

является показателем степени выраженности дистелектазов в легких. Это свидетельствует о том, что более эффективным для повышения физической выносливости может быть увеличение воздушности легких за счет устранения или снижения распространенности неравномерного воздухонаполнения альвеол.

Статистические данные корреляционного и дисперсионного анализов, являющихся составной частью процедур выбора и построения регрессионных зависимостей, свидетельствуют о немаловажной роли для оценки физической выносливости показателей воздушности альвеол, а также параметров, характеризующих степень выраженности дистелектазов в легких. При проведении экспериментальных медико-биологических исследований по изучению неблагоприятного биологического действия различных, в том числе экстремальных факторов показатели структурных изменений альвеол легочной ткани необходимо учитывать для оценки и прогноза состояния физической работоспособности лабораторных крыс.

Заключение. Между изменениями морфометрических параметров воздушности легких и показателями физической выносливости лабораторных крыс обнаружилась корреляционная связь средней силы и сильная. Показатели физической работоспособности были наилучшими при большей воздушности легких. При этом чем в меньшей степени в легких были представлены участки и очаги спадения альвеол, тем дольше (эффективнее) биообъекты выполняли тяжелую физическую работу с нагрузками как аэробной (бег на тредбане), так и смешанной аэробно-анаэробной (плавание с отягощением) мощности. Установлены регрессионные зависимости, характеризующие и количественно описывающие влияние на физическую выносливость биомоделей показателей воздушности легких и распространенности в них дистелектазов.

Конфликт интересов не заявляется.

References (Литература)

1. Mironov AN, ed. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Part 1.*

Moscow: Grif and K, 2012; 944 p. Russian (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. Под ред. А. Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012; 944 с.).

2. Karkishchenko NN, Uyba VV, Karkishchenko VN, Shustov EB. *Ocherki sportivnoy farmakologii. Vol. 1: Vektory ekstrapolyatsii.* Moscow: Aysing, 2013; 288 p. Russian (Каркищенко Н. Н., Уйба В. В., Каркищенко В. Н., Шустов Е. Б. Очерки спортивной фармакологии. Т. 1: Векторы экстраполяции. М.: Айсинг, 2013; 288 с.).

3. Dunnill MS. Quantitative methods in the study of pulmonary pathology. *Thorax* 1962; 17 (4): 320–328.

4. Hyde DM, Tyler NK, Plopper CG. Morphometry of the respiratory tract: avoiding the sampling, size, orientation, and reference traps. *Toxicol Pathol* 2007; 35 (1): 41–48.

5. Knust J, Ochs M, Gundersen HJ, Nyengaard JR. Stereological estimates of alveolar number and size and capillary length and surface area in mice lungs. *Anat Rec* 2009; 292 (1): 113–122.

6. Mьhlfeld C, Knudsen L, Ochs M. Stereology and morphometry of lung tissue. *Methods Mol Biol* 2013; 931: 367–390.

7. Dawson CA, Horvath SM. Swimming in small laboratory animals. *Med Sci Sports* 1970; 2 (2): 51–78.

8. Datsenko AV. Register indicators of physical endurance of biological objects when running a treadmill and swimming with weights using computer video markerless tracking. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2014; 10 (4): 766–771. Russian (Даценко А. В. Регистрация показателей физической выносливости биообъектов при беге на тредбане и плавании с отягощением с помощью компьютерного безмаркерного видеотрекинга. Саратовский научно-медицинский журнал 2014; 10 (4): 766–771).

9. Pal'tsev MA, Kaktursky LV, Zayrat'yants OV, eds. *Patologicheskaya anatomiya: natsionalnoe rukovodstvo.* Moscow: GEOTAR-Media, 2011; 1264 p. Russian (Патологическая анатомия: национальное руководство. Под ред. М. А. Пальцева, Л. В. Кактурского, О. В. Зайратьянц. М.: ГЭОТАР-Медиа 2011; 1264 с.).

10. Datsenko AV, Kazmin VI. Complex microscopic express-analysis for biomedical full-scale investigation. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2013; 9 (4): 805–808. Russian (Даценко А. В., Казьмин В. И. Комплекс микроскопического экспресс-анализа для проведения медико-биологических исследований в натуральных условиях. Саратовский научно-медицинский журнал 2013; 9 (4): 805–808).

УДК 616-018+616-091.8+616-091.83+616.092.9

Оригинальная статья

ВЫЯВЛЕНИЕ АРГИРОФИЛЬНЫХ КЛЕТОК АСТРОЦИТАРНОЙ ГЛИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГИПОКСИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ НЕРВНОЙ ТКАНИ

А. В. Даценко — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, заведующий лабораторией экспериментальной патологии и статистического прогнозирования, доктор медицинских наук; **В. И. Казьмин** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук.

IDENTIFY OF ARGYROPHILIC CELLS OF ASTROCYTIC GLIA TO DETERMINE THE HYPOXIC CHANGES IN NERVE TISSUE

A. V. Datsenko — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Head of the laboratory experimental pathology and statistical prediction, Doctor of Medical Sciences; **V. I. Kazmin** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Senior Researcher, Candidate of Medical Sciences.

Дата поступления — 8.12.2015 г.

Дата принятия в печать — 18.12.2015 г.

Даценко А. В., Казьмин В. И. Выявление аргирофильных клеток астроцитарной глии для определения гипоксических изменений нервной ткани. *Саратовский научно-медицинский журнал* 2015; 11(4): 649–652.

Цель: выявление микроструктурных перестроек импрегнированных серебром астроцитарных клеток головного мозга для определения гипоксических изменений нервной ткани. **Материал и методы.** Состояние гипоксии моделировали на лабораторных крысах с помощью метода «баночной гипоксии». Для импрегнации

гистологических срезов за основу брали метод Рио-Гортега. *Результаты.* Методом импрегнации серебром выявлены несколько морфологических форм астроцитарных клеток при гипоксических изменениях нервной ткани головного мозга. *Заключение.* Выделены морфологические клеточные формы астроцитов головного мозга, отражающие их функциональное состояние. Прослежены компенсаторные изменения астроцитарных клеток, истощение этих процессов и появление патологических морфологических признаков, вплоть до фрагментации и деструкции клеток.

Ключевые слова: гипоксия, головной мозг, импрегнация, астроциты, аргирофилия.

Datsenko AV, Kazmin VI. Identify of argyrophilic cells of astrocytic glia to determine the hypoxic changes in nerve tissue. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2015; 11(4): 649–652.

Aim: identification of astrocytic glia cells impregnated to determine the hypoxic changes in nerve tissue. *Material and methods.* Condition of hypoxia was simulated in laboratory rats with "jar hypoxia". For the impregnation of histological sections were used as a basis for the method of Rio-Gortega. *Results.* Silver impregnation method revealed several morphological forms of astrocytic cells in hypoxic changes in the nervous tissue of the brain. *Conclusion.* There were marked morphological brain astrocyte cell forms reflecting their functional state. Traced compensatory changes astrocytic cell depletion of these processes and the appearance of pathological morphological characters, up to the fragmentation and destruction of cells.

Key words: hypoxia, brain, impregnation, astrocytes, argirofiliya.

Введение. За последние несколько десятилетий в научных трудах пересматривается роль нейроглии в обеспечении функций нервной ткани. Уделяется больше внимания влиянию клеток глии на функционирование нейронов головного мозга. Отношение к нейроглии как к среде окружающей, поддерживающей, изолирующей нейроны изменилась. Роль нейроглии расширилась до признания системы «нейрон – нейроглия» единым функционально-метаболическим комплексом с равной долей партнерства тех и других клеток [1, 2]. Показано участие глиальных клеток в процессах возбуждения и торможения потенциалов действия нервных клеток и обеспечения их специфических функций [3, 4]. В центральной нервной системе доказаны иммунокомпетентные функции астроцитарных и микроглиальных клеток [5]. При острой церебральной недостаточности (тяжелая черепно-мозговая травма, острое нарушение мозгового кровообращения) в нейропротекторной терапии появились рекомендации, направленные на первичное восстановление свойств клеток нейроглии [6].

Известна морфологическая лабильность клеток астроцитарной глии головного мозга. При экстремальных воздействиях они могут гипертрофироваться, дифференцироваться в волокнистые клеточные формы с последующей фрагментацией отростков и деструкцией тел клеток, количество их также может существенно изменяться. Нарастающая гипоксия нервной ткани приводит к патологическим изменениям структуры и гибели клеток нейроглии [7].

Цель: выявление микроструктурных перестроек импрегнированных серебром астроцитарных клеток головного мозга для определения гипоксических изменений нервной ткани.

Материал и методы. Для контрастного выявления клеток нейроглии разработаны методы импрегнации гистологических срезов солями серебра [8]. Описаны методики окраски отростков этих клеток, также выявляющие их контактные взаимодействия с другими структурами нервных тканей. За основу был взят метод Рио-Гортега (Rio-Hortega) для выделения протоплазматической астроцитарной глии. Из начальной прописи исключили окраску хлорным золотом и заменили углекислое серебро на азотно-кислородное. При предварительной обработке гистологических срезов использовали растворы сукцината и гидроокиси натрия. После импрегнации серебром

срезов головного мозга крыс получали плотное окрашивание протоплазматических астроцитов (ПА) и олигодендроцитов (Од). Необходимо отметить, что на гистологических срезах интактных животных серебро воспринимает только ядра клеток. Функционально напряженные нейроглиальные клетки более активно и плотно импрегнируются серебром и контрастно выделяются на гистологических срезах. Слабая аргирофилия ядер клеток встречается у вакуолизованных и отечных астроцитов.

Экспериментальные исследования по отработке методики импрегнации и моделированию гипоксии проводили с помощью «баночной пробы» [9] на 20 белых беспородных крысах-самцах весом 230-250 г, полученных из питомника ООО «Кролинфо». Животные в виварии получали стандартный пищевой рацион и имели свободный доступ к воде.

Крыс поочередно помещали в герметичный индикатор с притертой крышечкой объемом 1,5 л. С уменьшением кислорода во вдыхаемом воздухе животные теряли подвижность и через 50-55 мин у них наступала остановка дыхания. После фиксации в подкисленном 10%-ном формалине на замораживающем микротоме готовили срезы головного мозга, которые импрегнировали 4%-ным азотнокислым серебром при pH=3,6 и докрасивали лейкооснованием азура II. В результате на гистологических препаратах контрастно выделялись ядра клеток глии (ПА, Од), эндотелий сосудов, базофильные нервные клетки и эритроциты в просвете сосудов. На продольных гистологических срезах оценивали изменения ПА в сенсомоторной зоне коры головного мозга, полученные данные сравнивали с контрольной группой животных (5 крыс). Процедуры экспериментов на животных соответствовали требованиям Хельсинкской декларации 1975 г. (пересмотр 1983 г.).

Результаты. На гистологических срезах мозга интактных животных аргирофильные ПА располагались неравномерно во всех слоях коры, значительная их концентрация наблюдалась в IV и VI слоях. При малых увеличениях объектива аргирофильные клетки выделялись в виде скоплений темных шариков на синем фоне. Ядра ПА имеют округлую форму и гладкие края. Более крупные ПА встречались в V слое коры среди больших пирамидных клеток. Вокруг таких ядер просматривался синий ободок цитоплазмы (рис. 1). На гистологических срезах коры головного мозга крыс, павших от гиперкапнической гипоксии, на границе V слоя с выше- и нижележащими слоями появлялись гипертрофированные ПА с увеличенной площадью поперечного сечения клеток.

Ответственный автор – Даценко Алексей Валентинович
Тел. (сот.): +79055543783
E-mail: av.datsenko@fmbcfmba.ru, lab92@mail.ru

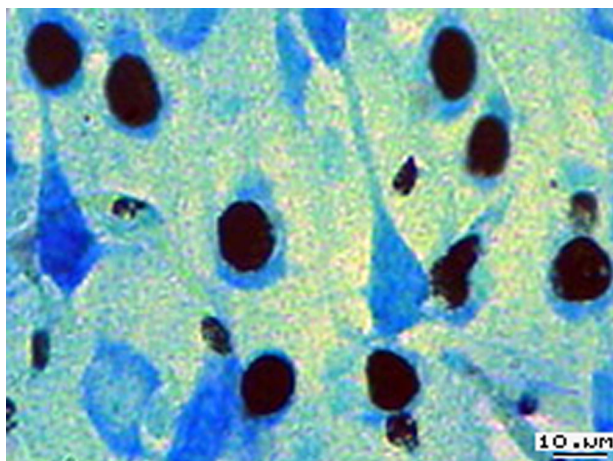


Рис. 1. Контрольный гистологический срез V слоя коры головного мозга. Аргирофильные ядра ПА с синим ободком цитоплазмы. Ув. объектива 40

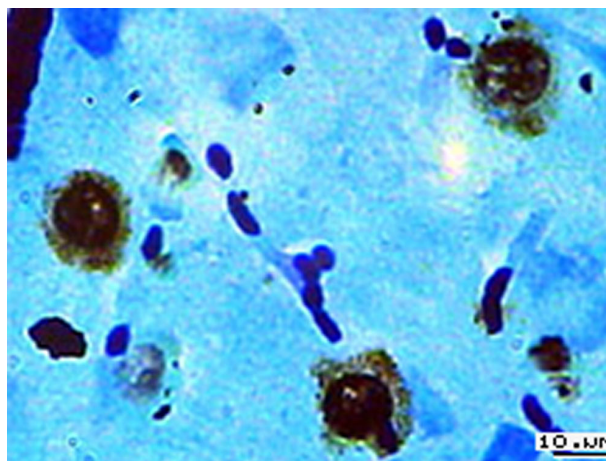


Рис. 3. Гиперкапническая гипоксия головного мозга. V слой коры. Аргирофилия цитоплазмы ПА. Ув. объектива 40

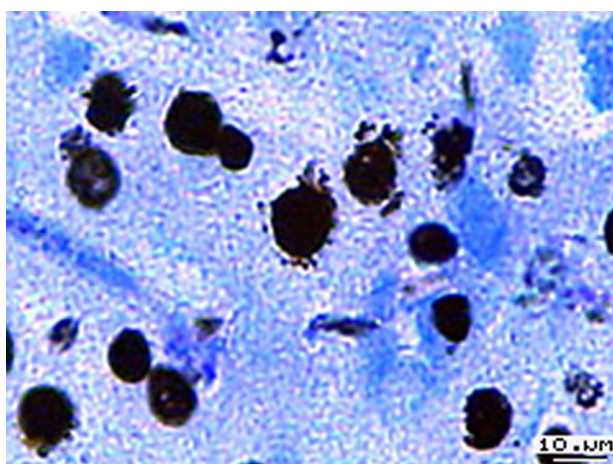


Рис. 2. Гиперкапническая гипоксия головного мозга. V слой коры. Аргирофильная зернистость в цитоплазме ПА. Ув. объектива 40

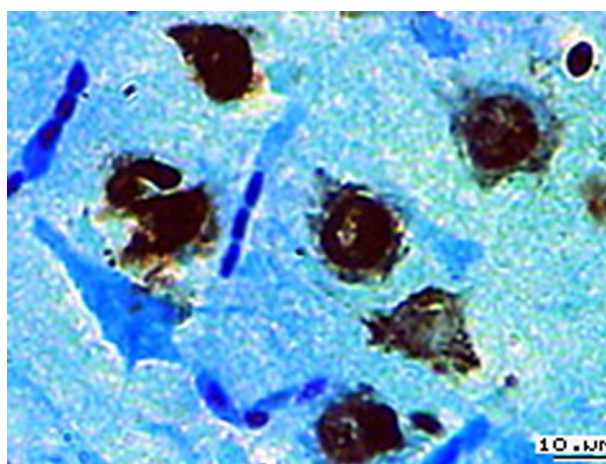


Рис. 4. Гиперкапническая гипоксия головного мозга. V слой коры. Аргирофилия цитоплазмы ПА. Деструкция ядер ПА. Ув. объектива 40

Контуры некоторых ядер были неровными и зернистыми. В глубине IV и VI слоев коры ПА имели различный уровень оптической плотности и распределения восстановленного серебра по площади клеток. Часть клеток проявляла локальную аргирофилию. Некоторые ядра слабо воспринимали серебро, окрашиваясь в серые тона.

В V слое коры появлялись гипертрофированные ПА с аргирофильной зернистостью по периметру ядер и клетки с плотно импрегнированной цитоплазмой (рис. 2, 3). Ядра и тела этих темных клеток часто подвергались деструкции (рис. 4). На границе теменного и лобного отделов головного мозга встречались группы ПА и отдельные клетки на начальных этапах дифференцировки в волокнистые астроциты, которые имели морфологические признаки фрагментации отростков и деструкции тел клеток.

Нарастающая гипоксия вызывает появление аргирофильных структур в цитоплазме астроцитов. Активизация внутриклеточных процессов продолжается до полной импрегнации серебром всей цитоплазмы окружающей ядра. Финальной стадией является деструкция целостности астроцитарных клеток.

Обсуждение. В условиях острых воздействий различных факторов, в основном физической природы, в зависимости от их силы (дозы, мощности) у экс-

периментальных биообъектов в ранние сроки имеют место различные по степени выраженности и частоте встречаемости изменения психоэмоционального состояния, признаки развития неврологического дефицита, снижение физической работоспособности и ухудшение эффективности оперантной деятельности даже при отсутствии ярко выраженных структурных, в частности, травматических повреждений центральной нервной системы, опорно-двигательного аппарата и жизненно важных внутренних органов. На микроструктурном уровне исследований функциональные перестройки в дееспособности и работоспособности сопровождаются преимущественно изменениями периферической гемодинамики, регистрируемыми при изучении микроциркуляторного русла головного мозга и внутренних органов. Поскольку основной функцией терминальной капиллярной части сосудистой системы является обеспечение тканевого дыхания за счет транспорта эритроцитами кислорода и удаление углекислого газа, нарушения микроциркуляции в первую очередь приводят к развитию гипоксии рабочих клеточных структур органов и тканей организма.

В условиях развивающейся тканевой гипоксии микроструктурные перестройки в клетках нервной системы в ранние сроки после воздействия экстремальных факторов представляют наибольший интерес для

определения морфологических эквивалентов функциональных изменений двигательной активности, характеризующих психоэмоциональное состояние, оперантной деятельности и физической работоспособности экспериментальных биообъектов.

Импregnация гистологических срезов головного мозга крыс азотнокислым серебром с докраской лейкооснованием основного красителя позволяет контрастно выделять ядра клеток астроцитарной глии. Цитоплазма крупных клеток ПА в V слоях коры и приграничных с ними участках окрашивается в синий цвет. При приводящих к гипоксии экстремальных воздействиях в коре головного мозга крыс появляются гипертрофированные ПА, у которых наблюдается аргирофильная зернистость по периферии оболочек ядер, и клетки с импregnированной серебром цитоплазмой. Ядра и тела этих клеток подвергаются деструкции. В условиях нарастающей гипоксии нервной ткани головного мозга часть гипертрофированных клеток переходит на более высокий уровень функционирования, дифференцируясь в волокнистые клеточные формы. Эти клетки уже на начальных этапах трансформации ПА фрагментируются и деструктурируются.

Данные о микроструктурных изменениях клеток головного мозга у экспериментальных биообъектов могут быть получены экспресс-методом при проведении комплексных морфофункциональных исследований, в том числе в выездных работах в натуральных условиях [10].

Заключение. С помощью импregnации серебром протоплазматических астроцитов в коре головного мозга крыс при гиперкапнической гипоксии выделены морфологические клеточные формы, отражающие их функциональное состояние. Изучение гистологических препаратов головного мозга позволяет оценить динамику развития патологического состояния нервной ткани, выделить этапы компенсаторных изменений астроцитарных клеток, истощения этих процессов и появления патологических морфологических признаков, вплоть до фрагментации и деструкции клеток. Весь комплекс изменений астроцитарных клеток, импregnированных азотнокислым серебром, дает возможность оценивать их не только с морфологической точки зрения, но и с функциональной при сопоставлении с результатами медико-биологических исследований работоспособности и поведения экспериментальных биообъектов при воздействии экстремальных факторов.

Конфликт интересов не заявляется.

References (Литература)

1. Roitbak AI. Glia and its role in neural activity. Saint-Petersburg: Science, 1993; 352 p. Russian (Ройтбак А.И. Глия и ее роль в нервной деятельности. СПб.: Наука, 1993; 352 с.).
2. Hudoerkov RM, Voronkov DN. Quantification of neurons and glia by computer morphometry. *Byull eksper boil and med* 2010; 149(1): 109-112. Russian (Худоерков Р.М., Воронков Д.Н. Количественная оценка нейронов и нейроглии с помощью компьютерной морфометрии. *Бюлл. exper. биол. и мед.* 2010; 149(1): 109-112).
3. Tolstuhina TI, Flerov MA. ATPase activity of neurons and glia in with cramps caused by picrotoxin. *Questions med himii* 1999; 45(2): 145-149. Russian (Толстухина Т.И., Флеров М.А. АТФазная активность в нейронах и нейроглии при судорогах, вызванных пикротоксином. *Вопросы мед. химии* 1999; 45(2): 145-149).
4. Kligenenko EN, Dzyak LA, Ploschenko YA, et al. Neuroprotection in anesthesia and intensive care. *Medical emergency conditions* 2008; 15(2): 28-37. Russian (Клигуненко Е.Н., Дзяк Л.А., Площенко Ю.А. и др. Нейропротекция в анестезиологии и интенсивной терапии. *Медицина неотложных состояний* 2008; 15(2): 28-37).
5. Akmaev IG, Grinevich VV. From neuroendocrinology to neuroimmunoendocrinology. *Byull eksper biol and med* 2001; 131(1): 22-32. Russian (Акмаев И.Г., Гриневич В.В. От нейроэндокринологии к нейроиммуноэндокринологии. *Бюлл. exper. биол. и мед.* 2001; 131(1): 22-32).
6. Cherny TV. The use of quantitative EEG to assess the efficacy of neuroprotective effects on neuroglial level. *Medical emergency conditions* 2013; 52(5): 117-123. Russian (Черный Т.В. Использование методов количественной ЭЭГ для оценки эффективности нейропротективного воздействия на нейроглиальном уровне. *Медицина неотложных состояний* 2013; 52(5): 117-123).
7. Droblenkov AV, Naumov NV, Monid MV, et al. Response of cellular elements on rat cerebral circulatory hypoxia. *Medical academic journal* 2013; 13(4): 19-28. Russian (Дробленков А.В., Наумов Н.В., Монид М.В. и др. Реакция клеточных элементов головного мозга крыс на циркуляторную гипоксию. *Медицинский академический журнал* 2013; 13(4): 19-28).
8. Romeys B. *Microscopic technique*. Moscow: Foreign Literature Publishing House, 1953; 718 p. Russian (Ромейс Б. *Микроскопическая техника*. М.: Иностранная Литература, 1953; 718 с.).
9. Ivaschenko VV, Kirpatovsky VI. Features adaptogenic effect of sodium hypochlorite in acute hypoxia, physical activity and thiopental anesthesia in the experiment. *Experimental and clinical urology* 2012; (2): 24-27. Russian (Ивашенко В.В., Кирпатовский В.И. Особенности адаптогенного действия гипохлорита натрия при острой гипоксии, физической нагрузке и тиопенталовом наркозе в эксперименте. *Экспериментальная и клиническая урология* 2012; (2): 24-27).
10. Datsenko AV, Kazmin VI. Complex microscopic express-analysis for biomedical full-scale investigation. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2013; 9(4): 805-808. Russian (Даценко А.В., Казмин В.И. Комплекс микроскопического экспресс-анализа для проведения медико-биологических исследований в натуральных условиях. *Саратовский научно-медицинский журнал* 2013; 9(4): 805-808).