

В. В. Порсева<sup>1</sup>, А. И. Емануйлов<sup>2</sup>, П. М. Маслюков<sup>3</sup>

## СУБПОПУЛЯЦИИ КАЛЬБИНДИН-, КАЛЬРЕТИНИН- И ПАРВАЛЬБУМИН-ИММУНОРЕАКТИВНЫХ ИНТЕРНЕЙРОНОВ ДОРСАЛЬНОГО РОГА СПИННОГО МОЗГА САМОК МЫШЕЙ C57BL/6

<sup>1</sup> Кафедра патологической физиологии (зав. — проф. В. П. Михайлов); <sup>2</sup> кафедра анатомии человека (зав. — проф. Т. А. Румянцева); <sup>3</sup> кафедра нормальной физиологии с биофизикой (зав. — проф. П. М. Маслюков), ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава РФ

**Цель** — сравнительный анализ субпопуляций интернейронов, содержащих кальбиндин (КАБ), кальретинин (КАР) и парвальбумин (ПАВ) в дорсальном роге T<sub>III</sub>–T<sub>V</sub>-сегментов спинного мозга (СМ).

**Материал и методы.** Иммунореактивные (ИР) интернейроны у самок мышей C57BL/6 в возрасте 16 нед исследовали с использованием иммуногистохимических методов.

**Результаты.** Все субпопуляции ИР-интернейронов топографически выявлялись во всех пластинках дорсального рога СМ, однако в пластинке I не выявлены ИР к ПАВ-интернейронам. При этом содержание КАБ-интернейронов преобладало в пластинках I (27%) и II (29%), КАР-интернейронов — в пластинке II (21,5%), ПАВ-интернейронов — в пластинках IV (5,7%) и V (6,2%). Кроме того, субпопуляция ПАВ-интернейронов представлена малочисленной группой клеток по сравнению с другими кальций-связывающими белками в пластинках II, III и области медиального края (ОМК) дорсального рога, а КАР-интернейронов — в пластинках III, IV, V и ОКМ. Количественное распределение субпопуляций интернейронов, содержащих кальбиндин, преобладало во всех пластинках дорсального рога СМ. Клеточные размеры в указанных субпопуляциях ИР-интернейронов статистически значимо различались, при этом крупнее оказались интернейроны, содержащие КАБ и КАР, мельче — ПАВ.

**Выводы.** В дорсальном роге СМ выявляются различные субпопуляции интернейронов, иммунореактивных к кальбиндину, кальретинину, парвальбумину, специфичные для каждой пластинки.

**Ключевые слова:** интернейрон, дорсальный рог, спинной мозг, иммуногистохимия

Введение. Ионы кальция являются универсальным внутриклеточным посредником и играют ведущую роль в регуляции разнообразных нейрональных процессов [4, 10, 11]. К внутриклеточным кальций-связывающим белкам, наиболее распространенным в центральной и периферической нервной системе различных видов животных, селективно экспрессирующимся в определенных популяциях нейронов, относятся кальбиндин (КАБ) с массой 28 килодалтон, кальретинин (КАР) и парвальбумин (ПАВ) [2, 3, 6, 7, 9].

Клетки, содержащие КАБ, КАР и ПАВ, присутствуют во всех пластинках дорсального рога спинного мозга (СМ) [2–4, 7], но имеются уровневые различия в экспрессии кальций-связывающих белков, в частности в большем количестве интернейронов с КАБ в поясничных сегментах взрослых самцов мышей [2], крыс [3], кошек [7] по сравнению с шейными (C<sub>VI</sub>–C<sub>VII</sub>) [3], верхними (T<sub>II</sub>) [2] и средними (T<sub>VI</sub>–T<sub>VIII</sub>) [3] грудными, а также крестцовыми (S<sub>I</sub>–S<sub>III</sub>) сегментами СМ [7]. Гетерогенность серого веще-

ства СМ проявляется не только в rostrocaudальном, но и в ventrodorsальном направлении. Группы интернейронов, принимающих импульсы различной модальности [2, 4, 5, 8] и в соответствии с известным соматотопическим принципом проекции периферических афферентов к интернейронам дорсального рога СМ, гистотопографически обособляются в пластинки. В современных исследованиях очень трудно выделить участие нейрональных субпопуляций, содержащих КАБ, КАР и ПАВ в каждой отдельной пластинке, что обусловлено объединением морфофункциональных характеристик интернейронов различных пластинок дорсального рога СМ: пластинки I–II [3, 4, 9], пластинки II–VI [7], пластинки III–VI [2, 3].

Таким образом, наряду с широко известными данными о механизмах, обеспечивающих низкую концентрацию ионов кальция в цитоплазме клетки, до настоящего времени отсутствуют сведения об особенностях клеточного состава и морфологической характеристике субпопуляций КАБ-,

### Сведения об авторах:

Порсева Валентина Вячеславовна (e-mail: [vporseva@mail.ru](mailto:vporseva@mail.ru)), кафедра патологической физиологии; Емануйлов Андрей Игоревич, кафедра анатомии человека; Маслюков Петр Михайлович, кафедра нормальной физиологии с биофизикой, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5

КАР- и ПАВ-содержащих интернейронов в пластинках дорсального рога СМ.

Целью настоящей работы было проведение сравнительного анализа иммуногистохимических и морфометрических характеристик интернейронов дорсального рога грудного отдела СМ мышей, содержащих различные кальций-связывающие белки.

Материал и методы. Работа выполнена на самках мышей C57BL/6 в возрасте 16 нед (n=4). Изучали локализацию, морфометрическую и иммуногистохимическую характеристики интернейронов в СМ. Линия мышей C57BL/6 является универсальной экспериментальной моделью с подробно изученным фенотипом, широко используется во всех областях медико-биологических исследований [1]. Исследование проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Мышей выводили из эксперимента под уретановым наркозом (3 г/кг, внутривенно) путем транскардиальной перфузии раствора стандартного фосфатно-солевого буфера (PBS; 0,01M, pH 7,4) (БиолоТ, Россия), затем 4% раствора параформальдегида (Sigma, США) на PBS. Извлекали T<sub>III</sub>-T<sub>V</sub>-сегменты СМ, которые дополнительно фиксировали в течение 2 ч в 4% растворе параформальдегида на PBS при 4 °С. После этого промывали трехкратно в растворе PBS в течение 30 мин и оставляли в 30% растворе сахарозы на 24 ч при 4 °С. Из выделенных сегментов СМ на криостате Shandon E (Thermo Scientific, Великобритания) готовили поперечные серийные срезы толщиной 14 мкм. Выявление интернейронов, содержащих кальций-связывающие белки, проводили с использованием меченых антител: первичные антитела (Abscam, Великобритания) — поликлональные кроличьи против КАБ — разведение 1:500; против КАР — разведение 1:100; против ПАВ — разведение 1:300; вторичные ослиные антитела (Jackson ImmunoResearch Laboratories, США) против кроличьего иммуноглобулина G, конъюгированные с флуоресцеин-изотиоцианатом — FITC (разведение 1:100), флуоресцирующим в зеленой области спектра. Окраску клеток всей популяции интернейронов проводили красителем, флуоресцирующим в красной области спектра, NeuroTrace Red Fluorescent Nissl Stains (Molecular Probes, США) — разведение 1:200. После этого срезы отмывали в PBS и заключали в среду для иммунофлуоресценции

VectaShield (Vector Laboratories, США). Для исключения неспецифической реакции часть срезов инкубировали без первичных и(или) вторичных антител.

Препараты просматривали в микроскопе Олимпус ВХ43 (Olympus Corporation, Япония), оснащенном набором флуоресцентных фильтров-блоков. Изображения получали посредством охлаждаемой цифровой видеокамеры ТСС-5.01СЕ (Tucsen, Китай). Для выявления интернейронов использовали каждый пятый срез — всего 15 срезов с каждого образца. На срезах (объектив 10×0,30) изучали топографию ИР-интернейронов дорсального рога СМ, устанавливая их положение в пластинках СМ, конфигурация которых соответствовала верхним грудным сегментам [12]. На срезах (объектив 20×0,50) проводили подсчет всех интернейронов и интернейронов, содержащих исследуемые кальций-связывающие белки в пластинках СМ, и с помощью программы Image J (НИН, США) измеряли их площадь сечения (ПС). Долю ИР-интернейронов определяли как их отношение к общему количеству интернейронов, выявленных в пластинках с использованием NeuroTrace Red, которое принимали за 100%. Анализу подлежали интернейроны, срез которых прошел через ядро с видимым ядрышком и флуоресценцией, превышающей фоновое свечение. Математическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., 2011). Все величины представлены как средняя арифметическая величина ± ошибка средней. Учитывая количественные различия выборок, значимость различий средних величин определяли по методикам ANOVA и критерию Тьюки Post-hoc-анализа. Значимыми считали различия при p<0,05.

**Результаты исследования.** Согласно *табл. 1*, наибольшее количество интернейронов, выявленных флуоресцентным методом Ниссля (NeuroTrace Red), располагается в пластинке II дорсального рога СМ, а наименьшее — в области медиального края (ОМК) — область расположения части пластинки IV. Это топографически соответствует медиальному краю шейки и основания дорсального рога СМ, включая и область дорсальной серой спайки спинномозгового поля X (пластинка X).

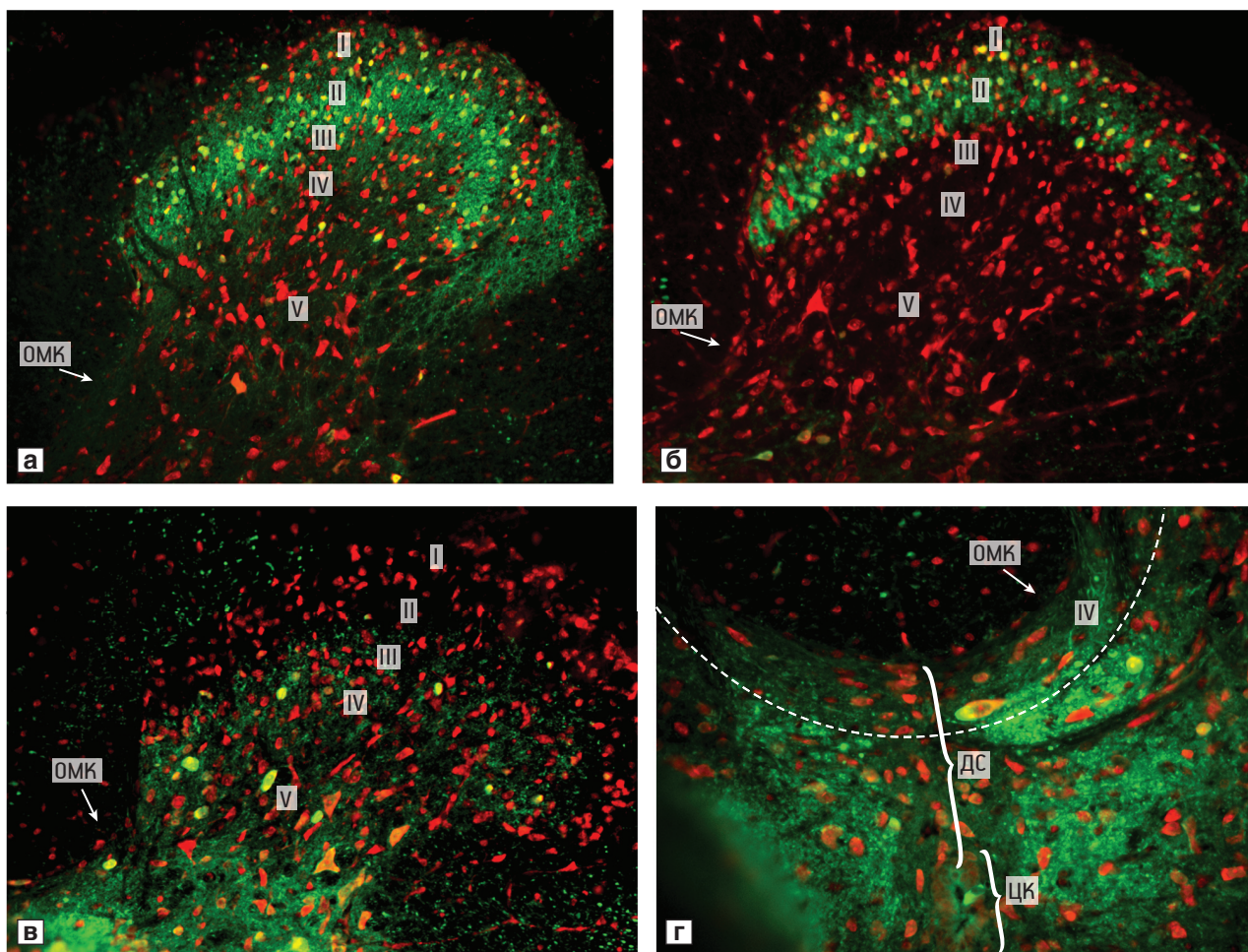
ИР-интернейроны выявлены во всех пластинках дорсального рога СМ (*рисунок*).

Таблица 1

**Абсолютное содержание интернейронов (NeuroTrace Red) и субпопуляций иммунореактивных к кальбиндину, кальретинину, парвальбумину интернейронов в дорсальном роге верхних грудных сегментов спинного мозга мыши ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )**

Область дорсального рога спинного мозга	NeuroTrace Red	Кальбиндин	Кальретинин	Парвальбумин
Пластинка I	47,0±1,1 *	12,7±0,6 *	2,4±0,2 *	Не выявлено
Пластинка II	125±3 *	36,3±0,9 *	26,9±1,0 *	1,5±0,2
Пластинки III	52,7±0,9 *	6,0±0,2 *	0,8±0,3	0,9±0,2 *
Пластинки IV	33,2±0,5 *	2,4±0,4 *	0,6±0,2 *	1,9±0,2
Пластинка V	33,9±0,6 *	3,7±0,2 *	0,9±0,3	2,1±0,2 *
Медиальный край	13,8±0,3 *	1,3±0,1 *	0,1±0,1 *	0,2±0,1 *

\* p<0,05, различия значимы между пластинками.



Иммунореактивные интернейроны дорсального рога грудного отдела спинного мозга мышей, содержащие кальбиндин (а), кальретинин (б) и парвальбумин (в, г).

Римскими цифрами обозначены пластинки. ОМК — область медиального края; ЦК — центральный канал; ДС — дорсальная спайка. а-в — ок. 10, об. 10; г — ок. 10, об. 20

Интернейронов, содержащих ПАВ, не обнаружено только в пластинке I (см. рисунок, в). ИР-интернейроны характеризовались яркой флюоресценцией нейроплазмы, проксимальных отделов нервных волокон и отсутствием флюоресценции в ядре. Интенсивность свечения была одинаковой во всех ИР-интернейронах. В каждой из пластинок относительное содержание ИР-интернейронов в зависимости от экспрессии исследуемого белка составляло: для КАБ — в I — 27,0%, во II — 29,0%, в III — 11,4%, в IV — 7,2%, в V — 10,9%, в ОМК — 9,4%; для КАР — в I — 5,1%, во II — 21,5%, в III — 1,5%, в IV — 1,8%, в V — 2,7%, в ОМК — 0,7%; для ПАВ — во II — 1,2%, в III — 1,7%, в IV — 5,7%, в V — 6,2%, в ОМК — 1,4%.

В пластинках I и II располагались ИР-интернейроны, которые имели округлую и веретеновидную форму, свечение в которых было выявлено лишь в клеточных телах (см. рисунок, а-в). В пластинках III и IV выявлены ИР-интернейроны,

имевшие только веретеновидную форму с флюоресценцией, локализованной как в телах клеток, так и в их отростках. ИР-отростки интернейронов пластинок III и IV распространялись в вентральном направлении к пластинке II и вентромедиальном направлении к пластинке X. Длина их была одинаковой, не превышала 10 мкм. В пластинке V выявлены ИР-интернейроны треугольной и веретеновидной формы, расположенные параллельно дорсовентральной оси, флюоресцирующие отростки которых длиной до 30 мкм распространялись в дорсовентромедиальном направлении. В ОМК дорсального рога СМ ИР-интернейроны характеризовались округлой и веретеновидной формой и флюоресцирующими отростками длиной до 35 мкм, ориентированными в дорсомедиальном направлении. Топографически ИР-интернейроны локализовались и в области дорсальной спайки спинномозгового поля X вблизи с границей белого вещества и были представлены одиночными округлыми или веретеновидными

Таблица 2

**Площадь сечения иммунореактивных к кальбиндину, кальретинину, парвальбумину интернейронов в дорсальном роге верхних грудных сегментов спинного мозга мыши ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ , мкм<sup>2</sup>)**

Область дорсального рога спинного мозга	Кальбиндин	Кальретинин	Парвальбумин
Пластинка I	48,9±2,4 *	55,6±6,0	не выявлено
Пластинка II	65,8±2,5	54,9±1,5 **	37,2±1,3 **
Пластинки III	65,9±3,0	79,2±4,1 **	56,3±3,0 **
Пластинки IV	95,1±5,7 *	83,5±6,1	78,9±3,7 **
Пластинка V	175±10 *	127±13 *.**	103,7±9,1 **
Медиальный край	85,3±6,1	93,8±4,5	119±35 *.**

\*  $p < 0,05$ , различия значимы внутри сегментов.

\*\*  $p < 0,05$ , различия значимы по сравнению с кальбиндином.

клетками, клеточные тела которых располагались поперечно, а их отростки распространялись по направлению к дорсальному рогу, прослеживаясь в области его медиального края (см. рисунок, г).

При анализе средней площади сечения ИР-интернейронов обнаружено, что в дорсальном роге СМ размеры клеток находятся в пределах от 37,2 до 175 мкм<sup>2</sup> (табл. 2). При этом в субпопуляциях самыми крупными являлись интернейроны пластинки V — иммунореактивные ко всем кальций-связывающим белкам и ОМК — иммунореактивные к ПАВ (ПС превышала 100 мкм<sup>2</sup>), а самыми мелкими — интернейроны пластинки I — ИР к КАБ, пластинок I и II — ИР к КАР, пластинки II — ИР к ПАВ. При этом размеры клеток были максимальными в субпопуляции ИР-интернейронов к КАР в пластинках I и III, к КАБ — в пластинках II, IV и V, а к ПАВ — в ОМК.

Обсуждение полученных данных. Результаты проведенного исследования показали, что во всех пластинках дорсального рога верхних грудных сегментов СМ мыши выявляются субпопуляции интернейронов, которые содержат КАБ, КАР и ПАВ, за исключением пластинки I, где ПАВ-интернейроны отсутствуют.

Относительное содержание ИР-интернейронов максимально в пластинках I и II дорсального рога СМ для субпопуляции клеток, содержащих КАБ (более 25%), и только в пластинке II — содержащих КАР (более 20%). Во всех остальных пластинках содержание ИР-субпопуляций интернейронов не превышает 11% для КАБ, 3% — для КАР и 6% — для ПАВ. По данным других исследований, количественное распределение субпопуляций кальций-связывающих белков в дорсальном роге СМ является преобладающим для КАБ [2, 4,

6, 7, 9] и КАР [3] и немногочисленным для ПАВ [3, 4] в поверхностной области дорсального рога (ПОДР), объединяющей пластинки I–II. В то же время, в нашей работе у самок мышей в пластинке I ПАВ-интернейроны не выявлены, а количественное распределение КАР-интернейронов не превышает 5%.

Распределение субпопуляции ПАВ-интернейронов в пластинках IV и V ИР-клеток оказалось большим, чем в других пластинках дорсального рога СМ. Это может быть обусловлено преимущественной выявляемостью ПАВ в нейронах дорсального ядра СМ и высоким уровнем экспрессии этого белка, определяемого методом вестерн-блоттинга, непосредственно в грудных сегментах СМ [3]. Возможно, большая выявляемость ПАВ в интернейронах пластинок IV и V по сравнению с другими пластинками определяется и его преимущественной экспрессией в тормозных интернейронах серого вещества СМ, содержащих ГАМК/глицин [11].

Самой малочисленной ИР-субпопуляцией оказались интернейроны, содержащие КАР в пластинках III, IV, V и ОМК и содержащие ПАВ — в пластинке III и ОМК.

Особое внимание уделяют ОМК дорсального рога из-за преобладания клеточной плотности интернейронов в медиальной трети дорсального рога по сравнению со срединной и латеральной частями [9]. Именно здесь и локализуются премоторные интернейроны [5], содержащие КАБ [2, 7]. В то же время, нейроны ОМК дорсального рога, экспрессирующие нейрональные кальций-связывающие белки (NEСAV 1/2), участвуют в формировании дорсальной комиссуральной области СМ, нейроны которой соединяют правый и левый дорсальные рога [11]. Как видно из полученных нами данных, в ОМК выявляются

ИР-интернейроны, содержащие все исследуемые кальций-связывающие белки, но содержание субпопуляции КАБ-интернейронов преобладает.

Субпопуляции ИР-интернейронов отличаются по своим морфометрическим характеристикам и, как видно из табл. 2, представлены нейронами различных размеров — от очень мелких до крупных. Но несмотря на значительную вариабельность показателя, средние размеры оказались больше у интернейронов, содержащих КАБ в пластинках II, IV и V, КАР — в пластинках I и III, ПАВ — в ОМК. Меньшие размеры имели интернейроны, содержащие ПАВ, которые расположены в пластинках II, III, IV и V. В предыдущих исследованиях ПАВ выявляли в более крупных интернейронах дорсального рога СМ на поясничном уровне [3], а КАБ и КАР — в пластинках глубокой области дорсального рога, объединяющей III–V пластинки грудных сегментов у взрослых крыс [2, 3].

**З а к л ю ч е н и е.** Топографически можно выделить четыре области расположения субпопуляций ИР-интернейронов, содержащих исследуемые кальций-связывающие белки, с характерными для каждой формами клеток: поверхностная область — пластинки I и II; глубокая область — пластинки III и IV, пластинка V, область медиального края. Количественные и морфометрические характеристики каждой субпопуляции ИР-интернейронов различны для каждой пластинки дорсального рога СМ.

**Источник финансирования.** Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 17-04-00349-а).

#### Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: П. М. М.

Сбор и обработка материала: А. И. Е.

Статистическая обработка данных: В. В. П.

Анализ и интерпретация данных: В. В. П.

Написание текста: В. В. П.

**Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов**

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев-Андриевский А.А., Шенкман Б.С., Попова А.С., Долгов О.Н., Анохин К.В., Солдатов П.Э., Виноградова О.Л., Ильин Е.А., Сычев В.Н. Экспериментальные исследования на мышах по программе полета биоспутника «Бион-М1» // *Авиакосмическая и экологическая медицина* 2014. Т. 48, № 1. С. 14–27 [Andreev-Andrievsky A.A., Shenkman B.S., Popova A.S., Dolguikh O.N., Anokhin K.V., Soldatov P.E., Ilyin E.A., Sychev V.N. Experimental studies with mice on the program of the biosatellite Bion-M1 mission // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2014. Vol. 48, № 1. P. 14–27. In Russ.].
2. Порсева В.В., Шилкин В.В., Стрелков А.А., Маслюков П.М. Субпопуляции кальбиндин-иммунореактивных интернейронов дорсального рога спинного мозга мышей // *Цитология*. 2014. Т. 56, № 8. С. 612–618 [Porseva V.V., Shilkin V.V., Strelkov A.A., Masliukov P.M. Subpopulation of calbindin-immunopositive interneurons in the dorsal horn of the mice spinal cord // *Tsitologiya*. 2014. Vol. 56, № 8. P. 612–618. In Russ.].
3. Chen S., Yang G., Zhu Y. et al. A Comparative study of three interneuron types in the rat spinal cord // *PLoS ONE*. 2016. Vol. 11, № 9. P. e0162969. doi: 10.1371/journal.pone.0162969
4. Kim J.J., Chang I.Y., Chung Y.Y. et al. Immunohistochemical studies on the calbindin D-28K and parvalbumin positive neurons in the brain stem and spinal cord after transection of spinal cord of rats // *Korean J. Phys. Anthropol.* 2002. Vol. 15, № 4. P. 305–329. In Korean. doi: 10.11637/kjpa.2002.15.4.305
5. Levine A.J., Hinckley C.A., Hilde K.L. et al. Identification of a cellular node for motor control pathways // *Nat. Neurosci.* 2014. Vol. 17, № 4. P. 586–593. doi: 10.1038/nn.3675
6. Li Y.N., Li Y.C., Kuramoto H. et al. Immunohistochemical demonstration of the calcium channel alpha2 subunit in the chicken dorsal root ganglion and spinal cord: a special reference to colocalization with calbindin-D28k in dorsal root ganglion neurons // *Neurosci. Res.* 2007. Vol. 59, № 3. P. 304–308. doi: 10.1016/j.neures.2007.07.008
7. Merkulyeva N., Veshchitskii A., Makarov F. et al. Distribution of 28 kDa calbindin-immunopositive neurons in the cat spinal cord // *Frontiers in Neuroanatomy*. 2016. Vol. 9. P. 166. doi: 10.3389/fnana.2015.00166 Correct version
8. Molander C., Xu Q., Rivero-Melian C., Grant G. Cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the rat: II. The cervical and upper thoracic cord // *J. Comp. Neurol.* 1989. Vol. 289, № 3. P. 375–385. doi: 10.1002/cne.902890303
9. Morona R., Lopez J.M., Gonzalez A. Calbindin-D28k and calretinin immunoreactivity in the spinal cord of the lizard *Gekko gekko*: Colocalization with choline acetyltransferase and nitric oxide synthase // *Brain Res. Bull.* 2006. Vol. 69, № 5. P. 519–534. doi: 10.1016/j.brainresbull.2006.02.022
10. Schwaller B. The use of transgenic mouse models to reveal the functions of Ca<sup>2+</sup> buffer proteins in excitable cells // *Biochim. Biophys. Acta*. 2012. Vol. 1820, № 8. P. 1294–1303. doi: 10.1016/j.bbagen.2011.11.008
11. Zhang M.D., Tortoriello G., Hsueh B., Tomer R., Ye L., Mitsios N., Borgius L., Grant G., Kiehn O., Watanabe M. et al. Neuronal calcium-binding proteins 1/2 localize to dorsal root ganglia and excitatory spinal neurons and are regulated by nerve injury // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014. Vol. 111, № 12. P. E1149–1158. doi: 10.1073/pnas.1402318111

Поступила в редакцию 13.01.2018  
Получена после доработки 18.11.2019

### SUBPOPULATIONS OF CALBINDIN-, CALRETININ- AND PARVALBUMIN-IMMUNOREACTIVE INTERNEURONS OF THE DORSAL HORN OF THE SPINAL CORD OF FEMALE C57BL/6 MICE

V. V. Porseva<sup>1</sup>, A. I. Emanuilov<sup>2</sup>, P. M. Masliukov<sup>3</sup>

**Objective** — to make a comparative analysis of interneurons subpopulations that contain calbindin (CAB), calretinin (CAR)

and parvalbumin (PAV) in the dorsal horn of the T<sub>III</sub>-T<sub>V</sub> segments of the spinal cord (SC).

**Material and methods.** Immunoreactive (IR) interneurons in 16-week-old female C57BL/6 mice were studied using immunohistochemical methods.

**Results.** All subpopulations of IR interneurons were located in all laminae of the dorsal horn of the SC; however, interneurons IR to PAV were not detected in plate I. The relative content of CAB interneurons was greatest in laminae I (27%) and II (29%), CAR interneurons — in lamina II (21,5%), PAV interneurons — in laminae IV (5,7%) and V (6,2%). In addition, a subpopulation of PAV interneurons in plates II, III and in the region of the dorsal horn medial border (MB) was represented by a small group of cells, in contrast with other calcium-binding proteins. The same was true for CAR interneurons in plates III,

IV, V and MB. The quantitative distribution of the subpopulation of calbindin-containing interneurons prevailed in all laminae of the dorsal horn of SC. The differences in cell sizes in the mentioned subpopulations of IR interneurons were statistically significant, with CAB and CAR interneurons being larger and PAV interneurons — smaller.

**Conclusions.** In the dorsal horn of the SC, various subpopulations of interneurons immunoreactive to calbindin, calretinin, and parvalbumin were identified, and the subpopulations were specific in each lamina.

**Key words:** *interneuron, dorsal horn, spinal cord, immunohistochemistry*

<sup>1</sup> Department of Pathophysiology, <sup>2</sup> Department of Human Anatomy, <sup>3</sup> Department of Normal Physiology, Yaroslavl State Medical University, 5 Revolutsionnaya St., Yaroslavl 150000

*В. В. Елагин*<sup>2</sup>, *Д. А. Костина*<sup>3</sup>, *О. И. Братчиков*<sup>2</sup>, *Т. Г. Покровская*<sup>3</sup>,  
*С. Л. Кузнецов*<sup>4</sup>, *М. А. Затолокина*<sup>1</sup>, *В. В. Гуреев*<sup>3</sup>, *Е. С. Затолокина*<sup>1</sup>

## МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ БИЛАТЕРАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ИШЕМИИ — РЕПЕРФУЗИИ

<sup>1</sup> Кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии (зав. — д-р мед. наук А. В. Иванов), <sup>2</sup> кафедра урологии (зав. — д-р мед. наук О. И. Братчиков), ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ; <sup>3</sup> кафедра фармакологии и клинической фармакологии (зав. — д-р мед. наук М. В. Покровский), ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»; <sup>4</sup> кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии (зав. — д-р мед. наук С. Л. Кузнецов), ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Минздрава РФ (Сеченовский Университет)

**Цель** — выявить и изучить степень выраженности морфологических изменений структур коркового и мозгового вещества почки на фоне смоделированной билатеральной модели ишемии — реперфузии.

**Материал и методы.** Эксперименты проведены на 50 крысах-самцах линии Вистар массой 180–220 г. Моделирование билатеральной модели ишемии — реперфузии проводилось путем наложения атравматичных зажимов на обе почечные ножки на 40 мин. Через 24 или 72 ч реперфузии проводили оценку выраженности структурных изменений в корковом и мозговом веществе почки с использованием гистологических и морфометрических методик. Измеряли высоту эпителиоцитов в проксимальном и дистальном извитых канальцах нефрона, площадь поперечного сечения почечного тельца, клубочка и капсулярного пространства.

**Результаты.** Полученные морфологические изменения в виде нарушения структурности эпителия как в корковом, так и в мозговом веществе почки на 1-е сутки эксперимента имеют тенденцию к увеличению степени их выраженности. К 3-м суткам эксперимента наиболее выраженные реактивно-деструктивные изменения визуализируются в реабсорбционно-секреторных отделах нефрона, которые проявляются в виде снижения высоты эпителиоцитов проксимальных и дистальных канальцев, отслоением их от базальной мембраны и слущиванием. Усугубление схожей морфологической картины происходило в собирательных трубках, в просветах которых определялись конгломераты из отслоившихся от базальной мембраны погибших клеток эпителия. Выявленные реактивно-деструктивные изменения в почках морфологически обосновывают адекватность создания модели ишемии — реперфузии.

**Выводы.** 40-минутная билатеральная ишемия почек с последующей реперфузией в течение 1–3 сут приводит к выраженным структурным изменениям в почках, что соответствует характеристике острого почечного повреждения.

**Ключевые слова:** *почки крысы, ишемия — реперфузия, острое почечное повреждение*