

© Д. А. Пожилов, А. В. Москаленко, К. К. Пшениснгов, 2019
УДК 611.813.3:612.65:599.323.4

Д. А. Пожилов, А. В. Москаленко, К. К. Пшениснгов

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ АСТРОЦИТОВ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЛУКОВИЦЫ НА ВВЕДЕНИЕ КАПСАИЦИНА

Кафедра анатомии человека (зав. — проф. Т. А. Румянцева), ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России

Цель — сравнить реакцию астроцитов обонятельной луковицы у крыс на введение капсаицина на разных этапах постнатального онтогенеза.

Материал и методы. На серийных парафиновых срезах обонятельных луковиц 70 самцов крыс линии Вистар в возрасте от 30-х до 240-х суток с помощью маркеров GFAP и NeuN выявляли астроциты и зрелые нейроны. NeuN определяли в перинуклеарной цитоплазме и ядре зрелых нейронов, кислый фибриллярный белок астроцитов GFAP — в цитоплазме и отростках астроцитов. На препаратах оценивали численную плотность зрелых нейронов и астроцитов (шт./мм²), а также среднюю площадь отростков астроцитов (мкм²) в норме и после нейротоксического воздействия в результате подкожного введения капсаицина у крыс различных возрастных групп.

Результаты. Постнатальные изменения изучаемых микроструктурных параметров обонятельной луковицы у крыс в норме наблюдаются от 30-х до 180-х суток. В зрелом возрасте отмечается стабилизация как численной плотности нейронов и астроцитов, так и средней площади отростков астроцитов. Установлено, что нейротоксическое воздействие вызывает гибель нейронов, а также увеличение численной плотности астроцитов в различных слоях обонятельной луковицы, вызванное реакцией на повреждение. Отмечено увеличение микроструктурных изменений в первичных и вторичных стволовых нишах.

Выводы. Гибель нейронов максимальна на 15–30-е сутки, реактивный глиоз — на 30-е сутки после введения нейротоксина. У инфантильных крыс интенсивность глиоза снижается на 60-е сутки эксперимента, в зрелом возрасте глиоз не имеет тенденции к снижению.

Ключевые слова: обонятельная луковица крысы, нейроны, астроциты, морфометрия, постнатальный онтогенез, капсаицин, реактивный глиоз, нейродегенерация

Введение. В последние десятилетия активно изучается так называемый «взрослый нейрогенез», происходящий в определенных участках центральной нервной системы [2, 9]. Традиционно зонами активного нейрогенеза считаются субвентрикулярная и субгранулярная зона гиппокампа [15, 18]. Однако ряд исследователей полагают, что при токсическом, травматическом или ишемическом воздействии нейрогенез активируется в так называемых «вторичных стволовых нишах», одной из которых является центральная часть обонятельной луковицы, где оканчивается ростральный миграционный поток, связывающий ее с субвентрикулярной зоной [2, 8, 18]. В этой связи актуальными являются исследования возрастных особенностей компенсаторно-приспособительных реакций нейронов и глии потенциальных вторичных стволовых ниш.

Помимо трофической и опорной функции, астроциты обеспечивают миграцию нейрональных предшественников из стволовых ниш к месту назначения и фагоцитоз погибших клеток,

иными словами, являются морфологическим субстратом пластичности [2, 8, 10, 15, 16].

Исследования, посвященные реактивному глиозу, развивающемуся при ишемии или токсических воздействиях, довольно многочисленны [8, 13, 16]. Однако возрастные особенности реакции нейроглии и её зависимость от интенсивности нейрогенеза практически не изучены. В литературе традиционно описывается воздействие капсаицина на афферентные безмиелиновые волокна и нейроны ганглиев спинномозговых и черепных нервов [1, 5, 7, 12] путем блокировки выработки вещества Р и кальцитонин-ген-связывающего белка, что ведёт к гибели чувствительных нейронов в первые 5–7 сут после эксперимента, а затем к нарастающей вторичной гибели нейронов. Явления длительной (до 180 сут после введения капсаицина) транснейрональной дегенерации обнаружены в области ядер спинного мозга, ядер продолговатого мозга, автономных узлов [1, 5, 7, 12, 17]. Выраженность нейродегенерации носит волнообразный характер и зависит,

Сведения об авторах:

Пожилов Дмитрий Алексеевич (e-mail: dmitry.oldman@yandex.ru), Москаленко Александр Владимирович (e-mail: solarjkee@gmail.com),
Пшениснгов Кирилл Кириллович (e-mail: qwerty-123@mail.ru), кафедра анатомии человека,
ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5

в первую очередь, от дозы капсаицина. Дозировки до 10 мг/кг оказывают деафферентирующее, до 50–70 мг/кг — анальгезирующее, а свыше 100 мг/кг — общетоксическое действие [1, 5, 7, 9, 12]. Эти особенности капсаицина позволяют использовать его для достижения цели исследования.

Цель работы — сравнить реакцию астроцитов обонятельной луковицы на введение нейротоксина на различных этапах постнатального онтогенеза крыс с позиций оценки реактивного глиоза и миграции нейрональных предшественников.

Материал и методы. Работа выполнена на 70 самцах крыс линии Вистар. Контроль включал 30 крыс в возрасте 30, 60, 90, 180, 210 и 240 сут по 5 особей в каждой возрастной группе. Согласно классификации И. П. Западнюка [4], 30-е сутки соответствуют инфантильному возрасту, 60–90-е сутки — ювенильному, 180–240-е сутки — зрелому возрасту. Последний взят в качестве контрольной точки для определения дефинитивных показателей в конце эволютивного периода.

В экспериментальные группы вошли 20 крыс в возрасте 30 сут (1-я группа) и 20 крыс в возрасте 180 сут (2-я группа). Капсаицин вводили крысам трёхкратно с интервалом в 1 сут. Инъекцию производили подкожно в дозировке 30, 30 и 60 мг/кг массы тела соответственно, суммарная доза составляла 120 мг/кг [6]. Выбор схемы обусловлен данными работы В. И. Филимонова и М. Н. Невзоровой [9], установивших, что подкожное введение таких доз капсаицина приводит к гибели части митральных клеток обонятельной луковицы, истончением ее слоев и изменениям стенки капилляров. Введение капсаицина тремя дозами обосновано тем, что быстрое введение больших доз капсаицина может вызывать отек легких, а также местный некроз из-за спазма капилляров. Первые две дозы по 30 мг/кг вводили под кожу бедра, третью (60 мг/кг) — под кожу холки [1, 7, 9]. Такая схема введения позволяет избежать развития осложнений. Капсаицин растворяли в смеси 10% ТВИН-80, 10% этанола и 80% изотонического раствора NaCl [1, 5, 7, 9, 12]. Животных выводили из эксперимента на 15-, 30-, 60-е сутки от начала эксперимента путём декапитации после уретанового наркоза в дозировке 300 мг/кг массы тела. На каждую временную точку в экспериментальной группе приходилось по 5–7 животных. Крысы содержались в стандартных условиях вивария [14]. Эксперимент был одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО ЯГМА Минздрава России и выполнен в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», Хельсинкской декларацией 1975 г. и ее пересмотренным вариантом 2000 г.

Взятие гистологического материала осуществляли после фиксации 10% забуференным формалином в течение 24 ч при 4 °C.

Исследование проводили на парафиновых парасагитальных серийных срезах мозга крыс, проходящих через центральную часть обонятельной луковицы. Маркер зрелых нейронов NeuN выявляли с помощью поликлональных кроличьих антител (ab177487, UK, разведение 1:500) [3]. Данную реакцию использовали в качестве критерия эффективности нейротоксического воздействия [1, 3, 7, 17].

Маркер зрелых астроцитов GFAP выявляли с помощью поликлональных кроличьих антител (ab16997, UK, разве-

дение 1:200) [6]. Использовали вторичные антитела (Goat anti Rabbit IgG, ab97051, UK, разведение 1:1000). Детекцию пероксидазы производили диаминобензидиновым хромогеном DAB Substrate Kit (ab64238). Срезы докрашивали гематоксилином Майера. Анализ срезов производили при помощи светового микроскопа Optica DM-20 (Italy, 2015) со встроенной камерой. На каждом срезе в 50 полях зрения оценивали численную плотность (ЧП) распределения зрелых нейронов, ЧП астроцитов (шт./мм²) и среднюю площадь отростков (ПО) астроцитов (мкм²). NeuN выявляли в перинуклеарной цитоплазме и ядре зрелых интактных нейронов [3], кислый фибриллярный белок астроцитов GFAP — в цитоплазме и отростках астроцитов [6, 8, 10, 13]. Астроциты определяли как клетки округлой или полигональной формы со светлым ядром и с 3–5 извитыми ветвящимися отростками. ЧП астроцитов, учитывая выраженные различия их распределения в слоях, оценивали отдельно в каждом слое обонятельной луковицы и ростральном миграционном потоке (РМП).

Статистическую обработку полученных количественных данных выполняли с применением программы Microsoft Excel 2010, вычисляя для каждого измеряемого параметра среднюю величину и ее стандартное отклонение. Значимость различий при нормальном распределении данных в выборке оценивали, применяя критерий Стьюдента. При распределении, отличном от нормального, использовали непараметрический критерий Уилкоксона. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования. В обонятельной луковице (ОЛ) выделяют шесть концентрически расположенных слоёв: волокон обонятельного нерва, гломерулярный (клубочковый), наружный плексиформный (сетчатый), митральный, внутренний плексиформный и гранулярный (зернистый), а также центральную часть ОЛ, которая является дистальным окончанием РМП. ЧП NeuN-позитивных нейронов имеет свои топографические и возрастные особенности, но, в целом, стабилизируется к зрелому возрасту (180-е сутки) (рис. 1, табл. 1).

У интактных животных в РМП астроциты распределены на всем протяжении среза, их отростки направлены по ходу движения нейрональных предшественников и образуют многочисленные контакты (рис. 2, а).

ЧП астроцитов у крыс 30 сут составляет $422 \pm 42,5$ шт./мм², затем с 30-х по 90-е сутки уменьшается в 2,3 раза, с 90-х по 180-е сутки — увеличивается до $325 \pm 31,4$ шт./мм², далее не изменяется (табл. 2).

В зернистом слое астроциты располагаются между группами нейронов, их отростки проникают как внутрь таких групп, так и ветвятся в пространстве между ними. ЧП астроцитов у крыс в возрасте 30 сут равна $269 \pm 20,2$ шт./мм², с 30-х по 60-е сутки — уменьшается на 40 %, к 90-м суткам — не изменяется, а к 180-м суткам — увеличивается до $173 \pm 16,6$ шт./мм², оставаясь на этом уровне до 240-х суток (см. рис. 2, в).

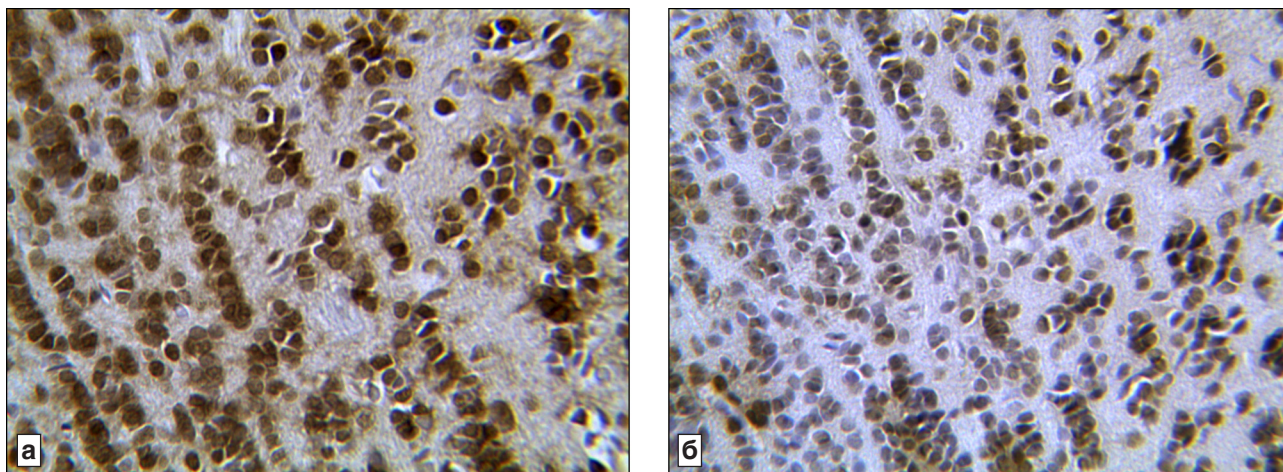


Рис. 1. Распределение NeuN-позитивных нейронов в гранулярном слое обонятельной луковицы у крыс.

а — 2 мес, контроль; б — 2 мес, 30-е сутки эксперимента.

Антитела к NeuN, докраска гематоксилином Майера. Микрофото. Ув. 400

Таблица 1

Численная плотность NeuN-позитивных нейронов в различных слоях обонятельной луковицы у контрольных и экспериментальных крыс ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Возраст, сут: контроль (эксперимент)	Гломерулярный слой		Наружный плексиформный слой		Гранулярный слой	
	К	Э	К	Э	К	Э
30 (0)	4134±427,6	4134±427,6 ¹	1004±87,7	1004±87,7 ¹	4819±457,7	4819±457,7 ¹
45 (15)	—	2556±67,5 *	—	845±45, *	—	2478±134,8*
60 (30)	4878±132,3 *	2813±123,2*,**	1239±153,2*	834±54,3**	6238±197,7 *	2048±78,3*,**
90 (60)	7647±420,2 *	3556±76,4*,**	2466±229,2*	2076±94,5*,**	9445±442,2*	2158±94,7*,**
180 (0)	7835±442,0	7835±442,0 ¹	1549±130,0*	1549±130,0 ¹	10883±875,6	10883±875,6 ¹
195 (15)	—	5467±158,2*	—	1265±131,3	—	8956±187,2*
210 (30)	—	4987±134,2*	—	1323±54,3	—	8241±278,2*
240 (60)	7723±193,5	5230±87,1*,**	1680±124,1	1456±23,5*,**	10307±745,2	8367±193,7**

* Различия значимы по сравнению с предыдущим сроком; ** различия значимы по сравнению с контрольной группой; ¹ данные интактных животных.

Примечание. Здесь и табл. 2 и 3: К — контрольные животные, Э — экспериментальные животные.

В наружном плексиформном слое астроциты распределены равномерно (см. рис. 2, д). С 30-х по 60-е сутки их ЧП уменьшается с $295 \pm 35,33$ шт./мм² в 2 раза ($p < 0,05$), а к 90-м суткам увеличивается до значений, близких к исходным, и не изменяется до конца наблюдения ($p < 0,05$).

В гломерулярном слое астроциты можно чётко разделить на пери- и юктагломерулярные. Отростки перигломерулярно расположенных глиальных клеток проникают вглубь клубочка, их тела встроены в слои клубочков. Тела юктагломерулярных глиальных клеток расположены между клубочками, отростки ветвятся между клубочками и проникают в них. Показатель численной плотности астроцитов на 30-е сутки составляет $269 \pm 20,2$ шт./мм²,

до 60-х суток достоверно не изменяется, к 90-м суткам снижается на 30 %, к 180-м суткам возрастает до $375 \pm 32,2$ шт./мм², в 2 раза, и остается на этом уровне до 240-х суток (см. табл. 2). В слое волокон обонятельного нерва астроциты не определяются. Показатель площади распределения отростков зависит от возраста животного и слоя ОЛ. Так, медианная площадь распределения отростков в РМП с 30-х по 180-е сутки увеличивается на 43 % до $583,2$ мкм². В гранулярном слое с 30-х по 90-е сутки медианная площадь максимальна, на 180-е сутки происходит уменьшение площади распределения отростков почти в 2 раза до $339,7$ мкм². В наружном плексиформном слое с 30-х по 60-е сутки наблюдается увеличение площади на 36 % до $513,4$ мкм², а на 180-е сутки — уменьшение на 16 % ($p < 0,05$).

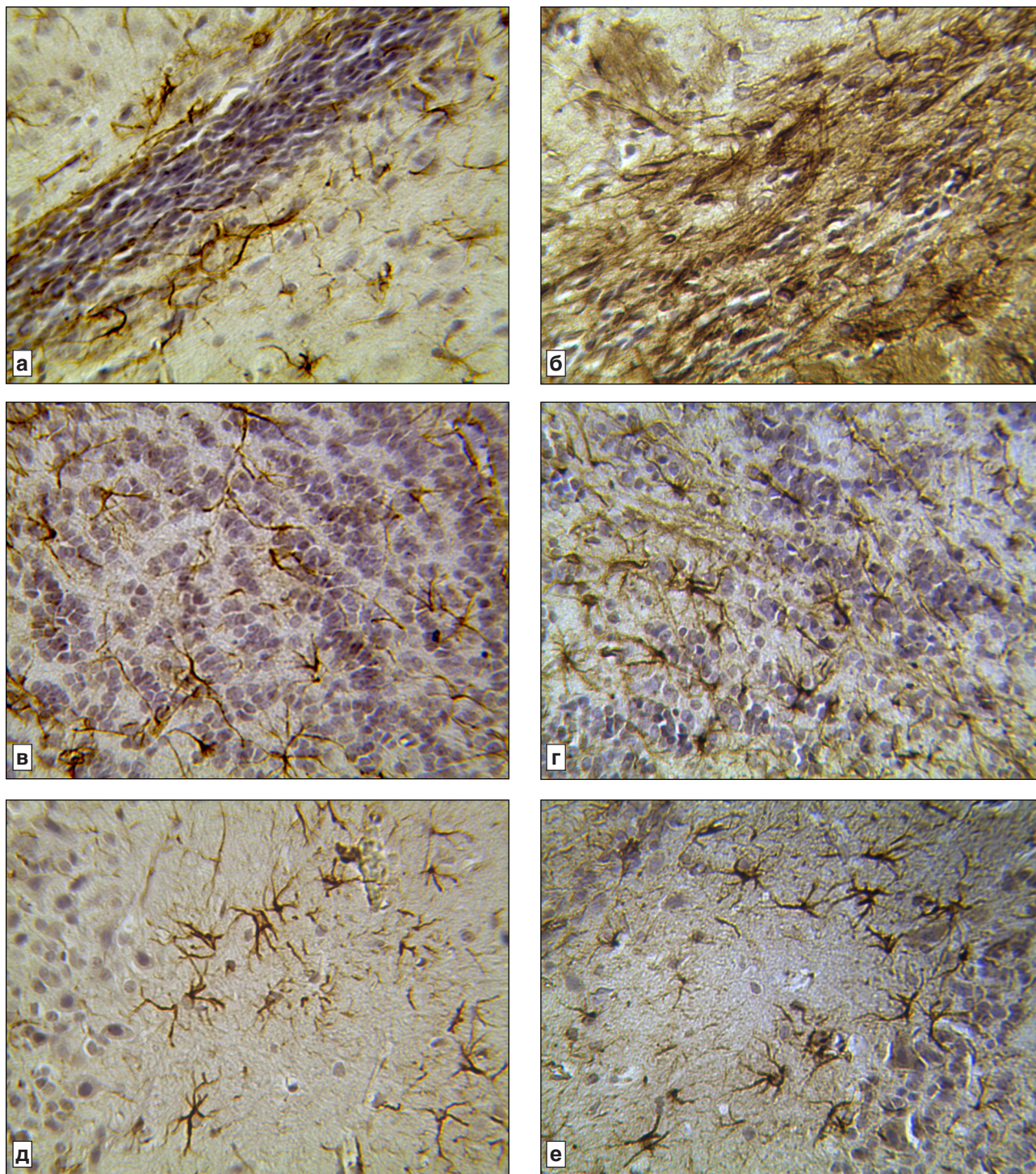


Рис. 2. Распределение GFAP-позитивных астроцитов в слоях обонятельной луковицы у крыс.

а — 2 мес, контроль; б — 2 мес, 30-е сутки эксперимента; в — 2 мес, контроль; г — 2 мес, 30-е сутки эксперимента; д — 2 мес, контроль; е — 2 мес, 30-е сутки эксперимента. а, б — роstralный миграционный поток; в, г — гранулярный слой; д, е — наружный сетчатый слой.

Антитела к GFAP, докраска гематоксилином Майера. Микрофото. Ув. 400

Площадь распределения отростков в гломерулярном слое увеличивается с 30-х до 90-х суток в 2 раза, пик увеличения приходится на 90-е сутки, когда медианная площадь достигает $544,8 \text{ мкм}^2$. На 180-е сутки площадь уменьшается в 1,4 раза, после чего стабилизируется и к 240-м суткам не изменяется. В целом, площадь распределе-

ния отростков астроцитов и их ЧП с возрастом изменяются разнонаправленно. Показатели ЧП и ПО достигают дефинитивного уровня к 180-м суткам и в последующие сроки стабилизируются.

В обеих экспериментальных группах после введения капсаицина ЧП NeuN-позитивных ней-

Таблица 2

Численная плотность GFAP-позитивных астроцитов в различных слоях обонятельной луковицы у контрольных и экспериментальных крыс ($\bar{x} \pm \bar{s}_x$)

Возраст, сут: контроль (эксперимент)	Гломерулярный слой		Наружный плексиформный слой		Гранулярный слой		Ростральный миграционный поток	
	К	Э	К	Э	К	Э	К	Э
30 (0)	269±20,2	269±20,2 ¹	295±35,3	295±35,3 ¹	224±21,3	224±21,3 ¹	422±42,5	422±42,5 ¹
45 (15)	252±23,0	289±16,0	245±23,0	356±23,0 ^{*,**}	156±12,1 [*]	265±24,0 ^{*,**}	—	567±36,4 [*]
60 (30)	240±27,6	366±44,8 ^{*,**}	201±43,8	435±42,6 ^{*,**}	133±36,0	296±29,5 ^{**}	168±16,9 [*]	721±65,7 ^{*,**}
90 (60)	181±27,3 [*]	221±26,0 [*]	305±24,5 [*]	287±27,1 [*]	132±30,5	283±30,5 ^{**}	182±6,8	563±51,1 ^{*,**}
180 (0)	375±32,2 [*]	375±32,2 ¹	286±12,4	286±12,4 ¹	173±16,6	173±16,6 ¹	325±31,4 [*]	325±31,4 ^{*,1}
195 (15)	—	452±28,5 [*]	—	438±45,1 [*]	—	245±13,7 [*]	—	523±10,2 [*]
210 (30)	—	668±35,8 [*]	—	592±33,9 [*]	—	307±24,8 [*]	—	589±46,6 [*]
240 (60)	368±34,1	625±32,4	297±19,0	610±15,7 ^{**}	189±24,5	284±35,1 ^{**}	313±12,4	482±21,1 ^{*,**}

ронов в сравнении с контрольной группой уменьшается во всех слоях ОЛ (см. рис. 1, табл. 1). Пик токсического повреждения приходится на 15–30-е сутки эксперимента. Более всего снижение выражено в гранулярном слое и составляет до 70 % по отношению к возрастной норме у 30-суточных животных и до 20 % по отношению к возрастной норме у 180-суточных животных. Снижение ЧП зрелых нейронов в эксперименте у взрослых крыс выражено значительно меньше, чем у крыс в инфантильном возрасте (20 % против 70 %).

В экспериментальных группах характер распределения GFAP в астроцитах не изменяется (см. рис. 2). Сохраняется позитивность к GFAP как в телах астроцитов, так и в их отростках.

При введении нейротоксина в 1-й группе животных на 30-е сутки эксперимента ЧП GFAP-позитивных астроцитов в РМП увеличивается в 1,5 раза, превышая возрастной контроль в 4,5 раза. К 60-м суткам эксперимента она значительно снижается по сравнению с показателем на 45-е сутки, но остается в 4 раза больше в сравнении с контрольной группой (см. рис. 2, а, б). В гранулярном слое ЧП астроцитов к 30-м суткам эксперимента увеличивается в 1,3 раза и до 60-х суток не изменяется. В конце наблюдения на 60-е сутки она остается в 2,3 раза большей, чем в контрольной группе (см. рис. 2, в, г).

В наружном плексиформном слое к 30-м суткам эксперимента ЧП возрастает в 1,5 раза (становится в 2 раза больше, чем в контроле), а к 60-м суткам уменьшается до значений в контрольной группе (см. рис. 2, д, е; табл. 2).

В гломерулярном слое к 30-м суткам эксперимента ЧП астроцитов увеличивается в 1,4 раза по сравнению с начальным уровнем и превосходит контроль в 1,5 раза, а к 60-м суткам уменьшается, но остается на 22 % больше, чем в контроле.

Введение капсаицина животным зрелого возраста (180-е сутки) приводит к гибели до 20 % зрелых нейронов (см. табл. 1), а также — астроцитов.

В РМП ЧП астроцитов увеличивается к 30-м суткам эксперимента в 1,8 раза, к 60-м суткам — уменьшается, при этом оставаясь больше возрастной нормы на 54 %. В гранулярном слое ЧП астроцитов к 30-м суткам эксперимента увеличивается на 77 %, не изменяется до 60-х суток, сохраняясь на уровне, в 1,5 раза превосходящем контроль (см. табл. 2).

В наружном плексиформном слое к 30-м суткам эксперимента ЧП астроцитов также возрастает в 2 раза, к 60-м суткам не изменяется и превышает нормальный возрастной показатель в 2 раза. В гломерулярном слое к 30-м суткам эксперимента ЧП астроцитов увеличивается в 1,8 раза, к 60-м суткам не изменяется, оставаясь на 70 % больше по сравнению с контролем ($p < 0,05$) (см. табл. 2).

Динамика ЧП астроцитов в слоях ОЛ при введении капсаицина зрелым крысам однотипна. ЧП астроцитов максимально увеличивается к 30-м суткам эксперимента, что соответствует длительности острой фазы реактивного глиоза (4–5 нед), когда астроциты выступают, в том числе, и в роли макрофагов. Описанные изменения устойчивы, сохраняются и на 60-е сутки без значимой динамики.

ПО астроцитов в экспериментальных группах изменяется разнонаправленно с ЧП как в эксперименте, так и в контрольной группе (табл. 3, см. табл. 2).

Обсуждение полученных данных. При анализе возрастной динамики ЧП астроцитов отмечается зависимость этого показателя от слоя ОЛ и возраста. В целом, отмечаются высокие показатели в начале наблюдения, их снижение в ювенильный период и в период полового созревания. В зрелом возрасте (180 сут) во всех слоях ЧП астроцитов увеличивается и стабилизируется на достигнутом уровне до конца наблюдения (240 сут). Исключение составляет гранулярный слой с противоположной динамикой.

Как известно, астроциты направляют поток нейрональных предшественников как в РМП, так и в ОЛ [8, 10, 13, 15]. Пик интенсивности нейрогенеза, установленный в наших предыдущих исследованиях по уровню экспрессии даблкортина (маркер дифференцирующихся астроцитов) [8], приходится на 60–90-е сутки. Возможно, что именно из-за движущейся из центральной зоны ОЛ волны мигрирующих радиально клеток расстояние между астроцитами увеличивается. По мере ослабления интенсивности нейрогенеза в период полового созревания астроциты снова сближаются. Эта динамика подтверждается полученными данными: в центральном и гранулярном слоях ОЛ отмечаются наиболее выраженные возрастные колебания параметров, а именно, в этих слоях продвигаются основная масса прогениторов, и большая часть их здесь гибнут.

Введение капсаицина в инфантильном возрасте приводит к развитию выраженного глиоза в центральной зоне и гранулярном слое ОЛ. На периферии ОЛ значимые изменения отмечаются только в острую фазу на 30-е сутки эксперимента. Сравнение с данными по экспрессии других маркеров показывает, что на этом же сроке отмечается наиболее выраженное уменьшение ЧП зрелых нейронов [7, 8] и нейрональных предшественников [8]. Такая массовая гибель клеток обусловлена воздействием инъекции токсической дозы капсаицина на TRPV1-каналы (специфические ванилоидные рецепторы), широко представленные у разных типов нейронов в ОЛ [11]. Эти рецепторы напрямую связаны с кальциевыми каналами, и их активация ведет к поглощению Ca^{2+} и Na^+ . Это, в свою очередь, приводит к гипергидратации клетки и разрушению цитоскелета [5], в том числе и в ОЛ [9, 17]. По-видимому, наблюдаемая реакция астроцитов связана с их фагоцитарными функциями переработки погибших капсаицин-чувствительных клеток [5, 8, 10,

13, 16]. На 60-е сутки отмечается нормализация ЧП астроцитов в ОЛ за исключением зоны РМП, где низкие значения этого показателя отражают снижение количества мигрирующих предшественников. Глиоз у зрелых крыс не имеет выраженной специфики по слоям и менее выражен в РМП, чем в эксперименте на 30-суточных животных.

Заключение. Таким образом, введение капсаицина в инфантильном и зрелом возрасте вызывает гибель как нейрональных предшественников, что подтверждается изменениями в клеточном составе дистального отдела рострального потока (центральная зона ОЛ), так и зрелых нейронов во всех слоях. Динамика ЧП астроцитов в слоях ОЛ при введении капсаицина однотипна, но выраженность её различна. ЧП астроцитов максимально увеличивается к 30-м суткам эксперимента, что соответствует длительности острой фазы реактивного глиоза (4–5 нед). При введении токсина в инфантильном возрасте через 60 сут ЧП астроцитов во всех слоях ОЛ снижается вследствие развития компенсаторных процессов. Введение токсических доз капсаицина в зрелом возрасте приводит к устойчивому глиозу без тенденции к компенсации, что подтверждает меньшую пластичность и адаптивность ткани мозга взрослых крыс к нейротоксическому воздействию.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: Д. А. П.

Сбор и обработка материала: Д. А. П., А. В. М., К. К. П.

Статистическая обработка данных: Д. А. П., А. В. М., К. К. П.

Анализ и интерпретация данных: Д. А. П.

Написание текста: Д. А. П.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанова Л.С., Румянцева Т.А. Влияние химической деафферентации на возрастные преобразования морфометрических характеристик нейроцитов ядер блуждающего нерва у белой крысы // Вопросы морфологии и патологии. М.: Изд-во РГМУ, 2007. С. 75–82 [Agadzhanova L.S., Rumyantseva T.A. // The effect of chemical deafferentation on the age-related transformations of the morphometric characteristics of the neurocytes of the nucleus of the vagus nerve in the white rat // Voprosy morfologii i patologii. M.: Izdatel'stvo RGMU, 2007. P. 75–82. In Russ.].
2. Гомазков О.А. Нейрогенез как адаптивная функция мозга. М.: НИИ биомедицинской химии, 2014. 85 с. [Gomazkov O.A. Neurogenesis as an adaptive function of the brain. M.: Nauchno-issledovatel'skii institut biomeditsinskoi khimii, 2014. 85 p. In Russ.].
3. Гусельникова В.В., Коржевский Д.Э. NeuN-нейрональный ядерный антиген и маркер дифференцировки нервных клеток // Acta Naturae. 2015. Т. 7, вып. 2 (25). С. 46–51

- [Gusel'nikova V.V., Korzhevsky D.E. NeuN — neuronal nuclear antigen and a differentiation marker of nerve cells // *Acta Naturae*. 2015. Vol. 7, № 2 (25). P. 46–51].
4. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев: Вища школа: 1983. 383 с. [Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zakharia E.A., Zapadnyuk B.V. Laboratory animals. Dilution, maintenance, use in the experiment. Kiev: Vishcha shkola. 1983. 383 p. In Russ.].
 5. Золотарев В.А., Ноздрачев А.Д. Капсаицин-чувствительные афференты блуждающего нерва // *Росс. физиол. журн. им. И.М.Сеченова*. 2001. Т. 87, вып. 2. С. 182–204 [Zolotarev V.A., Nozdrachev A.D. Capsaicin-sensitive fibers of the vagus // *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M.Sechenova*. 2001. Vol. 87. Iss.2. P. 182–204. In Russ.].
 6. Коржевский Д.Э., Отеллин В.А. Иммуноцитохимическое выявление астроцитов в срезах головного мозга в сочетании с окраской по Нисслю // *Морфология*. 2004. Т. 125, вып. 3. С. 100–102 [Korzhevsky D.E., Otellin V.A. Immunocytochemical detection of astrocytes in brain sections in combination with Nissl staining // *Morfologiya*. 2004. Vol. 125, № 3. P. 100–102. In Russ.].
 7. Румянцева Т.А., Пожилов Д.А., Варенцов В.Е., Москаленко А.В. Реакция астроцитов обонятельной луковицы крысы на введение капсаицина в инфантильном возрасте // *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*. 2018. № 5. С. 239–244 [Rumyantseva T.A., Pozhilov D.A., Varencov V.E., Moskalenko A.V. Reaction of rat olfactory bulb astrocytes to capsaicin administration in infantile age // *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii. Elektronnoe izdanie*. 2018. № 5. P. 239–244. In Russ.].
 8. Румянцева Т.А., Пожилов Д.А., Варенцов В.Е., Москаленко А.В. Возрастные особенности экспрессии GFAP и DCX в обонятельных луковицах и роstralном миграционном потоке у крыс // *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2018. Т. 7, № 2. С. 69–75 [Rumyantseva T.A., Pozhilov D.A., Varentsov V.E., Moskalenko A.V. Age specific features of GFAP and DCX expression in olfactory bulbs and rostral migration stream in rats // *Zhurnal anatomii i gistopatologii*. 2018. Vol. 7, № 2. P. 69–75. In Russ.]. doi:10.18499/2225-7357-2018-7-2-69-75
 9. Филимонов В.И., Невзорова М.Н. Влияние химической деафферентации на морфометрические характеристики сосудов обонятельной луковицы белой крысы // *Морфология*. 2004. Т. 126, вып. 4. С. 128–129 [Filimonov V.I., Nevzorova M.N. The effects of chemical deafferentation on the morphological characteristics of vessels in the olfactory bulb of white rats // *Morfologiya*. 2004. Vol. 126, № 4. P. 128–129. In Russ.].
 10. Bushong E.A. Maturation of astrocyte morphology and the establishment of astrocyte domains during postnatal hippocampal development // *Int. J. Dev. Neurosci*. 2004. Vol. 22. P. 73–86.
 11. Dong H.W., Davis J.C., Ding S., Nai Q., Zhou F.M., Ennis M. Expression of transient receptor potential (TRP) channel mRNAs in the mouse olfactory bulb // *Neurosci Lett*. 2012. Vol. 524, № 1. P. 49–54. doi: 10.1016/j.neulet.2012.07.013. Epub 2012 Jul 20. PMID: 22820212
 12. Gallaher Z.R., Johnston S.T., Czaja K. Neural proliferation in the dorsal root ganglia of the adult rat following capsaicin-induced neuronal death // *J. Comp. Neurol*. 2014. Vol. 522, № 14. P. 3295–307. doi: 10.1002/cne.23598
 13. García-Marqués J., López-Mascaraque L. Clonal Mapping of Astrocytes in the Olfactory Bulb and Rostral Migratory Stream // *Cerebral. Cortex*. 2016. Vol. 27, № 3. P. 1–15.
 14. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition // The National Academies Press. Washington: DC, 2011. 248.
 15. Lucassen P.J. Regulation of adult neurogenesis by stress, sleep disruption, exercise and inflammation: Implications for depression and antidepressant action // *Eur. Neuropsychopharmacol*. 2010. Vol. 20, № 1. P. 1–17.
 16. Pekny M., Pekna M. Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits // *Physiol. Rev*. 2014. Vol. 94, № 4. P. 1077–1098.
 17. Ritter S., Dinh T.T. Capsaicin-induced neuronal degeneration in the brain and retina of preweanling rats // *J. Comp. Neurol*. 1990. Vol. 296, № 3. P. 447–461.
 18. Ruihe Lin, Lorraine Iacovitti. Classic and novel stem cell niches in brain homeostasis and repair // *Brain Res*. 2015. Vol. 1628. P. 327–342.
- Поступила в редакцию 11.04.2019
Получена после доработки 19.06.2019
- ### AGE-RELATED CHARACTERISTICS OF OLFACTORY BULB ASTROCYTES REACTION TO THE ADMINISTRATION OF CAPSAICIN
- D. A. Pozhilov, A. V. Moskalenko, K. K. Pshenishnov*
- Objective** — to compare the reaction of rat olfactory bulb astrocytes to capsaicin administration at different stages of postnatal ontogenesis.
- Materials and methods.** On serial paraffin sections of the olfactory bulbs of 70 male Wistar rats aged 30 to 240 days, astrocytes and mature neurons were detected using GFAP and NeuN markers. NeuN was demonstrated in the perinuclear cytoplasm and nucleus of mature neurons, glial fibrillary acidic protein (GFAP) of astrocytes — in the cytoplasm and astrocyte processes. The numerical density of mature neurons and astrocytes (pcs/mm²), as well as the average area of astrocyte processes (μm²) were assessed in norm and after neurotoxic exposure to subcutaneous administration of capsaicin in rats of different age groups.
- Results.** Postnatal changes in the studied microstructural parameters of the olfactory bulb in rats were normally observed from 30 to 180 days. In adulthood, stabilization of both the numerical density of neurons and astrocytes, and the average area of the processes of astrocytes were observed. It was found that neurotoxic exposure caused neuronal death and an increase in the numerical density of astrocytes in different layers of olfactory bulb, caused by a response to damage. More profound microstructural changes in the primary and secondary neurogenic niches were noted.
- Conclusions.** Neuronal death was maximal at 15–30 days and reactive gliosis — at 30 days after neurotoxin administration. In infantile rats the intensity of gliosis decreased by the 60th day of the experiment, in adulthood gliosis did not tend to decrease.
- Key words:** rat olfactory bulb, neurons, astrocytes, capsaicin, reactive gliosis
- Department of Human Anatomy, Yaroslavl' State Medical University, 5 Revolucionnaya St., Yaroslavl 150000