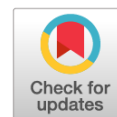


DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110834>

# Ультраструктура клеток коры головного мозга крыс в норме и при экспериментальном отравлении диоксином

М.М. Сальникова<sup>1, 2</sup>, А.И. Яковлева<sup>3</sup>, В.Р. Саитов<sup>1, 2</sup>, А.И. Голубев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

<sup>3</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** В настоящее время не существует разработанных средств терапии при диоксиновой интоксикации: лечение носит лишь симптоматический характер, вследствие чего различные проявления воздействия диоксина на биологические объекты животного происхождения активно изучаются.

**Цель** — изучить ультраструктуру коры головного мозга крыс в норме и при экспериментальном отравлении диоксином.

**Материалы и методы.** Исследована ультраструктура клеток пирамидного слоя коры головного мозга крыс контрольной и опытных групп, получавших хроническое отравление малыми дозами диоксина (2,3,7,8-тетрахлордibenзо-пара-диоксин). Проведён морфометрический анализ с определением длины синаптических щелей, количества синапсов на единицу площади, толщины миелиновой оболочки внутрикорковых нервных волокон и числа оборотов миелина.

**Результаты.** Как на светооптическом, так и на ультраструктурном уровне патология нейронов характеризуется уменьшением ядер, гибелью клеток, истончением миелиновых оболочек и демиелинизацией. Доза отравления коррелирует со степенью деструкции нейронов: с увеличением дозы диоксина изменения становятся существеннее. Количество самих синаптических контактов снижается, но при этом происходит значимое увеличение их средней длины.

**Выводы.** Процессы демиелинизации, нарушения клеточного дыхания и деструкции синаптических контактов свидетельствуют о способности диоксина опосредованно вызывать ускоренное старение нейронов и их гибель (апоптоз).

**Ключевые слова:** крысы; нейроны; диоксин; синапсы; демиелинизация; морфометрический анализ;

## Как цитировать:

Сальникова М.М., Яковлева А.И., Саитов В.Р., Голубев А.И. Ультраструктура клеток коры головного мозга крыс в норме и при экспериментальном отравлении диоксином // Морфология. 2021. Т. 159, № 3. С. 107–115. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110834>

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110834>

# Ultrastructure of rat cerebral cortex cells in normal and experimental dioxin poisoning

Marina M. Salnikova<sup>1, 2</sup>, Anastasia I. Yakovleva<sup>3</sup>, Vadim R. Saitov<sup>1, 2</sup>, Anatoliy I. Golubev<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russian Federation;

<sup>2</sup> Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation;

<sup>3</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Currently, the treatment of dioxin intoxication is only symptomatic as there are no developed methods of therapy for it. Therefore, various manifestations of the effect of dioxin on biological objects of animal origin are being actively studied.

**AIM:** The study of the ultrastructure of the cerebral cortex of rats in normal and experimental poisoning with dioxin.

**MATERIALS AND METHODS:** We studied the ultrastructure of the cells of the pyramidal layer of the cerebral cortex of rats of the control and experimental groups that were chronically exposed to small doses of dioxin (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-pa-ra-dioxin or TCDD). Morphometric analysis was carried out to determine the length of synaptic clefts, the number of synapses per unit area, the thickness of the myelin layer of the processes, and the number of wrappers of myelin sheaths.

**RESULTS:** The pathology of neurons was observed both at the optical and ultrastructural levels. It was characterized by a decrease in nuclei, cell death, thinning of myelin sheaths, and demyelination. There was a significant positive correlation between dose of poisoning and the degree of destruction of neurons. The number of synaptic contacts decreased with an increase in their average length.

**CONCLUSIONS:** Demyelination, impaired cellular respiration, and destruction of synaptic contacts indicated the ability of dioxin to indirectly cause accelerated aging of neurons and their death (apoptosis).

**Keywords:** rats; neurons; dioxin; synapses; demyelination; morphometric analysis.

## To cite this article:

Salnikova MM, Yakovleva AI, Saitov VR, Golubev AI. Ultrastructure of rat cerebral cortex cells in normal and experimental dioxin poisoning. *Morphology*. 2021;159(3):107–115. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110834>

## ВВЕДЕНИЕ

Начиная с конца 1970-х гг. стала хорошо известна токсическая природа диоксинов, а также их способность вызывать изменения на клеточном уровне. В настоящее время не существует разработанных средств терапии при диоксиновой интоксикации, лечение носит лишь симптоматический характер, вследствие чего различные проявления воздействия диоксина на биологические объекты животного происхождения активно изучаются.

Незначительное количество исследований ультраструктурной организации при интоксикации 2,3,7,8-тетрахлордибензо-пара-диоксином (далее — диоксин) рассматривают изменения в ряде органов [1, 2]. Между тем известно, что в нервной ткани содержится большое количество сложных липидов, а диоксины являются липофильными молекулами [3] и, соответственно, должны хорошо проникать в структуры нервной системы и, возможно, менять их архитектуру. Некоторые данные свидетельствуют о том, что клетки мозга даже более чувствительны к воздействию диоксина, чем гепатоциты [4].

**Цель** данной работы — выявление изменений ультраструктуры клеток коры головного мозга крыс после воздействия диоксина в малых дозах ( $1/800$  и  $1/400$  LD<sub>50</sub>) с использованием светооптических и электронно-микроскопических методов, а также анализа морфометрических показателей.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на белых крысах линии Wistar массой 180–200 г. Во время проведения эксперимента всех крыс содержали в стандартных условиях вивария при постоянной температуре (20–22 °C) и влажности. Крыс поделили на три группы, в каждой по 3 особи. Первая группа животных служила биологическим контролем, и ей давали растительное масло, кроме ежедневного рациона. Вторая получала хроническую затравку масляным раствором диоксина в дозе  $1/800$  LD<sub>50</sub> (0,025 мкг на кг массы тела), третья — в дозе  $1/400$  LD<sub>50</sub> (0,05 мкг на кг массы тела), применяли диоксин, изготовленный ПО «Химпром» (Уфа). Забор материала производился через 40 дней после начала эксперимента. Крыс выводили из эксперимента с помощью эвтаназийной декапитации в соответствии с Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных Хельсинкской декларации 1975 г. и её пересмотренным вариантом 2000 г.

### Электронная и световая микроскопия

Использовали кусочки коры головного мозга размером до 1 мм<sup>3</sup>. Подготовку отобранного материала проводили по классической методике. Образцы фиксировали в 1% растворе глутарового альдегида (Sigma-Aldrich) на 0,1 М фосфатном буфере 1 сут в холодильнике.

Постфиксацию проводили в 2% растворе четырёхокиси осмия (Московский химзавод, Москва) на том же буфере 2 ч. Далее проводили дегидратацию материала в спиртах повышающейся концентрации и ацетоне. После обезвоживания кусочки ткани заключали в смесь (Epon 812, DDSA, MNA) эпоксидных смол (EMS) и ацетона для постепенной пропитки. После полимеризации смол готовили полутонкие срезы толщиной 2 мкм. Препараты окрашивали метиленовым синим. Просматривали срезы через световой микроскоп Zeiss Axio Imager M2 (Carl Zeiss) и получали цифровые изображения полутонких срезов. Ультратонкие срезы (толщиной 70 нм) получали на ультрамикротоме Reichert-Jung Ultracut-E 6524-01. Срезы монтировали на электронно-микроскопические сетки и окрашивали уранилацетатом (1,5 ч при 37 °C) и цитратом свинца (2 мин). Полученные сетки со срезами изучали в поле зрения электронного микроскопа JEOL JEM 100 CX-II (Jeol, Япония) с ускоряющим напряжением 80 кВ. Съёмку проводили на плёнку (Agfa Camera Ce Orthochromatic Line Film) и производили оцифровку негативов на сканере Epson Perfection 4990 Photo с разрешением 800 dpi.

### Морфометрия

Морфометрический анализ проводился в программе AxioVision Rel. 4.8.2 (Carl Zeiss). На полутонких срезах подсчитывали число нейронов на единицу площади, площадь ядер нервных клеток. На ультратонких срезах определяли длину синаптической щели, число синапсов на единицу площади, толщину миелиновой оболочки нервных волокон и число оборотов миелина.

### Статистическая обработка

Обработка полученных результатов проведена в программах Microsoft Excel и PAST с помощью линейного коэффициента корреляции Пирсона и t-критерия Стьюдента для независимых выборок; различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Световая микроскопия

Проведена световая микроскопия пирамидного слоя коры головного мозга крыс. Нейроны крупные. Ядра клеток крупные и округлые, занимают практически весь объём перикариона. В большинстве клеток встречается деспирализованная форма хроматина — эухроматин, что обусловлено высокой функциональной активностью нейронов. Внутри ядер находятся плотные ядрышки. В составе глии регистрируются мелкие клетки звёздчатой формы, являющиеся, вероятно, астроцитами.

Пирамидный слой коры головного мозга крыс, получавших в течение 40 дней хроническую затравку диоксином в дозах  $1/800$  LD<sub>50</sub> и  $1/400$  LD<sub>50</sub>, отличается от такового

в препаратах мозга крыс контрольной группы наличием тёмноокрашенных клеток глии и увеличением периваскулярного пространства, обнаруживается периваскулярный отёк. По морфометрическим показателям наблюдаются изменения: количество нервных клеток на единицу площади, у получавших диоксин в обеих дозах крыс, в сравнении с биологическим контролем, достоверно уменьшилось — на 38,2 и 41,7% соответственно. У животных, получавших диоксин в дозе 1/400 LD<sub>50</sub>, регистрируется уменьшение размеров ядер нейронов на 24,5% (таблица).

### Электронная микроскопия

На ультратонких срезах пирамидного слоя коры головного мозга крыс группы биологического контроля были выявлены нейроны и клетки глии — астроциты, олигодендроциты и микроглиоциты (рис.). Нейроны имеют крупные округлые ядра, небольшой участок цитоплазмы по периферии тела нейрона и большое количество отростков. В ядрах хроматин преимущественно деконденсирован, что подтверждает активное функциональное состояние нервных клеток (рис. *b*). Ядрышки округлые, высокой электронной плотности. В них чётко определяются фибриллярные центры и плотный фибриллярный компонент, гранулярный компонент располагается по периферии ядрышка. Некоторые ядра имеют хорошо различимые кластеры интерхроматиновых гранул (рис. *b*), наличие которых также подтверждает высокую синтетическую активность, происходящую в нейронах. В кариолемме хорошо заметны ядерные поры в большом количестве. Перинуклеарное пространство равномерно по всей протяжённости оболочки ядра. В перикарионе сильно развита шероховатая эндоплазматическая сеть (ЭПС) и много отдельных рибосом. Митохондрии в клетках коры головного мозга крыс различной формы. Матрикс митохондрий электронно-плотный, кристы встречаются в большом количестве, они вытянутые, пластинчатые, с равномерным электронно-прозрачным межмембранным пространством (рис. *a*).

В коре головного мозга крыс контрольной группы регистрируется большое количество мелких синапсов. Синаптических пузырьков в пресинаптическом окончании много, в основном они мелкие, содержимое пузырьков разной электронной плотности, что говорит о присутствии в них различных нейромедиаторов. Средний диаметр синаптических везикул равен 50 нм. Синаптическая щель ровная по всей длине, её средняя ширина варьирует (рис. *a*). В коре головного мозга присутствуют синапсы двух видов: симметричные, в которых отсутствует постсинаптическое уплотнение, и асимметричные, где постсинаптическое уплотнение есть. В основном встречаются асимметричные синапсы.

Среди отростков нервных клеток регистрируется большое количество с миелиновыми оболочками. Аксоны имеют различную толщину миелиновой оболочки. Обороты миелина чётко различимы, их число варьирует. В отростках имеется большое количество элементов цитоскелета, крупных митохондрий с большим числом пластинчатых крист и везикул, являющихся транспортируемыми пузырьками с нейромедиатором (рис. *a*).

Олигодендроциты определяются по цитоплазме высокой электронной плотности и ядру правильной округлой формы. Олигодендроцит образует миелиновые оболочки вокруг нескольких отростков нервных клеток, что хорошо заметно по окружающим его аксонам.

### Электронно-микроскопические исследования коры головного мозга крыс, получавших хроническую загрузку диоксином в дозе 1/800 LD<sub>50</sub>

На ультратонких срезах крыс данной группы встречаются нервные клетки и компоненты глии: астроциты, олигодендроциты и микроглиоциты. Нейроны имеют крупные ядра округлой или овальной формы. Часть ядер имеет конденсированный гетерохроматин, расположенный по периферии небольшими глыбками. Как и в контроле, ядрышки плотные, округлые, в них хорошо различаются три основных компонента.

**Таблица.** Морфометрические показатели клеток коры головного мозга крыс после хронической загрузки диоксином в разных дозах,  $M \pm SD$

**Table.** Morphometric parameters of cerebral cortex cells of rats after long-lasting dioxin intoxication at different doses,  $M \pm SD$

| Показатель                                      | Контрольная группа | Опытные группы         |                        |
|---|--------------------|------------------------|------------------------|
|   |                    | 1/800 LD <sub>50</sub> | 1/400 LD <sub>50</sub> |
| Число нейронов на 1 мм <sup>2</sup>             | 156,6±7,4          | 96,8±1,8*              | 91,3±5,6*              |
| Средняя площадь ядра, мкм <sup>2</sup>          | 73,3±3,4           | 70,3±4,9               | 55,4±5,9*              |
| Длина синаптического контакта, нм               | 343,6±16,9         | 514,9±24,2*            | 458,2±32,9*            |
| Число синапсов на площадь в 16 мкм <sup>2</sup> | 2,7±0,3            | 2,3±0,3*               | 2,1±0,4*               |
| Толщина миелина, нм                             | 164,2±24,5         | 68,4±7,6*              | 58,9±5,8*              |
| Число оборотов миелина                          | 6,6±0,5            | 5,8±0,3*               | 4,6±0,3*               |

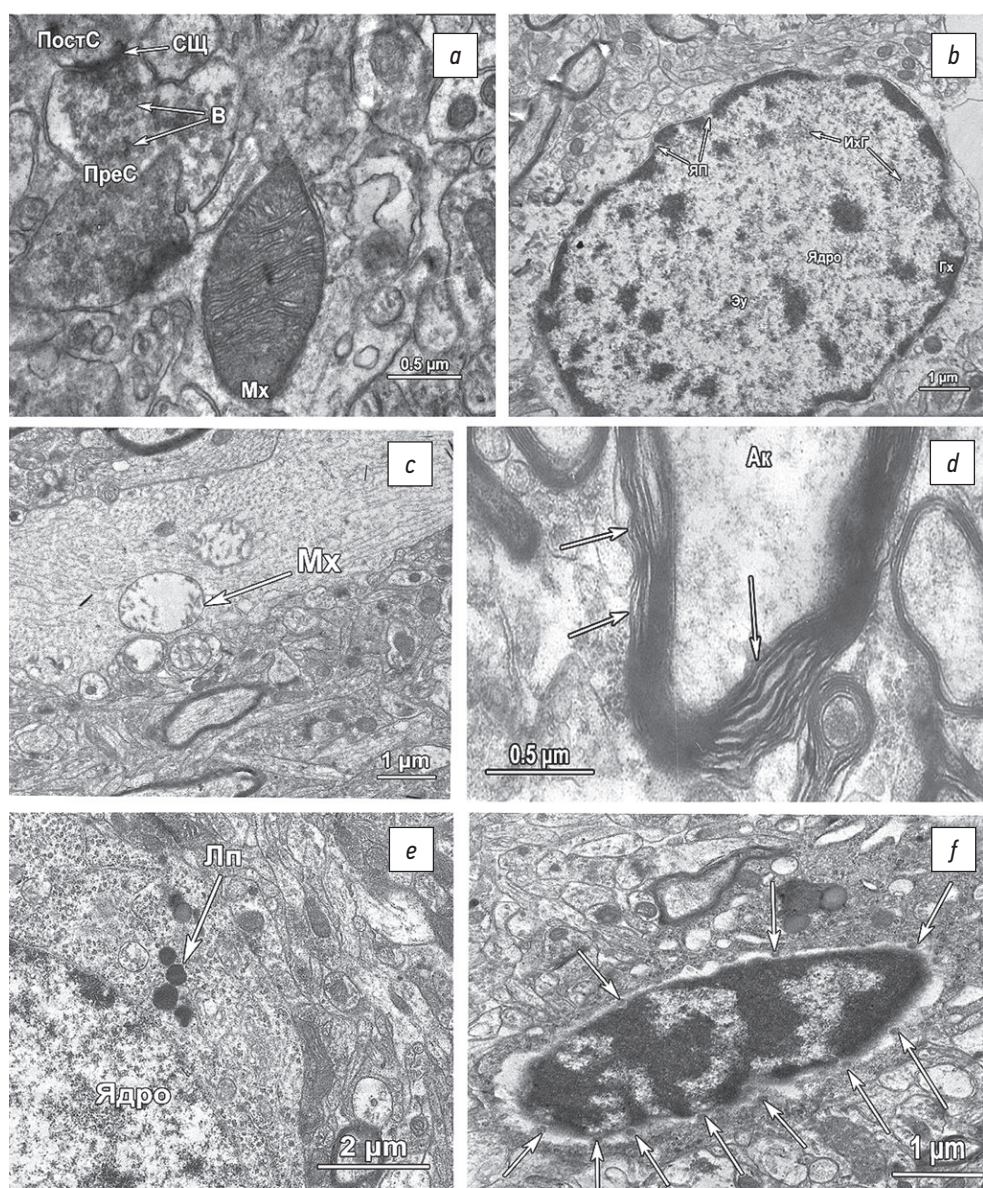
**Примечание.** \* различия значимы при  $p < 0,05$ .

**Note.** \* Differences are significant on  $p < 0,05$ .



Перинуклеарное пространство равномерно по всей длине. Кариоплазма просветлённая. Цитоплазма нейронов содержит много рибосом, развитую шероховатую ЭПС. Перикарионы многих нейронов имеют электронно-плотные структуры — телолизосомы, содержащие пигмент липофусцин.

В пространстве между телами нейронов имеются многочисленные отростки, среди них визуальны меньше миелинизированных. В отростках заметны элементы цитоскелета и митохондрии. Многие митохондрии набухшие, имеют сильно просветлённый матрикс и малое количество крист. В некоторых митохондриях кристы разрушены



**Рис.** *a, b* — участки коры головного мозга крысы контрольной группы; *c, d* — участки коры головного мозга крысы, получавшей хроническую затравку диоксином в дозе 1/800 LD<sub>50</sub> (стрелками показаны участки расслоения миелина); *e, f* — участки коры головного мозга крысы, получавшей хроническую затравку диоксином в дозе 1/400 LD<sub>50</sub> (стрелками указаны фрагменты хроматина, покидающие ядро микроглиоцита), где Мх — митохондрия, ПреС — пресинаптическое окончание, ПостС — постсинаптическое окончание, В — синаптические везикулы, СЩ — синаптическая щель, Гх — гетерохроматин, ИхГ — интерхроматиновые гранулы, Эу — эухроматин, ЯП — ядерные поры, Ак — аксон, Лп — телолизосомы с липофусцином.

**Fig.** *a, b* — segments of the cerebral cortex of a control group rat; *c, d* — segments of the cerebral cortex of a rat that received long-lasting dioxin intoxication at a dose of 1/800 LD<sub>50</sub> (arrows indicate areas of myelin stratification); *e, f* — segments of the cerebral cortex of a rat that received long-lasting dioxin intoxication at a dose of 1/400 LD<sub>50</sub> (arrows indicate chromatin fragments leaving the microglia nucleus), where Мх — mitochondrion, ПреС — presynaptic terminal, ПостС — postsynaptic terminal, В — synaptic vesicles, SC — synaptic cleft, Hc — heterochromatin, IcG — interchromatin granules, EU — euchromatin, NP — nuclear pores, Ax — axon, Lp — telolysosomes with lipofuscin.

(рис. с), и для таких клеток характерно нарушение энергетического баланса.

Между нейронами регистрируются синапсы, в основном асимметричные, их число меньше на 14,8% относительно контрольной группы. Синаптическая щель ровная, шириной около 50 нм, её средняя протяжённость больше, чем у контрольной группы на 50%. Корреляционный анализ позволил установить, что между числом синапсов и их длиной была очень высокая отрицательная связь ( $r=-0,76$ ). В пресинаптических окончаниях обнаруживалось множество синаптических везикул диаметром около 50 нм. Миелинизированные отростки различных размеров, число оборотов миелина уменьшается на 12,1% в сравнении с контролем, толщина миелинового слоя меньше на 58,3%. Около половины исследованных срезов содержат отростки с очагами расслоения миелина (рис. d).

Микроглиоциты определяются по амёбоидной форме, характерной электронно-плотной цитоплазме, ядру резко неправильной формы с кариоплазмой высокой электронной плотности. В цитоплазме микроглиоцитов содержится много лизосом и пероксисом, митохондрий и развитый комплекс Гольджи. Их строение не имеет резких отличий от контрольной группы.

В коре мозга крыс экспериментальной группы ядра олигодендроцитов имеют вытянутую форму с небольшими инвагинациями. Их цитоплазма, как и в коре мозга крыс контрольной группы, характеризуется высокой электронной плотностью. Каналы ЭПС и перинуклеарное пространство расширены, видны отшнуровывающиеся от них вакуолеподобные структуры. Аксоны с миелиновыми оболочками вокруг олигодендроцитов меньше по сравнению с контрольными животными.

#### ***Электронно-микроскопические исследования клеток коры головного мозга крыс, получавших хроническую заправку диоксином в дозе 1/400 LD50***

Результаты исследований демонстрируют заметные отличия от контрольной группы. Ядра нейронов овально-округлые, занимают около половины объёма перикариона. Хроматин встречается как в деконденсированном состоянии, так и в форме гетерохроматина, располагающегося по периметру ядра. Ядрышки регистрируются не во всех нейронах. Подавляющая часть нервных клеток содержит телолизосомы с липофусцином (рис. e). Каналы ЭПС и цистерны комплекса Гольджи сильно расширены, митохондрии набухшие, имеют просветлённый матрикс и малое количество крист, некоторые из них разрушены, перинуклеарное пространство местами расширено, регистрируются электронно-плотные пероксисомы.

Количество элементов цитоскелета уменьшалось, происходила значительная демиелинизация аксонов. По сравнению с контрольной группой толщина миелиновой оболочки снизилась на 64,1%, а число её оборотов — на 40,3%. Часто встречались немиелинизированные участки аксонов.

Синапсы на микрофотографиях встречаются значительно реже, чаще асимметричные, их число сокращается на 22,2%. Преобладают удлинённые синапсы, которые на 33,4% протяжённее, чем в контрольной группе. Между числом синапсов и их длиной была высокая отрицательная связь ( $r=-0,73$ ). Ширина синаптической щели не отличается от таковой в контроле и составляет около 50 нм. Средний диаметр синаптических пузырьков был таким же, как в другой экспериментальной группе. Обобщённые данные приведены в таблице.

Состояние клеток глии также показывает развитие процесса деструкции. Она находит отражение в конденсации хроматина и расположении его пристеночно, вплоть до пикнотического состояния. Заметны фрагменты хроматина, покидающие ядро (рис. f). В цитоплазме олигодендроцитов расширены каналы ЭПС, образуются вакуолеподобные структуры. Микроглиоциты содержат крупные электронно-плотные лизосомы и фагосомы с фрагментами разрушающегося миелина.

## **ОБСУЖДЕНИЕ**

Исследуя субхроническое воздействие диоксида на крысах, J.P. Vuers и соавт. обнаружили, что диоксин в организме приводит к значительному повышению концентрации биогенных аминов и супероксидного аниона в разных отделах головного мозга [5]. Супероксидный анион, относясь к свободным радикалам, является основным агентом, под действием которого происходит перекисное окисление липидов мембран, которое является основной причиной возникновения нейротоксического эффекта, что было неоднократно показано в исследованиях на грызунах [4, 6].

Наши данные согласуются с результатами исследований, отметивших сходные последствия воздействия диоксида на клетки головного мозга. Участки расслоения миелиновых оболочек, а также демиелинизация аксонов обнаруживались в коре головного мозга овец [7] и в гиппокампе крыс [8] после субхронического воздействия диоксида. Интересно отметить, что наши результаты схожи, несмотря на то что доза заправки в нашем исследовании была в 100 раз меньше, чем в работах других авторов [7]. Из этого можно заключить, что диоксины способны вызывать изменения в клетках в сверхмалых концентрациях, и проявления изменений имеют схожую картину, отличаясь степенью деструкции. Также примечателен тот факт, что подобный процесс расслоения миелиновых оболочек наблюдается в мозгу стареющих приматов [9, 10].

Считается, что чрезмерное накопление пигмента липофусцина в лизосомах нервных клеток ведёт к их гибели и атрофии полушарий большого мозга и мозжечка, вызывая нейродегенеративные заболевания — нейрональные липофусцинозы [11]. Согласно данным



последних лет, липофусцин накапливается в нервных клетках в ответ на интоксикацию и является признаком патологии [12]. Другие авторы связывают накопление гранул липофусцина в нервных клетках с механизмом нормализации метаболизма и адаптации к гипоксии — в данном случае липофусцин, как предполагается, выполняет функцию депо кислорода [13]. Эта концепция может быть подтверждена нашими результатами: диоксины вызывают образование свободных радикалов, которые осуществляют перекисное окисление липидов. Это ведёт к разрушению мембран митохондрий (в том числе их крист) и нарушениям в процессах клеточного дыхания, которые приводят к состоянию гипоксии. Мы склонны рассматривать накопление гранул липофусцина как адаптацию нейронов к гипоксии клетки в результате разрушения мембран митохондрий.

Нами была отмечена интересная способность диоксинов влиять на число и протяжённость синаптических контактов. В обеих группах животных, получавших диоксин, отмечалось наличие корреляции между числом синаптических контактов в мозгу и их протяжённостью. Такая особенность была обнаружена в коре головного мозга кроликов, получавших затравку диоксином в дозе  $1/200 \text{ LD}_{50}$ . По результатам морфометрических измерений количество синапсов в опытной группе снижается на 60,2%, а средняя протяжённость синаптической щели увеличивается на 50% [14]. Процесс уменьшения числа синаптических контактов происходит и без участия внешних агентов. Исследования на приматах [10] показали, что префронтальная кора утрачивает порядка 30% синаптических контактов в течение 25 лет старения макаков резусов. Авторы обнаружили корреляцию между утратой синаптических контактов и проявлением когнитивных нарушений. Удлинение синаптических контактов в наших экспериментах при интоксикации диоксином является компенсаторным механизмом к падению числа синапсов.

Таким образом, кора головного мозга крыс, получавших хроническую затравку диоксином в дозах  $1/800 \text{ LD}_{50}$  и  $1/400 \text{ LD}_{50}$ , показывает наличие развивающейся патологии клетки, которая находит своё отражение в состоянии нейронов и компонентов глии, а также в активации приспособительных механизмов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования клеток коры головного мозга крыс, получавших хроническое отравление диоксином в малых дозах в течение 40 дней, выявили возникновение нарушений как на светооптическом, так и на ультраструктурном уровне. Патология клетки проявляется

в виде уменьшения ядер нейронов, гибели клеток, истончении миелиновых оболочек и демиелинизации. При этом с увеличением дозы затравки изменения становятся деструктивнее. Число синапсов уменьшается при увеличении их средней длины. Однако длина синаптического контакта у крыс, получавших диоксин в большей дозе, увеличивается не столь сильно, как в группе крыс, получавших хроническую затравку диоксином в дозе  $1/800 \text{ LD}_{50}$ , что говорит о неспособности клеток эффективно компенсировать последствия воздействия диоксида в дозе  $1/400 \text{ LD}_{50}$ . В совокупности демиелинизация, нарушение клеточного дыхания и утрата синаптических контактов свидетельствуют о том, что диоксины способны опосредованно вызывать ускоренное старение нервных клеток и их гибель.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFO

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: концепция и дизайн исследования — М.М. Сальникова, А.И. Яковлева, А.И. Голубев; сбор и обработка материала — В.Р. Саитов, М.М. Сальникова, А.И. Яковлева; статистическая обработка данных — А.И. Яковлева, М.М. Сальникова; анализ и интерпретация данных — М.М. Сальникова, А.И. Яковлева; написание текста — М.М. Сальникова, А.И. Яковлева, В.Р. Саитов.

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Author contribution.** All authors confirm the compliance of their authorship, according to international ICMJE criteria (all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published). The concept and design of the study — M.M. Salnikova, A.I. Yakovleva, A.I. Golubev; collection and processing of material — V.R. Saitov, M.M. Salnikova, A.I. Yakovlev; statistical data processing — A.I. Yakovleva, M.M. Salnikov; data analysis and interpretation — M.M. Salnikova, A.I. Yakovlev; writing the text — M.M. Salnikova, A.I. Yakovleva, V.R. Saitov.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kopf P.G., Walker M.K. Overview of developmental heart defects by dioxins, PCBs, and pesticides // *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2009. Vol. 27, N 4. P. 276–285. doi: 10.1080/10590500903310195
2. Vos J.G., Kuper C.F. Chemically-Induced Immunopathology and Immune Functional Changes // *J Toxicol Pathol.* 2004. Vol. 17, N 2. P. 137–146. doi: 10.1293/tox.17.137
3. Улахович Н.А., Кутырева М.П., Медянцева Э.П., Бабкина С.С. Экоотоксиканты. Казань: КГУ, 2010. 56 с.
4. Hassoun E.A., Li F., Abushaban A., Stohs S.J. The relative abilities of TCDD and its congeners to induce oxidative stress in the hepatic and brain tissues of rats after subchronic exposure // *Toxicology.* 2000. Vol. 145, N 2–3. P. 103–113. doi: 10.1016/S0300-483X(99)00221-8
5. Byers J.P., Masters K., Sarver J.G., Hassoun E.A. Association between the levels of biogenic amines and superoxide anion production in brain regions of rats after subchronic exposure to TCDD // *Toxicology.* 2006. Vol. 228, N 2–3. P. 291–298. doi: 10.1016/j.tox.2006.09.009
6. Wan C., Liu J., Nie X., et al. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-P-dioxin (TCDD) induces premature senescence in human and rodent neuronal cells via ROS-dependent mechanisms // *PLoS One.* 2014. Vol. 9, N 2. P. e89811. doi: 10.1371/journal.pone.0089811
7. Сайтов В.Р., Осянин К.А., Сальникова М.М., и др. Влияние диоксина на ультраструктуру клеток различных органов овец в малых дозах // *Вестник Новосибирского государственного аграрного университета.* 2011. № 4 (20). С. 87–94.
8. Rosińczuk J., Dymarek R., Całkosiński I. Histopathological, ultrastructural, and immunohistochemical assessment of hippocampus structures of rats exposed to TCDD and high doses of tocopherol and acetylsalicylic acid // *Biomed Res Int.* 2015. P. 645603. doi: 10.1155/2015/645603
9. Sandell J.H., Peters A. Disrupted myelin and axon loss in the anterior commissure of the aged rhesus monkey // *J Comp Neurol.* 2003. Vol. 466, N 1. P. 14–30. doi: 10.1002/cne.10859
10. Peters A., Sethares C., Luebke J.I. Synapses are lost during aging in the primate prefrontal cortex // *Neuroscience.* 2008. Vol. 152, N 4. P. 970–981. doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.07.014
11. Бибикова Е.Е., Гуськов А.О., Харитонов Е.А. Морфологические проявления нейронального липофусциноза // *Тверской медицинский журнал.* 2018. № 3. С. 45–46.
12. Шакирова С.М. Морфологические изменения в периферической нервной системе овец при нитратной интоксикации // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство.* 2013. № 4. С. 28–34. doi: 10.22363/2312-797X-2013-4-28-34
13. Рева И.В., Рева Г.В., Ямамото Т.Т., и др. Старение и ишемия нейронов // *Современные проблемы науки и образования.* 2015. № 2–2. С. 811.
14. Сайтов В.Р., Сальникова М.М., Малютин Л.В. Изучение ультраструктуры коры больших полушарий кроликов, при сочетанном воздействии экотоксикантов и применении лекарственных средств // *Ветеринарный врач.* 2014. № 1. С. 14–20.

## REFERENCES

1. Kopf PG, Walker MK. Overview of developmental heart defects by dioxins, PCBs, and pesticides. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2009;27(4):276–285. doi: 10.1080/10590500903310195
2. Vos JG, Kuper CF. Chemically-Induced Immunopathology and Immune Functional Changes. *J Toxicol Pathol.* 2004;17(2):137–146. doi: 10.1293/tox.17.137
3. Ulahovich NA, Kuttyreva MP, Medyantseva EP., Babkina SS. *Eco-toxicants.* Kazan: KGU; 2010. 56 p. (In Russ).
4. Hassoun EA, Li F, Abushaban A, Stohs SJ. The relative abilities of TCDD and its congeners to induce oxidative stress in the hepatic and brain tissues of rats after subchronic exposure. *Toxicology.* 2000;145(2-3):103–113. doi: 10.1016/S0300-483X(99)00221-8
5. Byers JP, Masters K, Sarver JG, Hassoun EA. Association between the levels of biogenic amines and superoxide anion production in brain regions of rats after subchronic exposure to TCDD. *Toxicology.* 2006;228(2-3):291–298. doi: 10.1016/j.tox.2006.09.009
6. Wan C, Liu J, Nie X, et al. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-P-dioxin (TCDD) induces premature senescence in human and rodent neuronal cells via ROS-dependent mechanisms. *PLoS One.* 2014;9(2):e89811. doi: 10.1371/journal.pone.0089811
7. Saitov VR, Osyenin KA, Salnikova MM, et al. Influence of dioxin on cells ultrastructure of sheep organs in low doses. *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University.* 2011;(4):87–94. (In Russ).
8. Rosińczuk J, Dymarek R, Całkosiński I. Histopathological, ultrastructural, and immunohistochemical assessment of hippocampus structures of rats exposed to TCDD and high doses of tocopherol and acetylsalicylic acid. *Biomed Res Int.* 2015;645603. doi: 10.1155/2015/645603
9. Sandell JH, Peters A. Disrupted myelin and axon loss in the anterior commissure of the aged rhesus monkey. *J Comp Neurol.* 2003;466(1):14–30. doi: 10.1002/cne.10859
10. Peters A, Sethares C, Luebke JI. Synapses are lost during aging in the primate prefrontal cortex. *Neuroscience.* 2008;152(4):970–981. doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.07.014
11. Bibikova EE, Guskov AO, Haritonova EA. Morphological manifestations of neuronal lipofuscinosis. *Tver Medical Journal.* 2018;(3):45–46. (In Russ).
12. Shakirova SM. Morphological changes in peripheral nervous system of sheep in nitrate intoxication. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries.* 2013;(4):28–34. (In Russ). doi: 10.22363/2312-797X-2013-4-28-34
13. Reva IV, Reva GV, Yamamoto TT, et al. Aging and ischemia neurons. *Modern Problems of Science and Education.* 2015;(2-2):811. (In Russ). doi: 10.17513/spno.129-22050
14. Saitov VR, Salnikova MM, Malyutina LV. Rabbit ultrastructure cortex study at affect of ecotoxikants and some drugs. *Veterinarny Vrach.* 2014;(1):14–20. (In Russ).



## ОБ АВТОРАХ

**\* Сальникова Марина Михайловна;**

адрес: 420008, Россия, г. Казань, ул. Кремлёвская, д. 18;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3928-4974>;

e-mail: [m\\_salnikova@mail.ru](mailto:m_salnikova@mail.ru);

eLibrary SPIN: 6865-5296

**Яковлева Анастасия Игоревна;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3052-6463>;

eLibrary SPIN: 3708-8862;

e-mail: [jakovleva\\_ana@mail.ru](mailto:jakovleva_ana@mail.ru)

**Саитов Вадим Расимович;**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9815-1314>;

e-mail: [sinsavara@yandex.ru](mailto:sinsavara@yandex.ru);

eLibrary SPIN: 9206-0274

**Голубев Анатолий Иванович;**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1049-0467>;

e-mail: [anatolii.golubev\\_1937@mail.ru](mailto:anatolii.golubev_1937@mail.ru);

eLibrary SPIN: 7469-9567

## AUTHOR INFO

**\* Marina M. Salnikova;**

address: 18, Kremlevskaya St., Kazan, 420008, Russia;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3928-4974>;

e-mail: [m\\_salnikova@mail.ru](mailto:m_salnikova@mail.ru);

eLibrary SPIN: 6865-5296

**Anastasia I. Yakovleva;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3052-6463>;

eLibrary SPIN: 3708-8862;

e-mail: [jakovleva\\_ana@mail.ru](mailto:jakovleva_ana@mail.ru)

**Vadim R. Saitov;**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9815-1314>;

e-mail: [sinsavara@yandex.ru](mailto:sinsavara@yandex.ru);

eLibrary SPIN: 9206-0274

**Anatoliy I. Golubev;**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1049-0467>;

e-mail: [anatolii.golubev\\_1937@mail.ru](mailto:anatolii.golubev_1937@mail.ru);

eLibrary SPIN: 7469-9567

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author