20 значений фона и 20 значений интенсивности света, прошедшего через идентичные участки того и другого среза. Диаметр зонда на плоскость препарата для фотометрии нейропиля

составлял 135 мкм, для фотометрии нейронов – 25 мкм при увеличении объектива соответственно в 3,7 и 20 раз.

Для морфологического исследования головной мозг эмбрионов фиксировали в 0,5% глутаральдегиде на фосфатном буфере pH 7.3–7.4, дофиксировали в осмиевой кислоте, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в аралдит по общепринятой методике. Полутонкие и ультратонкие срезы изготавливали на ультратоме «Ultracut–E» (Reichert, Австрия), окрашивали по Рейнольдсу и просматривали в электронных микроскопах «JEM–100B», «JEM–100CX» (JEOL, Япония) и «EM–201» (Philips, Голландия).

Морфометрический анализ применялся для получения количественных параметров нервных клеток, клеточных органелл, синапсов и сосудов коры головного мозга эмбрионов на различных стадиях развития с целью выяснения зависимости изменений структуры указанных компонентов от степени их дифференцировки и оценки влияния патологических воздействий на процесс синаптогенеза и васкулогенеза.

Для решения этой задачи была разработана программа анализа изображений, позволяющая с помощью персонального компьютера производить цифровой обсчет параметров развивающихся синапсов. Нами был разработан алгоритм программы, который был реализован в виде программного продукта «Measure Maker». Эта программа позволяет измерять параметры изображения сканированных электронограмм (микрофотографий) непосредственно на экране монитора. Она также позволяет количественно оценить длину и площадь пре- и постсинаптических структур. Для сопоставления условных величин длины, полученных с помощью разработанной программы (количество пикселей экрана монитора), и реальных значений, принятых в электронной микроскопии для измерения протяженности объектов (микрометры, нанометры), была взята паспортная электронограмма реплики дифракционной решетки, снятая с помощью электронного микроскопа. Фотография была отсканирована с необходимыми установками, промерена с использованием программы измерения изображений и выявлено соотношение условных величин экрана и реальных размеров объекта. Таким образом, достигнуто согласование различных методов определения длины. Величины площади измеряемых структур вычисляются путем математических расчетов и также могут быть представлены в виде реальных значений.

Нами установлено, что данные, полученные с помощью этой программы, полностью сопоставимы с результатами измерений, проведенных с использованием программы анализа изображений «Scion Image for Windows» (based on the NIH Image on the Macintosh platform). На

начальном этапе исследований преимущественно использовалась программа «Measure Maker», в дальнейшем все измерения были произведены с помощью программы «Scion Image for Windows».

Для морфометрического анализа использовали фотоотпечатки с негативов формата 6x9 см, полученных с помощью электронного микроскопа. Отпечатки с негативов делали контактным способом 1:1, затем изображение сканировали в градациях серого с разрешением 300 dpi, с сохранением в формате TIFF без компрессии. Часть негативов оцифровывали с помощью сканера без промежуточных бумажных фотокопий.

Для компьютерной морфометрии *сосудов* использовали полутонкие (толщиной 0,5–1 мкм) срезы на уровне промежуточного слоя, окрашенные метиленовым синим. С помощью цифровой камеры, встроенной в световой микроскоп, получали снимки в формате BMP. На снимках при помощи программы Scion Image for Windows были исследованы *средняя площадь* сосудов: общая площадь сосудов, деленная на общее количество сосудов; *относительная площадь* сосудов: общая площадь сосудов, деленная на площадь ткани на снимке и умноженная на 100; *количество сосудов на единицу площади*, а также *периметр* сосудов в контрольной и основной группах.

Для морфометрического анализа *синапсов* электронные микрофотографии эмбрионального мозга делали с одним и тем же увеличением – 48 000. Это связано с такими особенностями эмбриональной ткани, как незначительное количество синапсов на ранних стадиях развития и величиной самих синаптических соединений. Для анализа брали по 5 случаев из каждого возрастного периода в контрольной и опытной группах. Из каждого случая использовали по 15–20 микрофотографий различных участков промежуточного слоя. Были выбраны для анализа следующие параметры синапсов: 1 – периметр пресинаптической терминали, 2 – площадь пресинаптической терминали, 3 – длина постсинаптического уплотнения. Результаты измерений представлены в относительных значениях, выражающих число пикселей (p), при оценке длины, и число пикселей изображения в квадрате (p^2) при оценке площади структурных компонентов синапсов.

В процессе изучения клеточных органелл использовали также маркер лизосом – реакцию на кислую фосфатазу. Для её выявления был применен электронно–цитохимический метод (Бухвалов И.Б., 1982).

Для статистической обработки данных применяли программу Statistica 6.0, параметрические и непараметрические методы вариационной статистики

t–критерий Стьюдента, χ^2 –критерий), различия считали значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

1. Морфологические изменения корковой пластинки эмбрионального мозга

По степени выраженности выявленные нарушения развития корковой пластинки головного мозга эмбрионов условно были разделены на три группы: легкие, умеренные и выраженные.

В число первых вошли нарушения, выражающиеся в появлении на протяжении корковой пластинки мелких пилообразных зубцов различной высоты (от 10 до 15 мкм). Как правило, такого рода нарушения проявлялись симметрично, в обоих полушариях. На некоторых участках наряду с появлением неровностей, появлялись углубления в виде каверн, глубина которых достигала 30–45 мкм.

В группу с умеренными нарушениями развития корковой пластинки вошли дефекты, отличающиеся от вышеописанных большей величиной зубцов (до 50 мкм) и их протяженности (до 250 мкм).

В передних и средних отделах полушария встречались высокие зубцы корковой пластинки, достигающие высоты 150 мкм и шириной 250 мкм.

В группу с выраженными нарушениями развития корковой пластинки вошли те случаи, где корковая пластинка наиболее сильно отличалась по своему строению от нормы. В этих случаях часто изменяется толщина корковой пластинки от 15 до 50 мкм, вследствие чего она становится бугристой. В латеральной стенке левого полушария в переднем и среднем его отделах обнаружены участки удвоения корковой пластинки. Эти изменения прослеживаются на нескольких серийных срезах. Между двумя слоями удвоенной корковой пластинки может иметься микрополость, либо в ней могут находиться клеточные элементы.

Приведенные результаты исследования структуры головного мозга эмбрионов показывают, что на 8–12 неделе развития продолжается рост всех его слоев, но наиболее выражен он в области корковой пластинки. Период усиленного роста, как правило, является критическим и именно в этот период мозг более всего подвержен всевозможным влияниям. А поскольку развитие осуществляется при влиянии этанола, то вероятнее всего, происходит нарушение ориентировки клеток формирующейся коры, отклонение путей миграции нейробластов, результатом чего являются локальные удвоения коры, формирование зубцов и ниш.

2. Ультраструктурные изменения клеток мозга эмбрионов и плодов под влиянием алкоголя

При изучении мозга эмбрионов контрольной группы было установлено, что в период 7–12 недель развития мозговая ткань на ультраструктурном уровне является достаточно хорошо структурно сформированной, как в отношении клеточного состава, так и развития субклеточных структур. Выявлены нейробласты и глиобласты, а также хорошо развитые мозговые сосуды и находящиеся в процессе развития межклеточные контакты. Это подтверждает существующие в литературе данные (Соловьева Ж.В. и соавт., 1972; Соловьева Ж.В., Орловская Д.Д., 1980; Соловьева Ж.В., 1980). В дополнение к ним в настоящей работе были более подробно изучены структуры клеточного ядра, что позволило выявить целый ряд существенных особенностей.

Клеточное ядро. К числу указанных особенностей относится расширение перинуклеарного пространства с увеличением протяженности (разрастанием) внутренней и наружной ядерных мембран. В отдельных клетках были видны выросты наружной ядерной мембраны, глубоко проникающие в цитоплазму. Прослеживалась связь между этими выростами и формирующимся эндоплазматическим ретикулумом (ЭПР). В перинуклеарном пространстве между внутренней и наружной ядерными мембранами во многих клетках можно было различить сферические, типа глобул, структуры. Было выделено три типа таких образований. Глобулы 1–го типа образуются путем проникновения внутренней мембраны ядра в полость перинуклеарного пространства с последующим отделением от нее. При этом содержимым глобул является вещество ядра, окруженное частью внутренней ядерной мембраны. В местах расположения глобул 1–го типа сохраняется целостность мембраны ядра. Поровые комплексы, хорошо заметные в других участках ядерной оболочки, здесь отсутствуют. По электронной плотности содержимое глобул не отличается от содержимого карิโอплазмы. Такие глобулы располагаются обычно отдельно одна от другой, либо группами по несколько штук. Глобулы 2–го типа также располагаются в перинуклеарном пространстве, но при этом, в отличие от 1–го типа этих структур, часто имеют контакт с внутренней ядерной мембраной, примыкая к ней. Эти глобулы также содержат ядерный материал, но они имеют меньшие размеры, меньшую электронную плотность и лишены оболочки. Глобулы 3–го типа также окружены оболочкой, но она образована за счет проникновения в перинуклеарное пространство не внутренней, а наружной ядерной мембраны и последующего отделения ее с частью цитоплазмы. Последнее подтверждается тем, что в содержимом глобул могут быть обнаружены

единичные рибосомы и полисомы звездчатого типа. В одной и той же клетке в области расширенного перинуклеарного пространства могли одновременно выявляться все типы описанных глобул.

Выраженный процесс образования сферических структур был отмечен в 63% контрольных наблюдений. При этом в рамках изученных нами сроков развития эмбрионов (7–12 недель) его наличие более выражено на 8–11 неделях.

Кроме отмеченных особенностей наблюдались также, перераспределение хроматина, локальная фрагментация наружной и внутренней оболочек ядра, без выхода кариоплазмы в цитоплазму. Разрастание внутренней и наружной мембран приводили в части случаев к появлению внутриядерных мембранных включений (в основном за счет глубоких инвагинаций оболочки внутрь ядра).

При сравнении материала основной и контрольной групп было отмечено, что многие клеточные элементы эмбрионального мозга, в тех случаях, когда он развивался в организме больной алкоголизмом матери, не имели существенных отличий от нормы. Но вместе с тем имелись и достаточно выраженные количественные и качественные особенности многих структур клеток (нейробластов и глиобластов), межклеточных контактов и капилляров головного мозга. Данные представлены обобщенно по нейробластам и глиобластам, т.к. как правило соответствующие изменения встречали в обоих типах клеток.

Уже описанные выше особенности строения ядерных структур у эмбрионов 7–12 недель развития встречались в материале основной группы. Образование глобул у эмбрионов, развивающихся в организме больных алкоголизмом матерей, встречалось с той же частотой, что и в контрольной группе – соответственно в 61,5% и в 63%. Не было также каких-либо особенностей в формировании глобул, их количестве и типе, а также расположении и размерах в материале основной группы по сравнению с контрольной.

Появление описанных структурных образований в перинуклеарном пространстве и в непосредственной близости от ядерной мембраны можно объяснить и особенностями прохождения уровня срезов при подготовке материала к электронно-микроскопическому исследованию, когда в плоскость среза попадают различные по своей конфигурации неровности поверхности ядра нейробластов и глиобластов.

Что касается других показателей состояния ядра, то частота таких изменений, как перераспределение хроматина, фрагментация участков наружной и внутренней мембран ядра, изменение величины перинуклеарного

пространства встречались в основной группе достоверно чаще, чем в контроле ($p < 0,001$).

Эндоплазматический ретикулум практически одинаково развит в основной и контрольной группах. В изучаемый период развития он представлен в основном короткими канальцами с редко расположенными на их мембранах рибосомами. В целом на изученной стадии развития он еще слабо развит. Можно лишь подчеркнуть связь канальцев ЭПР с выростами наружной мембраны ядра, что является характерной особенностью клеток эмбрионального мозга. Рибосомы хорошо заметны в цитоплазме и представлены в основном элементами звездчатого типа. Они выявляются в цитоплазме нейробластов и глиобластов.

Митохондрии в основном и контрольном материале содержались в нервных клетках приблизительно в равном количестве, однако число органелл с признаками набухания было различным. Как в основной, так и в контрольной группах встречались органеллы измененной величины и формы, но без нарушения их внутренней структуры, выявлялись также частичное или тотальное набухание, изменение организации крист, изменение плотности матрикса, разрыв наружной или внутренней мембраны, фрагментация митохондрий. Если в контрольном материале преобладали палочковидные органеллы, то в основной группе увеличивалось число гантелевидных форм (они принимали такую форму за счет набухания концов митохондрий), булавовидных митохондрий (в результате локального набухания). В отдельных клетках основной группы эмбрионов присутствовали гигантские формы митохондрий, диаметром более 0,2 мкм. Изменения внутренней структуры митохондрий были более разнообразными, что выражалось в измененной организации крист в виде многоугольника, креста, кольца, появлялись вытянутые, продольно ориентированные кристы, встречающейся более чем в половине исследованных случаев. Как правило, при частичном разрушении мембран плотность матрикса органелл значительно снижалась. Фрагментация митохондрий наблюдалась редко.

Учитывая все варианты изменений можно отметить, что они в материале основной группы встречались достоверно чаще по сравнению с контролем ($p < 0,01$).

Комплекс Гольджи в отличие от всех других клеточных органелл во многих нейробластах и глиобластах был более развитым, по сравнению с нормой. Выражалось это в увеличении размеров его элементов – увеличивалось количество пузырьков, удлинялись цистерны. Форма комплекса в основном вытянутая, либо изогнутая в виде дуги. Вблизи клеточного ядра иногда можно было видеть 2–3 рядом лежащие комплекса Гольджи. По краям органелл были заметны округлые структуры с темным

содержимым диаметром 0,3–0,5 мкм, окруженные мембраной. Электронноцитохимическая реакция на кислую фосфатазу позволила идентифицировать их как лизосомы. Они определялись уже на стадии 7–8 недель развития.

В большинстве случаев основной группы (69,5%) в нейробластах и глиобластах были видны мембранные тельца, которые также давали реакцию на кислую фосфатазу. Речь идет о скрученных в спираль и плотно упакованных элементарных мембранах, которые на электроннограммах представляли собой чередование более светлых и темных полос, ширина которых составляла соответственно 5 и 3 нм. Форма этих включений была округлой или овальной, а количество образующих их мембран могло быть разным – от 1–2 до большего их числа. Большому числу мембран соответствовала и увеличенная электронная плотность мембранных структур. Количество мембран и разная степень спирализации определяли и большую или меньшую сложность мембранных структур. Внутри них нередко располагалось электронноплотное гомогенное вещество. В контрольной группе мембранные тельца встречались редко (в 10%).

Как в нейробластах, так и глиобластах встречались и мультивезикулярные тельца. Они представляли собой окруженные мембраной скопления пузырьков различной величины (от 50 до 90 нм в диаметре). Форма телец была округлой, либо вытянутой. Количество пузырьков варьировало от 5–7 до нескольких десятков в плоскости среза. Располагались мультивезикулярные тельца, как правило, на периферии цитоплазмы, часто встречались и в отростках клеток. Пузырьки этих образований светлые, окруженные мембраной, расположенные либо плотно друг к другу, либо на некотором расстоянии, в зависимости от их количества в образованиях. В основной группе они имелись в 43,5% случаев, в контрольной – в 6,6%.

Более типичными для мозга эмбрионов, полученных от больных алкоголизмом матерей, было наличие в них гранул липофусцина. Он в развивающихся нейробластах и глиобластах был представлен достаточно большими, до 1–3 мкм гранулами высокой электронной плотности, окруженными мембраной. Гранулы обычно располагались в цитоплазме вблизи ядра, часто заполняя собой большую часть цитоплазмы. В скоплениях гранул можно видеть отдельные более светлые или более темные включения. Характерным для них является наличие темных участков, располагающихся на периферии гранул в виде точек. В плоскости ультратонкого среза количество гранул липофусцина варьировало от 2–5 до нескольких десятков, причем величина и форма их была весьма разнообразной. Встречались округлые, зубчатые структуры, либо образования в виде кленового листа или

бутона. Появление липофусцина было отмечено нами в 13,3% случаев основной группы, но он не встречался в контрольной выборке.

Некоторые особенности в основной группе эмбрионов имела также плазматическая мембрана, на протяжении которой определялось нарушение ее непрерывности (в литературе для обозначения таких изменений используется термин «пунктирность»), но без выхода содержимого цитоплазмы за пределы клетки. Аналогичные изменения были нами отмечены и со стороны внутриклеточных мембран (эндоплазматический ретикулум, митохондрии, ядерная мембрана).

Межклеточные контакты. Проведенное нами исследование подтвердило данные литературы (Боголепов Н.Н. и соавт., 1987–2000), что развитие межклеточных контактов в мозге человека начинается с несинаптических форм соединений.

Доказательством этому служит наличие многочисленных соединений между клетками, которые относятся к десмосомовидным, наиболее распространенным в мозгу 7–недельных эмбрионов. Различаются контакты между собой характером расположения парамембранного электронноплотного материала на контактирующих мембранах. Первый вариант – парамембранные утолщения симметричны и синаптическая щель имеет одинаковую ширину на всем протяжении контакта. Электронноплотный материал имеет форму двух прямоугольников, вытянутых вдоль щели. Второй вариант – при аналогичном расположении всех составляющих компонентов контакта, парамембранные уплотнения обеих мембран имеют неровный контур. Контакты этого типа обнаружены нами между телами клеток (сома–соматические), между телом клетки и отростками (соматодендритические), а также между отростками клеток (дендро–дендритические, аксо–дендритические).

В более поздние сроки развития, начиная с 8–й недели, указанных типов соединений становится меньше, но одновременно появляются контакты, в одной из контактирующих зон которых появляются везикулярные элементы. Синаптические пузырьки, как правило, имели округлую форму, светлый центр, и диаметр их составлял около 40 нм. Ширина щели таких незрелых везикулярных синапсов имела размер около 20 нм. В пресинаптических отделах выявлялись плотные проекции, являющиеся специализированными образованиями синаптического цитоскелета, протяженность которых достигала 0,1–0,15 мкм. Появление одиночных синаптических пузырьков вблизи пресинаптической мембраны мы считаем переходным этапом от синаптоидных контактов (авезикулярных) к истинно синаптической их форме. В целом такие синапсы можно назвать функционально

компетентными. Они располагаются уже преимущественно в области нижней границы промежуточного слоя коры головного мозга.

На стадии развития 10–12 недель количество синапсов с относительно зрелой структурой увеличивается. С большей вероятностью их можно было обнаружить как на границе вентрикулярного и промежуточного слоев (маргинальный слой), так и в промежуточном слое нервных клеток. На этой стадии синаптические контакты имеют все необходимые компоненты, отличаясь от синапсов зрелого мозга меньшим числом синаптических пузырьков. Все описанные выше особенности свойственны как контрольной, так и основной группам эмбрионов.

На материале, полученном от женщин, больных алкоголизмом, установлено замедление формирования синаптических структур. Если формы несинаптических соединений по частоте и структуре не отличались от контрольных, и десмосомовидные контакты различной структуры и немногочисленные щелевидные соединения в этом мозге достаточно распространены, то везикулярных синапсов было значительно меньше. Даже при полностью сформированной структуре синаптического соединения появление синаптических пузырьков в них запаздывает по сравнению с контролем, как правило, меньшей была и площадь активной зоны синапса.

Для компьютерно–морфометрического анализа электронные микрофотографии синапсов эмбрионального мозга были подразделены на четыре группы, соответственно сроку развития эмбрионов: 1 группа – сроки развития 7–8 нед., 2 группа – 9–10 нед., 3 группа – 10–11 нед. и 4 группа – 11–12 нед. Соответствующее разделение производили в контрольной и основной изучаемых группах эмбрионов.

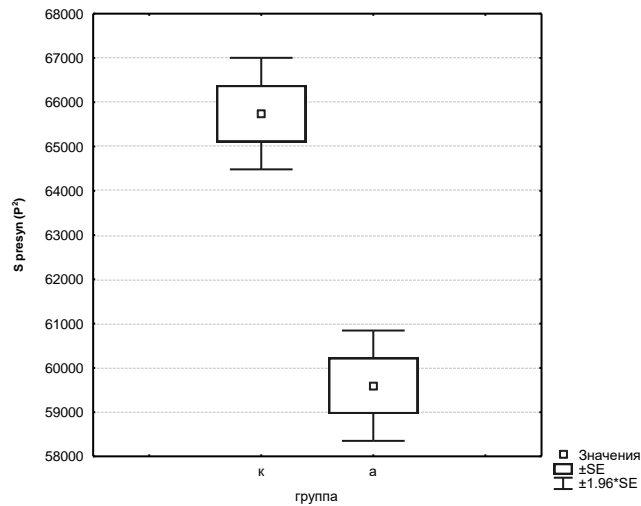
Были проанализированы следующие параметры синапсов: 1 – периметр пресинаптической терминали, 2 – площадь пресинаптической терминали и 3 – длина срезов постсинаптического уплотнения. Соответствующее разделение производили в контроле и основной изучаемой группах эмбрионов (см. рис. 1, 2, 3, 4).

Анализ морфометрических показателей синапсов был начат с общей оценки контрольной и опытной групп. Сравнивая суммарные показатели периметра пресинаптических терминалей, площади пресинаптических терминалей и длины постсинаптических уплотнений, были обнаружены значительные различия изученных параметров. Различия состояли в достоверном ($P < 0.01$) снижении всех параметров развивающихся синаптических соединений в опытной группе по сравнению с группой

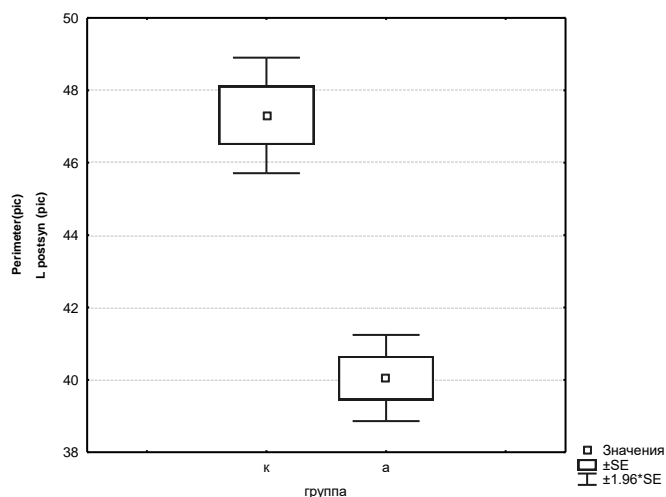
Рис.1. Статистический анализ суммарных морфометрических показателей периметра, площади пресинаптических терминалей, длины постсинаптических уплотнений контрольной и основной групп.

контроля.

Затем был произведен более детальный анализ параметров синапсов с учетом срока развития эмбрионов и плодов. Первая группа, 7–8 недель развития, оказалась наиболее трудной для анализа, поскольку к этому сроку развития, как уже было указано, количество синаптических соединений



весьма невелико. Результаты исследования показали, что на 7–8 неделе развития длина постсинаптического уплотнения была наименьшей в изучаемых группах, различия статистически недостоверны ($p > 0,1$). Недоступной для анализа в указанной группе оказались периметр пресинаптической терминали и ее площадь, т.к. к этому сроку развития пресинаптический отдел синаптических соединений локализуется, как правило, на крупных дендритах.



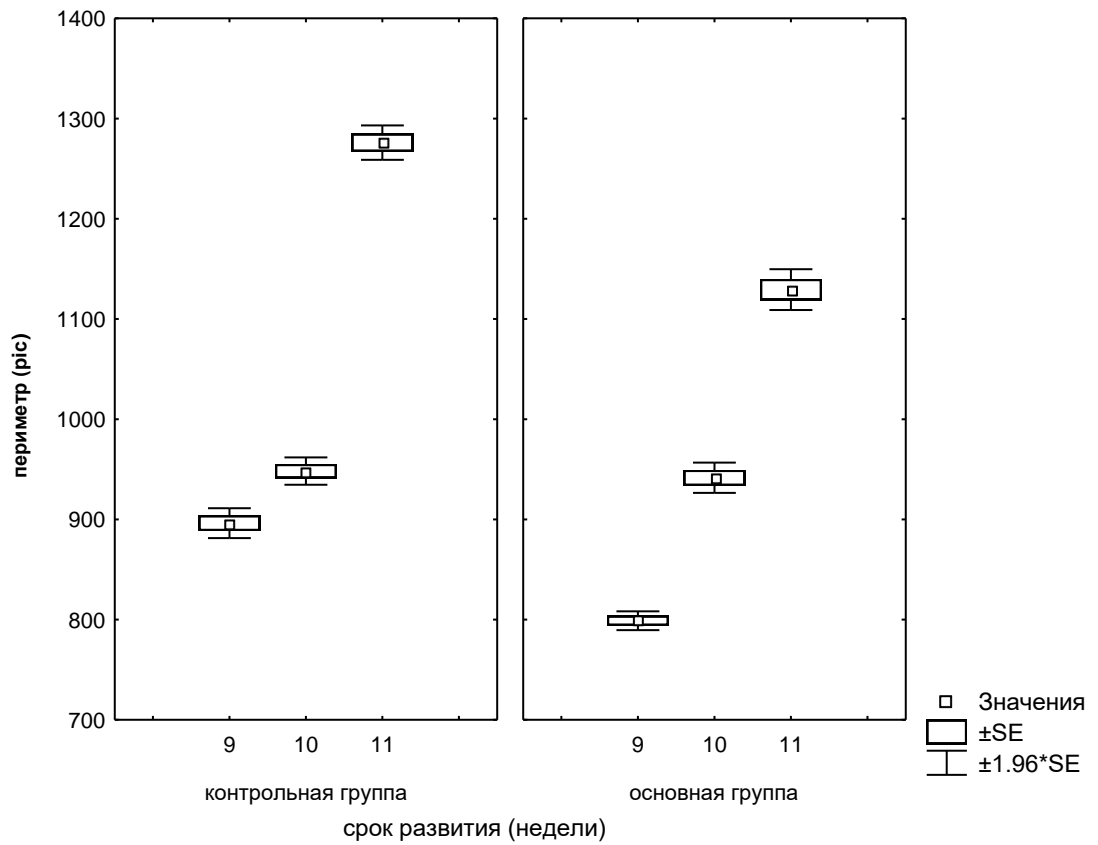


Рис.2. Статистический анализ морфометрических показателей периметра пресинаптических терминалей в контрольной и основной группах по неделям развития.

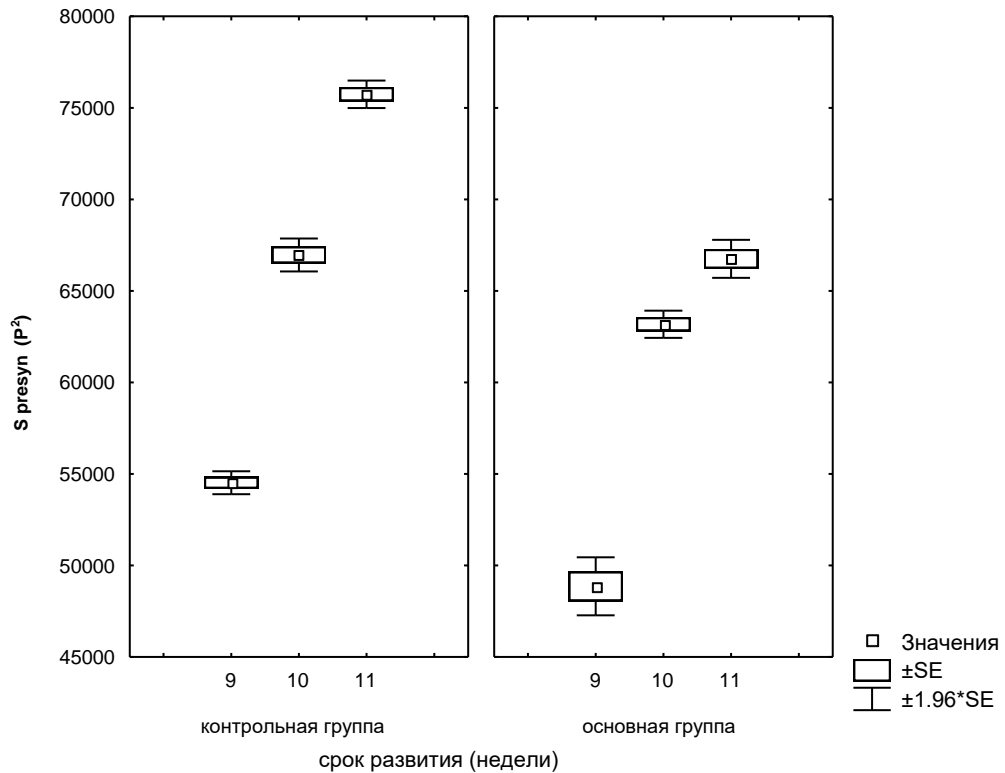


Рис.3. Статистический анализ морфометрических показателей площади пресинаптических терминалей в контрольной и основной группах в динамике развития.

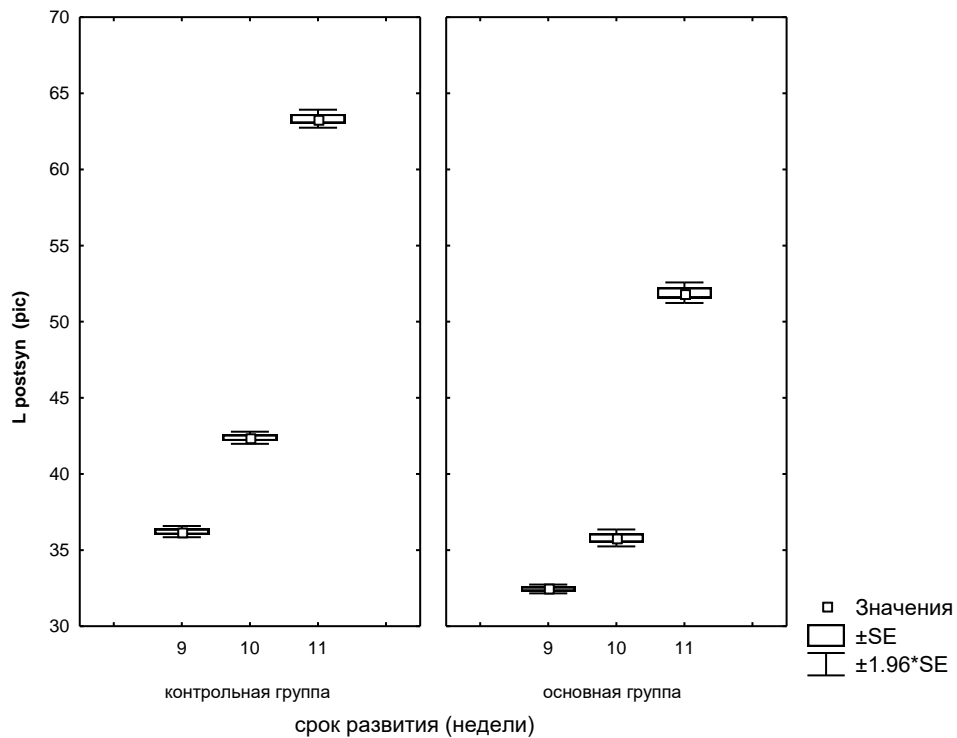


Рис.4. Статистический анализ морфометрических показателей длины постсинаптических уплотнений в контрольной и основной группах в динамике развития.

Таким образом, на стадии 7–8 недель развития нами выявлены незначительное уменьшение длины постсинаптических уплотнений в опытной группе, но эти различия не достигают уровня значимости.

Вторая группа, 9 недель развития, характеризовалась рядом особенностей, по сравнению с первой. Синаптические соединения в этом периоде более структурированы и встречались чаще, особенно на верхней границе промежуточного слоя. Длина постсинаптических уплотнений периметр и длина пресинаптических терминалей в контрольной и основной группах различались статистически достоверно ($p < 0,01$). Различия значений площади, измеренные для пресинаптической терминали в контрольной и основной группах, также оказались достоверными ($p < 0,01$).

Таким образом, количественные параметры синаптических соединений на 9-й неделе развития в основной и контрольной группах отличаются достоверно, причем в опытной группе показатели немного ниже, что повторяет тенденцию, выявленную при анализе предыдущей группы. По нашим данным, алкоголь в этот период развития оказывает модифицирующее влияние на становление межклеточных взаимосвязей.

При изучении следующей группы, 10 недель развития, также наблюдались отклонения в сторону уменьшения значений морфометрических параметров в основной группе по сравнению с контрольной. В этой группе отмечено уменьшение длины постсинаптических уплотнений и площади пресинаптических терминалей ($p < 0,01$). Количественные параметры периметра пресинаптических терминалей не отличались от контрольных значений.

В группе 11–12 недель развития выявлены достоверные отличия морфометрических параметров длины постсинаптических уплотнений синаптических контактов ($p < 0,01$), уменьшение площади пресинаптической терминали в основной группе исследования ($p < 0,01$), а также периметра пресинаптических терминалей ($p < 0,01$).

Кроме количественных показателей, было обращено внимание на то, что большинство проанализированных синапсов в сроки развития 11–12 недель были представлены аксодендритическими положительно изогнутыми синапсами с небольшим количеством синаптических пузырьков и одиночными митохондриями в пресинаптических отделах синапсов.

Таким образом, в результате компьютерно–морфометрического анализа, мы выявили задержку развития синапсов и их структурную незрелость, которая, вероятно, связана с прямым действием алкоголя на нервные клетки, в первую очередь за счет его мембранотропного действия. Следствием этого являлось «разжижение» структуры элементарных мембран, а поврежденные мембраны в меньшей степени способны устанавливать прочные контакты друг

с другом, что, вероятно, связано также и со сниженной способностью клеток, находящихся в постоянном контакте с этанолом, синтезировать медиаторы, наполняющие синаптические пузырьки. Это существенно нарушало формирование нейрональных механизмов, лежащих в основе восприимчивости и обработки информации, что в свою очередь может неблагоприятно сказываться на психической деятельности индивида.

Сосуды эмбрионального мозга. К 7-й неделе развития стенка капилляров состоит из клеток эндотелия, в это же время появляется материал базальной мембраны. Сами клетки имеют большое ядро и обильную цитоплазму, которая довольно хорошо дифференцирована, имея митохондрии, комплекс Гольджи, ЭПР и мелкие пузырьки. В более поздние сроки развития изменения эмбриональных сосудов идут в направлении формирования более плотной базальной мембраны и истончения эндотелиальных клеток.

Проследивая развитие капилляров в норме и у эмбрионов, подвергшихся воздействию алкоголя, можно заметить, что формирование структуры капилляров по сравнению с нормой не изменено. Как в том, так и в другом случаях поверхность эмбриональных эндотелиоцитов остается достаточно гладкой без значительных выбуханий этих клеток в просвет сосудов, просвет которых остается свободным. Не выявлено также различий во времени появления и структуре базальной мембраны капилляров. Все эти факты указывают на хорошую сохранность клеточных и неклеточных элементов сосудов, что создает основу для выполнения ими своих функций.

Количественное компьютерно-морфометрическое исследование сосудов позволило установить ряд особенностей, которые отличают ткань развивающегося мозга в условиях алкоголизации (см. таблицу 1).

На основании проведенного компьютерно-морфометрического анализа развития капилляров эмбрионального мозга в условиях пренатальной алкоголизации нами установлено, что влиянию пренатальной алкоголизации наиболее подвержены сосуды головного мозга эмбрионов 11-и недель развития. Это выразилось в снижении средней площади сосуда, увеличении их количества на единицу площади и уменьшении периметра сосудов мозга. Как известно, один из механизмов действия алкоголя – способность вызывать спазм сосудов пуповины и, как следствие, гипоксию плода, приводящую к замедлению роста и развития, наблюдаемому при алкогольном синдроме плода. Поскольку ткань мозга в условиях пренатальной алкоголизации также подвержена гипоксии, то для компенсации этого состояния в мозге происходит увеличение количества сосудов на единицу площади ткани, однако, при уменьшении их периметра и средней площади.

Таблица 1.

Показатели площади и периметра сосудов мозга в исследуемых группах в динамике с 10–й по 12–ю недели внутриутробного развития

Исследуемая группа	Контрольная группа			Основная группа			
	Срок	10 неделя n=3 M±m	11 неделя n=3 M±m	12 неделя n=3 M±m	10 неделя n=3 M±m	11 неделя n=3 M±m	12 неделя n=4 M±m
Показатель							
Средняя площадь сосудов, (мкм ²)		45,61± 0,81**	65,73± 2,77	59,25± 5,38	49,08± 2,61	51,82± 3,07*	48,26± 1,67
Относительная площадь сосудов в ткани мозга, (%)		0,79±0,11	1,26±0,11	1,38±0,2	1,02± 0,34	5,96± 1,003*	7,59± 1,44*
Количество сосудов на единицу площади 1 мкм ²		0,00017± 0,000023	0,000189 ± 0,000013	0,00023± 0,000025	0,000214± 0,000078	0,001137 ± 0,000189 *	0,000624 ± 0,000314 *
Периметр сосудов, (мкм)		349,44± 18,24	492,71± 34,28	269,83± 26,0	340,58± 35,87	292,20± 16,87*	244,69± 16,41

Примечание: * – достоверные отличия по сравнению с контролем (p<0.05).

** – достоверные отличия параметров по сравнению с таковыми на 11,12 неделях в контроле (<0.01).

Таким образом, при ультраструктурном изучении мозговой ткани эмбрионов, развивающихся в организме больных алкоголизмом матерей, было установлено, что на фоне общего соответствующего исследованному сроку развития мозговых структур (наличие нейробластов и глиобластов с достаточно сформированной внутренней структурой, межклеточных контактов) выявляется ряд нарушений со стороны субклеточных структур. Наиболее важным из них является задержка развития межклеточных контактов везикулярного типа, большая частота различных типов изменений ядра и митохондрий, усиленное развитие комплекса Гольджи, появление лизосом и липофусциновых гранул.

При сопоставлении результатов контрольного и основного материала мы обращали внимание на то, чтобы дифференцировать изменения, возникающие как результат развития, от тех, которые являются следствием воздействия алкоголя на мозг эмбриона.

Одним из первых феноменов, заставивших обратить на себя внимание, были встречающиеся в материале из основной группы участки мембран с нарушенной структурой. Эти участки могли располагаться как на

поверхности плазматической мембраны, так и на мембранах органелл клеток эмбрионального мозга. Изменения плазматической мембраны и внутренних мембранных систем при алкоголизме матери мы связываем с возможностью прямого и непрямого действия алкоголя на изучаемые мембраны – в организме матери мембраны клеток испытывают дестабилизирующее действие на липидный слой, причем следствием этого является увеличение «текучести» мембран и появление возможности для увеличения ее проницаемости (Altura V.M., et al., 1982; Gomez R.A., et al., 1992; Varinaga M., 2000; Бохан Н.А., Прокопьева В.Д., 2004).

Указанные повреждения мембран были нами обнаружены и при исследовании митохондрий. Кроме этих изменений необходимо остановиться на отличительных особенностях митохондрий клеток из основной группы эмбрионов, таких как наличие многочисленных органелл с элементами набухания. Объяснение их появления вытекает из мембранотропного влияния этанола, причем митохондрии являются весьма чувствительными к этому воздействию, также как и к недостатку кислорода (Лазричев И.А., 1980; Семченко В.В., Степанов С.С., 1982, 1987; 1997, 1997, 1994; Семченко В.В. и соавт., 1984, 1995). Накопление поврежденных таким образом митохондрий приводит к снижению энергообеспеченности роста и дифференцировки клеток, что отражается на синтетических процессах. В условиях гипоксии нарушаются процессы выработки энергии в митохондриях за счет их частичного разрушения (Naorah J., Knipe B., Leibhart J., et al., 2005).

Как отмечалось, нами отмечено появление увеличенного количества мембранных телец в нейробластах и глиобластах эмбрионов основной группы. Описан также случай, в котором мембранные тельца встречались практически во всех клетках промежуточного слоя мозга. Необходимо остановиться на появлении большого разнообразия мембранных телец, что выражается в сложности их структурной организации. Анализируя материал, мы пришли к выводу, что все многообразие организации этих структур может отражать последовательный процесс созревания мембранных телец. Основанием для этого служат следующие факты: увеличение степени спирализации структур в динамике созревания; увеличение электронной плотности при уплотнении расположения мембран, а также тот факт, что в одной и той же клетке вполне возможно одновременное обнаружение мембранных структур с разной степенью спирализации – от 2–3–спиральных до 10–20–спиральных включений. На уплотненных мембранах зрелых мембранных телец располагается фермент кислая фосфатаза, что служит косвенным признаком происхождения этих структур либо из комплекса Гольджи, либо их предшественниками являются лизосомы, в которых мы

также выявили кислую фосфатазу. Усиленное образование мембранных телец мы связываем не с деструктивным действием повреждающих факторов, а с повышением активности клеточного метаболизма, выражающейся в ускоренном развитии внутренних мембранных систем клетки.

В нашем случае степень деструктивных изменений клеточных органелл невелика, а если судить по активности мембранных компонентов ядра и комплекса Гольджи, то заметна и пролиферативная составляющая процесса воздействия этанола. В этом случае необходимо признать, что взаимодействие этанола и мембран не столь просто и не исчерпывается только физико–химическими изменениями.

Обнаруженный нами факт полной сохранности мембран клеток, имеющих отношение к системе сосудов, таких как эндотелиоциты, еще более усложняет объяснение взаимодействия этанола и мембран, а также систем мембран. Именно поверхность эндотелия сосудов мозга первой встречается с находящимся в крови этанолом, легко проникающим через гемато–энцефалический барьер (Kusch–Poddar M., Drewe J., Fux I., et al., 2005; Kim J.H., Park J.A., et al., 2006; Burd L., et al., 2007). Логично было бы предположить и достаточно хорошо выраженный эффект воздействия алкоголя на мембраны эндотелия, через который он проникает в клетки мозга. Однако эти предположения не оправдываются – структура плазматической мембраны, а также внутриклеточных мембранных систем имеют хорошую сохранность, причем даже легкоранимые мембраны митохондрий не имеют явных участков повреждения. Вероятнее всего при наличии достаточного количества кислорода, доставляемого кровью, степень выраженности воздействия этанола на мембраны снижается, что может быть связано с возможностью клетки быстро запускать регенеративные процессы и ликвидировать поврежденные участки. Наличие хорошо выраженных органелл, свидетельствующих об усиленной работе синтетических механизмов, поддерживает это предположение.

Момент появления, степень развитости и структура базальной мембраны сосудов по большинству параметров не имеют отличий в контрольном материале и материале основной группы эмбрионов. Это позволяет сделать вывод об устойчивости мембранных систем клеток сосудов к мембранолитическому действию этанола на ранних стадиях развития. Этого действия также не заметно при анализе ширины просвета сосудов, которая независимо от материала была вполне достаточной для прохождения эритроцитов и других форменных элементов крови по сосудам. Не наблюдалось также и стимулирующего действия этанола на развитие отдельных компонентов и систем сосудов эмбрионального мозга, доступных

для исследования, что подчеркивает отсутствие активной реакции мембранных систем на воздействие этанола.

Однако, морфометрические исследования привели к заключению о модифицирующем действии алкоголя на характер васкуляризации мозга. Нами установлено, что влиянию пренатальной алкоголизации наиболее подвержены сосуды головного мозга эмбрионов 11–и недель развития. Это выражалось в снижении средней площади сосудов, увеличении их количества на единицу площади и уменьшении периметра сосудов мозга. Как известно, один из механизмов действия алкоголя – способность вызывать спазм сосудов пуповины и, как следствие, гипоксию плода, приводящую к замедлению роста и развития, наблюдаемому при алкогольном синдроме плода. Поскольку ткань мозга в условиях пренатальной алкоголизации также подвержена гипоксии, то для компенсации этого состояния в мозге происходит увеличение количества сосудов на единицу площади ткани, однако, при уменьшении их периметра и средней площади, что отмечали и другие исследователи (Nanka O., Valasek P., Dvorakova M., et al., 2006). Интересным является факт обнаружения достоверного снижения средней площади сосудов в ткани мозга контрольной группы на 10–й неделе развития, причем такая же тенденция имеет место и в основной группе, но различия показателей средней площади сосудов не достигают уровня значимости. По времени это совпадает с началом дифференцировки сосудов стенки мозга на артериолы и вены.

Следует отметить, что исследователи посмертных изменений сосудов головного мозга в результате острого отравления алкоголем указывают на уменьшение диаметра капилляров, что объясняют выявленным падением тонуса церебральных артерий и снижением давления крови, поступающей в микроциркуляторное русло. В то же время число этих сосудов на стандартной площади растет. Последнее, видимо, связано с раскрытием резервных капилляров и должно рассматриваться как компенсаторная реакция церебральной сосудистой системы на отравление этиловым спиртом (Шорманов С.В., Шорманов Н.С., 2004).

Таким образом, можно заключить, что влияние этанола на мембранные структуры клеток, находящихся в разных регионах стенки мозга, различно и обладает избирательностью: в то время как в нейробластах и глиобластах оно достаточно выражено, в эндотелиоцитах это влияние отсутствует. Сходным же образом можно оценить и реакцию нейропиля, в частности дендритов и аксонов, на воздействие тех доз алкоголя, которые достигают уровня клеток стенки мозга. Как указывалось в предыдущей главе, степень повреждения этих образований минимальна и отмечена только на уровне микротрубочек и нейрофиламентов. Это свидетельствует о том, что влияние этанола на

отростки клеток выражается, скорее всего, на процессах транспортировки веществ к окончаниям отростков. Это предположение подтверждается тем, что выяснено при изучении структуры синаптических образований, причем тех, которые относятся к везикулярному типу. Было показано, что при сравнении степени функциональной зрелости синаптических контактов в норме и при алкоголизме матери, выявляется задержка их развития в тех клетках, которые были подвержены воздействию этанола. По-видимому, оно сказывается именно на времени появления синаптических пузырьков из-за нарушения процессов транспорта активных веществ, содержащихся в пузырьках. Анализируя развитие синаптических контактов, необходимо обращать внимание и на состояние пре- и постсинаптических мембран. Как показали морфометрические исследования, влияние алкоголизации сказывается на развитии важных, с точки зрения структурной организации синапса, его частей – уменьшается периметр и площадь пресинаптической терминали. Это еще раз может подчеркнуть сниженную способность данных синапсов участвовать в передаче импульсов, адресованных соседним клеткам. Вполне логичным является в этой ситуации уменьшение протяженности постсинаптических уплотнений. Необходимо отметить, что сходные нарушения развития синаптических контактов наблюдали и другие исследователи, о чем идет речь в статье Р.А. Yanni и Т.А. Lindsley (2000), выполненной на культуре ткани гиппокампа при внесении в нее раствора этанола. Авторы показали, что внесение этанола в культуру ткани приводило к уменьшению длины дендритов клетки, количества дендритов клетки и количества синапсов на дендритах, но не влияли на выживание клетки. В отличие от результатов, полученных Р.А. Yanni и Т.А. Lindsley, в наших исследованиях не отмечено снижение длины дендритов, однако, синапсы изменялись сходным образом.

Поскольку несинаптические формы контактов развивались практически одновременно в контрольном материале и в основной группе, можно заключить, что этанол не оказывает воздействия на эти структуры, или они не могут быть выявлены используемыми нами методами.

Таким образом, анализ механизмов воздействия этанола на клетки и субклеточные структуры позволяет сделать предположение, что наиболее значимые процессы происходят на границах раздела, т.е. на мембранах. На пути к нервным клеткам этанолу необходимо преодолеть как минимум три границы. Первая – это мембраны клеток эндотелия сосудов; вторая – мембраны глиальных клеток и их сосудистых ножек; наконец, третья – мембраны нейронов. Попав в клетку и став составной частью вещества цитоплазмы, этанол взаимодействует с мембранами органелл и включается в метаболизм самой клетки. Основные метаболические процессы,

направленные на поддержание гомеостаза клетки, происходят в комплексе Гольджи. Он своеобразно реагирует на воздействие этанола – его размеры увеличиваются, повышается также и число составляющих его элементов – эти изменения отражают ускоренное развитие этой органеллы в условиях алкоголизации.

Отражается присутствие алкоголя в клетках и на процессе синаптогенеза. Появление измененных синапсов и задержку их развития мы связываем с активным воздействием алкоголя на нервные клетки, в первую очередь за счет его мембранотропного действия, которое приводит к увеличению проницаемости элементарных мембран (Бохан Н.А., Прокопьева В.Д., 2004). Поврежденные мембраны в меньшей степени способны устанавливать прочные контакты друг с другом, что связано, в том числе, и со сниженной способностью клеток, находящихся в постоянном контакте с этанолом, синтезировать медиаторы. Это существенно нарушает формирование нейрональных механизмов, лежащих в основе восприимчивости и обработки информации.

Динамика активности ацетилхолинэстеразы в образованиях переднего мозга

В срезах хвостатого, латерального септального и прилежащего (аккумбенс) ядер фотометрировали нейропилы, а в диагональной полоске Брока – нейроны.

Результаты исследования представлены в таблице 2.

Из приведенных данных видно, что активность АХЭ у животных, родившихся от алкоголизированных самок, в ее количественном выражении и общей динамике изменений по большинству структур в срок от 5 до 30 дней не отличается от соответствующих контрольных показателей – в этот период происходит нарастание ферментной активности. Исключение составляют лишь прилежащее ядро и диагональная полоска Брока. В первом случае имеет место отставание показателей активности АХЭ от контроля на 5-й день, а во втором – на 20-й, когда в контроле отмечается максимум этой активности. Однако в дальнейшем происходило постепенное увеличение активности АХЭ, и к 30-му дню она не отличалась от показателей в контроле. Употребление алкоголя самками до зачатия, а также в течение беременности, т. е. достаточно длительное время (3 – 5 мес), влияет на становление АХЭ в структурах мозга незначительно, и его действие проявляется лишь в некоторых из них. К числу последних относятся прилежащее ядро и диагональная полоска Брока, где в ранние сроки (5-й и

Таблица 2

Активность АХЭ (единицы оптической плотности) в разных структурах мозга контрольных (К) и родившихся от алкоголизированных самок (А) крыс

День	Структура мозга							
	Хвостатое ядро		Латеральное септальное ядро		Прилежащее (аккумбенс) ядро		Диагональная полоска Брока	
	К	О	К	О	К	О	К	О
5-й	63,26 ± 14,30	87,0 ± 13,4	46,1 ± 16,43	38,3 ± 10,16	58,96 ± 2,54	39,47 ± 5,73 *	–	–
10-й	–	–	–	–	75,38 ± 11,26	73,75 ± 17,69	252,56 ± 15,54	243,17 ± 8,68
15-й	157,1 ± 36,62	141,4 ± 26,55	51,9 ± 5,91	55,4 ± 4,42	–	–	272,46 ± 37,37	254,43 ± 33,04
20-й	196,78 ± 12,38	194,98 ± 7,74	97,80 ± 9,08	90,58 ± 7,42	101,73 ± 12,13	100,69 ± 11,43	350,22 ± 9,50	322,47 ± 7,91*
30-й	198,20 ± 12,27	202,73 ± 12,76	65,37 ± 5,1	72,1 ± 2,64	100,93 ± 6,24	104,94 ± 7,90	320,76 ± 18,34	322,76 ± 11,57

Примечание: звездочкой отмечены достоверные ($P < 0.05$) различия по сравнению с контролем. К – контрольная группа, О – опытная группа животных.

20-й дни соответственно) отмечалось отставание изменений активности АХЭ по сравнению с контролем.

Особенностью наших наблюдений является быстрое возвращение указанных отклонений к норме. Таким образом, показано, что интенсивная алкогольная интоксикация самок крыс до и во время беременности может вызвать у их потомства временно наступающее отклонение в активности АХЭ в некоторых структурах мозга. Это ставит вопрос о проведении соответствующего скрининга и других структур мозга, прежде всего тех, которые при алкогольной эмбриопатии поражаются особенно часто.

Отмеченные сдвиги, относящиеся к становлению обмена медиаторов в ЦНС, представляют интерес, так как они могут быть основой тех случаев дизонтогенеза мозга, которые клинически проявляются не органическими дефектами, а различной степенью выраженности изменениями поведения.

ВЫВОДЫ

1. Алкоголизм матери и продолжающееся употребление алкоголя во время беременности является причиной дизонтогенеза корковой пластинки головного мозга легкой, умеренной и тяжелой степени у плодов 9–12 недель развития, что проявляется возникновением в ее структуре зубцов, каверн и ниш, а также участками удвоения и изменением толщины в результате нарушения миграции нервных клеток.

2. Патологическое влияние алкоголя на развитие мозга эмбрионов и плодов при алкоголизме матерей выявляется на фоне соответствующего изучаемому периоду развития уровня дифференцировки ткани мозга: определяются нейробласты и глиобласты с полным набором цитоплазматических органелл, имеются межклеточные контакты различного типа и степени зрелости, а также сформированы капилляры мозга.

3. Пренатальное влияние алкоголя на мозг выражается комплексом ультраструктурных изменений, качественно и количественно отличающих мозг эмбрионов и плодов, развивающихся в организме больной алкоголизмом матери, от таковых в норме. Этот комплекс включает изменения функционального и пролиферативного характера, а также элементы ускоренного развития.

Первый компонент включает в себя различные по степени выраженности изменения ядра, митохондрий и включений. К элементам пролиферативного характера относятся увеличение протяженности внутренней и наружной ядерных мембран с образованием выростов, появление внутриклеточных мембранных структур с образованием многочисленных мембранных телец. Ускоренное созревание органелл относится к комплексу Гольджи, который в клетках эмбрионов от больных алкоголизмом матерей более развит, чем в соответствующем материале контрольной группы.

4. Для изучавшейся стадии развития мозга эмбрионов и плодов характерна морфологически выявляемая связь процессов, происходящих в ядре и цитоплазме нервных и глиальных клеток: появление в перинуклеарном пространстве различного типа сферических образований с последующим их проникновением в цитоплазму с помощью выростов ядерной мембраны. Эти особенности характеризуют как мозг эмбрионов от больных алкоголизмом матерей, так и контрольные наблюдения.

5. Отличительной особенностью развивающихся клеток мозга при алкоголизме матери является накопление гранул липофусцина в клеточных элементах, что свидетельствует о существенном изменении метаболизма.

6. Алкоголь, воздействующий на плод в период беременности, замедляет образование синаптических контактов на 9–12 неделях развития, вызывая

снижение длины постсинаптических уплотнений, уменьшение периметра и площади пресинаптической терминали.

7. Алкоголь, действующий на мозг в пренатальном периоде, не влияет на время появления и структуру капилляров мозга, но изменяет характер васкуляризации мозга за счет увеличения числа капилляров на единицу площади, снижения их периметра и площади.

8. Алкоголизация материнского организма в условиях эксперимента приводит к снижению уровня активности ацетилхолинэстеразы в образованиях переднего мозга новорожденных крыс (прилежащем ядре и диагональной полоске Брока).

9. Обнаруженные проявления повреждающего действия алкоголя на ультраструктуру клеточных элементов мозга в период их продолжающейся дифференцировки являются структурной основой нарушения формообразования мозговых структур и разного рода аномалий, определяющих в дальнейшем нарушения психического развития и поведения больных.

Практические рекомендации

1. Результаты настоящего исследования рекомендуется использовать в качестве информационных при проведении плановой диспансеризации женщин детородного возраста и беременных, имеющих пристрастие к алкоголю и другим психоактивным веществам, с целью профилактики возможных неблагоприятных последствий их пагубной привычки для психического здоровья детей.
2. Учитывая высокую вероятность появления структурных и функциональных нарушений мозга у потомства в результате алкоголизма матери или употребления женщинами алкогольных напитков в период беременности, необходимо рекомендовать полный отказ от приёма алкоголя на протяжении всей беременности, обратив особое внимание на период 3-8 недель, когда у плода формируются закладки всех систем органов, в том числе нервной системы.
3. Результаты, полученные в настоящей работе, необходимо рекомендовать к изучению на кафедрах гистологии, цитологии, эмбриологии, морфологии и наркологии при рассмотрении тем, связанных с развитием нервной системы и влиянием экзогенных факторов на структурные основы функционирования мозга.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Ковецкий, Н.С. Формирование синапсов головного мозга эмбрионов в норме и при алкоголизме матери / Н.С. Ковецкий, А.В. Солонский, Е.Г. Ярыгина // Журнал невропатологии и психиатрии.– № 2.– 1991.– С.91–93.
2. Ковецкий, Н.С., Дизонтогенез головного мозга потомства матерей, употреблявших алкоголь в период беременности / Н.С. Ковецкий, Г.В. Коновалов, Д.Д. Орловская, В.Я. Семке, А.В. Солонский // Журнал невропатологии и психиатрии.– № 10.– 1991.– С.58–62.
3. Солонский, А.В. Состояние дендритов и аксонов нейро–глиальных элементов эмбрионального головного мозга человека в норме и при алкоголизме матери / А.В. Солонский // Психическое здоровье. Региональные аспекты.– Владивосток, 1992.– С.271–273.
4. Солонский, А.В. Сопоставление изменений ультраструктуры эмбриональных клеток мозга при алкоголизме матери и других психических заболеваниях / А.В. Солонский // Профилактика нервно–психических заболеваний Томск, 1993.– С.201–203.
5. Ковецкий, Н.С. Патология головного мозга плодов, полученных от матерей, употреблявших алкоголь в период беременности / Н.С. Ковецкий, А.В. Солонский, Т.Л. Моисеева // Актуальные вопросы психиатрии.– Томск, 1993.– С. 36–39.
6. Солонский, А.В. Динамика структурных и биохимических изменений синапсов и синаптических рецепторов развивающегося головного мозга эмбрионов человека в норме и при алкоголизме матери / А.В. Солонский, Т.В. Шушпанова // Региональные аспекты современной аддиктологии.– Томск.– 1994.– С.113–116.
7. Солонский, А.В. Ультраструктурные нарушения при воздействии этанола *in vivo* и *in vitro* / А.В. Солонский, Т.Н. Мельникова // Региональные аспекты современной аддиктологии.– Томск.– 1994.– С.87–90.
8. Солонский, А.В. Нейроморфологические особенности эмбриональных клеток головного мозга при алкоголизме матери и культивировании нервной ткани / А.В. Солонский, Т.Н. Мельникова, Н.С. Ковецкий // Современные аспекты эндогенной и экзогенно–органической патологии.– Томск, Кемерово, 1995.– С.143–147.
9. Ковецкий, Н.С. Нарушения развития головного мозга плодов, полученных от матерей, употреблявших алкоголь в период беременности / Н.С. Ковецкий, А.В. Солонский, Т.Л. Моисеева // Журн. неврологии и психиатр.– 1995.– №3.– С.58–63.

10. Солонский, А.В. Влияние алкоголизации матери на ультраструктуру коры головного мозга эмбрионов / А.В. Солонский / Сибирский вестник психиатрии и наркологии.– Томск, 1996.– № 2.– С.75–77.
11. Солонский, А.В. Комплекс нейроморфологических параметров при алкогольном синдроме плода как проявление алкогольной эмбриопатии мозга. / А.В. Солонский, Н.С. Ковецкий // В сб.: Современные технологии психиатрического сервиса, 1997.– С.110–111.
12. Solonskii, A.V. Alcohol-induced alterations of human embryos brain synapses / A.V. Solonskii // Biological psychiatry.–1997.–V.42.– №1.– P.33.
13. Солонский, А.В. Применение количественной оценки параметров для изучения синаптогенеза / А.В. Солонский, А.В. Данилец, К.Г.Языков // Актуальные вопросы психиатрии.–Томск.–1997.–Вып.8.–С.117–118.
14. Солонский, А.В. Ультраструктура клеток эмбрионального головного мозга при алкоголизме матери / А.В. Солонский, В.Я. Семке // В кн.: Реабилитация в психиатрии (клинические и социальные аспекты) под ред. В.Я. Семке.– Томск, 1998.– С.180–182.
15. Solonskii, A.V. The ultrastructural especially in neuronal cells of embryos from healthy and alcohol dependent women – comparative aspects / A.V. Solonskii, V. Semke // J. Pathophysiology.– v.5 .–1998.– P. 213.
16. Бохан, Н.А. Нейроморфологические, нейрохимические и поведенческие характеристики экспериментального изучения алкогольной зависимости / Н.А. Бохан, О.К. Галактионов, А.В. Солонский, Л.И. Дорофеева, А.В. Савоненко, В.Д. Прокопьева // Сибирский вестник психиатрии и наркологии.– № 1–2.– Томск, 1998.– С. 43 – 49.
17. Бохан, Н.А. Мультиаксиальная модель изучения региональных проблем алкоголизма: основные итоги комплексных исследований / Н.А. Бохан, О.К. Галактионов, И.А. Артемьев, А.В. Солонский, А.П. Агарков // Сибирский вестник психиатрии и наркологии.– Томск, 1998.– Вып.1–2 .– С.20 – 24.
18. Солонский, А.В. Алкогольный синдром плода: клинимо–морфологический аспект / А.В. Солонский, Семке, В.Я. // В кн.: Превентивная психиатрия.– 1999.– Томск, из–во ТГУ.– С.294–298.
19. Солонский, А.В. Нейроморфологические особенности клеток мозга при перинатальном действии этанола *in vivo* и *in vitro* / А.В. Солонский, Т.Н. Мельникова, Н.А. Бохан // Актуальные вопросы психиатрии под ред. В.Я. Семке, Томск. – 1999.– С. 139–142.
20. Солонский, А.В. Особенности клеток эмбрионального головного мозга при алкоголизме матери / А.В. Солонский, В.Я. Семке // Бюллетень

- экспериментальной биологии и медицины.– 1999.– Вып.1.– прил.1.– С.119–121.
21. Солонский, А.В. Особенности структуры синапсов и свойств синаптосомальных бензодиазепиновых рецепторов в онтогенезе мозга человека в норме и при алкоголизации матери / Т.В. Шушпанова, В.Я. Семке // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.– 2000.– прил. 1, Т.129. С.121–124.
22. Солонский, А.В. Динамика развития эмбриональных клеток промежуточного слоя головного мозга человека / А.В. Солонский // Актуальные вопросы психиатрии и наркологии.– Томск, 2001.– С.219–220.
23. Солонский, А.В. Количественная оценка синаптогенеза как характеристика воздействия алкоголя на эмбриональное развитие мозга / А.В. Солонский, А.В. Данилец, К.Г. Языков // В сб. Современные технологии психиатрического и наркологического сервиса.– 2001.– С.122–124.
24. Solonskii, A.V. Mother's alcoholism and dendrites and axons in embryonic brain / A.V. Solonskii // World psychiatric association – EP.AEN.SEPB International Congress 2001.– Madrid (Spain) September 30th – October 4th, 2001.–P.136.
25. Солонский, А.В. Реакция дендритов и аксонов клеток эмбрионального головного мозга человека на алкоголизацию матери / А.В. Солонский // Сибирский вестник психиатрии и наркологии.– № 1.–Томск, 2002.– С.22–26.
26. Солонский, А.В. Синаптогенез в коре головного мозга эмбрионов при алкоголизации матери в период беременности / А.В. Солонский // Организация психиатрической помощи: Материалы межрегиональной научно–практической конференции .– Под ред. акад. РАМН В.Я. Семке. Томск–Омск: Изд–во “РАСКО”, 2002.– С.168–173.
27. Солонский, А.В. Влияние алкоголизации матери в период беременности на развитие синапсов коры головного мозга эмбрионов человека / А.В. Солонский //Сибирский вестник психиатрии и наркологии.– № 4.–Томск, 2002.– С.25–29.
28. Солонский, А.В. Влияние алкоголизации матери на ультраструктуру клеток коры большого мозга эмбрионов / А.В. Солонский // Тезисы докладов VII конгресса международной ассоциации морфологов, Казань, 16–18 сентября 2004 г. – Морфология.– №4.– 2004, С.115.
29. Солонский, А.В. Пренатальная алкоголизация и формирование сосудов эмбрионального мозга / А.В. Солонский, С.В. Логвинов, Н.А. Кутенева,

- А.В. Данилец // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2005.– №3.– С.17–20.
30. Solonskii, A.V. Influence of maternal alcoholism on ultrastructural alterations of cells of human embryonic brain / A.V. Solonskii, // VIII Europe College neuropsychopharmacology.– Moscow, 2005.– P.294.
31. Кутенева, Н.А. Влияние пренатальной алкоголизации на развитие эмбриональных капилляров головного мозга / Н.А. Кутенева, А.В. Солонский, А.В. Данилец, О.В. Сапрыгина, // Бюллетень сибирской медицины.– Т. 4, приложение 1.– 2005.– С. 163.
32. Solonsky, A.V. Ultrastructure of brain cortex cells of embryos / A.V. Solonsky // XIII World congress of psychiatry Cairo, september 10–15, 2005.– P. 474.
33. Солонский, А.В. Компьютерно–морфометрическая характеристика формирования эмбриональных сосудов головного мозга человека в условиях пренатальной алкоголизации / А.В. Солонский, Н.А. Кутенева // XIV съезд психиатров России.– Москва, 2005.– С.371.
34. Солонский, А.В. Структурно–функциональные особенности мембран клеток крови и мозга при алкогольной интоксикации / В.Д. Прокопьева, Н.А.Бохан // Сибирский вестник психиатрии и наркологии.– 2006.– №3, С.36–39.
35. Солонский, А.В. Нейроморфологическая характеристика клеточных элементов мозга эмбрионов в норме и при алкоголизации матери / А.В. Солонский, Н.А. Кутепова //Сибирский вестник психиатрии и наркологии, – 2006.– приложение 41.– С.142–143.
36. Солонский, А.В. Компьютерно–морфометрический анализ эмбриональных сосудов мозга человека при алкоголизации в период беременности / А.В. Солонский, Н.А. Кутепова // XIII российский национальный конгресс «Человек и лекарство» (сборник трудов). – 2006. – С.458.
37. Солонский, А.В. Компьютерно–морфометрический анализ ангиогенеза в характеристике эмбрионального мозга человека / А.В. Солонский // Сб.: Современные технологии психиатрического и наркологического сервиса.– Томск, 2006.– С.165–166.
38. Солонский, А.В. Формирование кровеносных сосудов эмбрионального мозга человека в условиях пренатальной алкоголизации / А.В. Солонский // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. – 2006. – Том 106.– № 12 .– С. 71–73.

39. Солонский, А.В. Развитие сосудов мозга эмбрионов и плодов человека в условиях пренатального воздействия алкоголя / А.В. Солонский, С.В. Логвинов, Н.А. Кутепова // Морфология. – 2007. – Том 131.– № 2 . – С. 63–66.
40. Солонский, А.В. Количественная динамика синаптогенеза и васкулогенеза мозга эмбрионов и плодов человека в условиях пренатального воздействия этанола / А.В. Солонский, С.В. Логвинов, Н.А. Кутепова, А.В. Данилец // Сибирский вестник психиатрии и наркологии, – 2008.– №1.– С.79–83.
41. Солонский, А.В. Ультраструктурные и морфометрические особенности синаптогенеза мозга эмбрионов и плодов человека в условиях пренатального воздействия этанола / А.В. Солонский, С.В. Логвинов // Бюллетень сибирской медицины.– № 2.– 2008.– С. 35–39.
42. Solonskii, A.V. Development of brain vessels in human embryos and fetuses in conditions of prenatal exposure to alcohol / A.V. Solonskii, S.V. Logvinov, N.A. Kutepova // Neuroscience and Behavioral Physiology.– 2008.– Vol. 38(4).– P.373–376.