

© Н. А. Никишина, Т. А. Ишунина, 2019  
УДК 612.015.6:611.813.018.8:616.381-089:599.323.4

*Н. А. Никишина, Т. А. Ишунина*

## ВЛИЯНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙРОНОВ ДВИГАТЕЛЬНОЙ КОРЫ И ХВОСТАТОГО ЯДРА У МОРСКИХ СВИНОК ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ РАНЫ БРЮШНОЙ СТЕНКИ

Кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии (зав. — проф. А. В. Иванов), ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Курск

**Цель** — изучение влияния аскорбиновой кислоты на структуру хвостатого ядра и двигательной коры у морских свинок при моделировании операционной раны брюшной стенки.

**Материал и методы.** Работа выполнена на гистологических препаратах ткани мозга, взятой в области хвостатого ядра и двигательной коры большого мозга 13 морских свинок после 14-суточного подкожного введения 5% раствора аскорбиновой кислоты и моделирования раны брюшной стенки. На парафиновых срезах, окрашенных крезильовым фиолетовым ацетатом, определяли размеры ядер и перикарионов нейронов, плотность расположения нейронов, площадь и плотность кровеносных сосудов.

**Результаты.** Введение аскорбиновой кислоты приводит к увеличению площади кровеносных сосудов в хвостатом ядре и размеров перикарионов нейронов в разных citoархитектонических слоях двигательной коры. Моделирование раневого процесса приводит к снижению метаболической активности нейронов изученных структур и ухудшению кровоснабжения в хвостатом ядре. Введение животным аскорбиновой кислоты в течение 7 сут до и после операции не способно полностью нивелировать эти эффекты.

**Выводы.** В работе показано, что подкожное введение 5% раствора аскорбиновой кислоты в определенной степени способствует увеличению метаболической активности нейронов двигательной коры и улучшению кровоснабжения хвостатого ядра у морских свинок.

**Ключевые слова:** *двигательная кора, хвостатое ядро, размеры перикарионов и ядер нейронов, площадь кровеносных сосудов, аскорбиновая кислота*

Аскорбиновая кислота (АК), выступая в роли донора электронов, является мощным антиоксидантом [6]. В этом качестве она способна обеспечивать превентивные и терапевтические эффекты в отношении нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, Паркинсона, Гентингтона [7, 9]. Экспериментальные исследования показали высокую степень накопления АК в различных структурах головного мозга [9]. Однако морфологические изменения в головном мозгу под влияния АК на сегодняшний день остаются неизученными. Известно, что хвостатое ядро, наряду с мозжечком, получает информацию от двигательной коры, отвечающей за реализацию произвольных сознательных движений [8]. Помимо управления двигательными функциями, хвостатое ядро активно участвует в нейрофизиологических механизмах обучения и памяти [13]. Кровоснабжение хвостатого ядра осуществляется сосудами (в основном ветвями средней и передней мозговой артерий), патология которых у человека наиболее часто приводит к инсульту [8]. Исследование выполнено на морских свинках,

которые, подобно человеку, не способны синтезировать эндогенную АК и зависят от её поступления с пищей [6]. Известно, что в условиях хирургического стресса АК может демонстрировать противоположные прооксидантные свойства, приводя к увеличению образования перекиси водорода и высоко реактивных повреждающих гидроксильных радикалов [11]. Поэтому в настоящей работе эффекты АК изучались не только после её введения интактным животным, но и после моделирования операционной раны.

Цель исследования заключалась в изучении влияния аскорбиновой кислоты на структуру хвостатого ядра и двигательной коры у морских свинок при моделировании раневого процесса брюшной стенки.

**Материал и методы.** Работа выполнена на 13 морских свинках, подразделенных на 4 группы. Группа 1 включала интактных животных, группа 2 — животных, получавших 0,2 мл 5% раствора АК подкожно каждый день. Морским свинкам групп 3 и 4 был произведен разрез брюшной стенки на протяжении 3 см с последующим наложением шва. Животным группы 4 ежедневно вводили АК в течение 7 сут до и после операции.

### Сведения об авторах:

*Никишина Нина Алексеевна, Ишунина Татьяна Александровна* (e-mail: [ishunina@gmail.com](mailto:ishunina@gmail.com)), кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3

Все эксперименты выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755) и с рекомендациями Международного комитета по науке о лабораторных животных, поддержанных ВОЗ, директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.2010 г. «О защите животных, используемых для научных целей» и разрешением регионального этического комитета КГМУ, протокол № 3 от 27.10.2015 г.

Различия в концентрации АК определяли по уровню её экскреции с мочой дихлорлиндофеноловым способом. Значимо более высокий уровень АК в моче (в 1,5–2 раза) наблюдался во 2-й и 4-й группах по сравнению с 1-й и 3-й.

Головной мозг морских свинок фиксировали в 10% растворе нейтрального забуференного формалина и заливали в парафин. Серийные срезы толщиной 10 мкм окрашивали крезильным фиолетовым ацетатом. В каждой изученной группе просмотрены 10 срезов.

В качестве показателей метаболической активности определяли площадь сечения нейронов и их ядер в цитоархитектонических слоях двигательной коры [1–4]. Оценку трофики хвостатого ядра оценивали путём подсчёта плотности и площади кровеносных сосудов [5]. С помощью программы Image J при увеличении в 400 раз определяли площадь сечения перикарионов и их ядер, плотность расположения нейронов, площадь сечения сосудов и их плотность, площадь волокнистого компонента «patches» (на площади 1700 мкм<sup>2</sup> в хвостатом ядре). При увеличении в 100 раз измеряли толщину двигательной коры. Микрофотографии препаратов выполнены с помощью микроскопа Leica CME 3–2 (Германия) и цифровой камеры Micromed MVV 5000 (Китай). На препаратах хвостатого ядра измерены 11 796 нейронов, в двигательной коре — 1718 нейронов. В каждом из изученных трех слоев двигательной коры проанализированы от 523 до 613 нейронов. Обработка полученных данных осуществлялась с помощью вариационной статистики. Для определения значимости различий между выборками применяли непараметрический тест Манна–Уитни. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** Микроструктура головного мозга животных, которым вводили АК, всегда была качественно лучше, чем у других животных. Это проявлялось более чётким разграничением границ матрикса и волокнистого компонента, отчётливыми контурами пери-

карионов и ядер нейронов, лучшей визуализацией вещества Ниссля (рис. 1, 2).

После 14 сут введения АК морским свинкам (группа 2) размеры перикарионов и ядер нейронов в хвостатом ядре увеличивались на 11,0 и 18,8% соответственно, а плотность расположения нейроцитов увеличивалась на 9,3%; площадь сечения сосудов увеличивалась более чем в 2 раза по сравнению с интактными животными. Однако в исследованных выборках эти различия не были статистически значимыми (таблица).

В хвостатом ядре после моделирования операционной раны размеры перикарионов уменьшались на 10,6%, а ядер нейронов — на 17,0%. При этом плотность нейронов в экспериментальной группе 3 значимо увеличивалась, а площадь сечения сосудов уменьшалась ( $p < 0,05$ ).

Толщина двигательной коры (рис. 3) была значимо больше у животных группы 2, получавших АК, по сравнению с группой 4 послеоперационных животных, получавших АК.

Размеры перикарионов нейронов двигательной коры после введения АК животным группы 2 значимо увеличивались во II, V и VI слоях (см. рис. 3), а плотность нейронов была меньше, чем в контрольной группе 1 и группе 4 послеоперационных животных, получавших АК.

После моделирования операционной раны в группе 3 размеры перикарионов во всех слоях двигательной коры уменьшались по сравнению с контрольной группой 1. Различия между экспериментальной и контрольной группами были характерны для показателей III и IV цитоархитектонических слоев ( $p < 0,05$ ) (см. рис. 3).

**Обсуждение полученных данных.** Анализ результатов нашего исследования показал, что наиболее выраженные эффекты АК при введении 0,2 мл 5% раствора в течение 14 сут заключаются в увеличении размеров перикарионов во II–VI слоях двигательной коры (см. рис. 3, г) и увеличении площади сечения крове-

**Морфометрические показатели нервной ткани головки хвостатого ядра морских свинок ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )**

Группы животных, число животных в группе (n)	Плотность нейронов	Размер перикарионов, мкм <sup>2</sup>	Размер ядер, мкм <sup>2</sup>	Суммарная площадь сосудов, мкм <sup>2</sup>	Суммарная площадь волокнистого компонента, мкм <sup>2</sup>
Интактные (1-я группа, n=4)	248,3±26,5	61,2±8,5	32,3±3,8	22145,6±5150,1	60252,3±5106,1
Получавшие аскорбиновую кислоту (2-я группа, n=3)	271,4±7,8	72,7±4,8	35,4±2,8	54577,6±23652,2	40718,1±9192,2
Послеоперационные (3-я группа, n=3)	387,1±26,1	58,5±7,9	24,8±2,3	12368,4±4030,5	61056,9±6705,1
Послеоперационные получавшие аскорбиновую кислоту (4-я группа, n=3)	347,7±18,8	58,5±4,8	28,6±3,2	21690,4±8613,4	51970,4±6095,5

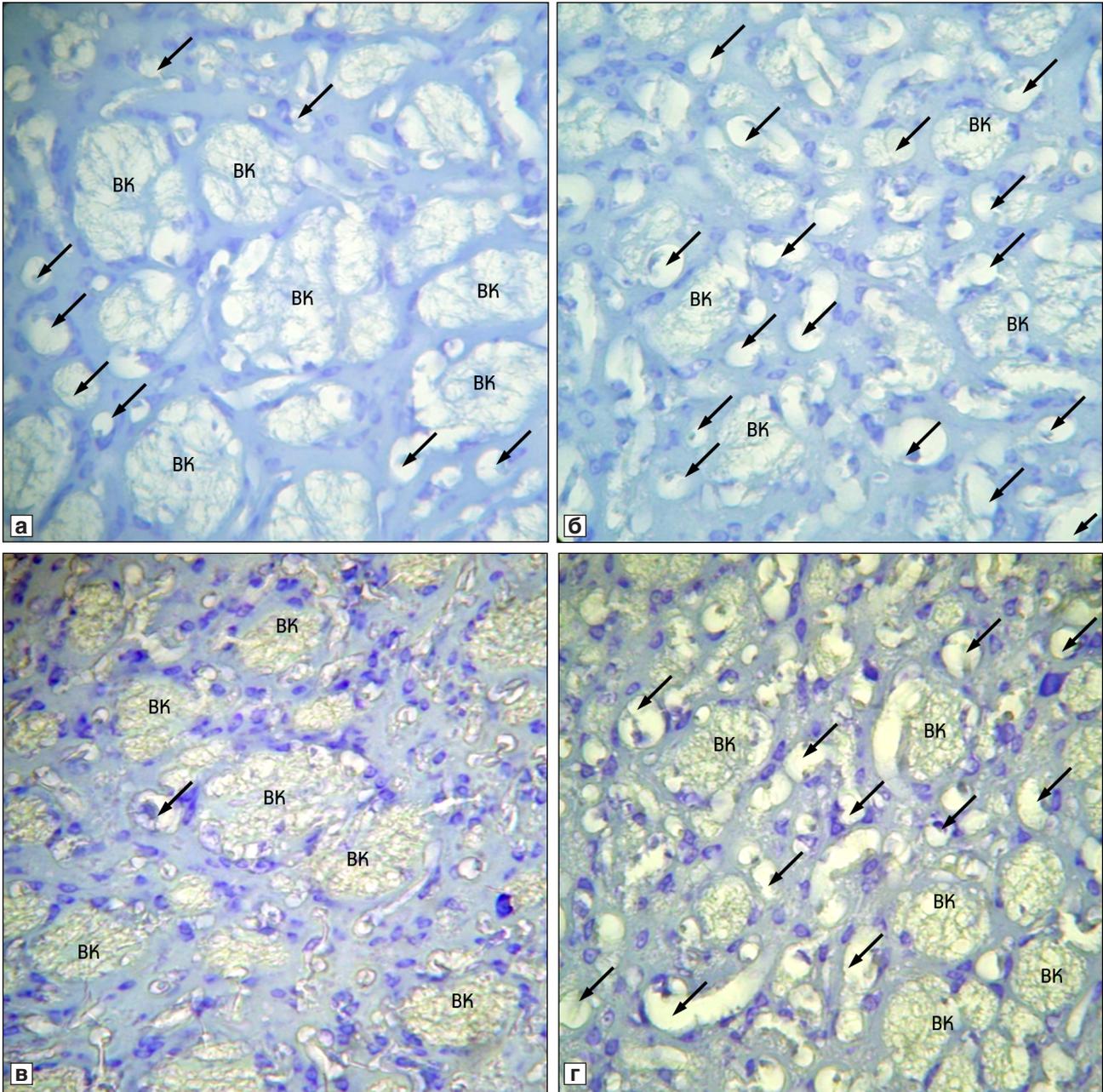


Рис. 1. Микрофотографии микроструктуры хвостатого ядра морских свинок различных экспериментальных групп.

а — интактные (группа 1); б — получавшие АК (группа 2); в — послеоперационные (группа 3); г — послеоперационные, получавшие АК (группа 4). BK — волокнистый компонент. Стрелки — кровеносные сосуды. Окраска крезилевым фиолетовым ацетатом. Ув. 400

носных сосудов в хвостатом ядре. Это свидетельствует об усилении метаболической активности нейронов на фоне приёма аскорбиновой кислоты, что, прежде всего, связано с улучшением трофики нейронов за счёт продемонстрированного в настоящей работе вазодилатирующего эффекта в отношении сосудов головного мозга. В свою очередь, как показали исследования других авторов, вазодилатирующий эффект аскорбиновой кислоты может быть связан с повышением концентрации оксида азота [12]. Более того, витамин С способен инициировать ангиогенез, образование новых кровеносных сосудов за счёт уси-

ления пролиферации клеток сосудистой стенки и синтеза коллагена IV типа [14]. Не исключено, что увеличение общей площади сосудов в срезах хвостатого ядра является результатом сочетанного эффекта вазодилатации и неангиогенеза. В свою очередь, увеличение метаболической активности может быть связано не только с улучшением трофики, но и участием аскорбиновой кислоты во внутриклеточных биохимических процессах в качестве ко-фактора ферментов и непосредственным воздействием на экспрессию генов [10]. Результаты настоящего исследования демонстрируют потенциальную необходимость более

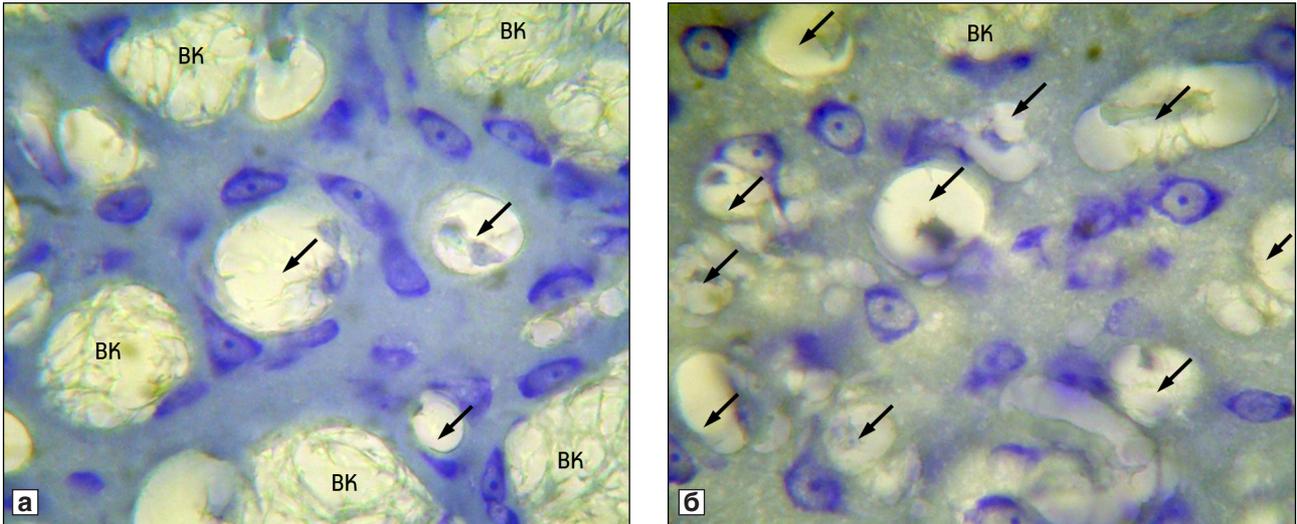


Рис. 2. Микрофотографии микроструктуры хвостатого ядра морских свинок интактной группы (а) и группы, получавшей АК (б).

Обозначения те же, что на рис. 1. Окраска крезильовым фиолетовым ацетатом. Ув. 1000

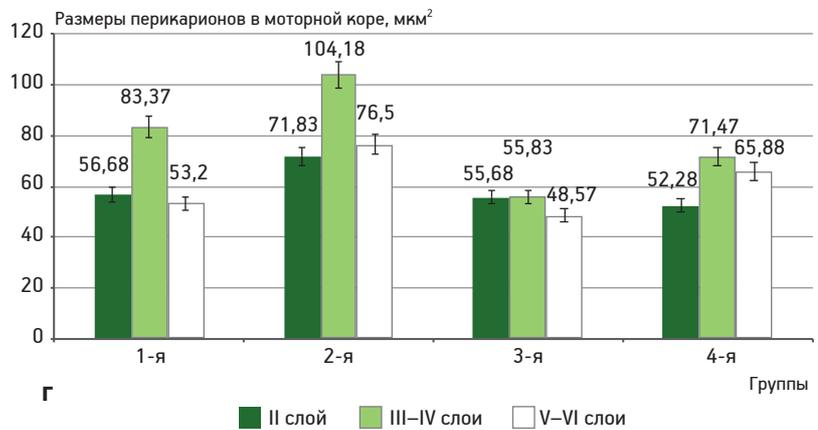
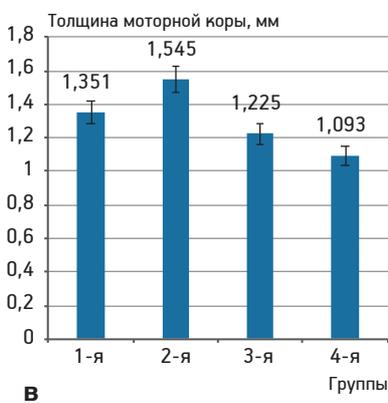
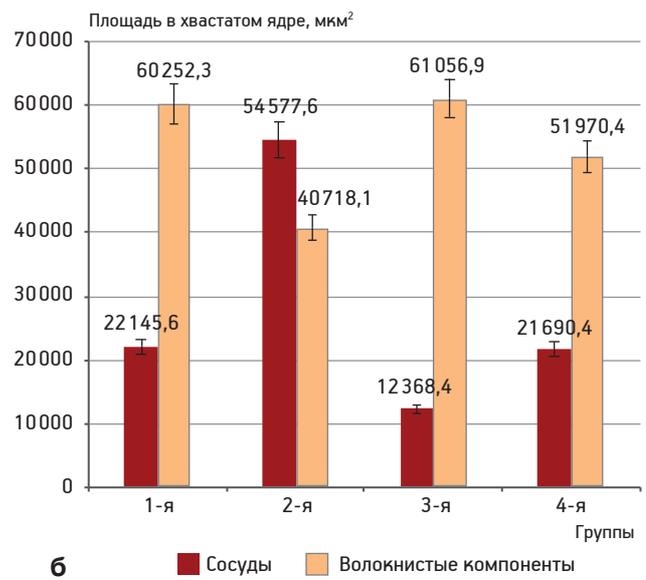
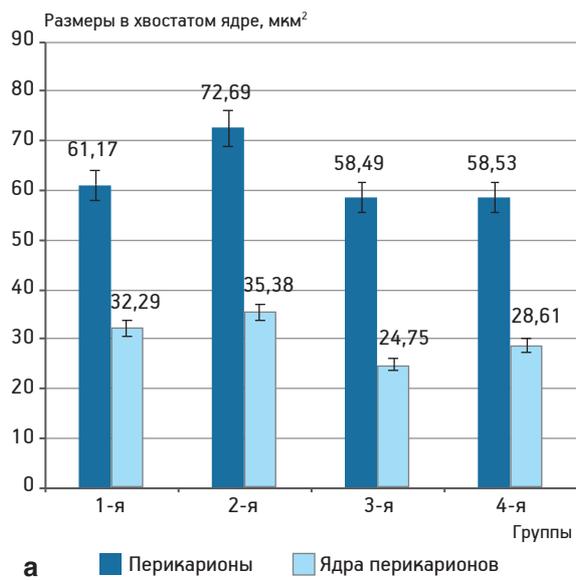


Рис. 3. Морфометрические показатели хвостатого ядра (а, б) и двигательной коры (в, г) экспериментальных морских свинок. 1-я группа — интактные; 2-я — получавшие АК; 3-я — послеоперационные; 4-я — послеоперационные, получавшие АК

подробного изучения воздействия аскорбиновой кислоты на нейроны коры больших полушарий.

После моделирования раневого процесса наблюдалось уменьшение толщины двигательной коры и размеров её перикарионов III и IV слоев. В хвостатом ядре увеличивалась плотность нейронов и уменьшалась площадь сечения кровеносных сосудов. Эти данные свидетельствуют о негативном влиянии операционного вмешательства и общего наркоза на метаболическую активность нейронов коры больших полушарий и ухудшение трофики нервной ткани в этих условиях. Введение аскорбиновой кислоты до и после операции лишь частично сглаживает последствия хирургического стресса, незначительно увеличивая размеры нейронов III–VI цитоархитектонических слоёв двигательной коры и площадь сечения сосудов в хвостатом ядре.

Таким образом, аскорбиновая кислота способна увеличивать метаболическую активность нейронов двигательной коры и улучшать кровоснабжение хвостатого ядра, что можно рассматривать как профилактический эффект в отношении возникновения нейродегенеративных изменений и нарушений мозгового кровообращения.

#### Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: Т. А. И.

Сбор и обработка материала: Н. А. Н., Т. А. И.

Статистическая обработка данных: Н. А. Н., Т. А. И.

Анализ и интерпретация данных: Н. А. Н., Т. А. И.

Написание текста: Н. А. Н., Т. А. И.

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

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Боголепова И.Н. Морфологические особенности индивидуального строения мозга человека // Журн. невропатол. и психиат. им. С.С.Корсакова. 1982. Т. 82, № 7. С. 972 [Bogolepova I.N. Morfologicheskie osobennosti individual'nogo stroeniya mozga cheloveka // Zhurnal nevropatologii i psikiatrii im. S. S. Korsakova. 1982. Vol. 82, № 7. P. 972. In Russ.].
2. Боголепова И.Н. Цитоархитектонические критерии индивидуальной вариабельности мозга человека // Морфология. 2000. Т. 117, вып. 3. С. 24 [Bogolepova I.N. Cytoarchitectonic criteria of individual variability of the human brain // Morfologiya. 2000. Vol. 117, № 3. P. 24. In Russ.].
3. Боголепова И.Н., Малофеева Л.И., Малофеева И.Г., Агапов П.А. Возрастные изменения цитоархитектоники коры речедвигательной зоны мозга у мужчин и женщин // Морфологические ведомости. 2017. Т. 25, № 1, вып. 25. С. 32–36 [Bogolepova I.N., Malofeeva L.I., Malofeeva I.G., Agapov P.A. Vozrastnye izmeneniya citoarhitektoniki kory rechedvigatel'noy zony mozga u muzhchin i zhenshchin // Morfologicheskie vedomosti. 2017. Vol. 25, № 1. P. 32–36. In Russ.].
4. Ишунина Т.А. Размеры ядер и перикарионов нейронов базального ядра Мейнерта и заднего гипоталамуса в разных возрастных группах // Успехи геронтол. 2015. Т. 28, № 1. С. 37–41 [Ishunina T.A. Razmery yader i perikarionov neyronov bazal'nogo yadra Mejnerta i zadnego gipotalamusa v raznykh vozrastnykh gruppah // Uspekhi gerontologii. 2015. Vol. 28, № 1. P. 37–41. In Russ.].
5. Павлов А.В., Жеребятъева С.Р., Лазутина Г.С., Овчинникова Н.В. Гистологическая характеристика архитектоники сосцевидных тел головного мозга людей разного возраста // Науч. ведомости Белгородск. гос. ун-та. Серия: Медицина. Фармация. 2016. Т. 5, вып. 226. С. 104–108 [Pavlov A.V., Zherebyat'eva S.R., Lazutina G.S., Ovchinnikova N.V. Histological description of human mammillary bodies architectonic in different ages // Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Medicina. Farmaciya. 2016. Vol. 5, № 226. P. 104–108. In Russ.].
6. Arrigoni O., De Tullio M.C. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant // Biochim. Biophys. Acta. 2002. Vol. 1569, № 1–3. P. 1–9.
7. Bowman G. Ascorbic acid, cognitive function, and Alzheimer's disease: a current review and future direction // Biofactors. 2012. Vol. 38, № 2. P. 114–122.
8. Feekes J.A., Cassel M.D. The vascular supply of the functional compartments of the human striatum // Brain. 2006. Vol. 129. P. 2189–2201.
9. Harrison F., May J.M. Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter (SVCT2) // Free Radic. Biol. Med. 2009. Vol. 46, № 6. P. 719–730.
10. Harrison F.E., Bowman G.L., Polidori M.C. Ascorbic acid and the brain: rationale for the use against cognitive decline // Nutrients. 2014. Vol. 6, № 4. P. 1752–1781.
11. Kubin A., Kaudela K., Jindra R., Alth G., Grünbe rger W., Wierrani F., Ebermann R. Dehydroascorbic acid in urine as a possible indicator of surgical stress // Ann. Nutr. Metab. 2003. Vol. 47, № 1. P. 1–5.
12. Mortensen A., Lykkesfeldt J. Does vitamin C enhance nitric oxide bioavailability in a tetrahydrobiopterin-dependent manner? In vitro, in vivo and clinical studies // Nitric oxide. 2014. Vol. 36. P. 51–57.
13. Packard M.G., Knowlton B.J. Learning and memory functions of the basal ganglia // Ann Rev Neurosci. 2002. Vol. 25. P. 563–593.
14. Telanq S., Clem A.L., Eaton J.W., Chesney J. Depletion of ascorbic acid restricts angiogenesis and retards tumor growth in a mouse model // Neoplasia. 2007. Vol. 9, № 1. P. 47–56.

Поступила в редакцию 24.02.2019

Получена после доработки 24.03.2019

### ASCORBIC ACID EFFECTS ON THE MORPHOMETRIC PARAMETERS OF NEURONS IN THE MOTOR CORTEX AND THE CAUDATE NUCLEUS OF GUINEA PIGS AFTER MODELING A SURGICAL ABDOMINAL WALL WOUND

*N. A. Nikishina, T. A. Ishunina*

**Objective** — to study the effect of ascorbic acid (AA) on the structure of the caudate nucleus and motor cortex in guinea pigs after modeling of the abdominal wall wound.

**Material and methods.** The work was performed on histological sections of brain tissue obtained from the area of the caudate nucleus and motor cortex of 13 guinea pigs after 14 days of subcutaneous administration of a 5% ascorbic acid solution

and modeling of an abdominal wall wound. The sizes of neuronal nuclei and perikarya, the density of neurons, the area and the density of blood vessels were estimated on the paraffin sections stained with cresyl violet acetate.

**Results.** Treatment with AA led to an increase in the area of blood vessels in the caudate nucleus and to an increase in the size of neuronal perikarya in different cytoarchitectonic layers of the motor cortex. Modeling of the wound process led to the reduction of metabolic activity of neurons in the studied structures and to the deterioration of blood supply in the caudate nucleus. Treatment of animals with AA within 7 days before and

7 days after the operation was not able to ameliorate these effects completely.

**Conclusions.** The study demonstrated that subcutaneous administration of a 5% solution of ascorbic acid to a certain extent helps to increase the metabolic activity of motor cortex neurons and to improve the blood supply to the caudate nucleus in guinea pigs.

**Key words:** motor cortex, caudate nucleus, size of perikarya and neuronal nuclei, area of blood vessels, ascorbic acid

Department of Histology, Embryology, Cytology, Kursk State Medical University, 3 K. Marx St., Kursk 305041

© Коллектив авторов, 2019  
УДК 616.147.22.007.64-018-053.5

*В. А. Черешнев*<sup>1</sup>, *С. В. Пичугова*<sup>1, 2</sup>, *Л. Г. Тулакина*<sup>2</sup>, *С. Ю. Комарова*<sup>3, 4</sup>, *Я. Б. Бейкин*<sup>1, 2</sup>

## ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВЕН СЕМЕННОГО КАНАТИКА У ПОДРОСТКОВ С ВАРИКОЦЕЛЕ

<sup>1</sup> Лаборатория иммунофизиологии и иммунофармакологии (зав. — чл.-кор. РАН проф. Б. Г. Юшков), ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения РАН; <sup>2</sup> лаборатория электронной микроскопии (зав. — канд. мед. наук Л. Г. Тулакина), МАУ «Клинико-диагностический центр»; <sup>3</sup> кафедра детской хирургии (зав. — д-р мед. наук проф. Н. А. Цап), ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, <sup>4</sup> МАУ «Детская городская клиническая больница № 9, г. Екатеринбург

**Цель** — изучить структурные изменения вен семенного канатика у подростков с варикоцеле II и III степени.

**Материал и методы.** Проведено исследование биоптатов вен семенного канатика, взятых во время варикоцелеэктомии у 43 подростков в возрасте 13–14 лет с левосторонним варикоцеле. Материал обработан с использованием гистологических и ультраструктурных методик для изучения с помощью светооптической и электронной микроскопии на количественной основе особенностей стенки вен семенного канатика.

**Результаты.** При сопоставлении результатов гистологического и ультраструктурного исследований вен при варикоцеле II и III степени выявлены изменения эндотелия (деструкция и десквамация эндотелиоцитов), дегенеративные изменения гладкой мышечной ткани и увеличение доли эластических и коллагеновых волокон в стенке вены, формирование зон склероза.

**Выводы.** При варикоцеле наблюдаются ряд структурных изменений в стенке вен семенного канатика. Корреляции между выраженностью изменений вен и клинической степенью варикоцеле не установлено.

**Ключевые слова:** вены семенного канатика, подростки, варикоцеле

Варикоцеле (ВЦ) — это аномальное расширение и извитость вен лозовидного сплетения в структуре семенного канатика [2, 12]. Распространенность этой патологии в мужской популяции составляет 15%, а среди подростков 14–18 лет достигает 19% и является самой частой, успешно хирургически корректируемой

причиной мужского бесплодия [6, 17]. Раннее выявление ВЦ и своевременная коррекция позволяют сохранить фертильный потенциал подростков и репродуктивную функцию в детородном возрасте [10]. Актуальность проблемы ВЦ обусловлена тем, что изменение локальной гемодинамики приводит к развитию бесплодия [1, 4, 9, 18].

### Сведения об авторах:

*Черешнев Валерий Александрович, Пичугова Светлана Владимировна* (e-mail: [ekb-lem@mail.ru](mailto:ekb-lem@mail.ru)), *Бейкин Яков Борисович*, ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения РАН, 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106

*Тулакина Людмила Геннадьевна*, лаборатория электронной микроскопии МАУ «Клинико-диагностический центр», 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 78 «В»

*Комарова Светлана Юрьевна*, кафедра детской хирургии, ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 620014, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3; МАУ «Детская городская клиническая больница № 9», 620134 г. Екатеринбург, ул. Решетская, 51