

Муниципальное автономное образовательное учреждение
Средняя общеобразовательная школа № 38

Научно-исследовательская работа

**Апоптоз и стрессирование отделов головного мозга как результат
влияния различных концентраций никотина и ароматических
веществ.**

Выполнила Коппа Наталья (10 «Б» класс)

Руководитель: Шульпина Светлана Александровна – учитель химии

Научный руководитель: Яковлева Светлана Анатольевна- учитель
биологии, заведующая лабораторией семян и интродукции растений,

Ботанический сад БФУ им. И. Канта

Калининград

2020

Содержание:

Введение.....	3
1. Литературный обзор.....	4
1.1. Клетки и отделы головного мозга.....	4
1.1.1. Нейроглия.....	4
1.1.2. Астроциты.....	4
1.1.3 Ствол головного мозга.....	4
1.1.4 Кора головного мозга.....	4
1.2. Никотин	5
1.2.1. Химический состав никотина. Никотин в электронных сигаретах.....	5
1.2.2. Влияние никотина на организм человека (в т.ч. на ЦНС).....	5
2. Экспериментальная часть.....	6
2.1. Объекты исследования	6
2.2. Ход работы	6
2.3 Результаты исследования	7
2.4 Итоги эксперимента	8
3. Выводы.....	9
4. Список используемой литературы.....	9
4.1. Литература.....	9
4.2. Интернет-ресурсы.....	9

Введение

Известно, что никотин может повредить микроструктуру белого вещества в определенных областях мозга и вызывать постоянные изменения в морфологии кортикальных нейронов. Мы предположили, что никотин вызывает апоптоз нервной ткани. Исследования показывают, что курение вызывает истончение (т. е. происходит апоптоз клеток) коры головного мозга, которая отвечает за память, язык и восприятие. В данном исследовании мы наблюдали за влиянием разных концентраций никотина и ароматических веществ на клетки (астроциты) коры и ствола головного мозга. (1, 2, 3)

Актуальность данного исследования состоит в том, что в настоящее время электронные сигареты, которые являются, как многие полагают, более безопасной альтернативой обычным сигаретам, быстро набирают популярность среди населения.

Объектом нашего исследования стали клетки ствола и коры головного мозга.

Целью нашей исследовательской работы стало изучение влияния разных концентраций никотина и ароматических веществ на клетки (астроциты) коры и ствола головного мозга.

В связи с этим мы поставили перед собой следующие задачи:

1. Изучить теоретический материал о свойствах исследуемых отделов головного мозга, состав никотина и его влиянии на организм человека, в т.ч. на ЦНС.
2. Выяснить физиологические, морфологические и другие особенности исследуемых объектов.
3. Сравнить вредоносность влияния чистого никотина и никотина с ароматизатором, т. е. негативного влияние курения обычных сигарет и электронных.
4. Проанализировать полученные результаты и сделать выводы.

1. Литературный обзор.

1.1. Клетки и отделы головного мозга

1.1.1. Нейроглия

Нейроглия, или глия является поддерживающей структурой для нейронов. Ее основное назначение – участие в обеспечении питательной поддержки, поддержании гомеостаза и производстве миелиновой оболочки.

1.1.2. Астроциты

Астроциты — это тонкие, звездообразные ветвящиеся глиальные клетки, производятся в коре головного мозга из кортикальной желудочковой зоны или из вентрального переднего мозга. Также следует отметить, что астроциты человека более крупные, структурно более сложные и более разнообразные, чем астроциты у грызунов.

1.1.3. Ствол головного мозга

Ствол мозга - область у основания мозга, которая лежит между глубокими структурами полушарий головного мозга и шейного отдела спинного мозга и выполняющая важную функцию в регуляции определенных произвольных действий организма, включая сердцебиение и дыхание. У человека ствол мозга разделен на три части: средний мозг, мост и продолговатый мозг. Его повреждение никотином и другими ароматическими веществами может иметь необратимые последствия.

1.1.4. Кора головного мозга

Кора — это структура, слой серого вещества (толщиной 1,3-4,5 мм), расположенная по периферии большого мозга и покрывающая их. В коре четыре доли: лобная доля, теменная доля, височная доля, затылочная доля.

1.2. Никотин.

1.2.1. Химический состав никотина. Никотин в электронных сигаретах

Никотин (C₁₀H₁₄N₂) — это растительный алкалоид, содержащийся в растении табака, и стимулирующий привыкание центральной нервной

системы (ЦНС), который вызывает либо ганглионарную стимуляцию в низких дозах, либо ганглионарную блокаду в высоких дозах.

Электронные сигареты представляют собой устройства с батарейным питанием. В них есть картриджи, заполненные жидкостью, которая может содержать ароматизаторы, никотин, тетрагидроканнабинол (ТГК) или каннабиноидные (КБД) масла и другие химические вещества.

Использование солей никотина также снижает рН электронных жидкостей, что позволяет доставлять более высокие концентрации никотина с меньшим раздражением.

1.2.2. Исследование влияния никотина на организм человека

Никотин представляет достаточную опасность для здоровья. Существует повышенный риск сердечно-сосудистых, респираторных, желудочно-кишечных расстройств. Табак является основной причиной предотвратимых раковых заболеваний. Никотин является одним из наиболее токсичных ядов и обладает быстрым действием. При тяжелых отравлениях возникают тремор, прострация, цианоз, одышка, судороги, прогрессирование до коллапса и кома и даже смерть.

Исследования мозга показывают, что никотин резко повышает активность в префронтальной коре и зрительных системах. Никотину требуется около 7-10 секунд чтобы достичь головной мозг.

Никотин также стимулирует центры удовольствия мозга, имитируя дофамин, поэтому ваш мозг начинает ассоциировать употребление никотина с хорошим самочувствием.

Подробнее с литературным обзором можно ознакомиться в Приложении №1.

2. Экспериментальная часть

2.1 Объект исследования

Астроциты, взятые из головного мозга мышей инбредной линии C57BL/6.

2.2 Ход работы

1. Получаем глию (астроциты и микроглии).
2. Рассчитываем процент окрашенных (т.е. мертвых) клеток от общего количества клеточных элементов.
3. Разделяем астроциты (исследуемые клетки), взятые с коры головного мозга на семь образцов, шесть из которых подверглись воздействию никотина и ароматических веществ. Образец №1, не подвергшийся химическому воздействию, был выбран за контрольный. Астроциты, взятые со ствола головного мозга, были разделены на десять образцов, девять из которых подверглись воздействию никотина и ароматических веществ. Образец №1, не подвергшийся химическому воздействию, был выбран за контрольный.

В работе использовались следующие методы: микроскопирование, определение жизнеспособности клеток с помощью окрашивания трипановым синим, подсчет клеток с помощью счетной камеры (камера Горяева).

В ходе работы были использованы:

- Камера Горяева;
- Световой микроскоп;
- Планшеты и флаконы для выращивания культур клеток;
- Скребок;
- Трипановый синий ($C_{34}H_{28}N_6O_{14}S_4$);
- Микропробирки;
- Пипетки автоматические одноканальные механические и электронные.

2.3 Результаты исследования

После всех манипуляций, изложенных ранее, мы получили данные результаты:

Номер лунки	Живые, %		Мертвые, %		Всего, 100 %
1	33 ($82,5 \cdot 10^5$)	61,1	21 ($52,5 \cdot 10^5$)	38,9	54 ($135 \cdot 10^5$)
2	34 ($85 \cdot 10^5$)	52,31	31 ($77,5 \cdot 10^5$)	47,69	65 ($162,5 \cdot 10^5$)
3	52 ($130 \cdot 10^5$)	48,6	55 ($137,5 \cdot 10^5$)	51,4	107 ($267,5 \cdot 10^5$)
4	25 ($62,5 \cdot 10^5$)	23,81	80 ($200 \cdot 10^5$)	76,19	105 ($262,5 \cdot 10^5$)
5	28 ($70 \cdot 10^5$)	28,87	69 ($172,5 \cdot 10^5$)	71,13	97 ($242,5 \cdot 10^5$)
6	167 ($417,5 \cdot 10^5$)	51,38	158 ($395 \cdot 10^5$)	48,62	325 ($812,5 \cdot 10^5$)
7	84 ($210 \cdot 10^5$)	46,67	96 ($240 \cdot 10^5$)	53,33	180 ($450 \cdot 10^5$)

Астроциты коры:

№ 1 – контрольный образец;

№ 2, 3 - 31 мкл чистого никотина ($3,125$ мг никотина = 1 использованию электронной сигареты или 1 сигарете);

№ 4, 5- 125 мкл никотин + ароматизатор ($3,125$ мг никотина = 1 использованию электронной сигареты или 1 сигарете);

№ 6, 7- 125 мкл ароматизатора (= 1 использованию электронной сигареты или 1 сигарете).

Номер лунки	Живые, %		Мертвые, %		Всего, 100 %
1	20 ($50 \cdot 10^5$)	55,56	16 ($40 \cdot 10^5$)	44,44	36 ($90 \cdot 10^5$)
2	22 ($55 \cdot 10^5$)	47,83	24 ($60 \cdot 10^5$)	52,17	46 ($115 \cdot 10^5$)
3	35 ($87,5 \cdot 10^5$)	50,72	34 ($85 \cdot 10^5$)	49,28	69 ($267,5 \cdot 10^5$)
4	72 ($180 \cdot 10^5$)	72	28 ($70 \cdot 10^5$)	28	100 ($172,5 \cdot 10^5$)
5	8 ($20 \cdot 10^5$)	16,33	41 ($102,5 \cdot 10^5$)	83,67	49 ($250 \cdot 10^5$)
6	3 ($7,5 \cdot 10^5$)	5,08	56 ($140 \cdot 10^5$)	94,92	59 ($147,5 \cdot 10^5$)
7	7 ($17,5 \cdot 10^5$)	15,56	38 ($95 \cdot 10^5$)	84,44	45 ($112,5 \cdot 10^5$)

8	13 ($32,5 \cdot 10^5$)	21,31	48 ($120 \cdot 10^5$)	78,69	61($152,5 \cdot 10^5$)
9	8 ($20 \cdot 10^5$)	16	42 ($105 \cdot 10^5$)	84	50($125 \cdot 10^5$)
10	2 ($5 \cdot 10^5$)	3,64	53($132,5 \cdot 10^5$)	96,36	55($137,5 \cdot 10^5$)

Астроциты ствола:

№ 1 – контрольный образец;

№ 2, 3, 4- 31 мкл чистого никотина (3.125 мг никотина = 1 использованию электронной сигареты или 1 сигарете);

№ 5, 6, 7- 125 мкл никотин + ароматизатор (3.125 мг никотина = 1 использованию электронной сигареты или 1 сигарете);

№ 8, 9, 10 – 125 мкл ароматизатора (= 1 использованию электронной сигареты или 1 сигарете)

2.4. Итоги эксперимента

1. Исследуемые клетки ствола головного мозга, в целом, показывают более низкую жизнеспособность (по сравнению с корой) при однократном внедрении любых из представленных токсичных веществ. Особенно сильное влияние на него оказывает ароматизатор в чистом виде (такой вывод мы можем сделать, сравнивая образец №8, №9 и №10 ствола с образцами №6 и №7).

2. На исследуемые клетки коры головного мозга наиболее пагубное влияние оказывает смесь никотина с ароматизатором (при однократном воздействии).

3. Чистый никотин не оказывает отрицательного влияния, как на кору, так и на ствол.

Подробнее с экспериментальной частью можно ознакомиться в

Приложении №2

3. Выводы

1. Проанализировав дополнительные источники информации по данной проблеме и результаты из проведенного нами эксперимента – исследования мы установили, что никотин и другие ароматические вещества оказывают негативное влияние на состояние исследуемых объектов, а значит и на весь организм в целом (в т.ч. на ЦНС).
2. Из итогов эксперимента мы можем предположить, что на некоторые участки мозга никотин с ароматизатором (т.е. электронная сигарета) оказывает более пагубное влияние, чем никотин в чистом виде (т.е. сигарета), т.е. при однократном воздействии электронная сигарета может нести больше вреда
3. Установили необходимость в продолжении исследований на тему воздействия ароматических веществ на организм человека, в т.ч. на более глубокие структуры головного мозга

4. Список используемой литературы.

4.1 Литература

1. Молекулярная биология клетки: в 3-х томах. Т. III / Б.Альбертс, А.Джонсон, Д.Льюис и др.— М.–Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2013. — 1028 стр
2. Митрошина Е. В., Мищенко Т.А., Ведунова М.В. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР: Учебно-методическое пособие.-Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского, 2015.-21 с.

4.2 Интернет-ресурсы

1. Мозг, разум и поведение: Блум Ф., Лейзерсон А., Хофстедтер Л.
<https://meduniver.com/Medical/Physiology/1058.html>

2. Amini K , Zhaleh H, Tahvilian R, Farnia. Low concentration of morphine protects against cell death, oxidative stress and calcium accumulation by nicotine in PC12 cells
http://www.elis.sk/download_file.php?product_id=6111&session_id=rkb4foup3vo4ffvssh4kcnuqc0
3. Huang H, Zhang Y, Cheng J, Wang W, Wen Evaluating the Changes of White Matter Microstructures in Tobacco Addicts Based on Diffusion Tensor Imaging <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31899914>
4. Jung Y, Hsieh LS, Lee AM, Zhou Z, Coman D, Heath CJ1., Hyder F, Mineur YS, Yuan Q, Goldman D, Bordey A, Picciotto MR. An epigenetic mechanism mediates developmental nicotine effects on neuronal structure and behavior.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27239938>
5. Overview of the Nervous System Paul Rea
<https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/neuroglia>
6. Neuroglia/ Kara Rogers <https://www.britannica.com/science/neuroglia>
<https://courses.lumenlearning.com/boundless-ap/chapter/neuroglia/>
7. Siracusa, Rosalba, Roberta Fusco, and Salvatore Cuzzocrea. Astrocytes: role and functions in brain pathologies. *Frontiers in pharmacology* 10 (2019): 1114.
8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2019.01114/full>
9. Sofroniew, Michael V., and Harry V. Vinters. "Astrocytes: biology and pathology." *Acta neuropathologica* 119.1 (2010): 7-35. 10.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2799634/>
11. Tabata, Hidenori. "Diverse subtypes of astrocytes and their development during corticogenesis." *Frontiers in neuroscience* 9 (2015): 114.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4387540/>