

# МАТЕРИАЛЫ V МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НЕЙРОМОРФОЛОГИИ «КОЛОСОВСКИЕ ЧТЕНИЯ — 2006»

1. Аданина В.О., Веселкин Н.П., Рио Ж.-П., Реперан Ж.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: Adanina@rambler.ru; Национальный музей естественной истории, Париж, Франция

## СТРУКТУРА АКСОННЫХ КОЛЛАТЕРАЛЕЙ МОТОНЕЙРОНОВ СПИННОГО МОЗГА *LAMPETRA FLUVIATILIS*

Возвратные коллатерали аксонов — важный элемент в функции сегментарного моторного контроля, одним из механизмов которого является возвратное торможение активности мотонейронов (МН), опосредованное клетками Реншоу. У низших позвоночных интернейроны, аналогичные клеткам Реншоу, отсутствуют, а возвратные влияния вентральных корешков имеют исключительно облегчающий характер. Сведения о морфологическом базисе рекуррентной деполаризации МН недостаточны и противоречивы. В настоящей работе исследована структура центральных проекций МН спинного мозга речной миноги. Маркирование МН производили путем ионофоретической инъекции 10% раствора пероксидазы хрена в вентральный корешок спинного мозга в условиях препарата изолированного мозга. Исследование тотальных препаратов спинного мозга миноги показало, что морфологический паттерн аксонных проекций МН относительно примитивен. Аксоны МН имеют одну, редко две коллатерали, которые не дают ветвлений и оканчиваются в пределах одноименного сегмента в вентральных столбах белого вещества, где устанавливают контакты с дендритами соседних МН, что можно рассматривать как субстрат МН-МН-взаимодействия, функция которого состоит в синхронизации активности группы МН для одновременного быстрого сокращения множества мышечных волокон при выполнении двигательных актов. Некоторые аксоны МН дают бифуркации на две равнозначные ветви, связанные с двумя соседними корешками, что, очевидно, служит распространению ритмической активности локomotorного генератора в rostro-каудальном направлении для обеспечения непрерывности волны сокращений миомиотомальной мускулатуры в ходе ундуляторного движения. Аксоны, дающие коллатерали или бифуркации, принадлежат МН небольшого диаметра, иннервирующим, как известно, медленные мышечные волокна, которые являются активными в миомах при реализации спинальных рефлексов.

2. Аккуратов Е.Г., Фатеев М.М., Коробкин А.А.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия. E-mail: ejen31@mail.ru

## ЭКСТРАОРГАНЫЕ ИСТОЧНИКИ СИМПАТИЧЕСКОЙ ИННЕРВАЦИИ ЖЕЛУДКА КРЫСЫ

Цель исследования заключалась в выявлении центров симпатической иннервации желудка крысы. Опыты проведены на 37 белых крысах-самцах линии Вистар массой 150–170 г. Животным под нембуталовым наркозом в различные зоны желудка микрошприцом МШ-10 вводили трейсеры — высокоочищенную пероксидазу, либо конъюгат пероксидазы хрена с агглютинином зародыша пшеницы в объеме 10–15 мкл. Места введения маркеров: пилорическая часть, малая кривизна и дно желудка. После эвтаназии (через 12–48 ч) у животных выделяли узлы чревного сплетения. Гистохимическое выявление меченых нейронов проводили по методу Mesulam (1982) или Straus (1964). Проведена компьютерная обработка гистологических препаратов, анализировали размерный параметр — диаметр эквивалентного круга меченых нейронов. Исходные числовые данные

обработаны методами статистики (тесты Манна—Уитни, Колмогорова—Смирнова). В результате исследования установлено, что к симпатической иннервации всех исследуемых зон желудка причастны нейроны, расположенные во всех узлах чревного сплетения. В иннервации дна желудка больше принимают участие нейроны, расположенные в левом и правом чревном узлах ( $14 \pm 4$  и  $16 \pm 3$ , соответственно), их было значимо больше, чем в краниальном брыжеечном узле ( $6 \pm 2$ ) ( $P < 0,05$ ), статистически значимых различий количества меченых нейронов в правом и левом чревных узлах нами не выявлено. При введении маркеров в зону малой кривизны желудка наибольшее количество меченых клеток находилось в левом чревном узле ( $36 \pm 7$ ), их всегда было больше, чем в правом чревном и краниальном брыжеечном узле ( $17 \pm 4$  и  $14 \pm 3$ , соответственно) ( $P < 0,05$ ). Аналогичную картину наблюдали при введении трейсеров в пилорическую часть желудка. Наибольшее количество нервных клеток, содержащих продукт гистохимической реакции, располагалось в левом чревном узле ( $21 \pm 4$ ) и было значимо выше, чем в краниальном брыжеечном ( $8 \pm 3$ ) ( $P < 0,05$ ); в правом чревном узле количество выявляемых меченых нейронов составляло  $16 \pm 3$ , и также было значимо больше, чем в краниальном брыжеечном узле. При анализе метрических характеристик меченых нейронов нами установлено, что к иннервации различных областей желудка причастны нейроны с размерными параметрами 15–40 мкм. При этом популяция наиболее крупных нейронов (диаметр эквивалентного круга 35–40 мкм) располагалась в правом чревном узле, а наиболее мелкая — с метрическими параметрами 15–20 мкм в краниальном брыжеечном узле. В качестве препаратов, используемых для выявления ретроградно меченных нейронов, предпочтение следует отдать конъюгату пероксидазы хрена с агглютинином из зародышей пшеницы по сравнению с пероксидазой хрена. Данный трейсер в малой концентрации (1 мг/мл) дает хорошо воспроизводимые результаты, при изучении источников иннервации внутренних органов количество меченых клеток повышается в 1,5–2 раза.

3. Алтеева Е.В., Макаренко И.Г.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия. E-mail: i\_makarenko@proxima.idb.ac.ru

## РАЗВИТИЕ МАМИЛЛО-ТАЛАМИЧЕСКОГО ТРАКТА И ИННЕРВАЦИИ ПЕРЕДНИХ ЯДЕР ТАЛАМУСА В ПЕРИНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫС

Мамилло-таламический тракт является важным звеном лимбической системы. Его образуют аксоны нейронов мамиллярных тел (МТ), с помощью которых в передние ядра таламуса после обработки передаются сигналы, поступающие в МТ из гиппокампа и тегментальной области среднего мозга. Несмотря на обилие информации о строении и функциях мамилло-таламического тракта, данные о его развитии фрагментарны. Целью настоящего исследования было описание развития мамилло-таламического тракта и процесса формирования им иннервации переднемедиального, передневентрального и переднедорсального ядер таламуса на ранних стадиях онтогенеза у крыс. Был использован метод диффузии флюоресцентного липофильного карбоцианинового красителя 1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate (DiI) по мембранам нейронов, единственный, позволяющий изучать внутримозговые связи у плодов и новорожденных животных. Материалом служил фиксированный мозг плодов крыс на разных стадиях развития (Э15, Э16, Э20, Э21), считая день обнару-

жения спермы во влагалище самки нулевым днем развития эмбрионов (Э0), и животных на 1-е, 2-е, 8-е и 10-е сутки постнатального периода развития (П1, П2, П8, и П10). Кристаллы маркера помещали в прокол в области МТ. После нанесения маркера мозг хранили в фиксаторе в течение 5–12 мес в темноте при комнатной температуре. Вибратомные срезы мозга толщиной 100 мкм, исследовали при помощи флуоресцентного и конфокального микроскопов (Leica, Германия), прослеживая антероградно меченные DAPI нервные волокна в составе мамилло-таламического тракта. На Э15–Э16 мамилло-таламический тракт не обнаруживался даже в пределах гипоталамуса вблизи МТ, хотя мамилло-теgmentальный тракт был уже хорошо выражен. На Э20 мамилло-таламический тракт выявлялся на сагиттальных срезах мозга в виде компактного пучка волокон, отделявшегося от основного мамиллярного тракта и следовавшего ретродорсально к вентральной группе ядер таламуса. На Э21 его терминалы обнаруживались в вентральной области таламуса. На П1–П2 терминальные ветвления распределялись в переднемедиальном и передневентральном ядрах таламуса. Некоторые волокна тракта шли на контралатеральную сторону таламуса, образуя перекрест дорсальнее переднемедиального ядра, но при этом еще не достигали переднедорсального ядра. На П8 и П10 волокна мамилло-таламического тракта оканчивались терминальными ветвлениями во всех трех ядрах переднего таламуса, причем проекции МТ на переднедорсальные ядра таламуса были билатеральными, в отличие от проекций на переднемедиальное и передневентральное ядра таламуса. Сканирование в конфокальном микроскопе показало, что меченые аксоны мамилло-таламического тракта, достигая передней группы ядер таламуса, образуют характерные кистевидные терминальные ветвления с четкообразными утолщениями, которые тесно оплетают нейроны таламуса. Таким образом, было подтверждено, что мамилло-таламический тракт начинает развиваться у крыс на поздних стадиях внутриутробного развития. Иннервация ядер переднего таламуса формируется в период с Э21 по П8.

*Работа поддержана грантом РФФИ 04-04-48073-а.*

#### 4. Амуниц В.В.

Научно-исследовательский институт мозга РАН, Москва, Россия. E-mail: irina\_bogolepova@mtu-net.ru

#### СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ДОРСОМЕДИАЛЬНОГО ЯДРА ТАЛАМУСА МОЗГА МУЖЧИН

Проблема полового диморфизма подкорково-стволовых образований мозга человека в настоящее время актуальна. Однако, в литературе данных об особенностях дорсомедиального ядра (ДМЯ) таламуса у мужчин и женщин не найдено. Известно, что ДМЯ (его наружная часть) связана с полями 47 и 9 лобной области коры мозга [Akert, 1964; Van Buren и Borke, 1972; Адрианов О.С., 1999]. Поле 47 принимает участие в регуляции вегетативных и эмоциональных процессов, а поле 9 обеспечивает наиболее сложные формы психической деятельности: интеллектуальные, высшие гностические и мнестические функции. В данной работе показаны структурные особенности наружной части ДМЯ в аспекте асимметрии на сериях срезов мозга, окрашенных крезиловым фиолетовым, у 4 мужчин: наблюдения А-247, 29 лет; А-295, 44 года; Аг-18, 56 лет и Ан-3, 59 лет. В 30 полях зрения в 0,001 мм<sup>3</sup> вещества мозга определяли плотность расположения нейронов, сателлитных глиоцитов, всех глиоцитов, нейронов, окруженных сателлитными глиоцитами и общее количество нейронов и соотношение сателлитных глиоцитов и всех глиоцитов. Оценку статистической значимости цифровых данных проводили по критерию Стьюдента. Плотность локализации нейронов оказалась примерно одинаковой у всех 4 мужчин слева, справа же она несколько больше в мозгу А-247 и Аг-18, т. е. она равна соответственно 9,0 и 8,3 нейронам в 0,001 мм<sup>3</sup> веще-

ства мозга. Слева она равна от 4,3 до 6,6. Всех глиоцитов во всех 3 случаях было больше справа — от 10,5 до 16,8. В 1 случае — Ан-3 — больше слева — 18,6, справа — 12,3. Сателлитных глиоцитов больше слева в 2 случаях (А-247, слева — 4,6, справа — 3,23 и Ан-3, слева 4,7, справа 2,16), в 2 других случаях заметной асимметрии не выявлено. Нейронов, окруженных сателлитными глиоцитами во всех 4 случаях было больше слева (слева — от 2,8 до 3,7; справа — от 1,6 до 3,2). Доля нейронов, окруженных сателлитными глиоцитами, от общего числа нейронов в 2 случаях значительно больше слева, чем справа: А-247 — слева 49,12%, справа — 22,2%; Аг-18 — слева также 49,12%; справа — 25,35%. В 3-м и 4-м случаях (А-295 и Ан-3) этот показатель был больше справа (слева 56%, справа 60% и слева 65,1%, справа 94,1% соответственно). Доля сателлитных глиоцитов от общего числа глиоцитов во всех 4 случаях была больше слева: А-247 — слева — 37%, справа — 19%; А-295 — слева — 61,2%, справа — 52%; Аг-18 — слева 35%, справа — 23,7%; Ан-3 — слева — 25,2%, справа — 17,3%. Таким образом, обнаружено, что в ДМЯ мозга у мужчин во всех 4 случаях основные показатели, отражающие функциональную активность нейронов, т. е. плотность расположения нейронов, окруженных сателлитными глиоцитами, и плотность расположения сателлитных глиоцитов и, особенно, доля нейронов, окруженных сателлитными глиоцитами, от всех нейронов, и доля сателлитных глиоцитов от общего числа глиоцитов в 0,001 мм<sup>3</sup> вещества мозга оказались больше слева. В проведенном исследовании выявлена асимметрия с преобладанием количественных показателей слева и индивидуальная вариабельность ДМЯ таламуса у 4 мужчин, связанная, вероятно, с различной степенью пластичности их мозга и когнитивными способностями. Это тем более значимо, что ДМЯ таламуса связано с лобными полями 47 и 9 и принимает участие в организации сложной системы интеллектуальных и высших гностических и мнестических процессов, а также в регуляции вегетативных и эмоциональных процессов.

#### 5. Анискова О.Е., Лобко П.И.

Республиканский научно-практический центр гигиены, Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь. E-mail: Olga\_Aniskova@tut.by

#### СЕГМЕНТАРНЫЕ СВЯЗИ ЧРЕВНОГО СПЛЕТЕНИЯ С ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМОЙ ПОСРЕДСТВОМ ПРЕАНГЛИОНАРНЫХ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН

Для выяснения гомолатеральных и перекрестных связей чревного сплетения с ЦНС посредством преангионарных нервных волокон поставлены эксперименты на 95 кошках с односторонними посегментными перерезками вентральных корешков всех грудных и поясничных спинномозговых нервов. Срок наблюдения — от 2 до 15 сут. Материал обрабатывали по методам Бильшовского—Грос и Рассказовой. Исследования показали, что через 2–3 сут после односторонней посегментной перерезки вентральных корешков спинномозговых нервов в составе чревного сплетения, а также в нервах, его формирующих, обнаруживается в зависимости от уровня операции различное количество дегенерирующих, главным образом, тонких, нервных волокон. Наряду с дегенерирующими нервными волокнами, в составе чревных узлов одноименной и противоположной сторон выявляется значительное количество измененных перичеселлюлярных аппаратов. В более поздние сроки (6–15 сут) после перерезки вентральных корешков дегенерации подвергаются не только тонкие, но и средней толщины нервные волокна. Дегенерация нервных волокон и их синаптических окончаний в чревном сплетении одноименной и противоположной сторон при односторонней перерезке вентральных корешков свидетельствует о существовании одно- и двусторонних эфферентных связей ЦНС с вегетативными нервными

ми сплетениями брюшной полости. Эти связи многосегментарны, а пути, по которым эфферентные нервные волокна достигают чревного сплетения, множественны. По данным наших исследований, к чревным узлам преганглионарные волокна направляются по вентральным корешкам I грудного — IV поясничного спинномозговых нервов. Основными источниками указанных волокон являются средние и каудальные грудные и краниальные поясничные спинномозговые сегменты. Меньшее число нервных волокон вступает в чревное сплетение из краниальных грудных и нижних поясничных спинномозговых сегментов. Эти сегменты являются дополнительными источниками нервных волокон чревного сплетения. Большинство преганглионарных волокон направляются к описываемому сплетению по большим внутренностным нервам. На противоположную сторону нервные волокна переходят по поперечным связям, соединяющим между собой симметричные части чревного сплетения. Подтверждением этому служат факты наличия дегенерирующих нервных волокон в составе краниальной, средней и каудальной комиссур. Следовательно, экспериментальными и морфологическими методами выявлены многосегментарные гомо- и контрлатеральные связи чревного сплетения с ЦНС посредством преганглионарных нервных волокон, проходящих в составе основных и дополнительных нервных путей.

6. Антонов С.М., Миронова Е.В., Лукина А.А.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: antonov@iephb.ru

#### **ПРИНЦИПЫ И ОСОБЕННОСТИ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР ТКАНЕЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

Приготовление культур тканей включает в себя следующие этапы: а) выделение необходимой ткани на этапе эмбрионального развития, когда она полностью сформировалась; б) диссоциация выделенной ткани на отдельные клетки механически или с использованием ферментов; в) использование ингибиторов ферментативного процесса и ДНКазы для предотвращения коагуляции клеток; г) промывка и центрифугирование с целью осаждения клеток; д) подсчет количества живых клеток в единице объема; е) посев клеток определенной плотности на стекла, обработанные поли-D-лизин. В практику наших исследований мы ввели методики приготовления первичных культур нейронов коры большого мозга и скелетной мускулатуры крыс. Морфогенез первичной культуры миоцитов осуществлялся за 10–12 сут. К этому времени появлялась спонтанная сократительная активность. Использование Fluo-3AM в режиме люминесцентной и конфокальной микроскопии показало, что сокращения являются результатом спонтанного повышения концентраций внутриклеточного кальция. В отличие от миоцитов, нейроны в культуре претерпевали ряд значительных морфологических изменений. Исходно после посева они представляли собой сферы без отчетливо выраженных отростков. Дифференцировка нейронов наблюдалась уже на следующие сутки после посева клеток и проявлялась появлением коротких отростков, при этом не наблюдалось признаков формирующейся нейронной сети. Через 1 нед обнаруживался рост дендритного дерева и формирование контактов между нейронами, появлялась нейронная сеть. Помимо дифференцировки происходила пролиферация клеток, и на 14-е сутки после посева образовывался плотный монослой нейронов. Существенно, что нейроны в культуре обладали всеми необходимыми функциональными свойствами, характерными для целостного мозга. Изучение электрогенеза показало, что к 7-м суткам культивирования нейроны экспрессировали все необходимые канально-рецепторные комплексы. При аппликации глутамата — возбуждающего нейромедиатора мозга — генерировался входящий ток, опосредованный активацией различных подтипов

его рецепторов, которые могут быть избирательно активированы NMDA, канинотом и AMPA. Специальные антагонисты могли снимать эффект глутамата. Таким образом, нейроны в культуре являются удобным объектом для изучения нейрофизиологических, а также нейродегенеративных процессов, как на живых, так и на фиксированных клетках с использованием иммуноцитохимических методик, которые позволяют анализировать экспрессию различных белков. Это показывает, что нейронные культуры являются идеальным объектом исследования молекулярных механизмов функционирования нейронных сетей, анализ которых в экспериментах *in vivo* и на срезах затруднен.

7. Арчакова Л.И., Бочарова В.Н., Лапша В.И., Новаковская С.А.

Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь. E-mail: biblio@fizio.bas-net.by

#### **УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ РАЗВИТИЯ СИМПАТИЧЕСКИХ ГАНГЛИЕВ В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ОНТОГЕНЕЗА**

Исследованиями функциональной активности симпатических ганглиев в онтогенезе установлены возрастные особенности передачи возбуждения в их синапсах. Показано, что уже на ранних этапах развития симпатические ганглии обладают собственной автоматической активностью нейронов и осуществляют регуляцию трофики тканей. У взрослых животных активность ганглиев регулируется импульсами, поступающими из ЦНС по преганглионарным нервам. Цель настоящего исследования — изучение ультраструктуры симпатических ганглиев у незрелорождающихся животных (котят) в раннем и более позднем постнатальном периоде (1–10 сут и 14–60 сут соответственно). Электронно-микроскопическими исследованиями установлено, что в раннем постнатальном периоде созревание нервных и глиальных клеток, формирование нейропиля и синапсов вегетативных ганглиев активно продолжается. В них определяются зрелые дифференцированные нейроны, а также нервные клетки на разных стадиях созревания. Для последних характерно эксцентрично расположенное ядро, небольшая площадь среза, занимаемая цитоплазмой, и ограниченный набор цитоплазматических органелл. В части нейронов отмечаются процессы дегенерации, проявляющиеся вакуолизацией, разрушением и лизисом органелл и окружающей их цитоплазмы. Резорбция разрушающихся структур протекает путем апоптоза. Отмечается также незавершенность развития глиального компонента. Нейропиль заднебрыжеечного ганглия в раннем постнатальном периоде характеризуется асинхронностью дифференцировки, выражающейся в различной степени зрелости нервных и глиальных отростков. Отмечаются области с вполне развитым нейропилем, содержащим аксондендритные и аксосоматические синапсы с характерным набором синаптических пузырьков — холинергических и адренергических. Области синаптических контактов хорошо выражены. На начальных стадиях синаптогенеза синаптический контакт не покрыт глиальной оболочкой и широко сообщается с окружающим интерстициальным пространством, заполненным рыхлой соединительной тканью. Отмечаются также явления инволюции части нервных окончаний с характерной деструкцией элементов цитоплазмы, что свидетельствует об интенсивных перестроечных процессах в ганглиях новорожденных котят. В более поздние периоды постнатального онтогенеза созревание нервных и глиальных клеток и формирование синапсов продолжается. Часть нейронов и их терминалей дегенерируют, что является показателем активных перестроечных процессов в данном постнатальном периоде. Предварительная перерезка преганглионарных нервных волокон, прерывающая нервные связи ганглиев с вышележащими отделами ЦНС, значительно задерживает дифференцировку и созревание нейронов. В децентрализованных ганглиях нервные и глиальные клетки отстают в своем развитии и созревании по срав-

нению с клетками интактных ганглиев. Таким образом, созревание структур вегетативных ганглиев у кошки на начальных этапах онтогенеза характеризуется асинхронностью дифференцировки нервных и глиальных клеток. Отмечаемая дегенерация части нейронов и их терминалей является показателем активных перестроек в нервной системе, происходящих путем апоптоза.

8. Ахмадеев А.В.

Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия. E-mail: mpaha@ufanet.ru

#### **УЛЬТРАСТРУКТУРА НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ НЕЙРОНОВ МИНДАЛЕВИДНОГО ТЕЛА САМОК КРЫС**

Наличие рецепторов половых стероидов в нейронах дорсомедиального ядра (ДМЯ) предопределяет изменение их функциональной активности в ответ на колебания содержания этих гормонов, имеющее место в эстральном цикле. В результате анализа ультраструктуры нейроэндокринных нейронов ДМЯ у самок крыс в динамике цикла была разработана их морфофункциональная классификация. Выделены следующие состояния: «покой», «умеренная активность», «повышенная активность», «пик активности или напряжения», «снижение активности по первому типу», «снижение активности по второму типу», «возврат нейронов в исходное состояние». Цель данной работы — характеристика ультраструктуры нейронов ДМЯ на стадии, обозначенной как «пик активности, или напряжение». Ядро темных нейронов имеет высокую электронную плотность, которая обусловлена наличием в нем не только гранулярного материала, но и осmioфильной мелкозернистой и пылевидной субстанции. Возможно, осmioфилия нуклеоплазмы свидетельствует об увеличении содержания в клеточном ядре белков, как принимающих участие в транспорте создаваемых РНК в цитоплазму, так и включающихся в процессы конденсации хроматина. Ядрышко рыхлое, увеличено в размере, с хорошо различимым гранулярным компонентом, несколькими фибриллярными центрами. В фибриллярных центрах, имеющих овальную конфигурацию, определяется плотный фибриллярный компонент. Отмечаются большие по занимаемой площади скопления интерхроматиновых гранул, для которых в отличие от остального гранулярного материала, характерна отчетливо выраженная осmioфилия, четкость контуров. Количество перихроматиновых гранул увеличено. Они находятся около скоплений гетерохроматина как краевого, расположенного около внутренней ядерной мембраны, так и в центральных зонах клеточного ядра. Перинуклеарное пространство равномерно расширено, размеры ядерных пор увеличены. Поверхность ядра неровная из-за многочисленных инвагинаций. Вдавливания цитоплазмы, формирующиеся в области инвагинаций ядерной оболочки, содержат большое количество полисом, пузырьки с плотным центром, диаметр которых составляет 60–275 нм. Определяется высокая плотность расположения митохондрий, размеры которых варьируют. Большинство митохондрий имеют характер светлых. Обращают на себя внимание резко расширенные цистерны цитоплазматической сети, между которыми лежат скопления полисом и свободных рибосом. Комплекс Гольджи достигает высокого уровня развития: определяются 3–4 диктисомы, характеризующиеся хорошо развитым мембранным компонентом. Локализуется он в перинуклеарной зоне, около него определяется формирование секреторных пузырьков. Часто встречаются мультивезикулярные и мультиламеллярные тельца. Структурная организация нейронов указывает на высокую интенсивность протекающих в них транскрипционных процессов. В таких клетках, вероятно, происходят усиленно и процессы внутриклеточной регенерации, на что указывает появление мультиламеллярных телец.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента Российской Федерации МК-1643.2005.4

9. Ахмадеев А.В.

Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия. E-mail: mpaha@ufanet.ru

#### **СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ НЕЙРОНОВ МИНДАЛЕВИДНОГО ТЕЛА САМЦОВ КРЫС**

Известно, что половые стероиды влияют на процессы обучения, механизмы краткосрочной и долговременной памяти, а также вербальные способности человека. Они эффективны при лечении депрессий, улучшают координацию движений, отмечаемую при болезни Паркинсона. В основе положительных эффектов половых стероидов на функции нервной системы лежит их способность оказывать влияние на синтез нуклеиновых кислот и белка, активизировать процесс образования синапсов в нервной системе, гармонизировать межнейронные взаимоотношения. В составе дорсомедиального ядра (ДМЯ) миндалевидного тела (МТ) мозга выявлены нейроэндокринные нейроны и описана их ультраструктура. Также обнаружены показатели гормон-зависимой реверсии в структурно-функциональной организации нейроэндокринных нейронов в динамике эстрального цикла. Однако, у самцов крыс, хотя наличие нейроэндокринных нейронов в ДМЯ и предполагается, их структурно-функциональные характеристики только начинают изучать. Целью данной работы является изучение цитологических характеристик нейроэндокринных нейронов ДМЯ у самцов крыс. Исследования проведены на половозрелых самцах крыс линии Вистар, материал для электронно-микроскопического исследования брали с помощью специального устройства, защищенного патентом РФ. Кусочки ткани МТ, содержащие ДМЯ, фиксировали методом погружения в охлажденный 2,5% раствор глутаральдегида на фосфатном буфере (рН 7,4) и дополнительно фиксировали в 2% растворе  $\text{OsO}_4$ , обезвоживали в этаноле и заливали в эпон-812. Срезы готовили на ультратоме LKB III, контрастировали цитратом свинца и анализировали в электронном микроскопе JEM 200 EX (75 кВ). Изучение «темных» и «светлых» клеток с помощью электронной микроскопии и оценка их функционального состояния (на основе учета показателей транскрипционной активности ядра, структурной организации ядрышка, характеристик состояния ядерных мембран, белок-синтезирующего аппарата цитоплазмы, митохондрий и вакуолярной системы, явлений секреторной активности), позволил разработать структурно-функциональную классификацию нейроэндокринных нейронов ДМЯ у самцов крыс. Функциональное состояние нейронов изучаемого ядра может быть квалифицировано как состояние «покоя», «умеренной активности», «повышенной активности», «пик активности, или напряжения», «снижение активности по первому типу», «снижение активности по второму типу», «возврат к исходному состоянию», а также «дегенерация». Последнее состояние выявлено в единичных нейронах и является результатом апоптоза. Сравнительный анализ нейроэндокринных нейронов у самцов и самок крыс показал, что у самцов в отличие от самок в ДМЯ МТ есть пикноморфные нейроны, наличие которых вместе с их цитохимическими характеристиками, вероятно, является следствием высокой функциональной нагрузки, а также особенностей процессов внутриклеточной регенерации.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента Российской Федерации МК-1643.2005.4

10. Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б.

Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия. E-mail: mpaha@ufanet.ru

#### **ЦИТОАРХИТЕКТОНКА ПИРИФОРМНОЙ КОРЫ ЗАДНЕГО ОТДЕЛА МИНДАЛЕВИДНОГО ТЕЛА МОЗГА**

Детальное изучение цитоархитектоники пириформной коры (ПК) показало, что в составе этой экранной структуры может быть выделен ряд полей — базальное поле (агеа

basalis), латеральное (area lateralis) и переходное, или конечное, поле (area terminalis), которое находится на границе с инсुлярной корой. Базальное поле ПК имеет 3 подполя, которые могут быть обозначены как b1, b2, b3. Для подполя b1 характерно наличие толстого плексиформного слоя с равномерным распределением глиоцитов, серии вертикально идущих сосудов. В густоклеточном слое находятся клетки преимущественно средних размеров, ориентированные своими продольными осями перпендикулярно и косо к поверхности мозга, плотность клеток изменяется постепенно и слой II плавно переходит в слой III — глубокий клеточный слой. Выше слоя III лежит вентральное эндопириформное ядро, отделенное от него небольшой волокнистой прослойкой. Слой IV в данном участке ПК отсутствует. В подполе b2 глиоцитов в плексиформном слое становится меньше, плотность расположения клеток в слое II выше, чем в подполе b1, при этом в составе слоя II появляется больше крупных нейронов. В слое III плотность расположения клеток значительно меньше, чем в подполе b1, это преимущественно крупные рассеянные интенсивно окрашенные клетки. Кроме того, в слое II определяется тенденция к группированию клеток с образованием очаговых скоплений. Слой IV в подполе b2 отсутствует. В подполе b3 представлены все 4 слоя. Плексиформный слой имеет характеристику, подобную таковой в поле b2. Слой II — густоклеточный — также в целом сходен с аналогичным слоем подполя b2, но в его составе больше содержится крупных нейронов. Плотность расположения нейронов слоя III более значительна, чем в подполе b2. Слой IV образован рассеянными нейронами мелкими и среднего размера и, в отличие от подполей b1 и b2, занимает переходные зоны до вентрального эндопириформного ядра. В поле L хорошо определяются все 4 слоя ПК. Плексиформный слой, в отличие от полей, расположенных на базальной поверхности мозга, кроме мелких нейронов и глиоцитов содержит «выселившиеся» из густоклеточного слоя нейроны. Они примыкают к слою II. Густоклеточный слой представляет собой пластинку интенсивно окрашенных нейронов крупного и среднего размера, ширина пластинки постепенно сужается по направлению к дорсальной поверхности мозга. Форма составляющих слой нейронов преимущественно пирамидообразная и веретеновидная. В слое III форма нейронов разнообразнее, для них характерно более дисперсное, чем в слое II, расположение. Толщина слоя III и плотность расположения составляющих его нейронов постепенно уменьшаются по направлению к переходному полю и они полностью исчезают. Слой IV, наоборот, увеличивается по площади. Он представлен рассеянными клетками средних размеров, хотя среди них есть и отдельные крупные интенсивно окрашенные нейроны. В переходном поле плексиформный слой тонкий, густоклеточный слой характеризуется неупорядоченностью расположения нейронов, слой III практически отсутствует, а слой IV представлен дисперсно расположенными нейронами. Правомомерность выделения указанных цитоархитектонических полей в ПК заднего отдела МТ подтверждена выявленными особенностями фоновой ЭЭГ.

11. Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б.

Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия. E-mail: mpha@ufanet.ru

#### ЗАДНИЙ ОТДЕЛ МИНДАЛЕВИДНОГО ТЕЛА: ЦИТОАРХИТЕКТОНИКА ДОБАВОЧНЫХ ЯДЕР

Среди ядерных структур заднего отдела миндалевидного тела мозга нами, кроме традиционно выделяемых ядер (дорсомедиальное, заднее медиальное, латеральное, базолатеральное, эндопириформное), описаны добавочные ядра: перивентрикулярное, добавочное ядро заднего кортикального ядра (ДяЗКя) и добавочное ядро базолатерального ядра (ДяБЛя). Целью данной работы является изучение цито-

логических характеристик составляющих их нейронов. Исследования проведены на половозрелых крысах линии Вистар, головной мозг которых после извлечения из черепа фиксировали в 4% параформальдегиде. Готовили парафиновые срезы и окрашивали их крезиловым фиолетовым по Нислю. Все добавочные ядра образованы компактными скоплениями мелких и средних нейронов и четко отделены от окружающих клеточных масс и волокнистых прослоек. ДяЗКя — самое крупное по занимаемой площади — представляет собой куполообразное скопление нейронов, основание которого обращено к базальной поверхности мозга. Все нейроны имеют округлую форму тела, значительная часть которого занята ядром. Узкие, в некоторых нейронах еле заметные ободки цитоплазмы, почти свободны от хроматофильной субстанции. Клеточное ядро сферическое, светлое или содержит большое количество мелких зерен, окрашивающихся базофильно. Ядрышко четко определяется в центре ядра или располагается несколько эксцентрично. По своей характеристике эти нейроны могут быть отнесены к кариохромным и светлым нейронам. Внутри указанного скопления нейронов равномерно распределены гиперхромные нейроны, у которых диффузно окрашиваются тела и отростки, при этом последние прослеживаются на далекие расстояния. ДяБЛя располагается в нижне-медиальном секторе базолатерального ядра. Большинство нейронов, образующих его, имеют характер кариохромных. Крупное ядро занимает большую часть тела клетки, в узком ободке цитоплазмы находятся пылевидная зернистость и мелкие зерна хроматофильной субстанции. Имеет место высокая плотность расположения нейронов. Перивентрикулярное ядро находится недалеко от стенки бокового желудочка, между дорсомедиальным и латеральным ядром. Оно образовано небольшой группой нейронов, которые по своим характеристикам сходны с входящими в состав других добавочных ядер. Это ядро вызывает особый интерес в связи с тем обстоятельством, что прилежащие к стенке бокового желудочка нейроны могут содержать в составе своей популяции стволовые клетки. Все указанные добавочные ядра занимают очень небольшую площадь, так как количество нейронов, их образующих, очень невелико. Наиболее крупным среди них является добавочное заднее кортикальное ядро. Анализ кариоволуметрических показателей трех выделенных нами добавочных ядер показывает, что средний IgV клеточных ядер меньше всего в ДяБЛя ( $1,94 \pm 0,03$ ), в ДяЗКя он равен  $2,160 \pm 0,010$ . Низкие значения стандартного отклонения и коэффициента вариации (0,02 и 1,06 соответственно) в ДяЗКя свидетельствуют, что это образование является однородным по набору нейронов. Промежуточное положение между двумя рассмотренными добавочными ядрами занимает перивентрикулярное ядро, средний IgV клеточных ядер в котором равен  $2,07 \pm 0,05$ , однако, это ядро отличается разнообразием набора нейронов (V равен 5,9).

12. Бадалян С.А.

Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА, г. Ереван, Армения. E-mail: biosuso@mail.ru

#### ИСТОЧНИКИ ВОСХОДЯЩИХ ПРОЕКЦИЙ МЕДИАЛЬНОГО (ФАСТИГИАЛЬНОГО) ЯДРА МОЗЖЕЧКА НА ВЕНТРОЛАТЕРАЛЬНОЕ ЯДРО ТАЛАМУСА

Установлено, что наиболее крупной восходящей проекцией центральных ядер мозжечка является проекция на вентролатеральное ядро (ВЛЯ) таламуса, которое, в свою очередь, обеспечивает мощный таламический вход в моторную кору. Отличительной особенностью проекций разных ядер мозжечка на ВЛЯ таламуса является их контралатеральность для промежуточного и зубчатого ядер и билатеральность для фастигиального ядра (ФЯ). Исследовали особенности популяций нейронов ФЯ мозжечка — источников билатеральных проекций на ВЛЯ таламуса. Эксперименты проводили на взрослых кошках в норме и при патологии, в

частности при предварительном (за 3 мес) разрушении латерального вестибулярного ядра Дейтерса. Все хирургические манипуляции проводили под глубоким пентобарбитальным наркозом. Применяли метод, основанный на ретроградном аксонном транспорте и маркировании пероксидазой хрена, локальные микроинъекционные инъекции которой проводили в ВЛЯ таламуса. Анализ фронтальных срезов мозжечка выявил наличие маркированных клеток в обоих ФЯ. При этом обнаружена некоторая особенность их распределения: помимо диффузно расположенных, встречались популяции маркированных клеток (либо в самом ФЯ, либо на границе ФЯ с промежуточным), которые в обоих парных ядрах имели отчетливую симметричную локализацию. В таких популяциях маркированных клеток симметрия касалась не только локализации, но и визуально наблюдаемого количественного распределения. Более того, в симметричных популяциях среди билатерально маркированных нейронов встречались клетки одинаковых формы и размеров. Иногда они имели вид «зеркально» отображенных. Полученные результаты относительно организации и распределения симметричных билатерально маркированных нейронов — источников восходящих проекций от парных ФЯ на ВЛЯ таламуса — обсуждаются в плане их функционального назначения.

13. Бажанова Е.Д.<sup>1</sup>, Молодцов В.Н.<sup>1</sup>, Анисимов В.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН; <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова МЗСР, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: bazhanovae@mail.ru

#### ЭКСПРЕССИЯ АПОПТОЗ-АССОЦИИРОВАННЫХ МОЛЕКУЛ У МЫШЕЙ $erbB2^{+/+}$ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Как известно,  $erbB2$  — это онкопротеин, принадлежащий к семейству трансмембранных тирозинкиназных рецепторов  $ErbB$ . Это семейство состоит из 4 членов. Все белки  $ErbB$  в норме экспрессируются в эпителиальной, мезенхимальной и нервной тканях, где они играют важную роль в онтогенезе. Так,  $erbB$ -рецепторы стимулируют клеточный рост и пролиферацию, предупреждают апоптоз и, таким образом, сверхэкспрессия  $erbB2$  может способствовать канцерогенезу. Мы использовали модель ускоренно стареющих мышей со сверхэкспрессией  $erbB2$  для выявления предполагаемой связи процессов апоптоза и старения. Использованы мыши самцы:  $erbB2^{+/+}$  (2 и 11 мес), дикого типа ( $wt$ ) (2 и 18 мес). На срезах гипоталамической области мозга, содержащих супраоптическое (СОЯ) и паравентрикулярное (ПВЯ) ядра, были проведены иммуногистохимические реакции с поликлональными антителами к апоптоз-ассоциированным белкам  $p53$ ,  $Mcl-1$ ,  $Bcl-2$  и каспазы-8. Уровень апоптоза был определен с помощью люминисцентной микроскопии на срезах, окрашенных этидием бромидом. Обнаружены значительные различия в регуляции апоптоза между мышами  $wt$  и трансгенными животными. Уровень апоптоза повышался у старых мышей  $wt$ , тогда как возрастное повышение гибели нейросекреторных клеток (НСК) в гипоталамусе мышей  $erbB2^{+/+}$  не отмечалось. Известно, что  $p53$  является одним из ключевых проапоптотических белков, ответственных за активацию различных путей клеточной смерти. Возможно, значительно сниженная экспрессия каспазы-8 и  $p53$ , по сравнению с таковой у мышей  $wt$ , была причиной стабильного уровня апоптоза у старых мышей  $erbB2^{+/+}$ . Интересно, что уменьшение синтеза антиапоптотических белков  $Mcl-1$  (в СОЯ и ПВЯ) и  $Bcl-2$  (в ПВЯ) при старении не влияет на уровень программированной клеточной гибели у старых мышей  $erbB2^{+/+}$ . Возможно, некоторую роль в сохранении НСК СОЯ у старых мышей  $erbB2^{+/+}$  играет выявленное нами повышение уровня  $Bcl-2$ . Таким образом, мы можем заключить, что сверхэкспрессия  $erbB2$  активирует достаточно мощные механизмы, способные предупреждать апоптоз в СОЯ и ПВЯ при старении. Воз-

можными причинами обнаруженного нами низкого уровня апоптоза НСК гипоталамуса старых мышей  $erbB2^{+/+}$  являются, вероятно, сниженная экспрессия проапоптотических молекул каспазы-8 и  $p53$  в обоих нейросекреторных центрах и увеличение синтеза антиапоптотического белка  $Bcl-2$  (в СОЯ). Результаты нашей работы позволяют предположить участие других членов семейства  $Bcl-2$  в выживании НСК гипоталамуса мышей  $erbB2^{+/+}$  на поздних этапах онтогенеза, что требует дальнейших исследований.

14. Баженов Д.В., Петрова М.Б.

#### ТВЕРСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ, РОССИЯ СПЕЦИФИКА ЭКСТРА- И ИНТРАОРГАННОЙ ИННЕРВАЦИИ МУСКУЛАТУРЫ ПИЩЕВОДА МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ЧЕЛОВЕКА

В проблеме структурной организации мышечной оболочки пищевода млекопитающих актуальным является вопрос иннервации его мускулатуры. В связи с этим нами было предпринято макроскопическое и микроскопическое изучение иннервационного аппарата мышечной оболочки пищевода некоторых млекопитающих (кролик, крыса, кошка, собака) и людей в возрасте от 20 до 50 лет, не имевших патологии пищевода. В работе использовали макро-микрoанатомические и электронно-микроскопические методы исследования. Экстраоргaнная иннервация пищевода млекопитающих и человека обеспечивается возвратным гортанным, блуждающим и спинномозговыми нервами, отходящими от пограничного симпатического ствола. Последние анастомозируют с блуждающим нервом, образуя вагo-симпатический ствол. Блуждающие и возвратные гортанные нервы обеспечивают парасимпатическую иннервацию пищевода. На уровне среднего и нижнего отделов грудной части пищевода ветви блуждающих нервов образуют сплетения на стенках органов, а затем собираются в передний и задний блуждающие стволы. Симпатическая иннервация осуществляется спинномозговыми нервами, отходящими от звездчатых и нескольких верхних грудных узлов симпатических стволов. Микроскопические исследования позволили выявить ряд характерных особенностей интраоргaнной иннервации мускулатуры пищевода млекопитающих. На препаратах, импрегнированных нитратом серебра, видны нервные стволы, состоящие из миелиновых и безмиелиновых нервных волокон. Пучки нервных волокон разветвляются и дают тонкие волокна, направляющиеся вглубь мышечной оболочки. Встречаются различные типы ветвления нервных волокон в мышечной оболочке пищевода. Рассыпной тип ветвления чаще наблюдается у человека, крыс и кроликов; магистральный — у кошек. В первом случае нервное волокно дихотомически делится на ветви, расположенные под углом друг к другу, во втором — имеется основная ветвь, а от нее отходят боковые ветвления, идущие к отдельным мышечным волокнам. Терминальные двигательные волокна образуют двигательные нервные окончания. Эффекторные окончания на поперечнополосатых мышечных волокнах пищевода млекопитающих, по нашим данным, представлены терминально аксона, вокруг которого расположены ядра леммоцитов. Количество терминальных веточек колеблется от 2 до 4, вне зависимости от видовой принадлежности, ядра подошвы крупные, округлые или овальные, число их в отдельных нервных окончаниях достигает 6–8. Чувствительные нервные окончания в мышечной оболочке пищевода не отличаются большим разнообразием. Чаще всего в толще мышечного слоя встречаются клубочковые рецепторы. Они образованы одиночными безмиелиновыми волокнами, которые слабо ветвятся и заканчиваются клубочком. В ряде случаев определяются клубочковые окончания, окруженные слабо выраженной соединительнотканной капсулой. Мышечных веретен, описанных в большинстве скелетных мышц, а также в межмышечном и подслизистом спле-

тениях пищевода, мы не встретили ни у одного из изученных объектов. Таким образом, к морфологическим особенностям двигательной иннервации мышечной оболочки пищевода млекопитающих и человека можно отнести преобладание безмиелиновых волокон, диффузное распределение двигательных нервных окончаний и их более мелкие размеры по сравнению с синапсами в скелетных мышцах.

15. Бакайкин В.М., Елизарова Ю.Н., Инчина В.И.

Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарева, г. Саранск, Россия

#### **ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕРВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ СЕРДЦА И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ ПРЕПАРАТАМИ С АНТИОКСИДАНТНЫМ ТИПОМ ДЕЙСТВИЯ**

С помощью комплекса нейрогистохимических и гистохимических методик изучено состояние холинергических нервных элементов сердца и поджелудочной железы 86 половозрелых белых крыс-самцов массой 150–200 г в осенне-летний период года при экспериментальном сахарном диабете. Последний моделировали однократным внутрибрюшинным введением аллоксана в дозе 300 мг/кг. Выделяли 9 групп животных: 1-я — интактные крысы ( $n=9$ ); 2-я — контрольная (крысы с аллоксановым диабетом — АД,  $n=14$ ); 3-я и 4-я группы — крысы с АД, которым ежедневно 1 раз в день вводили внутримышечно (в/м) 3-метилоксипиридин в дозе 2,5 мг/кг и 12,5 мг/кг в течение 2 нед ( $n=9$ ); 5-я и 6-я группы — крысы с АД, которым ежедневно 1 раз в день вводили в/м эмоксипин в дозе 2,5 мг/кг и 12,5 мг/кг в течение 2 нед ( $n=9$ ); 7-я и 8-я группы — крысы с АД, которым ежедневно 1 раз в день вводили в/м мексидол в дозе 5 мг/кг и 25 мг/кг в течение 2 нед ( $n=9$ ); 9-я группа — крысы с АД, которым ежедневно 1 раз в день вводили в/м эмоксипин в дозе 25 мг/кг в течение 2 нед ( $n=9$ ). Материал для исследования брали через 2 нед после введения аллоксана. При гистохимическом исследовании в разных слоях стенки сердца и поджелудочной железе интактных крыс в составе нервных элементов обнаруживали высокую активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ). Наблюдали коронарные сосуды крупного и среднего калибра, «опутанные» холинергическими нервными волокнами, которые выходили из пучков, образованных отростками интрамуральных нейронов. Все сосудистые холинергические нервные волокна были совершенно обособлены от иннервационных структур сократительного миокарда и имели явную связь с пучками нервных волокон, выходящих из узловых коммуникаций. Чем крупнее по калибру коронарные сосуды, тем обильнее они снабжены холинергическими нервными волокнами. При АД наблюдали снижение активности АХЭ. Осадок сульфида меди становился менее плотным, размытым с нечеткими контурами. Для выявления АХЭ в холинергических нервных элементах предсердий и, особенно, желудочков требовалось большее время экспозиции срезов в инкубационной среде. Наибольшее количество нервных волокон с низкой активностью АХЭ определялось в области верхушки сердца. Значительно снижалось количество холинергических нервных элементов с высокой активностью фермента по ходу венечных артерий и их ветвей. На фоне применения антиоксидантов в миокарде предсердий и, особенно, левого желудочка, а также в эпикардиальном, субэпикардиальном и эндокардиальном сплетениях выявлялись, наряду с бледными слабо контурируемыми нечеткими нервными волокнами, одиночные нервные стволы с высокой активностью АХЭ, что проявлялось наличием интенсивного темно-коричневого осадка гистохимической реакции. При сравнительном исследовании наибольший положительный эффект обнаруживали при введении 3-метилоксипиридина в дозе 12,5 мг/кг. Наименьшее кардиопротекторное действие оказывал эмоксипин в дозе 12,5 мг/кг.

16. Бакайкин В.М., Теричев А.Е., Базеев Э.Г., Чаиркин И.Н. Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия

#### **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕРДЦА ПРИ КОМБИНИРОВАННОЙ ОЖОГОВОЙ ТРАВМЕ**

Проведено исследование морфологических и гистохимических изменений сердца экспериментальных животных при воздействии глубокого термического ожога и массивной кровопотери. Эксперименты проводили на 63 собаках, 12 кроликах и 67 белых крысах под тексеналовым наркозом. Подопытным животным наносили глубокий ожог 5% поверхности тела с помощью специального устройства, разработанного в университете (удостоверение на раппорт № 798 — 1995 г.), а затем проводили кровопускание из расчета 30 мл/кг массы. При необходимости проводили реанимационные мероприятия, включающие искусственную вентиляцию легких, массаж сердца, внутривенное нагнетание аутокрови и кровезаменителей (полиглюкин, реополиглюкин). Для исследования материала применяли общегистологические, нейрогистологические (Бильшовского—Грос, Рассказовой), гистохимические (Фалька, Крохиной, Келле—Фриденвальда, Карновского—Рутс), биохимические и электронно-микроскопические методы. При комбинированной ожоговой травме во всех отделах и слоях сердца наблюдали комплекс морфологических изменений. В толще эпикарда, перикарда и эндокарда отмечали различной степени отек, особенно отчетливо выраженный в интерстиции миокарда желудочков, деформацию и десквамацию эндотелия, расширение границ между клетками. В миокарде желудочков и предсердий были обнаружены различной величины и формы очаги, усиленно воспринимающие эозин. Наиболее часто они выявлялись в субэпикардиальном слое левого желудочка. В ряде кардиомиоцитов терялась четкость поперечной исчерченности, изменялась структурная организация миофибрилл. Некоторые волокна находились в состоянии чрезмерного очагового сокращения, о чем свидетельствовало уменьшение длины саркомеров, часть — приобретали нечеткие контуры, извилистость, а затем фрагментировались. Также встречались мелкие очаги с грубо деформированными и разрушенными миофибриллами, по ходу которых наблюдались островки просветления. В них отмечались скопления митохондрий различной величины. Саркоlemma кардиомиоцитов извилистая и складчатая. Обнаружено расширение пространств Т-системы и эндоплазматической сети. Часть канальцев была разрушена. Ядра большинства кардиомиоцитов внешне сохраняли свою форму и структуру, однако встречались уплотненные и деформированные. Ядерная оболочка становилась неровной, хроматин смещался на периферию ядра, ядерные поры были широко раскрыты. Отмечено образование слоистых миелиноподобных тел, увеличение мелких округлых митохондрий с небольшим количеством крист, что свидетельствует о процессах регенерации сердечной мышцы. Коллагеновые и ретикулярные волокна в межпучковых прослойках и клетки соединительной ткани разъединялись и набухали. Наблюдались признаки реактивного раздражения и дегенерация нервных элементов сердца. Инициальные изменения возникали в афферентных нервных окончаниях субэпикардиального и субэндокардиального слоев. Затем они распространялись на тела нейроцитов и эфферентные структуры других областей сердца. Нейроциты приобретали аргентофилию, цитоплазма их отличалась дисхромией. Отростки имели неровные контуры, отмечена фрагментация миелиновой оболочки. В терминалях рецепторов уменьшалось количество светлых пузырьков, депонирующих медиатор. В отростках снижалась активность ацетилхолинэстеразы, уменьшалась яркость флюоресценции адренергической субстанции. В миокарде желудочков обнаружены очаги с редкой сетью тусклосветящихся адренергических волокон.

17. Белехова М.Г., Кенигфест Н.Б., Чудинова Т.В.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: belekhova@yahoo.com

#### КОРРЕЛЯЦИЯ НЕЙРОХИМИЧЕСКОЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В СЛУХОВОМ МЕЗЭНЦЕФАЛЬНОМ ЦЕНТРЕ У РЕПТИЛИЙ

У всех амниот слуховой мезэнцефальный центр (Torus semicircularis, TS; Colliculus inferior, CI) имеет сходную организацию по принципу «центр—периферия». У рептилий TS состоит из центрального (nucl. centralis, nCe), лемнискового, и периферического (nucl. laminaris, nL), экстралемнискового, отделов, имеющих различные морфологические, ходологические, нейрохимические и функциональные характеристики. У двух видов черепах (*Testudo horsfieldi*, *Emys orbicularis*) и ящериц (*Lacerta agilis*, *Lacerta viridis*) определяют иммунореактивность (ir) к кальций-связывающим протеинам (CaBPr) — калбиндину (CB), парвальбумину (PV) и калретину (CR) — и метаболическую активность по содержанию митохондриального окислительного фермента цитохромоксидазы (CO). Обнаружено альтернативное распределение как CaBPr-ir, так и активности CO в nCe и nL у всех исследованных видов рептилий. В nCe преобладает PV-ir, коррелирующая с высокой активностью CO, тогда как nL характеризуется более плотной CB-, CR-ir и менее значительной активностью CO. Вместе с тем гетерогенность и относительная альтернативность распределения CaBPr-ir и CO была выявлена и в самом nCe турса. В нем наблюдалась хорошо очерченная сердцевинная область с очень высокой плотностью PV-ir нейропиля и PV-ir нейронами и крайне скудной CB- и CR-иннервацией со слабо иммунореактивными клетками. Локализация этой сердцевинной области совпадает с зоной высокой активности CO. Напротив, окружающая ее периферическая часть nCe имеет скудную PV- и умеренную CB- и CR-иннервацию, сравнимую с ее плотностью в nL, и нейроны, иммунореактивные ко всем CaBPr. Эта периферическая область nCe обладала более низкой активностью CO, чем его сердцевинный отдел. Сходная метаболическая (CO) и нейрохимическая (CaBPr) организация лемнискового и экстралемнискового отделов мезэнцефального слухового центра имеет место и у высших амниот — птиц и млекопитающих — и может рассматриваться как его анцестральная черта, унаследованная от общего рептилиевого предка. Значительная метаболическая активность CO, коррелирующая с интенсивной PV-ir, свидетельствует о более высокой функциональной активности лемнискового отдела слухового мезэнцефального центра у рептилий по сравнению с таковой в его экстралемнисковом отделе, так же как у высших амниот.

18. Беляев Н.Г., Соколов В. Н., Беляева Н.Н.

#### СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ, РОССИЯ СУТОЧНАЯ ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ КАЛЬЦИЯ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ФИЗИЧЕСКОГО СТРЕССА

Кальций (Ca) и Ca-регулирующие гормоны являются важными компонентами адаптации организма к факторам окружающей среды. В связи с этим представляется актуальным исследование суточной динамики содержания Ca в условиях хронического стресса. Состояние хронического стресса моделировали на предварительно тренированных животных. Тренировку осуществляли на протяжении 9 нед в соответствии с модифицированной методикой Ю.П. Похолечука (1970). В данной методике выделяются подготовительный (1–4 нед), разгрузочный (5–6 нед) этапы, а также этапы интенсивной нагрузки (6–8 нед) и активного отдыха (9-я неделя). Для моделирования хронического стресса использовали разработанную нами схему, в соответствии с которой начальная продолжительность нагрузки для животных (крысы) составляла 40 мин при скорости движения

ленты 20 м/мин. В последующем каждый день продолжительность нагрузки увеличивалась на 10 мин, а скорость движения ленты на 1 м/мин и так до тех пор, пока животные были в состоянии выполнять данный объем нагрузки. Физическую нагрузку моделировали в первой половине дня. В крови животных определяли содержание кальцитонина, паратгормона методом иммуноферментативного анализа и концентрацию общего Ca комплексонометрическим методом. Кровь для анализа брали из хвостовой вены в 6, 10, 14, 18, 22 и 2 ч. Согласно результатам исследования, в суточной ритмике содержания Ca в крови контрольных животных обнаруживались две акрофазы. Незначительная — регистрировалась в 10 ч и отчетливо выраженная в 22 и 2 ч ночи ( $2,14 \pm 0,07$  ммоль/л и  $2,90 \pm 0,18$  ммоль/л соответственно). Период окончания этапа интенсивных нагрузок характеризовался гиперкальциемией, но между пиками дневного и ночного повышения концентрации Ca значимых различий не обнаружено ( $2,91 \pm 0,11$  ммоль/л и  $3,10 \pm 0,08$  ммоль/л). При моделировании хронического физического стресса регистрировался только дневной пик повышения концентрации общего Ca, наиболее выраженный на 20-е сутки эксперимента ( $2,93 \pm 0,09$  ммоль/л). Дальнейшее принуждение животных к выполнению физической нагрузки сопровождалось развитием гипокальциемии ( $1,18 \pm 0,03$  ммоль/л — в 10 ч и  $1,190 \pm 0,010$  ммоль/л — в 2 ч) с акрофазой в 18 ч ( $1,72 \pm 0,03$  ммоль/л). Таким образом, характерной особенностью динамики кальциевого обмена на начальных этапах действия хронического стресса является формирование механизмов, обеспечивающих гиперкальциемию, наиболее выраженную в период интенсификации физических нагрузок. К возможным факторам, обеспечивающим гиперкальциемию, следует отнести изменение соотношения Ca-регулирующих гормонов, прежде всего, уменьшение секреторной активности кальцитонинотропной щитовидной железы. Если перед началом тренировок концентрация кальцитонина в условиях относительного покоя соответствовала  $8,0 \pm 0,8$  пг/мл, то в период окончания цикла интенсивных нагрузок —  $3,1 \pm 0,4$  пг/мл, а в период моделирования хронического стресса (15-е и 20-е сутки) —  $1,05 \pm 0,16$  пг/мл и  $0,44 \pm 0,18$  пг/мл.

19. Бережная Л.А., Хренов А.И.

Научно-исследовательский институт мозга РАН, Москва, Россия

#### ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРВАЛЬБУМИН-ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТОК В ДОРСАЛЬНЫХ ЯДРАХ ТАЛАМУСА И В ПРИЛЕЖАЮЩЕМ К НИМ РЕТИКУЛЯРНОМ ЯДРЕ

Исследование парвальбумин-позитивных клеток проводили иммуногистохимическим методом в 2 моторных ядрах (VA, VL), 3 передних ядрах (AV, AM, AD), медиодорсальном ядре (MD) таламуса и прилежащем к ним ретикулярном ядре (RET) таламуса. В VA-ядре найдены слабоокрашенные единичные длинноаксонные ретикулярные клетки, кустовидные клетки среднего размера и интенсивно окрашенные мелкие короткоаксонные клетки (интернейроны). Отдельные мелкие нейроны тесно прилегают к поперечно срезанным пучкам волокон, а очень тонкие их аксоны с бусинками по ходу волокна и расширенными концевыми шляпками опутывают эти пучки волокон и заходят внутрь пучков. В VL-ядре найдены крупные, средние и мелкие парвальбуминовые клетки. В дорсальной и средней частях VL-ядра найдены кустовидные клетки среднего размера. Эти клетки сопровождают продольно срезанные пучки волокон. Располагаясь по краю пучка, парвальбуминовые клетки следуют друг за другом иногда на значительном расстоянии; редко можно наблюдать 2–3 клетки, следующие друг за другом на небольшом расстоянии (приблизительно на расстоянии 1–1,5 клеточных тел). Часть дендритов этих клеток направлена в сторону пучка проходящих волокон, а другая расположена в междурядье пучков. Отдельные пар-

вальбуминовые клетки, имеющие веретеновидное вытянутое тело, расположены по краю пучка и параллельно ему. Мощные дендритные стволы вытянуты в противоположные стороны вдоль пучка. Эти клетки идентифицированы как длинноаксонные ретикулярные. Вентральная часть VL-ядра интересна тем, что здесь помимо кустовидных клеток среднего размера присутствуют гигантские кустовидные парвальбуминовые нейроны. Их мощные тела иногда расположены поперек пучков волокон, дендриты их могут находиться между пучками, но есть такие же гигантские клетки, тела которых расположены между пучками, а дендриты вклиниваются в близлежащие пучки. Иногда можно наблюдать в таких гигантских клетках по 2 ядра с ядрышками. Мелкие клетки в этом ядре окрашены более интенсивно и их мало. В MD-ядре найдены 2 разновидности длинноаксонных клеток и короткоаксонные мелкие клетки. Интенсивность окраски нейронов слабая. Среди длинноаксонных проекционных нейронов идентифицированы средние ретикулярные клетки и кустовидные нейроны среднего размера. Мелкие нейроны (интернейроны) встречаются в этом ядре редко. В AD-ядре парвальбуминовых клеток не найдено. В AV- и AM-ядрах встречаются единичные мелкие клетки (интернейроны). В RET-ядре таламуса парвальбуминовых клеток много. Типичны крупные ретикулярные клетки (R11), с расходящимися в разные стороны толстыми гладкими длинными дихотомически ветвящимися дендритами, ретикулярные нейроны среднего размера (R1m) и мелкие ретикулярные нейроны (R1s) с прямыми гладкими дендритами. Если дендриты нейронов R11 формируют длинные дендритные пучки этого ядра, тянущиеся от одного клеточного островка к другому, то ретикулярные нейроны R1m и R1s располагаются косо и перпендикулярно к этим пучкам дендритов. В этом ядре встречаются единичные мультиполярные и короткоаксонные парвальбуминовые клетки.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 04-04-48851.*

20. Берестов Д.С., Суханов С.А., Шумихина Г.В., Васильев Ю.Г.

Ижевская государственная сельскохозяйственная академия, Ижевская государственная медицинская академия, Россия

#### **РАЗВИТИЕ ПЕРЕДНИХ МОЗГОВЫХ ПУЗЫРЕЙ У БЕЛЫХ КРЫС В НОРМЕ И ПОСЛЕ ГИПОКСИИ**

Для выяснения значимости формирования микрососудов в процессах детерминации было осуществлено экспериментальное исследование развития передних мозговых пузырей в ранние сроки пренатального онтогенеза. Исследованы 6 контрольных и 6 подопытных эмбрионов крыс 12 сут развития. Гипоксическую гипоксию вызывали у самок на 11,5 сутки беременности путем подачи в течение 30 мин газовой смеси 16% кислорода и 4,5% углекислого газа. Наркотизированных самок умерщвляли через 12 ч после перенесенной гипоксии. Контрольных зародышей изымали в сроки эмбриогенеза, соответствующие подопытным. Препараты подвергали иммуногистохимическому исследованию с использованием непрямого метода. В качестве первых антител использовали моноклональные антитела Dako к белкам S100, p53, CD31, в качестве вторых — антитела, меченные пероксидазой хрена. На 12-е сутки эмбриогенеза у крысят был обнаружен весьма низкий уровень экспрессии белка S100 в стенке переднего мозгового пузыря. К рассматриваемому сроку стенка пузыря состояла из 6–8 слоев медуллобластов. Отсутствие специфической активности S100 подтверждает предположение о том, что в нервной трубке в рассматриваемый срок имеются матричные клетки в фазе пролиферации или детерминации. Антитела к CD31, специфичные к эндотелию, экспрессируются клетками эндотелиобластического ряда на среднем или низком уровне, близком к уровню активности в мезенхимальных клетках. Тем не менее, эндотелиобласты появляются в толще нервной трубки, формируя примитивные сосудистые петли. Апоптотиче-

ская активность клеток нервной трубки в контроле незначительна и проявляется диффузной слабой экспрессией p53. После гипоксии экспрессия p53 увеличивается очагово и охватывает группы до нескольких десятков клеток в эпендимном слое и в субвентрикулярных участках. Она наиболее значительна в зонах, аналогичных тем, что при компьютерном моделировании распределения кислорода и глюкозы рассматриваются как дефицитные по изучаемым веществам. Данные участки обычно удалены от зон внедрения примитивных сосудов в стенку мозгового пузыря. В мозгу половозрелого контрольного животного отмечено высокое содержание S100 в отростках нейронов, CD31 — в эндотелиоцитах кровеносного русла. У взрослых животных, подвергшихся действию гипоксической гипоксии, значительного повышения содержания p53 в сенсомоторной коре не наблюдалось, что указывает на хорошие компенсаторные возможности мозгового кровообращения при таком воздействии. Таким образом, распределение и экспрессия рассматриваемых маркеров в ранние сроки внутриутробного развития крыс указывает на связь апоптотической активности медуллобластов с состоянием их трофического обеспечения. Зоны апоптоза совпадают с прогнозируемыми, как слабо обеспеченные глюкозой и кислородом при исследовании с помощью компьютерного моделирования.

21. Бигдай Е.В., Самойлов В.О., Бекусова В.В.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: cell@infran.ru

#### **ВЛИЯНИЕ ОДОРАНТОВ НА ЦИТОСКЕЛЕТ РЕСНИЧЕК ОБОНЯТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК**

Эксперименты проводили на тонких пластах изолированной обонятельной выстилки лягушки методом прижизненной телевизионной микроскопии с применением фармакологического анализа. Показано, что вне воздействия пахучих веществ реснички обонятельных клеток совершают спонтанные асинхронные волнообразные, изгибательные и воронкообразные движения, присущие дистальным концам ресничек. Вместе с тем известно, что, в отличие от проксимальных отделов, они лишены тубулярного цитоскелета, с которым связаны молекулярные механизмы подвижности цилиарных структур. Опыты с цитохалазином выявили, что активные процессы в проксимальном отделе обеспечивают пассивные движения дистальных зон ресничек обонятельных клеток. При стимуляции обонятельной выстилки одорантами движения упорядочивались за счет активного движения их дистальных участков, что, вероятно, может быть обеспечено реорганизацией здесь актин-миозиновой молекулярной системы подвижности. Данные, полученные посредством иммунофлуоресцентной микроскопии, показали, что в обонятельной выстилке, обработанной родаминфаллоидином, предварительно стимулированной одорантами, на протяжении всей длины ресничек обонятельной клетки прослеживается характерное для этого люминофора красное свечение: оно локализуется в примембранном слое и особенно хорошо заметно в дистальном отделе. Поскольку родаминфаллоидин является меткой для полимеризованного F-актина, то, вероятно, именно им обусловлено свечение в ресничках обонятельных клеток. Это, в свою очередь, свидетельствует о том, что пахучие вещества могут инициировать реорганизацию актинового компонента цитоскелета в цилиарном аппарате обонятельного эпителия. Под действием цитохалазина наблюдаются отдельные очаги красного свечения, обусловленные не нитью, а глыбками деполимеризованного F-актина. Это сопровождается исчезновением упорядоченности ресничек в препарате, стимулированном одорантами. Таким образом, пахучие стимулы инициируют реорганизацию цитоскелета, с чем связано, очевидно, упорядочение двигательной активности ресничек обонятельных клеток. Их неупорядоченные движения (в режиме рыскания) сменяются под действием одорантов упорядоченными (в направлении обонятельного стимула).

22. Бисага Г.Н., Гайкова О.Н., Онищенко Л.С., Чикуров А.А.  
Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург  
**ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ГЛИОЦИТОВ В ОЧАГАХ ДЕМИЕЛИНИЗАЦИИ И НА РАССТОЯНИИ ОТ НИХ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ**

Целью настоящего исследования было изучение особенностей клеточного состава очагов демиелинизации в белом веществе головного мозга, окружающем очаги, а также расположенном вдали от очагов. Материалом для исследования служил головной мозг 6 умерших людей, страдавших рассеянным склерозом (РС) более 10 лет. Головной мозг фиксировали в формалине не менее 1 мес, после чего выполняли магнитно-резонансную томографию (МРТ) для визуализации очагов демиелинизации. Данные МРТ сравнивали с макроскопическим изучением секционного материала и результатами светооптического и электронно-микроскопического исследования. Для более точной идентификации клеток кроме электронной микроскопии использовали гистохимическую окраску парафиновых срезов с применением маркеров LCA, CD3 и CD20. Контрольная группа — люди без РС. При светооптическом изучении клеточного состава в 50 полях зрения при увеличении 400 на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином—эозином, определяли общее количество клеток в белом веществе в центре очагов и вблизи них, а также на значительном расстоянии от очагов в макроскопически не измененном белом веществе (МНБВ) головного мозга. Затем изучали соотношение глиоцитов, разделив их на 3 группы: астроциты, олигодендроциты и прочие клетки. В норме доля астроцитов в белом веществе составляет 19%, олигодендроцитов — 70%, прочих — 11%. Клеточный состав оценивали в центре и на периферии очагов на полутонких эпон-аралдитовых срезах, окрашенных по методу Ниссля толудиновым синим при увеличении 1000. Среди глиоцитов в отдельную группу выделяли лимфоцитоподобные клетки из-за некоторого сходства строения их ядра и цитоплазмы с таковыми лимфоцитов. Данные МРТ и макроскопического исследования позволили выделить 4 основных типа очагов, каждый из которых имеет характерные особенности. Так, для очагов первого и второго типа макроскопически была характерна плотная структура, а для очагов третьего и четвертого типов — менее плотная структура, наличие нечетких границ, более яркое свечение на Т2 взвешенных изображениях с образованием полостей, наличие более четких контуров как при макроскопии, так и при МРТ. На Т1 взвешенных изображениях в очагах первого типа изменений не было выявлено, очаги второго и третьего типа имели площадь существенно меньшего размера (по сравнению с таковыми на Т2 изображениях), а очаги четвертого типа на Т1 изображениях имели площадь, существенно не отличающуюся от площади на Т2. В результате светооптического исследования в очагах первого типа количество глиоцитов составило  $55 \pm 5$  клеток в поле зрения, т. е. в 1,6 раз меньше, чем в контрольной группе ( $91,4 \pm 2,0$ ), а по сравнению с МНБВ количество глиоцитов меньше практически в 4,8 раза ( $260 \pm 15$ ). Количество клеток в очаге второго типа ( $42 \pm 4$ ), в 2,2 раза меньше, чем в группе контроля и в 6,2 раза меньше, чем в МНБВ. В очаге третьего типа глиоцитов в 2,2 раза меньше, чем в МНБВ, но больше, чем в других типах бляшек ( $116 \pm 4$ ) и в 1,3 раза больше, чем в контрольной группе людей. В очагах четвертого типа — наименьшее количество глиоцитов, чем во всех вариантах очагов ( $28 \pm 4$ ), а это в 3,2 раза меньше, чем в контрольной группе и в 9–10 раз — чем в МНБВ. Изменялось также соотношение глиоцитов в очагах демиелинизации: увеличивалась доля астроцитов (до 58%), снижалась доля олигодендроцитов (до 28%) и появлялось значительное количество лимфоцитоподобных клеток (до 10%). Электронно-микроскопически эти клетки определялись нами как незрелые олигодендроциты, и некоторые из них имели признаки изменений по типу апоптоза.

Таким образом, при РС с течением времени количество глиоцитов в бляшке (по мере ее «старения») уменьшается, и в исходе бляшки образуется не рубец, а полости разных размеров и форм, что обеспечивает их интенсивное свечение при МРТ.

23. Боголепова И.Н., Малофеева Л.И.

Научно-исследовательский институт мозга РАМН, Москва, Россия. E-mail: irina\_bogolepova@mtu-net.ru

**ЦИТОАРХИТЕКТОНИКА ЛИМБИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ КОРЫ В ЛЕВОМ И ПРАВОМ ПОЛУШАРИИ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА**

Многочисленные литературные данные свидетельствуют о важной роли лимбической области коры мозга человека в обеспечении его сложных поведенческих реакций, имеющих отношение к механизмам памяти и эмоций. Индивидуальная вариабельность и межполушарная асимметрия цитоархитектонических признаков данной структуры мозга освещена в литературе слабо. Цель настоящей работы — изучить цитоархитектонику поля 24 передней лимбической области коры в левом и правом полушарии мозга человека (возраст 30–60 лет, правши). Всего исследовано 14 полушарий мозга. Толщина срезов 20 мкм, окраска крезидиновым фиолетовым. На приборе Dia Morph Cito-W в слоях III и V поля 24 передней лимбической области коры измеряли площадь профильного поля нейронов. В каждом случае анализировали 100 нейронов. Вычисляли долю нейронов сверхмалого, малого, среднего, крупного и сверхкрупного размера по классификации, составленной совместно с Н.С.Оржеховской. Определяли суммарную фракцию нейронов на единице площади среза мозга. Под микроскопом Akxioskop в каждом случае в 30 полях зрения измеряли толщину коры и ее слоев. По всем изученным количественным показателям вычисляли коэффициент асимметрии средних величин в левом и правом полушарии мозга. Оценку статистической значимости результатов измерений проводили с использованием критерия Стьюдента ( $P < 0,05$ ). Цитоархитектонические исследования поля 24 передней лимбической области коры мозга человека выявили значительные индивидуальные колебания толщины коры и ее слоев, радиарной исчерченности, нейронного состава, особенно в ассоциативном слое III. Индивидуальные различия цитоархитектонических признаков, в целом, в правом полушарии мозга выражены лучше, чем в левом. Между левым и правым полушариями мозга наблюдаются структурные различия поля 24 по целому ряду цитоархитектонических признаков. В правом полушарии мозга по сравнению с левым оно характеризуется более четкой дифференцировкой слоев, большей густотой, более компактным подслоем V<sup>1</sup>, крупноклеточностью этого подслоя, более просветленным подслоем V<sup>2</sup>, большей толщиной слоя III. Анализ количественных данных показал, что в большинстве исследованных случаев в изученной структуре наблюдается тенденция к увеличению в правом полушарии мозга, по сравнению с той же структурой в левом полушарии, средней, минимальной, максимальной величины профильного поля нейронов, их суммарной фракции на единице площади среза. Изучение нейронного состава слоев III и V поля 24 также показало, что в правом полушарии мозга в этих слоях отмечается тенденции к увеличению числа нейронов более крупного размера. В передней лимбической области в правом полушарии мозга в целом по группе отмечается тенденция к увеличению толщины коры и ассоциативного слоя III. Коэффициент асимметрии изученных цитоархитектонических признаков варьирует от случая к случаю. Так, например, коэффициент асимметрии среднего значения профильного поля нейронов слоя III колеблется от 2,2 до 22,4%. Таким образом, проведенные нами исследования показали, что цитоархитектоника поля 24 передней лимбической области коры характеризуется значительной индивидуальной вариабельностью и

асимметрией ряда цитоархитектонических признаков. Наблюдается тенденция к доминированию их величины в правом полушарии мозга.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 04-04-49073.*

24. Бондарь Т.П., Запарожцева О.И.

Ставропольский государственный университет, Россия.  
E-mail: bondar@stavropol.net

#### **ИЗМЕНЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖИТЕЛЕЙ Г. СТАВРОПОЛЯ — ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ АДАПТАЦИИ**

Известно, что клетки эритропоэза чувствительны к изменениям внешней и внутренней среды организма человека. Установлено, что при низком содержании кислорода в воздухе (горы, северные широты и др.) и нормально функционирующей системе эритрона, прежде всего, компенсаторно увеличивается число циркулирующих эритроцитов (Эр). При этом прежде считалось, что размер Эр, как наиболее прочно генетически детерминированный признак, меняется в меньшей степени. Появление новых компьютерных технологий, оценивающих минимальные изменения геометрических характеристик клеток периферического звена эритрона, позволило выявить некоторые особенности реакции клеточной мембраны Эр на климато-географические показатели внешней среды. Целью данной работы явилось морфометрическое исследование Эр у здоровых жителей, постоянно проживающих в г. Ставрополе, расположенном на высоте более 600 м над уровнем моря, в зоне пониженного атмосферного давления. Обследованы 82 здоровых жителя г. Ставрополя, впервые сдавших кровь, в возрасте от 35 до 60 лет, из них 48 мужчин и 34 женщины. В работе применен метод компьютерной цитоморфометрии Эр на анализаторе МЕКОС-Ц (Россия). Оценивали следующие показатели: средний диаметр Эр, фактор формы (как показатель анизцитоза), средний объем Эр, содержание гемоглобина. Для характеристики пойкилоцитоза применяли автоматическую классификацию клеток на основные морфологические типы: нормальные Эр — дискоциты, аномальные формы: обратимо измененные — эхиноциты, стоматоциты и необратимо измененные — недифференцируемые Эр. Компьютерный анализ изображения дает важную дополнительную информацию, которую трудно или не возможно получить при помощи других методов. При этом можно с высокой точностью и на относительно больших выборках (до 500 клеток) измерять сдвиги распределения Эр по размерам, по содержанию гемоглобина, а также исследовать более тонкие изменения, в частности формы отдельных Эр, что увеличивает чувствительность и специфичность методики тестирования. В результате исследования периферической крови нами выявлено, что у здоровых людей, постоянно проживающих в г. Ставрополе, имеются некоторые отличия эритроцитарных показателей от аналогичных общепринятых референсных величин, составляющих допустимые пределы колебания. Так, по результатам компьютерной цитоморфометрии Эр, их средний диаметр у здоровых людей г. Ставрополя находится в пределах 7,47–7,71 мкм, а по данным литературы составляет 7,2–7,5 мкм. Другие геометрические показатели Эр не изменялись. В формуле Эр также имеются некоторые отклонения: меньшее содержание нормальных дискоцитов (93,3% — у жителей г. Ставрополя и 98,9% — по литературным данным), увеличение обратимо измененных форм: эхиноцитов до 5,3% (по литературе — до 0,7%), стоматоцитов до 0,43% (0,25%); недифференцированных форм: до 1,0% — у жителей г. Ставрополя, у других не встречаются. Таким образом, у здоровых людей в возрасте от 35 до 60 лет, постоянно проживающих в г. Ставрополе, были выявлены следующие изменения: тенденция к увеличению размеров Эр и увеличение доли патологических форм Эр. Это подтвердило влияние на Эр климато-географических особенностей г. Став-

рополя и указало на значимость индивидуального адаптационного механизма у здоровых людей.

25. Бритик А.В., Медведев Д.И., Швалев В.Н., Лоран О.Б.

Российский университет Дружбы народов, Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ СР Российская медицинская академия последиplomного образования, Москва, Россия. E-mail: mutka@bk.ru

#### **ПРЕНАТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ИННЕРВАЦИИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ КРОЛИКА И ЧЕЛОВЕКА В НАЧАЛЕ МЕДИАТОРНОГО ЭТАПА РАЗВИТИЯ**

Произведено исследование пренатального развития нервного аппарата мочевого пузыря у зародышей человека и кролика. Материал зародышей человека брали в абортарии, а у кроликов — в определенные дни после спаривания животных в лабораторных условиях. Обработку эмбрионов и плодов проводили при помощи методов Кахалы—Фаворского и Бильшовского—Грос. Кроме того, нейростохимическим методом выявляли парасимпатические (холинергические) нервные элементы по методу Карновского—Рутс и симпатические (адренергические) нервные сплетения флюоресцентным методом. У эмбриона человека 6 нед развития нервные пучки и стволы тазового сплетения еще не определяются, а у 6,5-недельного уже удается обнаружить первые пучки безмиелиновых нервных волокон проникающих в закладку мочевого пузыря в основном вдоль кровеносных сосудов. У 8-недельного зародыша нервные терминалы распространяются по ходу мочеточников в краниальном направлении. В указанные сроки нейростохимические исследования еще не позволяют выявить в мочевом пузыре зародыша холинергические, а затем адренергические элементы. Следовательно, нервные закладки находятся еще на этапе домедиаторного развития. При нейростохимическом исследовании нервные элементы мочевого пузыря зародыша человека начинают выявляться в 9–10 нед. Эти сроки следует рассматривать как начало медиаторного этапа формирования мочевого пузыря и его кровеносных сосудов. Таким образом, начало медиаторного этапа у зародыша человека совпадает с наступлением плодного периода развития [Швалев В.Н. и др., 1992]. Последующие изменения мочевого пузыря плода человека характеризуются дифференцировкой в нем не только нервных окончаний, как рецепторных, так и эффекторных, но и нервных клеток. Кроме того, установлено, что происходит иннервация оболочек органа, преимущественно мышечной. У зародыша кролика холинергической иннервации мочевого пузыря на 13-е сутки замечено не было, однако хромаффинная ткань дифференцируется. У кролика на препаратах мочевого пузыря в первую очередь начинают выявляться парасимпатические нервные сплетения.

26. Бузуева И.И., Шмерлинг М.Д., Филюшина Е.Е.

Институт физиологии СО РАМН, г. Новосибирск, Россия. E-mail: I.I.Buzueva@iph.ma.nsc.ru

#### **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХРОМАФФИННЫХ КЛЕТОК МОЗГОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПОЧЕЧНИКА У КРЫС ГИПЕРТЕНЗИВНОЙ ЛИНИИ НИСАГ**

Проведено сравнительное морфометрическое исследование структурной организации мозгового вещества надпочечника у крыс-самцов гипертензивной (НИСАГ — наследственная индуцированная стрессом артериальная гипертензия) и нормотензивной (Вистар) линии 3-недельного и 6-месячного возраста. У 3-недельных крыс обеих линий, когда еще отсутствовали различия в показателях артериального давления, объема мозгового вещества надпочечника, с помощью морфометрического анализа удалось выявить различия в структуре хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечников. Так, у крыс линии НИСАГ хромаффинные клетки имели более высокие значения объемной доли гранулярной эндоплазматической сети и численной

плотности рибосом ( $P < 0,05$ ) по сравнению с соответствующими значениями у крыс нормотензивной линии. Кроме того, хромаффинные клетки, имеющие признаки повышенной биосинтетической активности, отличались и высоким ( $P < 0,05$ ) содержанием осmioфильных секреторных гранул. Эти данные указывают на то, что стресс-чувствительные крысы НИСАГ уже в предпубертатном возрасте имеют признаки усиления гормонсинтезирующей активности хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечника, что отражает повышенную активность симпатической нервной системы у животных этой линии. У 6-месячных животных линии НИСАГ с устойчиво высоким артериальным давлением, выявлена отчетливо выраженная гипертрофия мозгового вещества надпочечника (объем его в 3,4 раза выше, чем у крыс линии Вистар), обусловленная гиперпластическими изменениями хромаффинных клеток. В этих клетках численная плотность всех секреторных гранул была значительно более высокой, чем у крыс-нормотоников. При этом доля плотных, осmioфильных гранул не изменилась, а доля гранул с неоднородным матриксом, особенно в периферических участках цитоплазмы этих клеток, у крыс-гипертоников оказалась в 2,5 раза выше, чем у нормотоников. Эти признаки указывают на увеличение хромаффинными клетками выделения гормонов в кровь. Эти данные подтверждают высказанное ранее мнение о повышенной симпатической активности у крыс линии НИСАГ, которая является следствием нарушения функции норадренергической системы мозга у этих животных [Маркель А.Л., 1985]. Таким образом, нами были выявлены морфологические признаки, свидетельствующие о повышении активности симпатoadренальной системы у крыс гипертензивной линии НИСАГ уже в раннем периоде постнатального онтогенеза.

27. Буколова Р.П., Якушина В.С.<sup>1</sup>

Институт повышения квалификации и профессиональной переподготовки работников образования Тульской области, г. Тула, Россия. E-mail: finans@tula.ffoms.ru; <sup>1</sup>Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н.Толстого, Россия

**ВЛИЯНИЕ СИМПАТОЛИТИКА ИЗОБАРИНА НА ЭКСТРАМУРАЛЬНЫЕ ГАНГЛИИ АМФИБИЙ**

В ходе изучения проблемы интеграции нервного и гуморального механизмов регуляции функций у амфибий мы применяли симпатолитик изобарин с целью изменения активности симпатических и чувствительных ганглиев. Известно, что у млекопитающих изобарин (гуанетидин) вызывает гибель нейронов этих ганглиев. В предыдущих исследованиях нами была обнаружена чувствительность нескольких видов амфибий к изобарину. В данной серии опытов действие изобарина изучали на лягушке чесночнице, личинки которой подвергали хроническому воздействию изобарина на протяжении всего периода развития до полного завершения метаморфоза. Предварительно была определена эффективная доза (0,25 мг изобарина на 1 л аквариумной воды), не приводящая к летальному исходу, но вызывающая ряд видимых морфофункциональных изменений у личинок по сравнению с контролем: стойкое уменьшение частоты сердечных сокращений на 15–20%, увеличение отношения длины хвоста к длине туловища, увеличение объема тела личинок на 50%, некоторое замедление темпов метаморфоза. Через 1 мес после завершения метаморфоза и прекращения воздействия изобарина изучали микроструктуру симпатических и чувствительных ганглиев на парафиновых срезах толщиной 10 мкм, окрашенных толуидиновым синим. В ганглиях подопытной группы по сравнению с контролем значимо чаще встречаются признаки дегенеративных изменений нейронов: темная гомогенная цитоплазма, скопление крупных глыбок субстанции Ниссля на ее периферии, ее вакуолизация, нечеткие контуры ядра. Наряду с этим во многих нейронах наблюдается контурирование ядра грубым

хроматином, образование в ядре включения, напоминающего второе ядрышко, но имеющего более рыхлую структуру и меньшие размеры. Подобные изменения обычно расцениваются как признаки функционального напряжения клеток. Все перечисленные изменения являются общими для симпатических и чувствительных ганглиев, но в симпатических они выражены в большей степени. В симпатических ганглиях обнаруживаются отсутствующие в контроле крупные нейроны с площадью профильного поля от 700 до 1400 мкм<sup>2</sup>, и значимо ( $P < 0,01$ ) увеличивается количество мелких нейронов с профильным полем до 100 мкм<sup>2</sup>. Последние образуют не характерные для контроля плотные скопления в краевых участках ганглия. В чувствительных ганглиях подобные феномены не наблюдаются. Во всех ганглиях под влиянием изобарина имеет место отчетливо выраженное расширение собственных кровеносных сосудов. Массовой гибели нейронов ни в симпатических, ни в чувствительных ганглиях лягушки изобарин в условиях наших экспериментов не вызывал, но изменения клеточного состава и тонуса сосудов этих ганглиев свидетельствуют об их чувствительности к изобарину. Эти данные в совокупности с опубликованными нами ранее (2001, 2002) фактами изменения характера пигментации симпатических ганглиев и щитовидной железы, а также структуры последней при действии изобарина представляют интерес в связи с проблемой интеграции нервных и гуморальных регуляторных механизмов.

28. Булатова И.А., Малафеева Е.Я.

Санкт-Петербургская государственная академия им И.И. Мечникова, Россия

**ИННЕРВАЦИЯ ЛИМФАТИЧЕСКИХ СОСУДОВ В СВЕТЕ ТЕОРИИ ЛИМФАНГИОНА**

Проведено исследование иннервации послеузловых лимфатических сосудов (ЛС) брыжейки 47 быков. В работе использовали световую люминесцентную микроскопию. Адренергическую иннервацию ЛС изучали с помощью обработки препарата глиоксиловой кислотой. Для гистохимических исследований ацетилхолинэстеразо-позитивных нервных структур использован метод Келле в модификации Гомори. Результаты наших исследований показали, что брыжеечные ЛС обладают большим количеством адренергических и ацетилхолинэстеразопозитивных нервных волокон. Для ЛС брыжейки источниками иннервации являются нервные стволы сегментарных сосудисто-нервных пучков и нервные сплетения, пронизывающие соединительную ткань, окружающую ЛС. По всей длине лимфангиона (ЛА) располагается обширное многослойное сплетение, которое представлено нервными стволиками, тонкими и средней толщины нервными волокнами, чаще всего безмиелиновыми. Структура нервных сплетений находится в соответствии с миоархитектоникой ЛА. В области клапанного валика нервные волокна располагаются преимущественно поперек сосуда, образуя крупно- и мелкопетлистую сеть. При этом отчетливо прослеживается разделение сплетения на 2 слоя: наружный и внутренний. Наружный слой имеет крупные равномерные ячейки, внутренний — состоит из более тонких волокон, образующих ячейки удлинённой формы. Для мышечной манжетки характерны ячейки, вытянутые вдоль сосуда. Стенка клапанного синуса имеет редкую нервную сеть, образованную тонкими одиночными волокнами. Концентрация нервных структур находится в прямой корреляции с количеством миоцитов в различных участках стенки ЛА. Наибольшее количество нервных волокон наблюдается в мышечной манжетке и в клапанном валике, самая низкая их концентрация — в клапанном синусе. Совпадение локализации и густоты расположения гладких миоцитов и нервного сплетения, возможно, свидетельствует также о роли нервной ткани в регуляции тонуса стенки ЛА.

29. Быков В.Н., Бажин А.А., Чепур С.В., Алексеева И.И., Владимиров О.О.

Научно-исследовательский испытательный центр (медико-биологической защиты) Государственного Научно-испытательного института военной медицины МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

#### **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ ПРИ ТОКСИЧЕСКОЙ ДЕПРИВАЦИИ ГАМК-ЕРГИЧЕСКОЙ МЕДИАЦИИ**

Нарушения ГАМК-ергической медиации сопровождаются развитием рецидивирующего судорожного синдрома, сопряженного с нарушением функционирования различных медиаторных систем и распространением волн деполяризации мембран клеток. В ходе электронно-микроскопического и гистологического исследования моторной зоны неокортекса и гиппокампа у крыс и собак после тяжелого отравления ГАМК-негативными ядами выявлены различные изменения структуры нейронов и глиоцитов, а также микрососудов головного мозга, составляющие проявления острой фазы интоксикации и ее отдаленные последствия. Реактивные изменения, возникающие на фоне судорожных пароксизмов, характеризуются формированием простых и многослойных мембранных контактов, а также изменениями цитоскелета нейритов, способствующими повышению их удельного сопротивления. Образование эфapticческих межклеточных контактов представляет собой стохастический процесс и прослеживается как между нейронами, так и между нейронами и глиоцитами. Последний вариант глио-нейронных взаимодействий ранее уверенно трактовали как утрату потенциал действия, способствующую снижению мембранного потенциала отдельно взятого нейрона. В целом же, учитывая декрементное распространение импульса по мембране глиоцитов, сопровождающееся повышенным поступлением ионизированного кальция в их цитозоль, можно ожидать, что их мембранный потенциал будет превышать критический потенциал возбуждения хотя бы одного из прилежащих к ним нейритов. В этом случае глио-нейронные контакты обеспечивают генерализацию судорожного возбуждения и определяют неэффективность традиционной противосудорожной терапии, направленной на коррекцию синаптического проведения. В инициальных дендритах отмечали признаки нарушения структуры нейрофиламентов с появлением участков варикозных деформаций нейритов. В ряде случаев развивалась фрагментация дендритов с появлением вокруг перикарионов дорожек осmioфильных элементов. Вероятно, такой вариант изменений способствует ограничению возбуждения мембраны перикариона и сохранению его структуры. При недостаточно выраженной компенсаторной реакции в клетках развивается набухание митохондрий с разрушением их крист, а также с обводнением примембранного слоя цитозоля и расширением цистерн эндоплазматической сети. По-видимому, такие изменения являются кальций-зависимыми и способствуют стабилизации митохондриальных факторов апоптоза нейронов. При электрофорезе образцов плазмы крови после фенольной депротеинизации идентифицирована низкомолекулярная ДНК, что косвенно свидетельствует о развитии апоптоза. В то же время, при морфологическом исследовании на фоне прогрессирующего повреждения митохондрий, сопровождающегося снижением синтеза АТФ, удается проследить формирование типично некротических изменений даже при возможной апоптотической инициации процесса. В деструктивных изменениях нейритов и перикарионов нейронов, по-видимому, существует определенная иерархия, состоящая в реализации механизмов гибели структур в состоянии чрезмерной активации и, таким образом, ограничении очага возбуждения. Эти обстоятельства позволяют условно рассматривать признаки гибели нейронов как приспособительную реакцию на уровне более высокоорганизованных структур. Проявления нейродистрофического

процесса заканчивается к 7–10-м суткам постинтоксикационного периода, когда отмечается существенное опустошение клеточных слоев неокортекса. Через 1 мес после отравления выявлялись признаки глиоза и изменения цитоархитектоники неокортекса, тогда как структура нейронов и глиоцитов гиппокампа постепенно восстанавливалась.

30. Быков В.Н., Понкрашов С.А., Чепур С.В., Бажин А.А., Никифоров А.С.

Научно-исследовательский испытательный центр (медико-биологической защиты) Государственного Научно-испытательного института военной медицины МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

#### **СООТНОШЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ГИБЕЛИ НЕЙРОНОВ И СОДЕРЖАНИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ДНК В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ТОКСИЧЕСКИХ СУДОРОГАХ**

На моделях отравлений крыс ГАМК-негативными ядами и антихолинэстеразными агентами гистохимическими и электронно-микроскопическими методами изучали проявления апоптотической и некротической гибели нейронов и соотносили результаты гистологического исследования с изменениями содержания низкомолекулярных ДНК (нмДНК) в плазме крови и ткани головного мозга. В ходе биохимического исследования установлено, что содержание нмДНК в плазме крови крыс нарастает в течение 3–6 ч и постепенно снижается в течение первых 2 сут после отравления (ПО). Высокомолекулярные фрагменты ДНК выявлялись в плазме крови крыс только через 24–48 ч ПО. При выделении нмДНК из ткани головного мозга методом пульс-электрофореза доказано, что содержание фрагментов ДНК моно- и динуклеосомного размера существенно увеличивается в неокортексе в течение первых 6 ч после начала судорожных пароксизмов. Результаты биохимического исследования плазмы крови и ткани головного мозга во многом совпадали по направленности изменений. В ряде случаев выделяемые фрагменты ДНК не соответствовали геномной последовательности нуклеотидов, что позволило предполагать развитие адаптивного мутагенеза. Развитие таких изменений генома в период проявления судорожной активности маловероятно. По-видимому, источниками «атипичных» нмДНК в раннем постинтоксикационном периоде могут быть митохондрии, а сами олигонуклеотиды могут выполнять функцию медиаторов аутокринной регуляции. Таким образом, при биохимическом исследовании появление маркеров апоптотической гибели клеток отмечено через 3–6 ч ПО, а высокомолекулярные фрагменты ДНК выявлялись только через 24–48 ч ПО. В отличие от результатов биохимического анализа, при морфологическом исследовании в течение первых часов после пароксизмов судорожной активности на фоне проявлений нейродистрофического процесса достоверные признаки гибели нейронов не выявлялись. Изменения ядер клеток с очаговой конденсацией гетерохроматина около ядерной оболочки обнаруживали только через 12–24 ч ПО, когда содержание нмДНК в плазме крови постепенно снижалось. Апоптоз нейронов, развивающийся при острой интоксикации, как правило, не сопряжен с изначальной активацией апоптогенов, чем коренным образом отличается от такового при хронических патологических состояниях и при естественной убыли клеток. Лимитирующими факторами реализации программы апоптоза в данном случае являются запас АТФ и состояние мембран митохондрий. При истощении запаса энергетических эквивалентов в большинстве нейронов и глиоцитов удавалось выявить признаки как апоптотической, так и некротической гибели. Результаты биохимических и морфологических исследований позволяют рассматривать гибель клеток ЦНС при острых интоксикациях как единый процесс с «некротическим» или «апоптотическим» компонентом, что должно быть учтено при отборе лекарственных средств с цитопротективной активностью.

31. Валиуллин В.В., Масленникова К.А., Тяпкина О.В., Де-вятаяев А.М., Никольский Е.Е., Исламов Р.Р.

Казанский государственный медицинский университет, Россия. E-mail: islamru@yahoo.com

### ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ БЫСТРОЙ И МЕДЛЕННОЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРЫСЫ РЕГУЛИРУЕТСЯ НЕЙРОНАМИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Каждая скелетная мышца уникальна по спектру входящих в ее состав мышечных волокон (МВ). Фенотип мышцы генетически детерминирован, а экспрессия того или иного признака зависит от активности специфических генов, регулируемых нервной и гуморальной системами. При различных функциональных и патологических состояниях организма структурно-функциональные характеристики мышцы изменяются в широких пределах, что служит проявлением мышечной пластичности. Общепринято, что фенотип МВ находится под постоянным контролем со стороны иннервирующего нейрона. Вместе с тем, функциональная активность этого нейрона регулируется нервными клетками двигательных центров головного мозга. Цель настоящего исследования — изучение роли пирамидной и экстрапирамидной систем в экспрессии фенотипических признаков в МВ. В соответствии с этим иммуногистохимически была изучена экспрессия быстрого миозина в скелетных мышцах крысы после: одностороннего иссечения фрагмента седалищного нерва; перерезки спинного мозга на уровне  $T_{XI}-T_{XII}$  и опорной разгрузки мышц задних конечностей в условиях «вывешивания» крыс. Анализ полученных данных показал, что в медленной камбаловидной и быстрой подошвенной мышцах после перерезки седалищного нерва так же как и после повреждения спинного мозга прослеживается незначительное увеличение в мышцах доли медленных МВ. После перерезки седалищного нерва в мышцах контралатеральной конечности значимо возрастает содержание медленных МВ. Напротив, в условиях опорной разгрузки в обеих исследуемых мышцах значительно увеличилось количество быстрых МВ. Факт трансформации быстрых волокон в медленные, а медленных в быстрые можно объяснить, с одной стороны, прямым влиянием мотонейронов спинного мозга, а с другой, активностью пирамидной и экстрапирамидной систем на фенотип МВ. Так, по-видимому, односторонняя денервация оказывает стимулирующее влияние на экстрапирамидную систему, которая, в свою очередь, через мотонейроны спинного мозга вызывает «замедление» мышц на контралатеральной стороне. Опорная разгрузка, наоборот, оказывает подавляющее действие на экстрапирамидную систему, и как следствие этого, происходит активация пирамидной системы, что выражается в трансформации медленных волокон в быстрые. Таким образом, фенотипические признаки МВ находятся под контролем пирамидной и экстрапирамидной систем, регулирующих функциональную активность мотонейронов спинного мозга.

32. Васильева В.А., Шумейко Н.С.

Институт возрастной физиологии РАО, Москва, Россия

### ОСОБЕННОСТИ МИКРОСТРУКТУРЫ ФУНКЦИОНАЛЬНО РАЗЛИЧНЫХ ОБЛАСТЕЙ КОРЫ БОЛЬШОГО МОЗГА ПОДРОСТКОВ

Методами нейростологии и компьютерного анализа, используя систему интерактивного анализа изображений Armgistol (Лабметод) на базе микроскопа Nikon Eclipse E-200 и цветной видеокамеры CCD-camera, изучали цитоархитектонику полей 4р, бор сенсомоторной, поля 3 соматосенсорной, полей 17, 19 зрительной и поля 37ас задней ассоциативной областей коры большого мозга подростков 13–16 лет (25 наблюдений). Установлено, что в период от 13 до 16 лет в полях двигательной и зрительной областей коры происходит усложнение цито- и фиброархитектоники:

увеличиваются размеры пирамидных нейронов, изменяется характер ветвления их дендритов, увеличивается удельный объем волокнистых структур, особенно в верхних слоях коры, и толщина радиарных пучков волокон. Значимое увеличение удельного объема волокон в слое III в полях двигательной коры отмечается преимущественно к 15 годам, а в полях зрительной коры — к 16 годам. Толщина пучков радиарных волокон на уровне слоя V увеличивается в поле 17 к 14 годам, а в полях 19, 37ас и бор — к 15 годам. Сравнительный компьютерный анализ выявил, что по размерным показателям (ширине и высоте нейронов, площади профильных полей — ППП) в двигательной коре в поле бор нейроны крупнее, чем в поле 4р, самые мелкие нейроны в поле 3 соматосенсорной коры. В полях зрительной коры самым мелкоячеистым является поле 17, более крупные нейроны определяются в поле 19 и самые крупные нейроны — в поле 37ас. ППП пирамидных нейронов значимо увеличивается в слое IV поля 17 и слое III поля 4р к 14 годам, в слое III полей 3 и бор — к 15 годам, в поле 19 — к 16 годам. Классификация пирамидных нейронов в зависимости от величины площади профильных полей показала, что во всех полях в период от 13 до 16 лет происходит перераспределение нейронов в сторону увеличения количества более крупных клеток, однако, сохраняются специфические особенности полей разных областей коры. Так, в полях 17 и 19 преобладающими являются нейроны размерами от 70 до 140  $\mu\text{m}^2$ , в поле 37ас — от 70 до 175  $\mu\text{m}^2$ , в поле 4р — от 105 до 245  $\mu\text{m}^2$ , а в поле бор — от 105 до 280  $\mu\text{m}^2$ . В период от 13 до 16 лет структура нейронных объединений в ассоциативных полях более сложная, чем в проекционных, и характеризуется многоклеточностью и включением в состав группировок крупных пирамидных нейронов. По данным компьютерной морфометрии, средняя ППП клеточных группировок (КГ) в ассоциативных полях 19, 37ас и бор больше, чем в проекционных полях 17 и 3. Значимое увеличение ППП КГ отмечено в поле 17 к 14 годам, в полях 19 и бор к 15 годам. Гистограммы распределения нейронов в группировках показали увеличение с возрастом числа крупных клеток в составе микроансамблей. Таким образом, выявленные нами структурные преобразования в полях зрительной и двигательной областей коры большого мозга человека в подростковом возрасте являются важным фактором совершенствования сложных форм зрительного восприятия и двигательных функций.

33. Васягина Т.И.

Нижегородская государственная медицинская академия, Россия. E-mail: anaton311@n-nov.mednet.com

### СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КОМПОНЕНТОВ ИНТРАМУРАЛЬНОГО НЕРВНОГО СПЛЕТЕНИЯ ЗОНЫ СИНУСНО-ПРЕДСЕРДНОГО УЗЛА ПОСЛЕ МАКСИМАЛЬНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Объектом исследования служили компоненты метасимпатической нервной системы сердца собаки. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии на серийных ультратонких срезах проводили типирование безмиелиновых нервных волокон в нервных пучках в зависимости от степени выраженности контакта с нейролеммоцитом. К первому типу относили волокна, полностью покрытые глимальной оболочкой с хорошо выраженным мезаксоном; второй тип составили волокна без мезаксона, частично заключенные в нейролеммоцит; третий тип — безглиальные нервные волокна, примыкающие к пучку. Оценивали состав и структурные особенности эфферентных терминалей (вариантностей). Регистрировали количество терминалей в нервном пучке, определяли их тип по наличию агранулярных, гранулярных, мелких или крупных пузырьков. В результате проведенных исследований выявлено, что в контрольных образцах субэпикардального слоя миокарда наиболее многочисленным (около 65% от общего количества) является

первый тип волокон, волокна второго типа составляют в среднем 32%, на безглиальные нервные волокна приходится до 3%. Один нервный пучок объединяет от 2 до 15 волокон. Количество нервных терминалей не превышает 3, обычно их можно отнести к одному типу. Иногда на поперечном срезе пучка видны терминалы разных типов. Однако наиболее часто встречаются нервные окончания, содержащие агранулярные пузырьки. После однократной максимальной физической нагрузки (бег) меняются взаимоотношения между нервными волокнами и шванновскими клетками: волокна первого типа составляют лишь 36% от общего количества, 60% безмиелиновых волокон не имеют сплошной глиальной оболочки, 4% волокон отнесены к безглиальным. Данные изменения сопровождаются увеличением относительного объема глиального компонента пучка в среднем на 30%. В нервных окончаниях наблюдается агглютинация агранулярных пузырьков и резкое уменьшение количества гранулярных пузырьков обоих типов с уменьшением их электронной плотности. Таким образом, проведенные исследования выявили ряд адаптивных перестроек в нервных пучках, локализованных в области синусно-предсердного узла после максимальной однократной физической нагрузки в виде бега на межклеточном, клеточном и ультраструктурном уровне. Направленность отмеченных изменений свидетельствует о перераспределении водной фракции между аксоплазмой и цитоплазмой шванновской клетки.

34. Веселкин Н.П., Адалина В.О., Рио Ж.-П., Реперан Ж.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия; E-mail: npves@yahoo.com Лаборатория U-616 I.N.S.E.R.M., Париж, Франция; Национальный музей естественной истории, Париж, Франция

#### МЕЖНЕЙРОННЫЕ КОНТАКТЫ В СПИННОМ МОЗГУ НИЗШИХ ПОЗВОНОЧНЫХ

На меченных пероксидазой хрена первичных сенсорных афферентных волокнах спинного мозга миноги и лягушки при иммуноцитохимическом электронно-микроскопическом исследовании обнаружены ГАМК-иммунопозитивные аксо-аксональные синапсы, рассматриваемые как субстрат пресинаптического торможения. Часть синапсов содержали двойную метку — были ГАМК- и глицин-иммунопозитивны, что указывает на совместную локализацию в них ГАМК и глицина. Часть синапсов были глутамат-иммунопозитивны. Это указывает на то, что пресинаптическая регуляция синаптической передачи не ограничивается ГАМК-ергическим пресинаптическим торможением, но может осуществляться с использованием других медиаторов. В спинном мозгу миноги имеются дорсальные чувствительные клетки, которые, как и нейроны спинномозговых ганглиев, являются сенсорными нейронами первого порядка. На телах дорсальных чувствительных клеток обнаружены синапсы, образованные ГАМК и глутамат-иммунопозитивными окончаниями, что указывает на существование механизма регуляции сенсорного входа на уровне первичного сенсорного нейрона спинного мозга, отличающегося от известных ранее. При исследовании аксо-соматических и аксо-дендритных синапсов на меченных пероксидазой хрена мотонейронах миноги и лягушки обнаружены ГАМК- и глицин-иммунопозитивные синапсы. Кроме того, наблюдались синапсы, в которых ГАМК и глицин были солокализованы в одной синаптической терминали. Такие синапсы составляли более половины аксо-соматических контактов. Интерпретация приведенных результатов основывается на оценке функционального значения множественности медиаторных механизмов, используемых для регуляции эффективности передачи в разных синапсах.

35. Виежба-Бобрович Т., Левандовска Э., Стемпниен Т., Шмидт-Сидор Б., Кречмански П., Хоф П., Шмитц К.

Wierzbja-Bobrowicz T.<sup>1</sup>, Lewandowska E.<sup>1</sup>, Stepień T.<sup>1</sup>, Schmidt-Sidor B.<sup>1</sup>, Kreczmanski P.<sup>2</sup>, Hof P.<sup>3</sup>, Schmitz C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Neuropathology, Institute of Psychiatry and Neurology, Warsaw, Poland; <sup>2</sup>Department of Psychiatry and Neuropsychology, Division of Cellular Neuroscience, Maastricht University, Maastricht, The Netherlands; <sup>3</sup>Department of Neuroscience, Mount Sinai School of Medicine, New York, NY, USA

#### MORPHOLOGY AND ULTRASTRUCTURE OF VESSELS DURING EARLY PRENATAL DEVELOPMENT IN THE HUMAN BRAIN

The development of blood vessels involves two main mechanisms: vasculogenesis, i. e. differentiation of endothelial cells (Ecs) in situ from mesenchymal precursors (angioblasts/hemangioblasts), and angiogenesis, i.e. sprouting and branching of Ecs from pre-existing vessels. In the brain of human fetuses of 6 to 28 gestational weeks (GW), endothelial and vascular development was studied in the frontal and temporal lobe histologically (hematoxylin-eosin), histochemically (RC-I) and immunohistochemically (with antibodies against CD31 and CD34), as well as ultrastructurally. The observation comprised material from 25 fetuses after induced abortion. Between 6 and 10 GW, in the fetal brain angioblast/hemangioblast-like cells were observed, some of them ultrastructurally showing endothelial features, whereas in the whole observation period vascular sprouting from meninges was found. In the structures studied, there was a simultaneous occurrence of vessels with an entirely formed vascular wall and others consisting merely of young endothelial cells. These observations demonstrate that vasculogenesis and angiogenesis take place simultaneously in vascular development during the early period of gestation in the human fetal brain.

36. Викторов И.В., Александрова О.П., Алексеева Н.Ю., Лыжин А.А.

Научно-исследовательский институт мозга РАМН, Москва, Россия. E-mail: ivic@4unet.ru

#### РОЛЛЕРНЫЕ ОРГАНОТИПИЧЕСКИЕ И ОРГАНЫЕ КУЛЬТУРЫ СЕТЧАТКИ КРЫС, ПОЛУЧЕННОЙ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ И У ВЗРОСЛЫХ ЖИВОТНЫХ

Свободноплавающие срезы сетчатки (размером 1–2 мм<sup>2</sup>) 7–12-дневных и взрослых крыс культивировали на горизонтальном роллере (60 об/мин, 36,5°C) в течение 6–12 сут. В полученных органотипических культурах первично плоские срезы сетчатки изменяют конфигурацию и формируют шаровидные структуры (ретиальные тельца), содержащие центральную полость. Внешнюю стенку ретиальных телец образует сетчатка, с характерной послойной цитоархитектонической структурой, включающей наружный и внутренний ядерные и сетчатые слои, слои ганглионарных клеток и нервных волокон. Гистологические, ультраструктурные и иммуноцитохимические исследования показали сохранность структуры фоторецепторов, нейронов внутреннего ядерного и ганглионарного слоев, глиоцитов, межнейронных синаптических связей. Обращает на себя внимание длительное переживание в роллерных органотипических культурах аксотомированных ганглионарных клеток, которые, как правило, дегенерируют *in vitro* на 3–5-е сутки культивирования. В процессе культивирования центральная полость облитерируется в результате миграции глиоцитов и роста аксонов ганглионарных клеток, которые образуют центральное ядро ретиальных телец. В центральном ядре отдельных ретиальных телец были обнаружены новообразованные капилляры, растущие из кровеносных сосудов глубоких слоев сетчатки. Органные культуры получали при роллерном культивировании цельной сетчатки 2–12-дневных крыс в течение 2–14 сут. Неповрежденная сетчатка 7–12-дневных крыс сохраняла нормальную линейную стру-

ктуру, включающую все упомянутые выше клеточные и волоконные слои, и формировала сфероиды с центральной полостью, заполненной культуральной средой. В сетчатке 2–6-дневных крыс не был выражен наружный сетчатый слой, разделяющий наружный и внутренний ядерные слои. Сетчатка на ранних сроках развития и сетчатка 7–12-дневных крыс, поврежденная при выделении, образовывала складки, в глубоких отделах которых были обнаружены гиперхромные нейроны и пикнотические ядра погибших нервных клеток. В наружном ядерном слое сетчатки на ранних сроках развития формировались розетки, образованные радиально ориентированными фоторецепторными клетками. Органотипические и органные культуры были использованы для изучения патологии сетчатки при воздействии токсических концентраций глутамата и его агонистов (N-метил-D-аспартат, каиновая, хинолиновая кислоты), а также гомоцистеина. В этих исследованиях было показано, что наибольшей чувствительностью к нейротоксическому воздействию обладают амакриновые клетки, локализованные в глубоких отделах внутреннего ядерного слоя. Полученные данные свидетельствуют о том, что роллерные органотипические и органные культуры могут служить моделью для изучения развития и экспериментальной патологии сетчатки млекопитающих раннего постнатального периода развития и взрослых.

*Исследования поддержаны грантами РФФИ 04-04-49114 и НШ-1799-2003.4.*

37. Викторов И.В., Савченко Е.А., Андреева Н.А., Чехонин В.П.

Государственный Научный центр социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского, Москва. Россия. E-mail: ivic@4unet.ru

#### КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ГЛИАЛЬНЫХ И СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОБОНЯТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА

Рецепторные нейроны обонятельного эпителия обновляются в течение всей жизни млекопитающих. Погибшие путем апоптоза рецепторные нейроны замещаются клетками того же типа, что и формируются из шаровидных базальных (стволовых) клеток, находящихся в глубоких слоях обонятельного эпителия. Аксоны новообразованных рецепторных нейронов прорастают через отверстия решетчатой кости и формируют синапсы с дендритами митральных и пучковых клеток в гломерулярном слое обонятельной луковицы [Graziadei P.P., 1980]. Процессы роста регенерирующих аксонов рецепторных нейронов обеспечивают специализированные глиальные клетки (ensheathing cells — ESCs). Многочисленные исследования показали, что ESCs сохраняют регенераторные потенции в культуре. При трансплантации в поврежденный спинной мозг ESCs способствуют регенерации и миелинизации аксонов спинальных трактов, что приводит к частичному восстановлению нарушенных сенсорных, моторных и вегетативных функций [Ramon-Cueto A., 2000]. В последние годы трансплантация ESCs выполнена при травматических повреждениях спинного мозга человека в клиниках Португалии, Китая, Австралии [Reier P.J., 2004] и России. В проведенных нами исследованиях культуры ESCs человека получали из фрагментов обонятельного эпителия (размером 10×5 мм), выделенных из верхнего носового хода пациентов с травмой спинного мозга. Ткань обонятельного эпителия с lamina propria подвергали ферментной диссоциации, и полученные клетки культивировали в селективных средах, содержащих ростовые факторы. В первичных культурах клетки обонятельного эпителия формировали монослой пролиферирующих клеток и свободноплавающие цитосферы, размер которых увеличивался в результате пролиферации образующих их клеток. Цитосферы диссоциировали, и полученные клетки переносили в новые флаконы, где они формировали монослой. Культуры пересевали после формирования сливного монослоя. Минимально каждая серия культур проходила 4 пасса-

жа, что приводило к 2,5–3-кратному увеличению количества клеток. Клетки последнего пассажа подвергали криоконсервации. Контрольные пробы показали, что после криоконсервации и длительного хранения жизнеспособность сохраняют 90–95% клеток. Гистологические и иммуноцитохимические исследования показали, что полученные нами культуры содержат, преимущественно, 2 типа клеток: ESCs, выявляемые антителами к низкоаффинным рецепторам фактора роста нервов (p75) и кислому глиальному фибриллярному белку (GFAP), и нестинположительные фибробласты. Окраска монослойных культур, выращенных на средах, не содержащих ростовых факторов, маркированными антителами к нейронспецифической енолазе (NSE), выявила клетки нейронального типа, что может свидетельствовать о сохранности в первичных культурах обонятельного эпителия дифференцирующихся стволовых клеток. Таким образом, используемая в наших исследованиях методика выделения, культивирования и криоконсервации клеток обонятельного эпителия человека позволяет получить достаточный объем аутологичных клеток для последующей трансплантации при травматических повреждениях спинного мозга.

38. Виноградов С.Ю., Диндяев С.В.

Ивановская государственная медицинская академия, Россия. E-mail: dindyaev@mail.ru

#### СИМПАТИЧЕСКАЯ ИННЕРВАЦИЯ МАТКИ КРЫС В ДИНАМИКЕ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА

Результаты собственных цитоспектрофлюориметрических исследований интрамуральных биоаминопозитивных структур и данные литературы позволяют судить о хорошо развитой системе внутриорганной симпатической иннервации матки крыс. Адренергические нервные волокна выявляются во всех оболочках матки как в свободном состоянии, так и в составе сосудистых стенок. Наиболее выражены сплетения миометрия, от которых отходят ветвящиеся или одиночные безмиелиновые нервные волокна к периметрию или эндометрию. Большинство нервных сплетений миометрия образованы нервными волокнами с хорошо выраженными межварикозными участками и варикозными расширениями, обладающими изумрудно-зеленой флюоресценцией (первый тип сплетений). В других сплетениях (второго типа) межварикозные участки нервных волокон выражены слабее, но имеются яркие небольшие варикозные утолщения. В варикозных расширениях и межварикозных участках симпатических нервных волокон идентифицируются серотонин и катехоламины. Отношения их концентраций по точкам зондирования подчинены закону линейной положительной корреляции. В динамике полового цикла параметры пространственной архитектуры внутриорганной симпатической нервных сплетений, так же как и баланс содержания в нервных волокнах серотонина и катехоламинов, претерпевают закономерные изменения. В частности, наибольшее содержание исследуемых биогенных аминов в нервных волокнах миометрия тела матки отмечается в стадию позднего диэструса. В слизистой оболочке флюоресцирующие нервные волокна преимущественно расположены в параметриальных зонах. Частое отсутствие в эндометрии флюоресцирующих терминалей можно объяснить наличием в симпатических сплетениях резервных («молчащих») нервных волокон, в которых на момент исследования нет медиаторов. Появление специфической флюоресценции в «молчащих» нервных волокнах, связанное с накоплением неутрализованных биогенных аминов, приводит к изменению плотности их пространственного распределения. Выявленная в наших исследованиях неравнозначность оценочных параметров интрамурального симпатического аппарата матки крыс может свидетельствовать о перемежающейся динамике механизмов регуляции ее мышечного сокращения и секреторной активности в процессе полового цикла.

39. Володичева Т.Б., Лютикова Т.М.

Омская медицинская академия, Россия

#### МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА ВОРОБЬЯ ПОЛЕВОГО (*PASSER MONTANUS*)

Нами изучался добавочный гиперстриатум (ДГ) переднего мозга представителя отряда Passiformes — воробья полевого (*Passer montanus* L.). Полушария мозга воробьев гладкие, передний мозг широкий, прикрывает сдвинутые вбок доли среднего мозга. Нейронный состав ДГ представлен мультиполярными мелкими одиночными нейронами или ассоциациями по 2–8 и более клеток. Хроматофильная субстанция распределена равномерно по цитоплазме нейрона в виде сетчатой структуры. Мы определяли соотношение числа нейронов с разной степенью хромофилии их цитоплазмы. В ДГ нормохромные нейроны составляли  $61,4 \pm 2,5\%$ , гипохромные —  $22,8 \pm 1,5\%$  и гиперхромные —  $15,8 \pm 1,2\%$ . Средние показатели площади сечения тела нейронов составили  $33,5 \pm 0,9$  мкм<sup>2</sup>, ядра —  $15,4 \pm 0,6$  мкм<sup>2</sup> и цитоплазмы —  $18,1 \pm 0,5$  мкм<sup>2</sup>. Ядерно-цитоплазмальные отношения составили  $0,860 \pm 0,020$ . В ДГ было в среднем 2765 нейронов на 1 мм<sup>2</sup> площади среза. Количество одноядрышковых нейронов составляло  $92,7 \pm 1,5$ , двоядрышковых —  $7,3 \pm 1,5$  на 100 клеток. Методом интерференционной цитометрии мы определяли содержание и концентрацию белковых веществ в цитоплазме и ядре. Среднее содержание белков в ядре нейронов было  $6,1 \pm 0,3$  пг (88% от 5 до 15 пг), в цитоплазме —  $12,2 \pm 0,5$  пг (75,45% от 10 до 25 пг), в теле нейрона  $20,3 \pm 0,7$  пг (84,7% от 10 до 35 пг). Средняя концентрация белков в ядре была  $0,40 \pm 0,020$  пг/мкм<sup>3</sup> (80,7% от 0,45 до 0,6 пг/мкм<sup>3</sup>), в цитоплазме  $0,780 \pm 0,020$  пг/мкм<sup>3</sup> (78% от 0,75 до 0,9 пг/мкм<sup>3</sup>), в теле  $0,60 \pm 0,020$  (85,3% от 0,75 до 1,2 пг/мкм<sup>3</sup>). Соотношение содержания белков в ядре и цитоплазме было  $0,430 \pm 0,010$  и  $0,510 \pm 0,010$  соответственно. Полученные нами данные показывают неоднородность популяции нейронов ДГ по степени хромофилии их цитоплазмы. Разнообразное сочетание базофилии в популяции нейронов можно объяснить как варианты приспособлений к конкретным условиям существования. Специфическое проявление белкового фонда в исследуемых типах нейронов необходимо рассматривать в качестве проявления метаболической адаптации к среде обитания.

40. Воробьева О.Б., Румянцева Т.А.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославская государственная медицинская академия, Россия. E-mail: olga.vo@gmail.com

#### ИНГИБИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА НА ПЕЙСМЕКЕРНУЮ АКТИВНОСТЬ В ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКЕ РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕЛОЙ КРЫСЫ

Цель работы — выявить роль оксида азота (NO) в становлении спонтанной двигательной активности двенадцатиперстной кишки (ДК) в постнатальном онтогенезе белой крысы. Исследование проведено на 64 самках белых крыс линии Вистар. На видеоанализаторе измеряли оптические параметры ферментопозитивных нейроцитов и по ним судили об активности NADPH-d — маркера NO-синтазы (метод Норе) — в интрамуральных ганглиях нисходящей части ДК белой крысы разного возраста (2, 14, 30, 60, 90, 120, 180, 270 сут). Механографическим методом изучали спонтанную сократительную активность соответствующего участка ДК. Для оценки механограмм применяли анализ Фурье, для установления взаимозависимости показателей — корреляционный анализ. В ганглиях у новорожденных крысят NADPH-d-позитивных нейроцитов не выявлено. Активность NADPH-d в нейроцитах интрамуральных ганглиев ДК появляется в 14-суточном возрасте. На 30-е сутки активность фермента в нейроцитах возрастает и далее весь период наблюдения значимо не изменяется. Спонтанная двигательная активность ДК выявляется уже у новорожденных крысят. Сократительная активность ДК характеризуется на-

личием в спектрограмме двух диапазонов преобладающих частот: высокочастотного и низкочастотного. Отмечена ранняя стабилизация средней частоты сокращений высокочастотного порядка, которая минимальна у новорожденных ( $0,40$  Гц), но уже у 14-суточных крысят достигает дефинитивного уровня ( $0,52$ – $0,61$  Гц). Ранняя стабилизация параметра средней частоты сокращений первого (высокочастотного) порядка (на 14-е сутки) свидетельствует об его независимости от других влияний. Низкие частоты, характеризующие диапазон с максимальными значениями мощности колебаний, имеют возрастные особенности: у 3- и 14-суточных крыс — от  $0,0052$  до  $0,0260$  Гц, в остальных возрастных группах от  $0,0153$  до  $0,0573$  Гц, т. е. происходит увеличение частоты медленных волн с возрастом. Медленные волны, наблюдаемые в ДК, достигают дефинитивной спектральной характеристики по частоте на 30-е сутки. В раннем возрасте у крыс (2- и 14-суточные), кроме высокочастотных и низкочастотных колебаний, отмечается еще один диапазон преобладающих частот, который занимает промежуточное положение на спектрограмме. Эти колебания исчезают в инфантильном возрасте. Возможно, они вызываются еще одним водителем ритма, который проявляется из-за недостаточности тормозных влияний NO в возрасте 2–14 сут, что доказывается низким уровнем активности NADPH-d в нейроцитах ДК в этом возрасте. Проведенный корреляционный анализ выявил сильную отрицательную зависимость амплитуды и частоты медленноволновых сокращений ДК от уровня активности NADPH-d, что свидетельствует об ингибирующем влиянии NO на сократительную активность ДК.

41. Вишневца В.В., Лукашин В.Г.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: shiryaeva@kolt.infran.ru

#### ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МАГНИЯ НА ОКРАШИВАНИЕ ИНТРАМУРАЛЬНЫХ НЕРВНЫХ СТРУКТУР

При светооптическом изучении строения тканевых кустиковидных рецепторов, синапсов, нейронов и нервных волокон одним из адекватных красителей является метиленовый синий. При этом способность нервной ткани воспринимать краситель зависит от определенных условий. Причина нестабильности этой и других нейростологических методик до сих пор до конца не выяснена. Предполагается, что неопределенность результатов связана с так называемым функциональным состоянием окрашиваемой нервной ткани. Сам процесс окрашивания метиленовым синим проявляется как реакция на неадекватный раздражитель в форме последовательных фаз конформационных перестроек биомолекул цитоплазмы. Настоящая работа проведена на мочевом пузыре лягушки. Показано, что стабильное окрашивание метиленовым синим имеет место при добавлении в окрашивающий раствор катионов магния. Магний — жизненно важный элемент, кофактор АТФ, этой энергетической «валюты» клеток углеводного и энергетического обмена. Он участвует в конформации биомолекул, стабилизирует цитоплазматические мембраны и фосфолипидные комплексы митохондриальных мембран и снижает их электропроводность. При добавлении в окрашивающую среду ионов магния ( $MgCl_2$ ) отчетливо окрашиваются как нейроны, так и нервные окончания: синапсы, рецепторы, окончания на сосудах. При этом селективность окраски нервных структур зависит от концентрации ионов магния в красящем растворе. Приведенная таблица показывает, что тканевые кустиковидные рецепторы обладают наибольшей универсальностью по отношению к концентрации ионов магния. Иными словами, они стабильно окрашиваются при всех применяемых концентрациях: начиная с минимальной ( $0,05$  М) и кончая максимальной ( $2,6$  М). Напротив, нейроны и синапсы окрашиваются лишь при низких концентрациях магния, а с повышением концентрации добиться их

### Зависимость выявляемости нервных структур от концентрации катионов магния в красящем растворе

| Концентрация (М) | Структура |         |         |
|------------------|-----------|---------|---------|
|                  | Рецепторы | Нейроны | Синапсы |
| 0,05             | +         | +       | +       |
| 0,4              | +         | +       | +       |
| 0,6              | +         | +       | +       |
| 0,8              | +         | +       | +       |
| 1,0              | +         | —       | +       |
| 1,2              | +         | —       | —       |
| 1,4              | +         | —       | —       |
| 1,6              | +         | —       | —       |
| 2,6              | +         | —       | —       |

окрашивания не удается. Кроме того, синапсы прекращают окрашиваться при более высоких концентрациях магния, чем нейроны. При воздействии высоких концентраций катионов магния происходит фиксация красителя (т. е. прекращается обесцвечивание окрашенных структур) и, кроме того, ткань препарата теряет вязко-эластические свойства.

42. Вишневца В.В., Ширяева Н.В., Вайдо А.И.

Институт физиологии им. И.П.Павлова, РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: shiryaeva@kolt.infran.ru

### ДОЛГОСРОЧНОЕ ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОГО СТРЕССА НА ПЛОТНОСТЬ РАСПОЛОЖЕНИЯ НЕЙРОНОВ В ГИППОКАМПе У ЛИНИЙ КРЫС, КОНТРАСТНЫХ ПО ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Ранее нами было обнаружено, что даже спустя 6 мес после окончания стрессирования наблюдаются достоверные постстрессорные как условно, так и безусловнорефлекторные изменения поведения у крыс [Ширяева Н.В., и др. 1992; 1994; 1996]. Изменения строения мозга в экстремальных условиях могут быть одной из причин возникновения посттравматического стрессорного расстройства (ПТСР) человека. На модельном объекте — двух линиях крыс, селективных по возбудимости нервной системы (ВП1 — высокий порог возбудимости, НП2 — низкий, 1,2 — программы селекции), проведено изучение изменения численной плотности нейронов в поле СА3 гиппокампа через 6 мес после длительного (15 сут) эмоционально-болевого стресса (ДЭБС) по схеме К.Гехта. Показано, что возникшее в разные временные интервалы (1 сут — ВП1; 2 мес — НП2) после ДЭБС уменьшение численной плотности нейронов в поле СА3 гиппокампа сохраняется на значимо сниженном по сравнению с нормой уровне спустя 6 мес только у крыс линии НП2. Отсутствие значимых различий в этот срок ПТСР у крыс противоположного направления селекции ВП1 может быть связано с ускоренными процессами старения у этих животных, выравнивающими разницу между опытом и контролем. В представленном исследовании впервые продемонстрирована возможность длительного дифференциального влияния стресса на численную плотность нейронов поля СА3 гиппокампа, играющего важную роль в процессах обучения и памяти, зависимым от генетически детерминированной возбудимости нервной системы и процессов старения образом.

43. Гайдученко Ю.С.

Омский государственный аграрный университет, Россия. E-mail: Gerorg@inbox.ru

### СТРОЕНИЕ КРЫЛОНЕБНОГО ГАНГЛИЯ СЕРЕБРИСТО-ЧЕРНОЙ ЛИСИЦЫ

С целью выявления особенностей строения источника парасимпатической иннервации слезной железы проведено

исследование крылонебного ганглия серебристо-черной лисицы с использованием методов классической гистологии (окраска парафиновых срезов гематоксилином—эозином, по ван Гизону, по Харту, по Ренсону, по Нисселю), морфометрии и биостатистики (однофакторный дисперсионный анализ по Крускалу—Уоллису, корреляционный — по Спирмену). Крылонебный ганглий серебристо-черной лисицы имеет структуру, в целом характерную для ганглиев автономной нервной системы. Он располагается между нервными стволами верхнечелюстного нерва различных диаметров. Ганглий покрыт соединительнотканной капсулой, в которой хорошо выражены пучки коллагеновых и эластических волокон. Толщина капсулы составляет слева  $21,0 \pm 2,1$  мкм, справа —  $30 \pm 4$  мкм ( $P < 0,05$ ). Нейроны ганглия покрыты одним слоем глиоцитов. Их ядра имеют округлую форму, контуры самих клеток неотчетливы. Число глиоцитов на единице площади среза ганглия значимо не различается на левой и правой стороне. Клетки тонковолокнистой соединительнотканной капсулы, прилежащие к глиоцитам, характеризуются базофильными ядрами овально-вытянутой формы. Нейроны крылонебного ганглия — мультиполярные, в плоскости поперечных срезов располагаются группами. Нейроны сходны по форме и характеру ветвления отростков. Они имеют крупные базофильные и аргентофильные тела овальной формы. Нервные волокна в ганглии во всех случаях образуют мощные аргентофильные пучки. В теле нейрона и в основаниях дендритов располагается хроматофильная субстанция, которая выявляется в виде зерен различных размеров и их скоплений. Тела нейронов содержат крупные округлые ядра, которые занимают эксцентричное положение и содержат одно, реже два ядрышка. Площади сечения тел нейронов и их ядер, ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) характеризуются вариабельностью. Площадь сечения тел нейронов составляет слева —  $1057 \pm 63$  мкм<sup>2</sup>, справа —  $1727 \pm 126$  мкм<sup>2</sup>. Площадь сечения ядра нейрона составляет слева —  $976 \pm 55$  мкм<sup>2</sup>, справа —  $886 \pm 48$  мкм<sup>2</sup>. ЯЦО в нейрон составляет слева  $0,550 \pm 0,020$ , справа —  $0,480 \pm 0,020$ . Индивидуальные особенности площади сечения нейронов и их ядер, а также ЯЦО в нейронах крылонебного ганглия лисицы заключаются в значимых различиях морфометрических показателей на левой и правой стороне ( $P < 0,05$ ). Выявлены значимые корреляционные связи ( $P < 0,05$ ) между морфометрическими показателями (толщина капсулы, площади сечения тел нейронов и их ядер, ЯЦО) крылонебного ганглия, свидетельствующие о сложных взаимоотношениях изученных структур.

44. Герасимов А.В.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия. E-mail: gerasimov\_av@bk.ru

### НЕЙРОЭНДОКРИННЫЕ ЦЕНТРЫ И СЛЮННЫЕ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СВЕТА И РАДИАЦИИ

С помощью световой и электронной микроскопии проанализированы супрахиазматические (СХЯ), супраоптические (СОЯ) и паравентрикулярные (ПВЯ) ядра гипоталамуса, эпифиз и поднижнечелюстные слюнные железы (СЖ) у крыс при воздействии круглосуточного освещения (КСО: лампы дневного света, 48 ч, освещенность животных 3500 лк), ионизирующего излучения (ИИ: тотальное относительно равномерное рентгеновское облучение в дозе 5 Гр) и их комбинации с интервалом между воздействиями ИИ и КСО 1 ч. Через 24 ч после отдельного и комбинированного воздействия ИИ и КСО направленность сдвигов в «ожидании» повторного воздействия стереотипно противоположная. Выраженность морфологических изменений нейронов дорсального субядра СХЯ усиливается, проявления репарации снижаются, если после воздействия ИИ крысы находились в условиях КСО. Секреторные нейроны ПВЯ как нейроэндокринные трансдукторы, взаимодействующие с органом зрения через СХЯ, при КСО и комбинированном облуче-

нии в меньшей мере изменяют свое функциональное состояние, чем нейроны СОЯ, непосредственно образующие межнейронные контакты с клетками ганглионарного слоя сетчатки. Диапазон пластичности нейронов медиального мелкоклеточного субъядра ПВЯ, проецирующих влияние света на вегетативные центры ствола и спинного мозга, при однократном и комбинированном воздействии ИИ выражен в большей степени, чем секреторных нейронов крупноклеточных субъядер. Эпифиз, как центральный орган системы гуморальной регуляции суточных ритмов и адаптации, взаимосвязанный с СХЯ, через 24 ч и 10 сут после КСО, 30 сут после ИИ претерпевает изменения, свидетельствующие об усилении функциональной активности. Остаточные структурные проявления гиперфункции пинеалоцитов, сдвиги соотношения их типов, глиопинеального индекса сохраняются и в отдаленные сроки после воздействия экстремальных факторов. Морфологические признаки дисфункции гранулярных выводных протоков СЖ на высоте развития дегенеративных нарушений, вызванных ИИ, совпадают по срокам с изменениями компенсаторно-приспособительного характера, проявляющимися в эпифизе. Ультраструктура нейрожелезистых окончаний, строение секреторных и миоэпителиальных клеток ацинусов, эндотелия капилляров и элементов рыхлой волокнистой соединительной ткани СЖ после ИИ по сравнению с таковыми при КСО изменяются более значительно, а фазность развития и выраженность структурных преобразований соответствуют сдвигам, проявляющимся при изменении функционального состояния органа. Таким образом, в центральных образованиях и гранулярных протоках СЖ при воздействии света и радиации отмечаются общие закономерности, характерные для функциональной организации эндокринной системы. На выраженность изменений оказывают влияние зрительная сенсорная система и иерархический уровень их участия в адаптации организма к нарушениям суточного ритма освещенности. ИИ вносит существенный вклад в развитие структурных изменений при комбинированном воздействии и определяет их возрастной характер в отдаленные сроки после однократного и комбинированного облучения.

45. Гилерович Е.Г., Мошонкина Т.Р., Павлова Н.В., Федорова Е.А., Шишко Т.Т.

Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: iem@iem.spb.ru

#### **ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЯСНИЧНОГО УТОЛЩЕНИЯ СПИННОГО МОЗГА ПОСЛЕ ПОЛНОЙ ПЕРЕРЕЗКИ С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ТРЕНИРОВКОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КРЫС**

Спинной мозг обладает особыми механизмами, которые позволяют в ряде случаев осуществлять движения задних конечностей после полной перерезки на нижнегрудном уровне. Цель настоящего исследования — морфологическое изучение поясничного утолщения спинного мозга в норме, после полной перерезки и в течение последующей тренировки животных. В экспериментах на тренированных животных с полной перерезкой спинного мозга показано, что в дистальной его части абсолютное большинство нейронов серого вещества в течение, по крайней мере, 1 мес наблюдения, не подвергаются дегенеративным изменениям. Мотонейроны, (латеральное и медиальное двигательные ядра передних рогов, комиссуральное ядро) показывают умеренно выраженную реакцию: смещение ядра и ядрышка, изменение субстанции Ниссля. Обнаружено, что синаптофизин, выявляющий мембраны синаптических пузырьков, и, следовательно, синаптические контакты, образует пунктирную метку вокруг мотонейронов. После повреждения интенсивность этой метки снижается. В дальнейшем в течение 6 нед наблюдения она приближается к контролю у тренированных животных. Синаптофизин-иммунореактивные волокна

из передних рогов спинного мозга проникают в белое вещество, где имеют радиальное направление. Электронно-микроскопически установлено, что в вентро-латеральном отделе белого вещества спинного мозга существуют аксо-дендритные синаптические контакты. Все миелинизированные волокна проводящих путей белого вещества дистального отдела спинного мозга в течение 1 мес после перерезки дегенерируют. Обнаружены отдельные синаптофизин-позитивные волокна в области пирамидного тракта, появляющиеся на уровне поясничного утолщения после 2 нед тренировки у экспериментальных животных. Распределение глиального фибриллярного кислого белка, выявляемого иммуногистохимической реакцией, свидетельствует о том, что белое вещество спинного мозга в дистальном отделе сохраняет в течение 6–9 нед наблюдающуюся и в норме упорядоченную радиальную организацию астроцитов. Таким образом, сохранность мотонейронов и большинства межсегментарных и внутрисегментарных синаптических контактов в дистальной части спинного мозга после перерезки, радиальная компоновка синаптофизин-иммунореактивных структур и каркас астроцитов в белом веществе спинного мозга являются морфологической основой появления двигательной функции после полной перерезки спинного мозга у тренированных на тредбане животных. Появление синаптофизин-иммунореактивных волокон в области пирамидного тракта в дорсальном канатике белого вещества спинного мозга свидетельствует о реорганизации нейронных цепей, имеющих место при тренировке животного в отсутствие регулирующего потока импульсации из головного мозга.

46. Голобородько Е.В., Макаренко А.Н., Свинов М.М., Назимов И.В.<sup>1</sup>, Абакумова О.Ю.<sup>2</sup>, Божеевалова С.В., Косицын Н.С.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН; <sup>1</sup>Институт биоорганической химии РАН; <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт биомедицинской химии РАМН, Москва, Россия. E-mail: goro\_12@pisem.net

#### **ИДЕНТИФИКАЦИЯ И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ФАКТОРОВ, ОКАЗЫВАЮЩИХ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРИ КОРРЕКЦИИ ИШЕМИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

Показано, что поликомпонентный препарат, выделенный из коры полушарий большого мозга животных, успешно перенесших экспериментальный церебральный инсульт, характеризуется отчетливо выраженным антиишемическим фармакологическим действием в остром периоде геморрагического инсульта и обладает нейропротекторным и иммунопротекторным свойством, оказывает интерферогенное влияние, а также в условиях острого эмоционально-болевого стресса проявляет отчетливую антистрессорную активность. Выявлено, что препарат, в частности, усиливает выработку мРНК фактора роста нервов. Это может быть одним из механизмов его антиишемического действия, посредством которого происходит приостановка развития нейродегенеративных процессов. Такой механизм действия, который осуществляется посредством регуляции активности различных ростовых факторов, мы называем трофинотропным. С целью идентификации конкретных веществ, оказывающих нейропротекторное влияние, была проведена серия экспериментов с последовательным разделением препарата на фракции и оценкой их фармакологического действия. Показано, что в культуре клеток активные фракции препарата значительно усиливали синтез белка. Интраназальное введение активных фракций нормализовало поведение животных (по тестам: «открытое поле», пассивное избегание, на тонкие манипуляционные движения), уменьшало объем повреждения, сохраняло целостность митохондрий и микроструктуру дендритов (шипиков) при гипоксических состояниях мозга. При этом разные активные фракции препарата действовали на сохранность шипиков различных локусов дендритов (либо проксимальных, либо ди-

стальных). Фракция, приводящая к улучшению сохранности шипиков на дистальных частях дендритов, была также наиболее эффективна в восстановлении поведенческой активности после моделирования геморрагического инсульта. Получены данные, что одним из действующих начал активных фракций препарата являются пептиды, химический состав которых уточняется.

*Работа поддержана грантом РФФИ 04-04-49398-а.*

#### 47. Горбачевская А.И., Чивилева О.Г.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: aig@infran.ru

### ПЕДУНКУЛОПОНТИЙНОЕ ТЕГМЕНТАЛЬНОЕ ЯДРО МОЗГА СОБАКИ КАК ЧАСТЬ MORFOFUNKЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ БАЗАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ

Ядра стриопаллидума — основные структуры базальных ганглиев. Недавно общепринятое деление стриопаллидума на дорсальные и вентральные области [Heimer, Wilson, 1975] было подвергнуто некоторому пересмотру с эволюционной точки зрения [Swanson, 2000]. В связи с этим в стриатуме были выделены дорсальный (хвостатое ядро и скорлупа), каудальный (ядра миндалевидного тела — медиальное, центральное, промежуточные, переднее миндалевидное поле), вентральный (прилежащее ядро, основание стриатума и обонятельный бугорок) морфофункциональные отделы. В паллидарном ядерном комплексе кроме вентрального (вентральный паллидум) и дорсального (бледный шар и энтопедункулярное ядро) выделяют еще и ростральный (ядро ложа терминальной полоски) паллидум. Ранее в структурах стриопаллидума собаки были выделены функционально различные области, в которых моторная или лимбическая информация проводится сегрегированно [Горбачевская А.И., Чивилева О.Г., 2003]. На основании анатомических, электрофизиологических, поведенческих исследований сформировалось представление, что педункулопонтинное тегментальное ядро (PPN), функционирование которого рассматривают в неразрывной связи с базальными ганглиями [Keating, Rye, 2001; Winn, 1995; 1997], является одной из основных мишеней для потока информации, исходящего из базальных ганглиев и направляющегося на нижележащие структуры моста, продолговатого и спинного мозга. Для понимания структурной основы взаимодействия базальных ганглиев и PPN необходимо знание связей отдельных подразделений указанного тегментального ядра, различающихся по структурным, нейрохимическим и функциональным характеристикам [Keating, Rye, 2001; Winn, 1995; 1997] с функциональными областями структур стриопаллидума. В связи с этим были изучены неисследованные ранее у собаки проекции структур стриопаллидума на PPN методом, основанным на ретроградном аксонном транспорте пероксидазы хрена. При введении маркера в идентифицированные нами ранее [Горбачевская А.И., Чивилева О.Г., 2004] разные части PPN установлено, что данные подструктуры получают афферентные проекции в основном от выходных структур базальных ганглиев — паллидарных ядер. На диффузную (PPNd) и компактную (PPNc) части этого ядра направлены проекции от всех структур паллидума, представляющих как лимбические, так и моторные функциональные территории: от энтопедункулярного ядра, бледного шара и вентрального паллидума, а также от ядра ложа терминальной полоски. Установлено, что проекции, исходящие от стриатных структур, обнаружены только в PPNc. Выявлено, что указанные проекции исходят исключительно от структур, принадлежащих к лимбическим территориям: прилежащего ядра, основания стриатума, обонятельного бугорка, ядер миндалевидного тела. Таким образом, можно заключить, что PPNd получает информацию от функционально различных областей паллидума, а PPNc кроме того — и от лимбического (вентрального) стриатума. В связи с тем, что из дорсального стриопаллидума в обе части

PPN поступает информация, относящаяся к организации моторных аспектов поведенческого акта, а из вентрального — информация, связанная с обеспечением процессов мотивации и подкрепления, указанное ядро можно рассматривать, как структуру, где осуществляется интеграция функционально различной информации, необходимая для организации различных аспектов адаптивного поведения.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ N03-04-49634.*

#### 48. Горбунова В.Н.

Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, Россия

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЭВОЛЮЦИИ

Произошедшая на рубеже тысячелетий революция в области молекулярной биологии, завершившаяся расшифровкой структуры геномов многих сотен видов микроорганизмов, а также некоторых видов простейших, дрожжей, растений, животных и человека, перевернула многие традиционные представления классической генетики и вплотную приблизила возможность исследования молекулярных механизмов эволюции и видообразования. Родилась новая наука — сравнительная геномика, позволяющая регистрировать появление в различных филогенетических линиях эволюционно значимых событий, происходящих на уровне отдельных молекул. После успешного завершения структурной части многих геномных проектов последовал переход на следующий функциональный этап анализа. По аналогии с геномом родились понятия транскриптома, объединяющего пул образованных в результате транскрипции молекул РНК, и протеома, включающего множество кодируемых генами белков. Сложность организации различных видов микроорганизмов прямо коррелирует с числом и протяженностью кодирующих последовательностей. Оказалось, что в основе увеличения эволюционной сложности эукариот лежит иной принцип — дифференциальное многоуровневое использование различных компонент достаточно устойчивого ограниченного «корового» протеома. Эта закономерность — значительное нарастание сложности организации различных форм жизни при сохранении или относительно небольшом увеличении размеров протеома — характерна для всей последующей эволюции вплоть до человека. Эволюционный прогресс в гораздо большей степени ассоциируется не с увеличением числа, а с изменением характера регуляции работы десятков тысяч генов, определяющей координацию и тканеспецифичность экспрессии. Это, в конечном счете, и приводит к появлению у высших организмов более сложных высоко специфичных многофункциональных комплексов взаимодействующих белков, способных выполнять новые задачи в изменившихся условиях. Прерывистый характер организации генов эукариот способствовал широкому распространению альтернативного сплайсинга и альтернативной транскрипции, способности большого числа генов одновременно кодировать множественные функционально различающиеся изоформы белков. Однако ключевые регуляторные изменения, сопровождающие переход от простых форм жизни к более сложным, в значительной степени ассоциированы с появлением и широким распространением в геноме двух фундаментальных и в некоторой степени взаимосвязанных эволюционных приобретений: не кодирующих ДНК и повторяющихся последовательностей, в том числе мобильных элементов, а как следствие, с появлением огромного количества не кодирующих белки РНК в транскриптоме. Целая серия фундаментальных открытий легли в основу новой концептуальной революции, согласно которой ведущая роль в эволюции эукариот принадлежит эпигенетическим модификациям генома, реализация которых осуществляется при участии мобильных элементов и под контролем множества нетранслируемых РНК.

49. Гретен А.Г., Серебрякова И.Ю., Величанская А.Г.

Нижегородская государственная медицинская академия, Россия. E-mail: iserebryakova@yandex.ru

#### ПОСТТРАВМАТИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ НЕРВНЫХ СВЯЗЕЙ В ВЕРХНЕМ ШЕЙНОМ ГАНГЛИИ КРЫСЫ ПРИ СТАРЕНИИ

Репаративная регенерация нервных связей в симпатической нервной системе стареющего организма недостаточно отражена в научной литературе. Данную проблему изучали на модели дозированного пережатия преганглионарного нервного ствола верхнего шейного ганглия (ВШГ) крысы. Для характеристики изменений нервных связей в ВШГ использовали количественный критерий — соотношение числа нервных клеток в ганглии и числа миелиновых нервных волокон в преганглионарном нервном стволе. Для исследования использовали крыс-самцов в возрасте 7 мес (массой  $300 \pm 20$  г). Животные были распределены на 3 группы: 1-я — интактные крысы, 2-я группа — возрастной контроль (возраст животных — 19 мес), 3-я — экспериментальные животные (через 1 год после повреждения преганглионарного нервного ствола). Объектами исследования явились преганглионарный нервный ствол и ВШГ справа. Тотальный подсчет миелиновых нервных волокон осуществляли на блендах в электронном микроскопе Morgagni 268 D фирмы FEI. Количество нейронов в ВШГ подсчитывали в световом микроскопе при 280-кратном увеличении на препаратах, окрашенных крезилловым фиолетовым по методу Ниссля. Для статистической обработки данных использовали пакет программ Statistica 6.0. Значимость различий между группами оценивали с помощью ANOVA-test. Данные считали значимыми при  $P < 0,05$ . В результате исследования было установлено, что соотношение количества миелиновых преганглионарных нервных волокон и количества нейронов в ВШГ интактной белой крысы составляет 1:174. С возрастом число миелиновых нервных волокон значительно увеличивается, а число нейронов фактически не изменяется, в результате их соотношение становится равным 1:132. Ультраструктура нейронов характеризуется типичными возрастными изменениями, что связано, как известно, с изменением генома. Через 1 год после повреждения преганглионарного ствола изучаемый нами показатель изменяется и становится равным 1:745. Это связано с тем, что количество миелиновых нервных волокон уменьшается почти в 5 раз, а число нейронов уменьшается на 15% по сравнению с возрастным контролем. При этом необходимо отметить, что нейроны ВШГ в экспериментальной группе животных морфологически отличаются от таковых в группе возрастного контроля. Анализ размерных групп нейронов показал уменьшение количества крупных нейронов. Среди нейронов среднего размера выражен полиморфизм: встречаются нейроны со светлой цитоплазмой без глыбок хроматофильной субстанции («клетки-тени»), гиперхромные, а также нейроны с хроматолизом, как периферическим, так и центральным. В целом доля измененных нейронов у животных экспериментальной группы выше чем у контрольных животных аналогичного возраста. Таким образом, основные гистологические элементы периферического нервного центра: нейроны и преганглионарные волокна, находясь в определенном количественном соотношении, которое является специфичным для данного вида животного. Установлено, что для ВШГ крысы в норме оно равно 1:174. С возрастом это соотношение изменяется в сторону увеличения количества миелиновых волокон. Пережатие преганглионарного нервного ствола приводит к значительному уменьшению количества миелиновых нервных волокон по сравнению с исходным уровнем и к концу эксперимента не восстанавливается. Изменившееся соотношение изучаемых нервных элементов ВШГ может свидетельствовать о нарушении его функции.

50. Григорьев П.А., Павлик Л.Л., Мошков Д.А.

Институт биофизики клетки РАН, Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, Россия. E-mail: greegorjev@hotmail.com

#### ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДОФАМИНА С ПЛОСКОЙ БИЛИПИДНОЙ МЕМБРАНОЙ, МОДИФИЦИРОВАННОЙ АМФОТЕРИЦИНОВЫМИ КАНАЛАМИ

Для проверки предположения о том, что дофамин (ДА) помимо своего лигандного взаимодействия с рецепторами на плазмолемме может также вызывать неспецифическую реакцию нейронов, связывая нейрональный актин, мы поставили задачу показать, что ДА способен проникать через биологическую мембрану. Если это так, то неизбежно возникает вопрос, может ли концентрация ДА внутри нейрона быть достаточной для эффективного взаимодействия с актином для его полимеризации, прежде чем избыток ДА с внешней стороны нейрона будет дезактивирован и поглощен обратным захватом синаптическими окончаниями и глиоцитами. Получить ответы на оба эти вопроса и стало целью настоящего исследования. Работу проводили на плоской билипидной мембране (БЛМ), сформированной из общих фосфолипидов мозга, на отверстиях диаметром 0,5 мм в тефлоновом стаканчике, емкостью 1 мл, вставленном в 6 мл стеклянную кювету, содержащую 40 мМ KCl, pH 5,6, куда добавляли 4% ДА. Ток мембраны измеряли при фиксированном напряжении 50 мВ, полярность напряжения менялась с частотой 1 Гц. Концентрация полиенового антибиотика амфотерицина В была 0,1 мкМ с обеих сторон мембраны. Как мы установили предварительно, использовать БЛМ для решения такой задачи невозможно, поскольку положительно заряженный органический ион, каким является ДА, не формирует в ней каналов и не является переносчиком, а изменение поверхностного заряда бислоя под воздействием ДА при сорбции на мембране невозможно было зарегистрировать из-за шума. Поэтому в дальнейшем работу проводили на БЛМ со встроенными ионными каналами, образованными амфотерицином В, ионселективная проводимость которых, как известно, зависит от примембранной концентрации ионов хлора. Такой «биосенсор» позволяет на порядок увеличить чувствительность регистрации потоков ионов с одной стороны мембраны на другую за счет 10-кратного соотношения сигнал/шум. Фосфолипиды мозга содержат фосфатидилсерин, создающий отрицательный поверхностный заряд на бислое, который уменьшает концентрацию анионов хлора на входе канала. При адсорбции положительно заряженного ДА концентрация  $Cl^-$  около мембраны растет, и ток через ионный канал увеличивается. Если дело заканчивается только адсорбцией, то увеличение будет асимметричным, так как с другой стороны мембраны проводимость канала расти не будет. Если же эффект будет симметричным, это будет означать, что исследуемое вещество переходит на другую сторону мембраны и изменяет ее поверхностный заряд. Именно такой симметричный эффект мы и наблюдали при добавлении с одной стороны БЛМ 100 мкМ ДА (конечная концентрация 0,016% или около  $8 \times 10^{-4}$  М). Ток мембраны увеличивался при этом на 20%. Поэтому можно считать, что ДА обладает способностью проникать через мембрану. Расчет концентраций по данным о коэффициенте распределения ДА (вычислено на основании известных величин заместительных констант) показывает, что концентрация ДА по другую сторону мембраны может достигать  $10^{-6}$  М, что близко к реальной активной концентрации ДА внутри маутнеровских нейронов при аппликации на них 5 мкМ  $10^{-3}$  М ДА (с учетом реальных геометрических размеров нейронов).

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 05-04-48281).

51. Гурьянова Е.А., Любовцева Л.А., Любовцева Е.В., Кузнецова Е.Б., Аюкова О., Соловьев А., Павлова Е.

Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия

#### СПРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТУЧНЫХ КЛЕТОК КОЖИ КРЫС В ОБЛАСТИ ТОЧЕК АКУПУНКТУРЫ

Целью настоящего исследования было выявление морфологических особенностей в популяции тучных клеток (ТК) кожи в области точек акупунктуры (ТА) у крыс в норме и при иглоукалывании. Материалом служили кусочки кожи 10 крыс, взятые из области ТА, расположенных в следующих местах: VG 14 — между острыми отростками VII шейного и I грудного позвонков (дорсальная точка); GI 11 — в медиальном углу кожной складки на передней конечности (дистальная точка). Иглоукалывание проводили после определения локализации точки по анатомическим ориентирам и с помощью прибора для измерения электрокожного сопротивления Элитерис. На точки воздействовали стальными иглами в течение 2 и 10 мин, что соответствует 1-му и 2-му виду возбуждающего метода воздействия. Материал брали сразу и через 1 ч после процедуры. Криостатные срезы окрашивали толуидиновым синим по методу А. Унна. Определяли количество ТК в 10 стандартных полях зрения, а также соотношение недегранулированных, дегранулированных и totally дегранулированных форм. У интактных крыс в области дистальной ТА GI 11 в сосочковом слое дермы выявляются мелкие, одиночные, иногда располагающиеся группами,  $\beta_1$ -метахроматичные ТК в среднем 8 на одно поле зрения. В глубоких слоях дермы выявляются крупные, многоотростчатые, неправильной формы  $\beta_2$ -метахроматичные ТК, часто образующие скопления. В них преобладают (85%) дегранулированные ТК. Число клеток в скоплениях достигает 20. Сразу после иглоукалывания не обнаружено значимых региональных различий в строении и функциональной активности ТК кожи. После 10-минутной экспозиции игл в дистальной ТА выявлено увеличение числа  $\beta_1$ -метахроматичных ТК в сосочковом слое дермы в 1,8 раза, за счет дегранулированных форм. По ходу введения иглы нами была замечена «дорожка» из дегранулированных  $\beta_1$ -метахроматичных ТК, расположенная перпендикулярно к поверхности кожи. Через 1 ч после 2-минутной экспозиции игл в дистальной ТА в сосочковом слое дермы наблюдается увеличение числа  $\beta_1$ -метахроматичных ТК в 2 раза за счет увеличения дегранулированных форм и totally дегранулированных клеток. В то же время около волосяных фолликулов число  $\beta_1$ -метахроматичных ТК уменьшается в 1,5 раза. На границе с гиподермой появляется крупное скопление из 62  $\beta_2$ -метахроматичных ТК. В области дорсальной ТА VG 14 в сосочковом слое дермы число ТК выше в 1,5 раза, чем в дистальных ТА. В глубоких слоях дермы выявляется 20% — не дегранулированных, 59% — дегранулированных, 30% — totally дегранулированных форм от общего числа ТК. Число ТК клеток в скоплениях достигает 30. Через 1 ч после 10-минутной экспозиции игл в дорсальной ТА VG 14 наблюдается уменьшение числа  $\beta$ -метахроматичных ТК: в сосочковом слое дермы — в 1,4 раза, на границе сетчатого слоя и гиподермы — в 1,3 раза. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии различий в интенсивности процессов, происходящих в популяции ТК кожи крыс в различных ТА при иглоукалывании.

52. Даниелян М.А.

Институт физиологии им. акад. Л.А. Орбели Национальной Академии Наук Армении, г. Ереван, Армения. E-mail: iram@neuroscience.am

#### РЕАКЦИЯ КАПИЛЛЯРОВ МОЗГА КРЫС НА ИММОБИЛИЗАЦИОННЫЙ СТРЕСС

Общеизвестно, что ведущая роль в гематотканевом обмене отводится капиллярному руслу. С целью изучения мор-

фофункционального состояния мозга крыс в динамике после иммобилизационного стресса проведены измерения диаметра капилляров. Для выявления микроциркуляторного русла использовали кальций-аденозинтрифосфатный безинъекционный гистоангиологический метод Чилингаряна, который дает возможность избирательно выявить на толстых срезах микроциркуляторное русло и с легкостью дифференцировать артериолы, вены и капилляры. Эксперименты проведены на 25 половозрелых крысах массой 220–250 г. Пять интактных крыс служили в качестве контроля. Иммобилизационный стресс вызывали посредством фиксирования животного на спине в течение 2 ч. Животные были наркотизированы нембуталом (40 мг/кг массы тела, внутривенно). У 1-й группы крыс мозг был изъят непосредственно после стресса, у 2-й группы животных материал брали через 24 ч, у 3-й — через 48 ч и у 4-й — через 72 ч после стресса. В связи с избирательной ранимостью церебральных структур морфометрию проводили в сенсомоторной области коры большого мозга. Проводили отдельно статистическую обработку морфометрических показателей капилляров мозга агрессивных и спокойных животных. Анализ морфометрических данных показал, что средний диаметр капилляров мозга интактных крыс составляет  $6,10 \pm 0,22$  мкм. Непосредственно после стресса наблюдается уменьшение этого показателя до  $5,1 \pm 0,4$  мкм ( $P < 0,001$ ). Через 24 ч после стресса диаметр капилляров несколько превышает таковой у животных интактной группы —  $6,2 \pm 1,0$  мкм ( $P < 0,001$ ), а через 48 и 72 ч происходит постепенное сужение капилляров —  $5,76 \pm 0,07$  мкм ( $P < 0,001$ ) и  $5,8 \pm 0,5$  мкм ( $P < 0,001$ ) соответственно. Анализ морфометрических данных показал, что у агрессивных животных констрикция составляет 20% ( $4,9 \pm 0,8$  мкм,  $P < 0,001$ ), а у спокойных — 15% ( $5,20 \pm 0,09$ ,  $P < 0,001$ ) в сравнении с интактными животными. Через 24 ч после стресса наступает расширение просвета капилляров, причем у спокойной группы крыс она идет постепенно, а у агрессивных крыс происходит резкое расширение просвета капилляров, превышая соответствующие показатели у интактных животных на 14,7%. Таким образом, морфометрические данные указывают на компенсаторно-приспособительные изменения капиллярного звена микроциркуляторного русла после иммобилизационного стресса, причем физиологический ответ на стресс непосредственно связан с поведенческим стереотипом подопытных животных. Учитывая возможность нейронального контроля функции капилляров можно предположить, что разница в дисфункции капилляров мозга спокойных и агрессивных животных во многом зависит от степени расстройства нервной системы.

53. Джандарова Т.И., Артюх О.В.

Ставропольский государственный университет, Россия. E-mail: Djandarova@yandex.ru

#### ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ЦИРКАДΙΑННЫХ РИТМОВ СОДЕРЖАНИЯ ОБЩЕГО КАЛЬЦИЯ И КОРТИКОСТЕРОИДОВ В КРОВИ У 3-МЕСЯЧНЫХ ПОТОМКОВ КРЫС, БЕРЕМЕННОСТЬ КОТОРЫХ ПРОТЕКАЛА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА

Исследования, проведенные на крысах материнского поколения, показали, что в условиях экспериментального гиперпаратиреоза не только значительно повышается содержание общего кальция (Ca) в крови, но и нарушается его суточная динамика. При этом по сравнению с контролем значимо увеличивается и содержание кортикостероидов в крови, дезорганизуются их циркадианные ритмы (ЦР). Следовательно, внутриутробное развитие потомков протекает в условиях гиперпаратиреоза и гиперкальциемии, нарушения гормональной функции надпочечников и ритмостаза. В связи с этим важным является вопрос о том, как нарушение гормонального обеспечения и ритмостаза во время беременности отразится на становлении ЦР содержания Ca и

кортикостероидов в крови у потомков. Крысам материнского поколения пересаживали 3 пары околощитовидных желез и о наступлении гиперпаратиреоза судили по концентрации общего Са в плазме крови. Эксперименты проводили на их потомках в возрасте 3 мес, которых содержали в условиях обычного светового режима (12С:12Т) с включением света в 8 ч и выключением в 20 ч. Затем осуществляли смещение светового режима на 10 ч с выключением света в 10 ч и включением в 20 ч. Суточную динамику содержания общего Са и 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) в плазме крови изучали в 10, 14, 18, 22, 2 и 6 ч. В условиях обычного светового режима у потомков интактных крыс в возрасте 3 мес содержание Са снижалось днем и нарастало ночью. После изменения режима освещения ЦР Са в первые 2 нед дезорганизовывался, а к концу 3-й недели — перестраивался в соответствии с новыми условиями среды. Повышение содержания 11-ОКС у этих потомков начиналось в 18 ч и достигало максимума в 2 ч. Через 1 нед после смещения светового режима происходило нарушение нормального ЦР 11-ОКС. К концу 2-й недели после инверсии ЦР кортикостероидов начинают восстанавливаться, а через 3 нед наиболее высокое содержание 11-ОКС приходилось уже на 18 ч. У потомков, внутриутробное развитие которых протекало в условиях гиперпаратиреоза, в возрасте 3 мес содержание Са в крови было значимо ниже по сравнению с контролем. При обычном световом режиме ЦР Са у этих потомков отличался повышенной амплитудой и более поздней ночной акрофазой. После изменения режима освещения перестройка ЦР Са у подопытных потомков происходила позднее. У этих потомков уже в условиях обычного светового режима наблюдалась дезорганизация ритмов 11-ОКС. Через 1 нед после смещения светового режима ритм 11-ОКС полностью был нарушен. Даже к концу 3-й недели ЦР кортикостероидов не восстанавливались. Следует также отметить, что содержание 11-ОКС в плазме крови во все периоды исследования у потомков крыс с гиперпаратиреозом было значительно ниже, чем у интактных потомков. Таким образом, у потомков, внутриутробное развитие которых протекало в условиях гиперпаратиреоза матери в период беременности, происходит стойкое снижение содержания в плазме крови общего Са и кортикостероидов. По сравнению с контролем у них нарушается организация ЦР изучаемых функций, что приводит к десинхронизации и снижению их адаптивных возможностей.

54. Диденко А.А., Джандарова Т.И., Сидоров Ю.С.

Ставропольский государственный университет, Россия.  
E-mail: Djandarova@yandex.ru

#### **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛУБОЧКОВОЙ ЗОНЫ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ ГИПЕРПАТИРЕОЗЕ В ПРОЦЕССЕ АДАПТАЦИИ К ИЗМЕНЕНИЮ СВЕТОВОГО РЕЖИМА**

Учитывая существенную роль ионов кальция в секреторных процессах, представляется важным изучить в какой мере нарушение функции околощитовидных желез (ОЩЖ) отразится на морфофункциональном состоянии клубочковой зоны (КЗ) коры надпочечников в процессе адаптации к изменению режима освещения. Исследования проведены на 72 белых крысах линии Вистар с экспериментальным гиперпаратиреозом. Контролем служили интактные крысы. Надпочечники извлекали методом биологического среза в условиях обычного светового режима (12С:12Т) и через 1, 2 и 3 нед после изменения режима освещения (10Т:14С). На срезах надпочечников определяли диаметры ядер и клеток, вычисляли площади сечения ядер и клеток, ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО). Данные обрабатывали на компьютере с использованием t-критерия Стьюдента. Как показали результаты исследования, у интактных животных при обычном световом режиме гистологическая структура КЗ коры надпочечников соответствует таковой у крыс в норме. В услови-

ях нового светового режима в КЗ отмечается наличие клеток с мутной цитоплазмой, границы клеток и ядер плохо различимы, встречаются некротизированные клетки и клетки с вакуолями в цитоплазме. Однако к концу 3-й недели нового режима освещения гистологическая структура КЗ возвращается в нормальное состояние. В условиях обычного светового режима в КЗ коры надпочечников у крыс с гиперпаратиреозом клетки КЗ также хорошо окрашиваются, как клетки, так и их ядра имеют четкие границы, но вместе с тем встречаются единичные некротизированные клетки. После изменения режима освещения у крыс с гиперпаратиреозом клетки КЗ коры надпочечников характеризуются размытостью границ, мутной цитоплазмой, сохраняющейся вплоть до конца эксперимента. При этом также выявлены обширные очаги микронекроза и обильная ацидофильная зернистость (66,3% клеток). Максимальные значения ЯЦО в КЗ в условиях обычного светового режима у контрольных животных приходятся на 10 ч и 6 ч, что соответствует концу темного периода суток. После смещения режима освещения у них выявлены изменения в суточной динамике морфометрических показателей в КЗ, указывающие на происходящие перестройки в соответствии с новыми условиями. К концу 3-й недели после смещения светового режима максимальные значения ЯЦО перемещаются к началу темного периода суток. У крыс с гиперпаратиреозом в условиях обычного светового режима среднесуточные величины ЯЦО были значимо выше, чем в контроле. Максимальные значения их при этом приходились на 14 ч и 22 ч. В 1-ю неделю после изменения режима освещения значения ЯЦО значительно повышались в 18 ч и резко снижались к 2 ч. На 2-й неделе новых световых условий картина суточной динамики ЯЦО существенно не менялась. В конце 3-й недели активности клеток КЗ была наиболее высока в 10 ч и 22 ч в отличие от показателей контрольных животных. Таким образом, гиперфункция ОЩЖ сопровождалась дистрофическими изменениями КЗ коры надпочечников. Суточные колебания ЯЦО рассогласованы с режимом освещения. Выявленные нарушения еще более усугубляются при смещении режима освещения и указывают на снижение адаптивных механизмов при дисфункции ОЩЖ.

55. Доведова Е.Л., Хрусталева Д.А.

Научно-исследовательский институт мозга РАМН, Москва, Россия. E-mail: Denisscience@mail.ru

#### **МОРФОХИМИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ МОЗГА КРЫС ЛИНИЙ ВИСТАР И АВГУСТ**

Морфохимическая пластичность особенно отчетливо выражена при исследовании метаболизма медиаторных систем в корково-подкорковых структурах мозга крыс линий Вистар (стресс-устойчивые, эмоционально-резистентные) и Август (стресс-предрасположенные, эмоционально-реактивные). В работе показана взаимосвязь активности дофамин- и серотонинергической систем с морфохимической организацией мозга в норме и в условиях экспериментальной патологии (системное введение амфетамина). При исследовании ферментов синтеза дофамин- и серотонинергических систем — активность тирозингидроксилазы (ТирГд) и триптофангидроксилазы (ТрпГд) соответственно — показаны особенности распределения и уровня активностей указанных показателей в коре и хвостатом ядре мозга крыс Вистар и Август. У контрольных крыс Вистар величины удельной активности ТирГд и ТрпГд были значимо выше в хвостатом ядре и практически не отличались в коре по сравнению с этими показателями у контрольных крыс Август. Рассчитанный коэффициент корково-подкорковых отношений (кора/хвостатое ядро) по показателям удельной активности ферментов (КУАФ) синтеза дофамина и серотонина показал, что у контрольных животных эти величины были выше у крыс линии Август, чем у крыс линии Вистар. Это свидетельствует не только о функционально-биохимических особенностях обмена нейромедиаторов, но и демонстрирует морфо-химические отличия мозга крыс Вистар и Август.

Под влиянием амфетамина (1,0 мг/кг массы тела) активность ТирГд у крыс Вистар увеличивалась на 56% в коре и не изменялась в хвостом ядре, а у крыс Август активность ТирГд не изменялась в коре и снижалась на 17% в хвостом ядре. Активность ТрпГд в аналогичных условиях у крыс Вистар снижалась в коре на 15% и на 32% в хвостом ядре, тогда как у крыс Август активность ТрпГд повышалась на 62% и 49% соответственно. Следовательно, под влиянием амфетамина активность ферментов синтеза дофамина (ТирГд) и серотонина (ТрпГд) у крыс Вистар и Август изменялась реципрокно, что выявляет взаимосвязь ответных реакций ферментных систем синтеза исследованных нейромедиаторов на введение психостимулятора амфетамина и типа нервной деятельности. В ответ на краткосрочное действие амфетамина (60 мин) КУАФ изменялся у крыс Вистар и Август однонаправленно, в отличие от изменения абсолютных величин удельной активности ферментов. При этом у крыс Вистар КУАФ был больше, чем у крыс Август, по сравнению с контролем. Анализ полученных результатов обнаруживает, что у линейных крыс взаимоотношения активности исследуемых ферментных систем различаются в корково-подкорковых структурах (КУАФ) мозга. Показатели отношений могут указывать на дисбаланс между корой и хвостатым ядром в норме и при влиянии экспериментальных факторов, что имело место в нашем исследовании при введении амфетамина крысам Вистар и Август. Это свидетельствует о различной пластичности и морфо-химической организации мозга крыс Вистар и Август. Таким образом, показатель межструктурных отношений (КУАФ) может служить эффективным критерием оценки пластичности мозга крыс Вистар и Август, различающихся поведенческими характеристиками и генетической предрасположенностью к стрессу.

56. Дороева А.А., Плужниченко Е.Б.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: ann-dorofeeva@yandex.ru

#### СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ НЕЙРОНОВ КРЕСТЦОВЫХ СЕГМЕНТОВ СПИННОГО МОЗГА, ИННЕРВИРУЮЩИХ РАЗНЫЕ ОБЛАСТИ ТОЛСТОЙ КИШКИ

Установлено, что преганглионарные парасимпатические нейроны, обеспечивающие иннервацию пищеварительного тракта, располагаются в дорсальном моторном ядре блуждающего нерва. Они организованы в виде узких колонок, ориентированных в каудо-ростральном направлении. Значительно меньше известно о парасимпатических нейронах крестцового отдела спинного мозга и особенностях иннервации ими разных отделов толстой кишки. Отсутствуют данные об их точной пространственной локализации и о возможных межсегментарных морфологических различиях. Нами изучалась локализация групп нейронов крестцового отдела спинного мозга, посылающих аксоны к области илеоцекального сфинктера, ободочной (восходящая и нисходящая части) и прямой кишке. Работа выполнена на кошках массой 1,5–3,8 кг с использованием техники, основанной на ретроградном аксональном транспорте пероксидазы хрена. Раствор (30–50%) маркера вводили под серозную оболочку ограниченных (2×2 см) участков разных отделов толстой кишки. Через 48 ч животных перфузировали транкардиально изотоническим раствором, а затем — смесью 1% раствора параформальдегида и 1,25% раствора глутаральдегида на фосфатном буфере. На замораживающем микротоме изготавливали фронтальные и продольные срезы сегментов крестцового отдела спинного мозга, соответствующих спинальных ганглиев и, в части опытов, — продолговатого мозга в области задвижки. Срезы толщиной 50 мкм обрабатывали по модифицированной методике М.Мезулама. Морфометрический анализ распределения инициальных нейронов производили под световым микроскопом. После введения раствора пероксидазы хрена в область илеоцекального сфинктера ретроградно меченные одиночные нейроны об-

наружены в пределах вентролатеральной части дорсального моторного ядра блуждающего нерва. В сегментах крестцового отдела спинного мозга и в спинальных ганглиях не выявлено клеток, иннервирующих область илеоцекального сфинктера. После введения маркера в восходящую часть ободочной кишки (5 см каудальнее илеоцекального сфинктера) меченные нейроны в дорсальном моторном ядре блуждающего нерва и в крестцовых сегментах спинного мозга не обнаружены. Немногочисленные антероградно меченные клетки выявлены только в спинальных ганглиях S<sub>II</sub>–S<sub>III</sub>. Установлено, что область нисходящей ободочной кишки (10 см каудальнее внутреннего сфинктера заднего прохода) иннервируется инициальными нейронами, располагающимися в пределах S<sub>I</sub>–S<sub>III</sub> сегментов (максимум — в S<sub>II</sub>) спинного мозга. Меченные пероксидазой хрена афферентные нейроны в этой серии опытов найдены в ганглиях S<sub>I</sub>–S<sub>III</sub> (билатерально); причем большая часть клеток находилась в S<sub>II</sub>-ганглии. После введения маркера в стенку прямой кишки (2 см орально от внутреннего сфинктера заднего прохода) большое количество меченых нейронов выявлено также в пределах крестцовых сегментов S<sub>I</sub>–S<sub>III</sub>. При этом основная часть клеток обнаружена на уровне S<sub>II</sub>. Большая часть меченых афферентных нейронов в этих опытах найдена в S<sub>II</sub>-ганглии (билатерально). Проведен морфометрический анализ выявленных крестцовых парасимпатических нейронов и клеток спинальных ганглиев. Полученные результаты свидетельствуют о наличии топической организации крестцовых парасимпатических нейронов, осуществляющих иннервацию различных отделов толстой кишки.

57. Дронова И.А., Устоев М. Б.

Таджикский государственный национальный университет, г. Душанбе, Республика Таджикистан. E-mail: dia.land@mail.ru

#### ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Поскольку экотоксическое влияние техногенных фтористых выбросов алюминиевых заводов в наибольшей мере проявляется на сельскохозяйственных животных, целью нашей работы явилось изучение влияния этих выбросов на морфологические показатели крови и лейкограммы крупного рогатого скота, находящегося на круглогодичном стойловом содержании в хозяйствах, расположенных на различных расстояниях от алюминиевого завода (ТадАЗа). В зоне высокого содержания техногенного фтора (2–4 км от алюминиевого завода) наблюдаются сдвиги количества эритроцитов с признаками гипохромной анемии, а также содержания гемоглобина (60–63 г/л) в сторону некоторого уменьшения, как в осенние, так и в весенние сезоны года. Также наблюдаются изменения лейкоцитов, заключающиеся в прогрессирующей лейкопении, нейтропении (17,6%), и относительном лимфоцитозе, кроме того, выявлено значительное отклонение от нормы содержания эозинофильных гранулоцитов (9,3%), которое на 2,5% выше, чем у животных контрольной зоны; происходит существенное уменьшение содержания нейтрофильных гранулоцитов (17,6%), увеличение количества базофильных гранулоцитов (2,8%), моноцитов (6,3%) и лимфоцитов (62%). В хозяйстве, расположенном на расстоянии 17–25 км от алюминиевого завода, отмечается незначительное увеличение количества эритроцитов, хотя и с сохраняющимися признаками гипохромной анемии, а также содержания гемоглобина (66–68 г/л). Кроме того, необходимо отметить некоторое увеличение количества лейкоцитов (4,6–4,9 в 1 л) и уменьшение — их отдельных форм в составе лейкоцитарной формулы: отмечено снижение содержания базофильных (2,3%) и эозинофильных гранулоцитов (7,5%), лимфоцитов (57,0%), моноцитов (56%) и увеличение содержания нейтрофильных гранулоцитов (27,6%). В ходе исследования выявлено сезонное

изменение картины крови, находящееся в прямой зависимости от концентрации фтора в кормовых культурах в зависимости от сезона года. При этом пик концентрации фтора приходится на более засушливые сезоны года.

58. Дюжикова Н.А., Савенко Ю.Н., Миронов С.В., Дудкин К.Н., Вайдо А.И.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: dyzhikova@kolt.infran.ru

#### ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕТЕРОХРОМАТИНА В НЕЙРОНАХ ГИППОКАМПА КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ ВОЗБУДИМОСТЬЮ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА

В настоящее время все большую актуальность приобретает исследование механизмов, лежащих в основе длительных постстрессорных изменений поведения в связи с разработкой подходов к анализу этиологии, патогенеза и лечения посттравматического стрессового расстройства (ПТСР). Ранее на крысах с генетически детерминированными различиями по уровню возбудимости нервной системы были выявлены различия по чувствительности к эмоционально-болевым стрессорным воздействиям: долгосрочное (до 2–6 мес) сохранение симптоматики, характерной для ПТСР (ментальная ретардация и депрессия), у низковозбудимых крыс [Ширяева и др., 1996]. Была предложена гипотеза, предполагающая, что в основе этих явлений могут лежать долгосрочные эпигенетические модификации нервных клеток [Вайдо А.И., 2000]. Известно, что регуляторные механизмы экспрессии генов могут быть связаны с изменением надмолекулярного уровня организации генома — конформации хроматина. Особый интерес представляют высококонденсированные участки хроматина — гетерохроматин, оказывающий существенное влияние на ряд важнейших процессов в клеточном ядре: экспрессию генов, пространственную организацию ядра, репликацию, транскрипцию, рекомбинацию, репарацию, сайленсинг [Dimitri et al., 2005]. Цель данной работы — изучение характеристик гетерохроматина в ядрах пирамидных нейронов поля СА3 гиппокампа крыс с различной возбудимостью нервной системы в ранние (24 ч, 2 нед) и отдаленные (2 и 6 мес) сроки после длительного эмоционально-болевого стрессорного воздействия (ДЭБС). Объектом исследования служили 5-месячные самцы крыс двух селективных по порогу возбудимости линий ВП1 и НП2 (высокий — 2,5 В и низкий — 0,8 В пороги возбудимости к действию электрического тока, соответственно, 1,2 — программы селекции). В качестве экспериментального воздействия применяли эмоционально-болевое стрессирование крыс по схеме К.Гехта. Выявление интерфазного С-гетерохроматина (конститутивный, прицентромерный) в изолированных ядрах нейронов поля СА3 гиппокампа осуществляли на высушенных препаратах с помощью дифференциального окрашивания по модифицированному методу Самнера [Sumner, 1972]. Анализ размеров ядер нейронов и площади занимаемой в них хромоцентрами осуществляли с использованием установки для компьютерного анализа изображений [Дудкин К.Н. и др., 1999]. Показано, что ДЭБС приводит к изменению состояния гетерохроматина в нейронах гиппокампа только у низковозбудимых крыс линии ВП1: спустя 24 ч, 2 нед и 2 мес — к снижению площади, занимаемой гетерохроматином, тогда как через 6 мес — к увеличению этого показателя по сравнению с контролем. Снижение площади занимаемой гетерохроматином свидетельствует об уменьшении его общего количества, что может быть связано с избирательной деконденсацией части гетерохроматиновых районов вследствие активации определенных групп генов, сохраняемой до 2 мес после воздействия. Увеличение площади, занимаемой гетерохроматином, свидетельствует о процессах конденсации хроматина и возможном подавлении активности

определенных генов. По-видимому, срок 2 мес является критическим в отношении изменений на хромосомном уровне. Полученные данные указывают на долгосрочные изменения экспрессии генома, реализуемые посредством эпигенетических механизмов, при длительных стрессогенных модификациях поведения.

59. Ермакова О.Н., Ермаков А.М., Тирас Х.П.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино, Россия. E-mail: tiras@iteb.ru

#### ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА И РЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЛАНАРИЙ *Jirardia tigrina*

Исследовали действие ретиновой кислоты (РК) и мелатонина (МТ) на морфогенез на примере модельной системы регенерации головного конца бесполой расы пресноводного червя планарии *J. tigrina*. В качестве основного изучаемого показателя использовали индекс регенерации на 3-и сутки (отношение площади blastемы к площади всего тела). Данные параметры получали путем анализа изображений регенерирующих планарий на 3-и сутки после перерезки с помощью пакета программ Plana 4.4. Электронные изображения планарий получены с помощью метода прижизненной компьютерной морфометрии. Статистический анализ данных проводили с использованием программы Sigma Plot 2.0. РК в растворе диметилсульфоксида и МТ в растворе спирта добавляли непосредственно в воду с предварительно декапированными животными до конечных концентраций МТ — от  $10^{-4}$  М до  $10^{-10}$  М (через порядок) и РК —  $10^{-6}$  М,  $5 \cdot 10^{-7}$  М,  $10^{-7}$  М. В опыте с МТ индекс регенерации у подопытной группы был значимо ниже, причем эффект подавления регенерации был максимальным ( $35 \pm 5\%$ ) в концентрации  $10^{-4}$  М, затем он плавно снижался до  $17 \pm 6\%$  (в концентрации  $10^{-7}$  М). В концентрации  $10^{-8}$  М эффект опять возрастал до  $22 \pm 6\%$  и затем плавно снижался до  $15 \pm 6\%$  в концентрации  $10^{-10}$  М. Раствор РК также значимо подавлял регенерацию у планарий, причем она по видимому оказывает действие только на головной конец. В концентрации  $10^{-6}$  М и  $5 \cdot 10^{-7}$  М эффект составлял  $35 \pm 5\%$  и  $30 \pm 5\%$  соответственно, причем у планарий было нарушено поведение. В концентрации РК  $10^{-7}$  М эффект составлял  $20 \pm 6\%$ . Таким образом как МТ, так и РК значимо подавляют регенерацию головного конца планарий и, следовательно, пролиферацию клеток blastемы. Это позволяет использовать регенерацию планарий в качестве модельной системы для изучения действия указанных веществ, которая принципиально отличается от использовавшихся ранее.

Работа проведена при финансовой поддержке РФФИ. Грант РФФИр2004наукоград\_a № 04-04-97324.

60. Ефремов В.И., Шевченко Н.А., Мухачев Е.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Россия. E-mail: sofia.efremova@pobox.spbu.ru

#### НЕЙРУЛЯЦИЯ В ГОЛОВНОМ ОТДЕЛЕ ЗАРОДЫШЕЙ *Danio rerio* (ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

В связи с отсутствием в литературе единого мнения относительно способа формирования нервной трубки и противоречивыми данными об инвагинации нервной пластинки в районе будущего головного мозга эмбрионов костистых рыб было предпринято морфологическое исследование процесса нейруляции у зародышей *Danio rerio* (Teleostei). Изучали окрашенные серийные парасагитальные и поперечные срезы зародышей пяти стадий развития (от стадии хвостовой почки до стадии 25 пар сомитов). К моменту завершения эпиболы в самом переднем отделе зачатка нервной системы, который к этому времени представляет собой пласт из 2–3 рядов клеток кубической формы, на дорсальной поверхности медиального утолщения появляется небольшое углубление, которое продолжается в виде неглубокой бороздки до уровня будущего среднего мозга. Присутствие этой мелкой, так

называемой «медиальной бороздки» отмечают все исследователи, изучающие развитие переднего мозга у рыб. Некоторые из них прямо связывают наличие этой бороздки с инвагинацией нервной пластинки, рассматривая эту структуру как гомолог нервных валиков других групп позвоночных. Однако, как показали наши наблюдения, бороздка в ходе развития не становится шире и не углубляется, напротив, она сужается и на стадии 8 пар сомитов, задолго до появления первых признаков нейроцеля, исчезает. На поперечных срезах видно, что стенки бороздки образованы двумя сближающимися фронтами эктодермы, состоящими из сравнительно крупных клеток и покрытыми тонким кроющим слоем клеток будущей перидермы по всему контуру бороздки. После стыковки двух встречных клеточных фронтов их внутренние пласты утрачивают типичную эпителиальную организацию и образуют по средней линии массивное скопление клеток (нейральный киль) с неупорядоченным расположением митотических фигур. Наружные слои эктодермы продолжают встречное движение и, в конце концов, объединяются, формируя эпидермальный слой, который вскоре обособляется от подлежащих структур зародыша. Значительно позднее, на стадии 13 пар сомитов в вентральной зоне сплошного массивного нейрального тяжа, появляются просветы, которые, сливаясь к стадии 21 сомита, образуют узкий центральный канал, а сам тяж преобразуется в нервную трубку. Этому процессу предшествует реорганизация клеток, в результате которой фигуры митоза локализуются исключительно по средней линии нейрального тяжа. Учитывая сказанное, мы полагаем, что описанную медиальную бороздку нельзя рассматривать в качестве нервных валиков и, следовательно, сам факт ее существования не может служить доказательством инвагинационного способа нейруляции в зачатке головного мозга. Очевидно, нейруляция у *Danio rerio* осуществляется в две фазы. Во время первой фазы происходит поверхностное «складывание» (infolding) движущихся навстречу друг другу пластов нейроэктодермы, утрата эпителиальной упорядоченности и погружение накапливающегося клеточного материала вместе с подлежащими мезодермой и энтодермой в желток с образованием массивного тяжа клеток. Во время второй фазы в этом тяже схизоцельным способом возникает центральный просвет и формируется нервная трубка. Можно думать, что описанная специфика нейруляции у костистых рыб связана с фазовыми изменениями адгезивных свойств клеток нейрального зачатка.

61. Жданова Н.Б., Лютикова Т.М.

Омская медицинская академия, Россия. E-mail: Rector@omsk-osma.ru

#### НЕКОТОРЫЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СТРУКТУР ДВИГАТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА У ГРЫЗУНОВ

Полноценное формирование функции и структуры головного мозга зависит от адекватности экологических раздражителей, действующих на организм. Существует зависимость изменений размеров нейронов от продолжительности и интенсивности таких воздействий: их кратковременное влияние вызывает увеличение объема ядра и цитоплазмы нейронов, а более длительное — ведет к их уменьшению. Исследовали кору (слои II+III, V) и подкорковые ядра (средние нейроны хвостатого ядра) двигательного анализатора представителей пяти эколого-морфологических групп животных отряда грызунов: лабораторных и диких крыс и мышей, амфибионтов (нутрии — ондатра), норных (полевка — слепушонка) и планирующих животных (белка). Площади сечения цитоплазмы и ядер нейронов определяли с помощью анализатора изображений Видеотест в условных единицах. В отделах мозга грызунов нейронные популяции различались по размерам клеток. Наименьшие площади сечения тел, ядер и цитоплазмы нейронов коры и хвостатого ядра были обнаружены у норных животных, как синантропных, так и диких. У полевок таковыми

оказались тела нейронов слоя II+III ( $252,7 \pm 1,0$ ), у серой крысы — клетки слоя V ( $277,0 \pm 1,2$ ), у слепушонки — тела нейронов хвостатого ядра ( $199,0 \pm 0,3$ ). Самые большие показатели были в группе амфибионтов: у ондатры (слои II+III —  $458 \pm 3$  и V —  $558,0 \pm 1,8$ ) и нутрии (хвостатое ядро —  $471,3 \pm 1,7$ ). Величина площади сечения ядер, цитоплазмы и тел нейронов слоя V практически у всех животных была больше таковой у нейронов слоя II+III и хвостатого ядра, что связано с их ролью как проекционно-эфферентных в системе двигательного анализатора. Исключение составляли размеры этих нейронов у белой и серой крысы ( $238 \pm 12$  —  $192 \pm 9$ ). Они оказались меньше, чем клетки слоя II+III ( $266 \pm 11$  —  $204 \pm 7$ ), но больше каудальных нейронов ( $172 \pm 10$  —  $161 \pm 7$ ). Меньшие размеры нейронов нижних этажей коры по сравнению с таковыми верхних у лабораторных и синантропных организмов связаны, на наш взгляд, с продолжительно действующим на них стрессорным воздействием факторов внешней среды. Площади сечения нейронов слоя V нутрии больше ( $264 \pm 17$ ) нейронов слоя II+III ( $231 \pm 15$ ), но меньше клеток хвостатого ядра ( $324 \pm 33$ ). У полуводных организмов частая смена экологических условий обитания приводит, с одной стороны, к нормальному состоянию нейронов слоя V, а с другой — к увеличению размеров клеток хвостатого ядра, которые обеспечивают адекватный эфферентный «выход» и приспособление к среде обитания. Площадь сечения проекционно-эфферентных нейронов самая высокая у мелких организмов — у белых крыс ( $316 \pm 11$ ), домовых мышей ( $356 \pm 11$ ), полевок ( $263 \pm 15$ ), слепушонки ( $241 \pm 11$ ), белок ( $306 \pm 16$ ). Таким образом, длительное существование организмов в определенных экологических условиях приводит, на наш взгляд, к формированию у них соответствующих морфометрических параметров, обуславливая их межвидовые различия.

62. Жук О.Н.<sup>1</sup>, Маслова Г.Т.<sup>2</sup>, Нечипуренко Н.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии НАН, <sup>2</sup>Белорусский государственный университет, <sup>3</sup>Научно-исследовательский институт неврологии, нейрохирургии и физиотерапии, г. Минск, Беларусь. E-mail: biblio@fizio.bas-net.by

#### ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ НЕЙРОНОВ КОРЫ БОЛЬШОГО МОЗГА КРОЛИКОВ ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Исследовано влияние внутрисосудистого лазерного облучения крови (ВЛОК) низкоинтенсивным излучением (ИК-лазер, 860 нм, внутривенно, 2 мВт по одной 10-минутной процедуре в течение 5 сут) на ультраструктуру нейронов теменной доли коры большого мозга кроликов после моделирования локальной ишемии головного мозга (ЛИГМ). ЛИГМ создавали в остром эксперименте под внутривенным тиопенталовым наркозом (50–70 мг/кг) путем окклюзии обеих сонных артерий продолжительностью 3 ч. ВЛОК проводили с помощью световода типа кварц-полимер, вводимого в краевую вену уха кролика. Выполнены следующие серии экспериментов: ВЛОК интактных кроликов (n=9); ЛИГМ без лечения (n=8); ЛИГМ+ курсовое воздействие ВЛОК (n=7). Контроль — интактные кролики (n=7). В 1-й серии экспериментов после 5 сеансов ВЛОК в некоторых нейронах изучаемой зоны отмечены конденсация ядерного хроматина у внутренней ядерной мембраны, расширение канальцев гранулярной эндоплазматической сети, появление просветлений цитоплазмы, что свидетельствует о реакции головного мозга интактных кроликов на ВЛОК структурно-функциональными перестройками части нейрональной популяции. На 5-е сутки постишемического периода без лечения деструктивные процессы отмечены во всех нейронах исследуемой области. В ядрах выявлено образование выпячиваний и углублений, конденсация хроматина у внутренней ядерной мембраны, расширение ядерных пор; в цитоплазме — перераспределение полисом, расширение вплоть до вакуолизации гранулярной и агранулярной

эндоплазматической сети, набухание митохондрий с разрушением крист, иногда — почти полное просветление цитоплазмы, разрушение органелл и появление миелоноподобных тел. Проведенный курс ВЛОК после моделирования ЛИГМ сдерживал развитие тяжелых деструктивных изменений. Форма ядер у одних нейронов была близка к норме — округлые ядра с ровными контурами и светлой нуклеоплазмой, у других — с некоторой конденсацией хроматина у внутренней ядерной мембраны, у третьих — ядра имели небольшие выпячивания, у четвертых — впячивания с конденсацией полисом, увеличением количества цистерн гранулярной и агранулярной эндоплазматической сети по всей клетке. Трубочки этой сети у части нейронов располагались радиально, либо как бы опоясывали ядро. Наблюдалось увеличение количества мелких митохондрий. В нейропиле обращало на себя внимание наличие значительно большего, по сравнению с предыдущими сериями, количества немиелинизированных отростков. Обнаруженные изменения, очевидно, следует рассматривать как проявление регенеративных процессов. Таким образом, результаты электронно-микроскопических исследований позволяют заключить, что в условиях данной модели церебральной ишемии ВЛОК излучением ИК-лазера мощностью 2 мВт не только предотвращает развитие деструктивных процессов, но и активирует репаративные резервы клеток, стимулируя процессы регенерации, что, по-видимому, является важным механизмом действия низкоинтенсивного лазерного излучения.

63. Жуков В.В., Тучина О.П.

Калининградский государственный технический университет. E-mail: valerzhukov@mail.ru; Российский государственный университет им. И.Канта, г. Калининград, Россия. E-mail: tuchinaoksana@mail.ru

#### **ТОПОГРАФИЧЕСКАЯ АСИММЕТРИЯ ЭФФЕРЕНТНЫХ НЕЙРОНОВ ЗРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ БРЮХНОГО ЛЕГОЧНОГО МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS*.**

Камерные глаза *L. stagnalis* имеют отчетливо структурированную оптику и однослойную сетчатку с многочисленными фоторецепторами [Bobkova et al., 2004]. Известно, что ретроградным окрашиванием можно выявить центральные нейроны прудовика, направляющие свои аксоны в оптический нерв и предположительно выполняющие функцию эфферентного контроля сетчатки [Зайцева и др., 1982]. Нами проведено сравнение топографии центральных нейронов моллюсков, окрашиваемых через правый и левый оптический нервы. Для этого использовали цитоплазматический транспорт ионов кобальта с последующим осаждением сульфидом аммония и интенсификацией результатов реакции серебром. Тела окрашиваемых нейронов обычно обнаруживали в церебральном (около 80% случаев) и плевральном (в 90% случаев) ганглиях ипсилатерально по отношению к окрашиваемому нерву. Тела окрашенных клеток церебрального ганглия располагаются разрозненно в мезоцеребруме, области входа в ганглий оптического нерва, у церебральной комиссуры и в каудальной части, не образуя кластеров. При этом сходные данные были получены при окрашивании через левый и правый оптический нервы. В контралатеральном церебральном ганглии маркировались клетки только при окрашивании через левый нерв: в 5 препаратах из 10 в области мезоцеребрума и каудальной части ганглия. В отношении плеврального ганглия наиболее устойчивый результат был получен для клетки, расположенной близко к центру его дорсальной поверхности. Она окрашивалась почти всегда, даже, когда окрашенных клеток не находили в ипсилатеральном церебральном ганглии. В нескольких случаях удавалось получить окраску единичных

клеток в контралатеральном плевральном, ипсилатеральном парietальном и в одном случае — висцеральном ганглиях. Таким образом, структурная асимметрия эфферентных нейронов зрительной системы прудовика была выявлена, главным образом, в церебральных ганглиях. Ранее было показано проявление топографической асимметрии среди нейронов, иннервирующих внешне симметричные органы брюхоногих моллюсков [Lombardo, Sonetti, 1984; Кононенко и др., 2004], что, вероятно, является общей чертой структурной организации нервной системы этих животных. Не исключено, что нейроны, окрашиваемые в контралатеральных ганглиях, образуют структурную основу взаимосвязи парных органов зрения *L. stagnalis*.

*Работа выполнялась при финансовой поддержке гранта РФФИ 04-04-48317.*

64. Журавин И.А., Туманова Н.Л., Васильев Д.С., Дубровская Н.М.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: zhu-ravin@iephb.ru

#### **НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МОЗГУ КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ПРЕНАТАЛЬНУЮ ГИПОКСИЮ**

Наиболее важные этапы формирования мозга у грызунов происходят в период эмбрионального развития и продолжают в раннем постнатальном онтогенезе. Известно, что воздействие патологических факторов в этот период может приводить к нарушению формирования нервной системы на всем протяжении онтогенеза [Nyakas et al., 1996; Отеллин В.А. и соавт., 2002–2005; Журавин И.А. и соавт., 2001–2005]. В результате у животных модифицируются двигательная активность и когнитивные функции, зависящие в значительной степени от важнейших отделов переднего мозга — неокортекса, базальных ганглиев и гиппокампа. Цель нашего исследования — сравнительное изучение структуры нервной ткани сенсомоторной коры, базальных ганглиев и гиппокампа, сформировавшихся в условиях нарушенного эмбриогенеза. С помощью световой микроскопии, компьютерной морфометрии и иммуногистохимической техники исследована структура нервной ткани сенсомоторной коры, дорсального гиппокампа и базальных ганглиев (каудопутамен, бледный шар) в постнатальном онтогенезе у контрольных крыс и крыс, перенесших пренатальное гипоксическое воздействие (7% O<sub>2</sub>, 3 ч на E13,5 или E18,5 сутки). Обнаружено, что в течение 1-го месяца постнатального развития только у животных, перенесших гипоксию на E13,5, увеличивается число нейронов, дегенерирующих по типу хроматолиза (набухание тела клеток и их отростков, лизис органелл), происходит увеличение количества глиальных элементов. В коре процесс дегенерации начинается раньше и происходит интенсивнее, чем в гиппокампе и в базальных ганглиях. Примечательно, что в исследуемых отделах мозга такой дегенерации и гибели в большей степени подвержены крупные клетки (в кортикальных структурах — большие пирамидные нейроны, а в базальных ганглиях — гигантские нейроны ретикулярного типа). После 20-х суток постнатального развития в коре, и в меньшей степени в гиппокампе и каудопутаме, помимо хроматолиза наблюдается другой тип дегенерации — темные пикноморфные нейроны небольших размеров. С помощью компьютерной морфометрии была проанализирована плотность расположения нейронов в исследуемых отделах мозга и выявлено ее снижение в сенсомоторной коре (на 12%), дорсальном гиппокампе (9%) и базальных ганглиях (около 10%) максимально на 20-е сутки после рождения животных. Иммуногистохимическое исследование экспрессии проапоптотического белка p53 показало, что апоптотический путь клеточной гибели задействован в дегенерации нервной ткани исследуемых отделов мозга. Полученные данные позволяют заключить, что степень дегенеративных изменений в коре,

базальных ганглиях и гиппокампе различна и в значительной степени зависит от совпадения во времени периода гипоксического воздействия и интенсивности пролиферации клеток в соответствующих отделах мозга. Выявлена корреляция между морфологическими и поведенческими нарушениями, причем последние частично сохраняются на протяжении всей жизни животных. Таким образом, изменение условий пренатального развития вызывает нарушения в нервной ткани исследованных отделов мозга, что приводит к дефициту когнитивных функций и способности к обучению в постнатальном онтогенезе.

*Поддержано РФФИ 02-04-49385, программами Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине» и СПб НЦ РАН.*

65. Журавлева З.Н., Зенченко К.И., Ермаков А.А.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пушкино, Россия. E-mail: zhuravleva@iteb.ru

#### **УЛЬТРАСТРУКТУРА ИНТРАОКУЛЯРНЫХ НЕЙРОТРАНСПЛАНТАТОВ СО СКЛОННОСТЬЮ К ЭПИЛЕПТИФОРМНОЙ АКТИВНОСТИ**

Трансплантированная в переднюю камеру глаза (ПКГ) эмбриональная нервная ткань находится в аналогичных условиях с интрамозговыми трансплантатами, развивающимися в полости желудочков мозга, так как жидкость ПКГ по химическому составу сходна с ликвором. Ранее мы показали, что в интраокулярных трансплантатах развиваются высокодифференцированные нервные и глиальные элементы, формирующие хорошо развитый нейропил с нормальной плотностью синаптических контактов. Вместе с тем, электрическая стимуляция интраокулярных трансплантатов, не получающих специфической афферентации из ЦНС, легко провоцирует эпилептиформные разряды нейронов. Целью настоящего исследования было электронно-микроскопическое изучение синаптической организации трансплантатов гиппокампа и сетчатой области, в которых электрофизиологически регистрировалась эпилептическая активность. Для трансплантации использовали кусочки эмбриональной ткани размером 1 мм<sup>3</sup>, выделенные из закладок указанных структур мозга 17–18-дневных плодов крыс линии Вистар. Реципиентами служили крысы-самцы той же линии. Операции проводили в стерильных условиях под нембуталовым наркозом с дополнительной анестезией глаза раствором лидокаина. Через 3 мес трансплантаты фиксировали 2,5% раствором глutarового альдегида на фосфатном буфере. Обнаружено, что в обоих типах трансплантатов, как правило, формировалась органотипическая цитоархитектоника, в основном воспроизводился типичный для структуры-донора паттерн распределения синапсов по сомато-дендритной поверхности. Вместе с тем, электронно-микроскопический анализ трансплантатов с преобладающей эпилептической активностью выявил ряд структурных особенностей синаптической организации. Среди аксо-соматических синапсов, которые в гиппокампе и сетчатке в норме являются тормозными, довольно часто встречались асимметричные функциональные контакты, считающиеся субстратом возбуждения. В нейропильных участках присутствовали мультисинаптические аксоны и мультииннервированные дендритные шипики. В области активных зон аксо-шипиковых и аксо-дендритных синапсов наблюдались многочисленные дополнительные ответвления в виде спикул, внедряющиеся в пресинапс. Некоторые из них имели осмиофильное содержимое, аналогичное постсинаптическим уплотнениям. Проксимальные фрагменты некоторых дендритов были покрыты многослойной глиальной капсулой, напоминающей миелиновую оболочку аксонов, что предполагает участие дендритов в активном распространении потенциалов действия. Помимо синаптических взаимодействий в трансплантатах были широко представлены электротонические контакты типа щелевых соединений. Они формировались между прилежащими плазмолеммами соседних нейронов или

отростками астроцитов. Разнообразие функциональных взаимодействий в трансплантированной ткани сочеталось с интенсивным транспортом метаболитов из кровеносной системы и внутриглазной жидкости с помощью микропиноцитоза. Таким образом, склонность интраокулярных трансплантатов к эпилептиформной активности отражается в их ультраструктурной организации. Большая часть синаптических связей в изолированных от мозга трансплантатах, по видимому, принадлежит собственным нейронам, между которыми формируются замкнутые функциональные сети.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 03-04-48782).*

66. Загускин С.Л.

Ростовский государственный университет, Научно-исследовательский институт физики, Россия. E-mail: zag@ip.rsu.ru

#### **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЭНЕРГЕТИКИ НЕЙРОНА**

Цель исследования — изучение связи ритмов функциональной активности, биосинтеза и энергетики нейрона. Объект — одиночный нейрон изолированного механорецептора речного рака. Методы: 1) электрофизиологическая регистрация частотограмм импульсной активности нейрона при точном дозировании адекватных раздражений механорецептора и действию на тело клетки импульсного лазерного облучения; 2) прижизненная окраска митохондрий и регистрация фоновых и вызванных внешним воздействием ритмов золь—гель переходов по изменению агрегации митохондрий или эндоплазматической сети методом микроинденситографии; 3) цитохимическое выявление активности цитохромоксидазы с математическим анализом денситограмм пространственных различий при разном контролируемом состоянии нейрона; 4) дифференциальная осциллографическая микрополярография напряжения кислорода над разными зонами тела нейрона при изменениях его функции; 5) прижизненная интерференционная микроскопия функциональных изменений строения тела нейрона и показателей содержания и биосинтеза белка; 6) цитохимическое исследование функциональной топохимии АТФазы, аденилатциклазы; 7) электронная микроскопия, цитохимическое исследование и рентгеноспектральный микроанализ распределения кальция, связанного с эндоплазматической сетью и с митохондриями при разном функциональном состоянии нейрона; 8) математическое моделирование связи ритмов функции, энергетики и биосинтеза в клетке. Заключение, следующие из результатов экспериментов: 1) функциональная активность клетки может блокироваться при недостатке энергообеспечения по плотности или скорости энергопродукции, лимитироваться и регулироваться энергетически и не зависеть в периоды избытка энергии от ее уровня; 2) переменного-приоритетный принцип распределения потоков энергии на процессы разной скорости и емкости объясняет все известные в литературе факты влияния функциональных нагрузок разных амплитудно-временных параметров на энергетику и биосинтез (восстановительные процессы) в клетке; 3) величина и знак функциональной индукции биосинтетических пластических процессов в клетке определяют текущими параметрами ее энергетики; 4) гомеостатическая мощность клетки характеризуется сохранением за период соответствующего восстановительного процесса средних значений периодов ритмов золь—гель переходов (отражают все ритмы) в диапазоне инвариантного их соотношения в иерархии этих ритмов, имеющей фрактальную структуру; 5) адаптивные механизмы регуляции роста энергетики и облегченной диффузии кислорода включают: увеличение активности окислительных ферментов в митохондриях вблизи плазматической мембраны, уменьшение степени агрегации митохондрий с увеличением золь относительно геля в компартментах в зонах по-

вышенного энергопотребления и в клетке в целом, увеличение градиента активности фермента от периферии к ядру клетки, увеличение количества митохондрий вблизи плазмолеммы и в зонах увеличения энергопотребления, изменения строения митохондрий, увеличение суммарной активности фермента в клетке, увеличение потребления кислорода в теле нейрона с током воды при увеличении размеров тела нейрона и за счет периодического изменения сома-аксонного индекса, увеличение количества фермента, увеличение количества митохондрий. На основе данных фундаментальных междисциплинарных исследований, определен механизм лазерного воздействия на клетку и условия биорезонанса. Разработаны универсальный энергетический критерий направленности биологических процессов, естественная эволюционная классификация биоритмов и десинхронизов, хронобиологическая теория устойчивости биосистем, принципиально новые методы хронодиагностики и биоуправляемой хронофизиотерапии, преимущество которых доказано в России и за рубежом в различных областях практической медицины.

67. Зайцева О.В.

Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия.  
E-mail: OVZaitseva@inbox.ru

#### СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ СЕНСОРНЫХ СИСТЕМ РИНОФОР ГОЛОЖАБЕРНЫХ МОЛЛЮСКОВ

Изучение структурно-функциональной организации сенсорных систем брюхоногих моллюсков имеет важное значение как в сравнительно-эволюционном аспекте для понимания основных закономерностей и особенностей эволюции рецепторного аппарата в разных филогенетических группах животных, так и для моделирования процессов рецепции и обработки сенсорной информации. Наиболее быстрые прогрессивные преобразования в ходе эволюции животных претерпевают дистантные сенсорные системы [Заварзин А.А., 1986]. Ведущей дистантной сенсорной системой у гастропод является обонятельная система парных задних головных щупалец (тентакулярных органов, омматофор), получившая у голожаберных моллюсков название ринофорной. С помощью головных щупалец моллюски ориентируются в пространстве, отыскивают пищу и дом, осуществляют поиск особей своего вида [Wolter, 1967; Chase, 1986; Rogers et al., 1996]. Задние головные щупальца считаются гомологичными образованиями у всех брюхоногих моллюсков. Целью настоящей работы явилось сравнительное морфологическое исследование ринофорных органов трех видов белемнских голожаберных: *Dendronotus arborescens* (сем. Dendronotidae) и *Coryphella rufibranchialis* (сем. Coryphellidae) из группы эолид и *Cadlina laevis* (сем. Doridae) из группы дорид. В работе были применены методы общей гистологии, импрегнация нитратом серебра по Гольджи и Колонье, а также сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия. Показано, что исследованные животные имеют различающиеся по форме ринофоры и используют разные способы защиты сенсорного эпителия, что находит свое отражение в цитоархитектонике сенсорных органов. Описаны типы рецепторных и нервных клеток, их пространственные группировки и связи. Классические синаптические структуры обнаруживаются не только в нейропиле ринофорных ганглиев, но и в субэпителиальном нервном сплетении в стенке ринофор. Показано, что большая часть рецепторных клеток, особенно в вершинах кожных складок собрана в группы — сенсорные модули. Клетки сенсорных модулей отличаются высокой морфологической дифференцированностью. Они имеют хорошо оформленное тело и специализированный чувствительный периферический отросток. Наблюдаются тенденции постепенного погружения рецепторных клеток под эпителий и утолщения дистальных частей ринофорного нерва за счет подтягивания периферических нейронов к нерву с образо-

ванием микроганглиев. Сходные процессы наблюдаются в кожных покровах и хемосенсорных органах у переднежаберных и легочных моллюсков [Зайцева О.В., 1998, 2000]. В целом у голожаберных выявлены прогрессивные, по сравнению с переднежаберными и вторичноводными легочными моллюсками, закономерности морфогенеза тентакулярных сенсорных органов. Эти закономерности сближают их с наиболее высокоразвитыми тентакулярными органами наземных легочных моллюсков [Зайцева О.В., 1989, 2004]. К этим закономерностям можно отнести тенденции к концентрации рецепторных клеток в особых зонах щупалец, появление обонятельных гломерул и особых тентакулярных (ринофорных) ганглиев, а также развитие высоко специализированных на выполнение защитной для органов функции лакунарной и мышечной систем. Однако в отличие от наземных легочных моллюсков, ни у одного из исследованных видов голожаберных не удалось обнаружить одновременно все четыре прогрессивные закономерности морфогенеза тентакулярных обонятельных органов, что, по всей видимости, является отражением своеобразия их пути эволюции у голожаберных.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 03-04-49404).

68. Запryanова Э., Султанов Б., Делева Д., Фильчев А.  
*Zapryanova E., Sultanov B., Deleva D., Filchev A.*<sup>1</sup>

Bulgarian Academy of sciences, Institute of Experimental Morphology and Anthropology with Museum; <sup>1</sup>Faculty of veterinary medicine, University of Forestry, Sofia, Bulgaria. E-mail: lab.myelin@abv.bg

#### EVIDENCE OF EARLY NEURONAL AND AXONAL DAMAGE IN MULTIPLE SCLEROSIS AND IN CHRONIC RELAPSING EXPERIMENTAL ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS

Multiple sclerosis (MS) is considered in every textbook of neurology to be prototype of primary demyelinating disease in the central nervous system (CNS) with extensive myelin loss and relative preservations of neurons. According to this concept neuronal and axonal pathology is not a dominating feature of early MS. However, recent imaging and morphological studies have challenged this historical view of preserved neuronal and axonal integrity at the earliest clinical stages of MS. Early axonal damage has been demonstrated in vivo by proton magnetic resonance spectroscopy. Pathomorphological studies revealed axonal injury throughout active lesions (including acute lesions early within the course of the disease). Animal models that adequately reflect the complexity of human MS are needed for investigating MS pathogenesis. Chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis (CREAE) is an animal model reproducing the clinical and histopathological features, especially of relapsing-remitting form of MS (RRMS). Objectives of this study were to obtain more information concerning neuronal and axonal injury in the early phases of MS and of CREAE. Electron microscopic (EM) investigations were performed on the brain and spinal cord of Lewis rats at the preclinical stage and the first clinical episode of CREAE. CREAE was induced by inoculation with highly purified guinea-pig myelin and complete Freund's adjuvant, followed by treatment with low dose cyclosporine A. The relative distribution of GD1a ganglioside, one of the major CNS neuronal ganglioside fractions, was determined during the preclinical stage and the first clinical episode of CREAE in the brain and the spinal cord of Lewis rats. The relative distribution of GD1a was also determined in the sera of RRMS patients during their first MS attacks. Our EM studies revealed axonal degeneration which preceded the destruction of myelin sheath in CNS of Lewis rats at the preclinical stage of CREAE. During the first clinical episode of CREAE, vesicular demyelination of the damaged axons occurred periaxonally. These findings further support the notion that axonal injury can begin very early in the disease. A considerable increase of relative portion of GD1a was detected in the brain and spinal cords of Lewis rats just before the

onset of clinical signs and during the first clinical episode of CREAE. These data provide suggestive evidence that GD1a CNS changes during the first stages of CREAE are connected with an early neuronal damage in the disease. An increase of GD1a portion in the sera of patients with RRMS during the first attacks of MS was observed. The difference in relative proportion of GD1a between healthy subjects and the patients with RRMS was statistically significant. It could be suggested that these findings are connected with the neuronal injury at the early phases of MS pathogenesis. In conclusion, the data presented in this study further support the concept of MS as a neuronal disease. The neuronal and axonal damage in the early MS argue for the early treatment of MS with agents directed towards neuronal and axonal protection.

69. Захарова И.В.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия  
**НЕРВНЫЙ АППАРАТ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ  
В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗОК**

Целью работы явилось исследование изменений структуры нервного аппарата поджелудочной железы при остром и хроническом воздействии гравитационных перегрузок. Работа выполнена на 36 белых крысах-самцах в возрасте от 8 до 21 нед. Воздействие перегрузок моделировали по методике, разработанной П.С.Пашенко (1993), путем вращения экспериментальных крыс на центрифуге с радиусом плеча 1,5 м. Эксперимент состоял из острой и хронической серий опытов: в острой серии проводили вращение животных на центрифуге в течение экспериментального дня: 3 вращения по графику с двумя перерывами по 20 мин; в хронической — осуществляли вращение животных по регламенту чередующихся 2-недельных вариантов на протяжении 13 нед. Возраст животных этой серии в течение эксперимента достигал 21 нед. Изучение нервного аппарата поджелудочной железы осуществляли с помощью световой и электронной микроскопии. После острого воздействия гравитационных перегрузок в структурах нервного аппарата органа наблюдаются реактивные изменения. Так, в миелиновых волокнах, которые преимущественно составляют нервный аппарат под капсулой железы, появляются локальные расширения между слоями миелина. В цитоплазме осевых цилиндров изменения заключаются в гипертрофии митохондрий, укорочении их крист и расширении промежутков между ними. В цитоплазме шванновских клеток встречаются единичные светлые вакуоли, а также расширенные просветы цистерн гладкой эндоплазматической сети. В глубине паренхимы железы изменения нервных волокон более существенны по сравнению с таковыми в нервном аппарате субкапсулярных отделов органа. В цитоплазме осевых цилиндров этих волокон встречаются бесструктурные участки, лишенные оргanelл и включений. Систематическое воздействие перегрузок, наряду с отмеченными в острой серии реактивными изменениями, вызывает разнообразные деструктивные нарушения. В безмиелиновых нервных волокнах митохондрии находятся на различных стадиях деструкции. При этом расположенные рядом с митохондриями нейрофиламенты в ряде случаев не претерпевают существенных изменений. В цитоплазме шванновских клеток удалось наблюдать миелиноподобные тела, которые отчетливо контурируются на фоне слабоосmioфильного матрикса. Отмечена зависимость между выраженностью изменений структуры осевых цилиндров и цитоплазмы шванновских клеток. Так необратимые изменения в клетках глии сопровождаются тотальной деструкцией нервных волокон. Измененные нервные волокна и клетки глии находятся в непосредственной близости с капиллярами, в просвете которых отмечен «сладж» эритроцитов, а также деструкция части митохондрий в цитоплазме эндотелиоцитов. Очевидно, что полная деструкция безмиелиновых нервных волокон развивается в случае нарушения

трофической функции глиальных клеток, а также обусловлена дисциркуляторными расстройствами в поджелудочной железе.

70. Зачепило Т.Г., Ильиных Ю.Ф., Лопатина Н.Г., Попов А.В., Савватеева-Попова Е.В., Вайдо А.И., Чеснокова Е.Г.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН; Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: lopatina@kolt.infran.ru.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ СУБЪЕДИНИЦ NMDA-РЕЦЕПТОРА NR1 И NR2В В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО ГАНГЛИЯ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ (APIS MELLIFERA L) И ДРОЗОФИЛЫ (DROSOPHILA MELANOGASTER, ЛИНИЯ ДИКОГО ТИПА CANTON-S)**

L-глутамат — основной возбуждающий нейромедиатор в ЦНС позвоночных и беспозвоночных (насекомых) животных [Osborne, 1996; Luk et al., 2003]. У позвоночных животных известна его роль в регуляции процессов созревания мозга в пре- и постнатальный периоды развития организма как на морфологическом (пролиферация, дифференциация нейронов, синаптогенез), так и на функциональном (посттетанические потенциации и депрессия) и поведенческом (обучение и память) уровнях. Физиологическое действие возбуждающих аминокислот осуществляется посредством ионотропных и метаботропных глутаматных рецепторов. В настоящее время наиболее изучен NMDA-подтип ионотропных глутаматных рецепторов. Это гетеромер, состоящий из 3 субъединиц (NR1, NR2A-D, NR3). Основной, входящей в состав всех без исключения действующих NMDAR, является субъединица NR1. NR2-субъединица ответственна за локализацию и кластеризацию рецепторов в постсинаптические образования [Chung и et al., 2004]. У насекомых (дрозофила, медоносная пчела) гены, кодирующие NR1 [Betz и et al., 1993] и NR2 [Volkner и et al., 2004] субъединицы, клонированы, выявлена их 45–50% гомология с таковыми млекопитающих, показана преимущественная экспрессия в головном ганглии. Однако о локализации указанных субъединиц в отдельных регионах головного ганглия насекомых сведений в литературе нет. В связи с этим нами был проведен анализ особенностей локализации субъединиц NR1 и NR2В в структурах головного ганглия пчелы и дрозодилы. С этой целью использовали иммуногистохимический DAB-ABC-иммунопероксидазный метод. Готовые препараты анализировали с использованием системы для анализа изображений VideoTest-FISH. У пчелы использовали также метод антисенс-нокдаун субъединицы NR1. Анализ препаратов позволил сделать заключение, во-первых, о совместной локализации NR1- и NR2В-субъединиц, и, во-вторых, выявить на фоне слабой гомогенной окраски всей поверхности срезов головного ганглия наиболее интенсивно окрашенные регионы, которые оказались разными у изученных видов насекомых. У дрозодилы наиболее интенсивное окрашивание наблюдалось в области центрального комплекса и двух периферических зрительных долей (уровень рецепторов, ламина). У пчелы — в области каликсов грибовидных тел и второй зрительной доли (медуля). Нокдаун субъединицы NR1 подавлял у пчелы синтез этого белка. По мнению Frambach и соавт. (2004), основанному на изучении характера локализации f-актина в регионах головного ганглия насекомых, именно каликс грибовидных тел представляет собой сайт высокой синаптической и структурной пластичности. Полученные данные обсуждаются в связи с поведенческими особенностями изученных двух форм поведения насекомых.

Работа поддержана грантами РФФИ 04-04-48159; 04-04-48517; 04-04-49062.

## 71. Зеленская А.Е.

Международный университет природы, общества и человека «Дубна», г. Дубна. E-mail: biolog@uni-dubna.ru

### РАЗВИТИЕ ШЕЙНОГО НЕРВНОГО СПЛЕТЕНИЯ И ЕГО ВЕТВЕЙ У ЧЕЛОВЕКА В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Исследование процесса формирования шейного нервного сплетения и его ветвей в эмбриональном периоде развития проведено на серийных сагиттальных срезах 23 эмбрионов человека и поперечных срезах 10 эмбрионов в возрасте от 26 до 90 дней — 7–60 мм теменно-копчиковой длины (ТКД). Гистологические срезы окрашивали гематоксилином—эозином и по ван Гизону. Обнаружено, что у эмбриона 7 мм ТКД определяются передние ветви четырех верхних шейных спинномозговых нервов, образующих шейное нервное сплетение, и намечается его деление на 6–7 ветвей. У эмбриона 12 мм ТКД уже определяются все основные нервы, выходящие из шейного сплетения. Изучение хода диафрагмальных нервов от шейного сплетения до вступления в диафрагму показало, что развивающиеся рядом с ним легкие, сердце и диафрагма оказывают большое воздействие на становление их топографических взаимоотношений. Особенно большие изменения в топографии диафрагмальных нервов происходят в первые 6 нед внутриутробного развития. У эмбрионов 7, 8 и 9 мм ТКД диафрагмальные нервы от места своего начала до поперечной складки, дающей в дальнейшем переднюю часть диафрагмы, проходят в плевроперикардиальной складке в виде полой дуги, выпуклостью обращенной вниз и назад. Диаметр их относительно большой и составляет 37–40 мкм, а при вступлении в поперечную складку он значительно увеличивается — в 2–2,5 раза, так как намечается его деление на ветви. Позднее (эмбрионы 11, 12 и 13 мм ТКД) в связи с опусканием поперечной складки диафрагмальные нервы удлиняются и приобретают более нисходящее направление и к 6-й неделе внутриутробного развития (эмбрион 18 мм ТКД) перемещаются кпереди и занимают положение на околосоудной сумке между сердцем спереди и легкими сзади, впереди корня легкого.

## 72. Зиматкин С.М.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь. E-mail: zimatkin@grsmu.by

### ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ГАСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА КРЫСЫ

Гастаминергическая система мозга играет важную роль в регуляции многих физиологических функций, систем и реакций организма, в патогенезе многих заболеваний и патологических состояний. Поэтому разработка структурно-метаболических критериев оценки функционального состояния гастаминергических нейронов (ГЕН) мозга представляется важной и актуальной. Установлено, что тела этих нейронов находятся только в гипоталамусе, где они образуют пять скоплений — ядер (E1–E5). Отростки ГЕН идут во все отделы мозга, участвуя в регуляции многих других нейротрансмиттерных и морфофункциональных систем. В наших предварительных исследованиях установлено, что моноаминоксидаза типа Б (МАО Б) является хорошим маркером перикарионов ГЕН и их скоплений (ядер). Проведена компьютерная реконструкция гастаминергических ядер гипоталамуса крысы, установлены их объем, плотность расположения и абсолютное количество в них нейронов, размеры (диаметры, периметр, площадь, объем) и форма (форм-фактор и фактор элонгации) перикарионов ГЕН. Эти нейроны мозга крысы значительно отличаются по размерам и показателям метаболизма от дофаминергических нейронов аркуатного ядра гипоталамуса. Мы предположили, что целенаправленно меняя функциональное состояние ГЕН мозга, нарушая их структуру и специфический метаболизм, а затем изучая нейроны различными гистологическими и гистохимическими методами можно установить взаимосвязи между их структурой, функциональной активностью и показателями метаболизма. Это позволит дать ГЕН мозга

комплексную морфо-функциональную характеристику и разработать критерии и алгоритм оценки их функционального состояния по морфологическим и гистохимическим признакам. Для проверки этой гипотезы крысам вводили лиганды рецепторов гистамина (H1, H2, H3), избыток гистидина, предшественника гистамина, ингибитор ключевого гистаминметаболизирующего фермента мозга МАО Б (депринил), а также дезорганизатор аксотока в нейронах — колхицин. Животных декапитировали, кусочки гипоталамуса замораживали в жидком азоте. Криостатные срезы, проходящие через скопления ГЕН, окрашивали по методу Ниссля, а также гистохимически для выявления активности МАО Б, дегидрогеназ сукцината, лактата, глюкозо-6-фосфата, NADH и NADPH, а также кислой фосфатазы. Размеры и форму ГЕН, а также оптическую плотность продуктов гистохимических реакций в них оценивали с помощью компьютерного анализатора изображения «Биоскан». Полученные цифровые данные обрабатывали методами непараметрической статистики. В результате проведенного исследования обнаружены закономерные изменения размеров и формы ГЕН гипоталамуса крысы, а также активности в них ферментов, отражающие обменные процессы. Это позволило проследить взаимосвязи между функциональным состоянием, строением и метаболизмом ГЕН мозга крысы и установить критерии оценки их морфофункционального состояния.

73. Зинькова Н.Н., Соколова И.Б., Кругляков П.В., Вийде С.К., Шведова Е.В., Александров Г.В., Гилеревич Е.Г., Польшцев Д.Г.

ООО «Транс-Технологии», Санкт-Петербург, Россия. E-mail: natalia\_z@alkorbio.ru

### РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТЕВОВЫХ КЛЕТОК В ГОЛОВНОМ МОЗГУ КРЫСЫ ПРИ ИХ ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ

Клеточная терапия ишемического инсульта головного мозга с помощью мезенхимных стевовых клеток (МСК) — новый, перспективный подход к лечению этого заболевания. Целью данного исследования являлась оценка распределения внутривенно введенных МСК в головном мозгу. Работа проведена на 27 крысах-самцах линии Вистар—Киото. Моделью для экспериментального исследования служил инсульт головного мозга, вызванный окклюзией средней мозговой артерии (ОСМА). Сингенные МСК были выделены из костного мозга животных и культивированы *in vitro*. Их фенотипирование проводили по маркерным молекулам клеточной поверхности (CD34, CD45, CD90) с помощью метода проточной цитофлюориметрии. Клетки с фенотипом CD34<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, CD90<sup>+</sup> (т. е. именно мезенхимных стевовых клеток) вводили животным внутривенно через 3 сут после ОСМА. Перед трансплантацией МСК были окрашены прижизненным флуоресцентным красителем РКН-26. Контролем служили ложнооперированные животные и крысы с ОСМА, которым внутривенно вводили изотонический раствор. Через 6 нед после ОСМА у животных после ингаляционного наркоза эфиром проводили фиксацию мозга перфузией 4% параформальдегидом на фосфатном буфере, далее головной мозг погружали в тот же фиксирующий раствор на 1 ч, в течение 2 сут осуществляли криопротекцию в растворе сахарозы, после чего погружали в жидкий азот. Изготавливали криостатные срезы толщиной 7 мкм. Распределение флуоресцентно меченных клеток оценивали с помощью эпифлуоресцентного микроскопа. Результаты исследования показали, что меченые клетки располагаются в стенке III желудочка головного мозга, вблизи эпендимной выстилки и рядом с клетками сосудистого сплетения. Кроме того, меченые клетки находятся в боковых желудочках как поврежденного, так и неповрежденного полушария большого мозга. В отдельных случаях единичные флуоресцирующие клетки обнаружены вокруг некоторых мелких сосудов хвостатого ядра в поврежденном

полушарии. В контрольных группах в головном мозгу не было обнаружено флюоресцентно меченных клеток. Таким образом, после введения в кровоток МСК распределяются в эндиме желудочков мозга и около эндотелия ряда сосудов поврежденного полушария. Они, вероятно, оказывают опосредованное воздействие на поврежденные участки мозга. Известно, что МСК способны продуцировать *in vitro* и выделять в среду культивирования некоторые цитокины и ростовые факторы. Эти вещества могут стимулировать ангиогенез и поддерживать жизнеспособность нейронов в пограничной с повреждением зоне, оказывая терапевтическое воздействие.

74. *Юзина Н.Е.*

Российский Кардиологический научно-производственный комплекс МЗСР, Москва, Россия. E-mail: vorga7@yandex.ru

#### **РАЗВИТИЕ ИННЕРВАЦИИ СЕРДЦА ЧЕЛОВЕКА И КРОЛИКА В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**

Исследованы 5,5–10-недельные зародыши человека, а также зародыши кролика 14–19 сут внутриутробного развития. Применяли следующие методы исследования: импрегнацию нитратом серебра по Кахалю—Фаворскому и способу выявления холин- и адренергических элементов. При анализе препаратов зародышей человека установлено, что первые нервные сплетения обнаруживаются в сердце эмбрионов 5,5-недельного возраста, что совпадает с наблюдениями В.Н. Швалева и соавт. (1972). Вместе с тем, ацетилхолинэстераза и катехоламины в сердце зародыша человека выявляются лишь на 9–10-й неделе внутриутробного развития, что характеризует начало плодного периода. Исследования серийных срезов зародышей кролика показало наличие нервных сплетений в эпикарде предсердий и желудочков на 14-е сутки внутриутробного развития, однако начало медиаторного этапа в нервных сплетениях сердца зародышей (плодов) кролика происходит лишь на 18–19-е сутки. Обращает на себя внимание то, что формирование нервных сплетений в легких плода кролика в начале плодного периода развития несколько опережает развитие нервных терминалей в сердце. Эти наблюдения совпадают с данными Л.С.Новгородова (2006). Таким образом, в процессе формирования внутрисердечного нервного аппарата у зародышей как человека, так и кролика, следует различать домедиаторный и медиаторный этапы развития. У кролика определяется прохождение блуждающего нерва вдоль пищевода, а в составе сердца видны нервные сплетения, охватывающие аорту. От пучков этих сплетений отделяются тончайшие нервные терминали, часть которых пронизывают среднюю оболочку аорты, кроме того, эти же нервные пучки располагаются в эпикарде и отдают ветви к кардиомиоцитам. В перикарде, прилегающем к дуге аорты, наблюдаются ветвления нервных волокон. Видны также единичные нервные терминали на поверхности аорты.

75. *Иванов Н.М., Юсупов И.А.*

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия

#### **МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛОХАНОЧНО-МОЧЕТОЧНИКОВОГО СЕГМЕНТА И МОЧЕТОЧНИКА ПРИ ГИДРОНЕФРОЗЕ**

Гидронефроз — заболевание почки, характеризующееся прогрессирующим расширением чашечно-лоханочной системы в связи с нарушением оттока мочи и повышением гидростатического давления, атрофией паренхимы и ухудшением основных функций почки. Несмотря на большое количество исследований, посвященных изучению данного заболевания, многие вопросы остаются мало изученными. Одним из таких вопросов является характер изменений стенки мочеточника и его интрамурального нервного аппарата, что и явилось целью настоящего исследования. Для решения поставленной цели были изучены истории бо-

лезни 116 пациентов в возрасте от 15 до 82 лет, прошедших курс лечения в урологическом отделении муниципального учреждения здравоохранения «Городская больница №13» с диагнозом гидронефротическая трансформация (гидронефроз). Для изучения морфологических изменений стенки лоханочно-мочеточникового сегмента и мочеточника использовали материал, взятый после пластики с последующей окраской срезов гематоксилином—эозином и по ван Гизону. С целью изучения интрамурального нервного аппарата срезы импрегнировали нитратом серебра по методу Бильшовского—Грос. Среди причин возникновения гидронефроза на первом месте были камни мочеточников и почек. На втором месте были: добавочная почечная артерия, высокое отхождение мочеточника и травмы почек. Сопутствующая урологическая патология и осложнения наблюдались у всех обследованных больных, в том числе нефроптоз, киста почки, опухоли мочевого пузыря, хронический пиелонефрит, дистопия почки и ее удвоение. Как показали наши исследования, морфологические изменения стенки лоханочно-мочеточникового сегмента и мочеточников выражались в увеличении размеров гладких миоцитов, и коллагеновых волокон. Атрофические процессы сопровождались фиброзным перерождением стенки органов. На фоне прогрессирующего склероза в эластическом каркасе отмечались явления деструкции, особенно в подслизистой основе. Нейрогистологические исследования показали, что при гидронефрозе в интрамуральном нервном аппарате обнаруживается комплекс реактивно-дегенеративных изменений. При значительно выраженных признаках гидронефроза наблюдаются преимущественно дегенеративные изменения нервных элементов. Это позволяет рассматривать структурные нарушения нервных элементов лоханочно-мочеточникового сегмента и мочеточника как один из важных патогенетических механизмов гидронефроза. При этом нами установлено, что состояние внутриорганных нервных аппаратов зависит от длительности заболевания. В свою очередь, эти изменения приводят к нарушению перистальтики мочеточника и, следовательно, эвакуации мочи с последующим расширением лоханки и мочеточника.

76. *Ипекчян Н.М.*

Институт физиологии им. Л.А. Орбели АН, г. Ереван, Армения

#### **КОЛИЧЕСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КОРТИКО-РУБРАЛЬНЫХ ВОЛОКОН МОТОРНОЙ КОРЫ КОШКИ**

Изучено количественное распределение эфферентных волокон коркового представительства передних и задних конечностей кошки в красном ядре. Электролитически точно разрушали корковые представительства передних и задних конечностей кошки. Срезы мозга обрабатывали и окрашивали по методу Наута—Гигахс. Проводили соответствующую статистическую обработку количества дегенерированных волокон в красном ядре. Показано, что корковое представительство передних конечностей проецируется на всю протяженность красного ядра в росто-каудальном направлении. Максимальная проекция наблюдается в роstralной части красного ядра, на уровне фронталы А5 по Снайдеру. Количество эфферентных волокон, оканчивающихся в красном ядре, уменьшается в росто-каудальном направлении и в каудальной трети красного ядра на уровне фронталы А3 число волокон составляло приблизительно половину количества таковых, проецируемых на роstralную часть красного ядра (А5). Корковое представительство задних конечностей, в отличие от передних, проецируется на каудальную треть красного ядра (А3). Количество волокон в отмеченной части красного ядра совпадает с числом эфферентных волокон коркового представительства передних конечностей, оканчивающихся в каудальной части красного ядра. Такое превышение числа кортико-рубальных волокон представительства передних конечностей над таковым от задних, свидетельствует, вероятно, о большей функциональной значимости кортико-рубальных волокон в двигательных реакциях, осуществляемых передней конечностью.

77. Исламов Р.Р.<sup>1</sup>, Чельшев Ю.А.<sup>1</sup>, Мурашов А.К.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Казанский государственный медицинский университет, Россия. E-mail: islamru@yahoo.com; <sup>2</sup>Университет Восточной Каролины, США. E-mail: murashoval@mail.ecu.edu

#### РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ В РЕГУЛЯЦИИ АКСОННОГО ТРАНСПОРТА

Целенаправленные перемещения молекул в аксоне осуществляются специализированной транспортной системой, включающей магистральные трассы из микротрубочек и микрофиламентов, молекулы-шапероны, моторные и регуляторные белки. Для поддержания такой системы в рабочем состоянии требуются значительные затраты энергии и постоянное обновление «состарившихся агрегатов» транспортной машины. В настоящее время считается доказанным, что в аксоплазме локально осуществляется синтез различных белковых молекул. Более того, в последнее время появились данные, указывающие на механизмы регуляции внутриаксонного синтеза белка. Так, в аксоплазме выявлены компоненты, необходимые для посттранскрипционной блокады трансляции белка путем РНК-интерференции. Применение механизма РНК-интерференции в экспериментальной биологии послужило мощным толчком в исследованиях функциональной значимости продукта экспрессии гена в местах трансляции его информационной РНК, например в аксоне. В последнее время аксонный транспорт рассматривается как общая мишень цитотоксического действия продукта мутированного гена в патогенезе многих нейродегенеративных заболеваний. Накопление аберрантного белка в аксоплазме вызывает замедление аксонного транспорта, и как следствие, торможение всех остальных функций нейрона. Принимая во внимание тот факт, что вместе с аберрантным белком в аксоне накапливается также информационная РНК мутированного гена, становится очевидным, что с помощью РНК-интерференции можно остановить трансляцию аберрантного белка и таким образом уменьшить его цитотоксический эффект, вызванный замедлением аксонного транспорта. В наших исследованиях была показана возможность трансфекции короткой интерферирующей РНК (siRNA) в аксоны мотонейронов спинного мозга и прекращения трансляции желаемого белка. Мы установили, что siRNA, комплементарная мРНК нейрональной формы  $\beta$ -тубулина, локально ингибирует экспрессию тубулина в аксоплазме и вызывает структурные и функциональные повреждения в транспортной машине аксона мотонейронов спинного мозга мыши. Таким образом, применение РНК-интерференции в практической медицине открывает новое направление в генной терапии нейродегенеративных заболеваний, ассоциированных с накоплением цитотоксичного аберрантного белка в аксоплазме.

78. Кадийски Д., Светославова М.

Kadiysky D., Svetoslavova M.

Institute of Experimental Morphology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria. E-mail: dimkad@bas.bg

#### APPLICATION OF A PLANT LECTIN FOR VISUALIZATION OF SMALL NEURONAL SUBSET IN CNS DURING DEGENERATION

In this study, using *Vicia villosa* agglutinin/lectin (VVA), we have immunohistochemically examined tissue sections from Carnoy fixed and paraffin embedded hamster brain from both scrapie-infected animals and healthy controls. *Vicia villosa* agglutinin, or *Vicia villosa* lectin (VVA) is a member of the family of tetrameric glycoproteins similar in structure to Peanut agglutinin and *Griffonia simplicifolia* lectin widely applied in CNS lectin immunohistochemistry. Biotinylated VVA labels immunohistochemically a distinct brain structure — the relatively small subset of the GABA-ergic cells with neuronal morphology. We apply VVA immunohistochemistry during progression of

degenerative changes in experimental prion disease using light and interferential contrast microscopy. Structural and stage-dependent specificities of the VVA stained neuronal subclass is firstly investigated on this model by lectin immunohistochemistry. Changes in morphology and the dynamics of topographical profiles of the brain VVA (+) are described and discussed. Light microscopy including interferential contrast microscopy (Nomarski optics) demonstrates that adult degenerative brain as well as control healthy brain contain considerable number of cells with cell body outline strongly positive for VVA. A moderate decrease in cell density of this neuronal subset is registered during the progress of degenerative changes in CNS. The checking of the density of the comparatively small VVA (+) subclass of neurons in CNS is very convenient tool for studying any reduction of resident brain population (caused by neuronal death) and for estimation of the earliest changes in their morphology. The decrease in the number of the VVA (+) cells during degenerative brain changes concerns all the regions studied — cortex, thalamus and hippocampus. A relatively high reduction is found in the cortical layers.

79. Квитницкая-Рыжова Т.Ю., Михальский С.А.

Институт геронтологии АМН, г. Киев, Украина. E-mail: morphology@geront.kiev.ua

#### МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЭМОЦИОГЕННЫХ ЗОНАХ ГИПОТАЛАМУСА ПРИ СТАРЕНИИ И В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

При изучении процессов старения мозга особый интерес представляют вентромедиальное ядро (ВМЯ) и латеральная гипоталамическая область (ЛГО), играющие важную роль в регуляции вегетативно-эмоциональных проявлений стресса и находящиеся в реципрокных взаимоотношениях. Цель данной работы — изучить структурные особенности старения ВМЯ и ЛГО крыс, а также возрастные структурные проявления их реакции на эмоционально-болевого стресс (ЭБС). Методами световой, электронной микроскопии, иммуногистохимии, ультрацитохимии и морфометрии проведена сравнительная оценка возрастных изменений ВМЯ и ЛГО крыс-самцов линии Wistar трех возрастных групп — взрослые (8 мес), старые (27 мес) и очень старые (32 мес). ЭБС моделировали на 8- и 27-месячных крысах методом Ф.П.Ведяева и Т.М.Воробьевой (1983): на протяжении 2 нед по 10 мин каждый день. Обнаружено, что в ВМЯ численная плотность нейронов не изменялась при старении (с 8 до 27 мес), уменьшаясь лишь у очень старых крыс (32 мес). В ЛГО значения этого показателя снижались уже у старых животных, оставаясь неизменными у очень старых, т. е. процесс возрастной потери нейронов происходил раньше, чем в ВМЯ. При том, что общее количество нейронов ВМЯ до 27 мес не изменялось, их качественный состав менялся: за счет уменьшения числа неизмененных форм нарастало число гиперхромных и, особенно, вакуолизированных. У очень старых крыс число деструктивно измененных нейронов нарастало еще больше. В ЛГО, наряду со снижением общего количества нейронов при старении, снижалось число неизмененных форм и увеличивалось число вакуолизированных. У очень старых крыс еще больше уменьшалось число неизмененных и увеличивалось число вакуолизированных деструктивных форм. Численная плотность глиоцитов уменьшалась в ВМЯ лишь у очень старых крыс (в основном за счет сателлитных глиоцитов) и в той же мере, что и численная плотность нейронов. В ЛГО количество свободных и сателлитных глиоцитов оставалось стабильным во всех возрастных группах. Глиальный индекс в ВМЯ с возрастом изменялся несущественно, что может свидетельствовать о возрастной стабильности нейрон-глиальных взаимосвязей в этом ядре, в отличие от ЛГО, где значения этого показателя увеличивались с возрастом. При старении отмечалось снижение показателей активности щелочной фосфатазы в стенке капилляров, что было значи-

тельнее выражено в ЛГО, чем в ВМЯ. Увеличение содержания белка S100B в глиоцитах при старении также происходило раньше и было более демонстративным в ЛГО, чем в ВМЯ. При ЭБС, как в ВМЯ, так и в ЛГО, общее количество нейронов не изменялось. Вместе с тем изменялся качественный состав клеточной популяции, и распределение клеток по типам у взрослых стрессированных животных соответствовало распределению у старых интактных, что можно считать морфологическим проявлением стресс-возраст синдрома. При ЭБС в обеих зонах гипоталамуса уменьшались количество глиоцитов и глиальный индекс, но в ВМЯ он снижался почти одинаково и у взрослых, и у старых крыс, а в ЛГО — лишь у старых. Итак, возрастные деструктивные изменения всех элементов комплекса нейрон—глия—капилляр в ЛГО развиваются раньше, чем в ВМЯ. Вследствие этого могут нарушаться внутригипоталамические взаимосвязи, что может быть причиной преобладания отрицательных эмоций, некоторых видов артериальной гипертензии и других функциональных нарушений, которые наблюдаются при старении. Установлено сходство морфологических проявлений старения и стресса, что выражалось в изменении качественного состава нейронов, накоплении в них липофусцина и развитии гидропических нарушений в ВМЯ и ЛГО.

80. Ким А.И., Миролюбов Л.М., Маргарян Р.С.

Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ СР, Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН, Москва, Россия.

#### **ОСОБЕННОСТИ ИННЕРВАЦИИ СЕРДЦА У НОВОРОЖДЕННЫХ И ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА**

В настоящее время отмечается тенденция к возрастанию частоты врожденных пороков сердца (ВПС), учитывая, что увеличилась вероятность и улучшилось качество их внутриутробной диагностики. Нами с помощью нейрхимических методов проведены исследования операционного биопсийного материала сердец новорожденных и детей первого года жизни с ВПС. Применяли методы импрегнации срезов нитратом серебра. Кроме того, использовали методы выявления парасимпатических (холинергических) структур по Карновскому, а также симпатических (адренергических) нервных сплетений флюоресцентным методом в модификации В.Н.Швалева и Н.И.Жучковой (1979). Установлено, что нервный аппарат сердца изменяется при дефекте межжелудочковой перегородки (ДМЖП) и тетраде Фалло (ТФ), но изменения безмиелиновых и миелиновых нервных волокон выражены в меньшей степени, чем при таких пороках как транспозиция магистральных артерий, двойное отхождение сосудов от правого желудочка, атрезия легочной артерии. Известно, что при ДМЖП и ТФ выживаемость оперированных детей выше, чем при других более тяжелых по течению ВПС. При люминесцентной микроскопии адренергические волокна, обнаруживаемые при ВПС, имеют сниженную флюоресценцию, отдельные нервные терминалы дегенерируют.

81. Ковригина Т.Р., Филимонов В.И.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия. E-mail: fil@yma.ac.ru

#### **ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ДЕСИМПАТИЗАЦИИ И ДЕАФФЕРЕНТАЦИИ НА ПОСТНАТАЛЬНУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ НЕЙРОМЫШЕЧНОГО СИНАПСА ИКРОНОЖНОЙ МЫШЦЫ БЕЛОЙ КРЫСЫ**

Целью настоящего исследования явилось изучение постнатального развития холинэстеразы (ХЭ)-позитивной зоны нейромышечного синапса (НМС) в икроножной мышце белой крысы при сочетанной химической десимпатизации и деафферентации. Исследование проведено на 36 белых крысах 10-, 14-, 21-, 30-, 60- и 90-суточного возраста. Для

достижения денервации крысам однократно на 2-е сутки после рождения подкожно вводили капсаицин (100 мг/кг) с последующим ежедневным введением с 3-х по 40-е сутки внутривенно раствора гуанетидина (60–70 мг/кг). Контролем служили интактные и десимпатизированные животные. Объектом исследования служила ХЭ-позитивная зона НМС медиальной головки икроножной мышцы, выявляемая гистохимическим методом с тиюксусной кислотой в модификации. Установлено, что неонатальная химическая десимпатизация вызывает ускорение дифференцировки ферментоактивных зон (ФАЗ) НМС и характеризуется в отдаленные сроки качественными отличиями от таковой в мышце интактных животных: наряду с возрастной деструкцией, выраженной в большей степени, отмечена компенсаторная реакция, проявляющаяся усложнением простых структур ФАЗ, разрастанием трабекул сложных ФАЗ, появлением отдельных глобул ферментативной активности, отражающая спраутинг аксонов мотонейрона. Десимпатизация оказывает на НМС преходящее влияние, замедляющее рост его размеров, сменяющееся интенсивным их увеличением. Малые размеры сечения области НМС десимпатизированных животных первых недель жизни соответствуют меньшим значениям диаметра мышечного волокна (МВ) в 14- и 21-суточном возрасте. Позднее разница в толщине МВ была не существенна, но в 3-месячном возрасте МВ были тоньше, чем у интактных животных. Соотношение диаметра МВ и области сечения НМС, расположенных на них, достигало контрольных значений к 3-месячному возрасту. Часть МВ теряли поперечную исчерченность и замещалась жировой тканью. Отмеченная гипертрофия НМС у десимпатизированных животных приводит к разбалансировке согласованного в норме роста МВ и его двигательного окончания. Характерными для разработанной модели сочетанной химической денервации в 1-й месяц после рождения были меньшие размеры ХЭ-позитивных зон НМС. К 2-месячному возрасту различия в площади сечения НМС со сложной и простой ФАЗ нивелировались со значениями аналогичных показателей у десимпатизированных животных. Малые размеры сечения области НМС в 14-суточном возрасте соответствовали меньшим значениям диаметра МВ. Позднее разница в величине диаметра МВ не была существенна. Однако с 1-месячного возраста выявлялась жировая дистрофия МВ, отмечаемая у десимпатизированных животных с 3-месячного возраста. Соотношение диаметра МВ и области сечения НМС достигало значений у десимпатизированных животных к 2-месячному возрасту. Совокупная площадь ФАЗ, приходящихся на одно МВ, во все исследуемые периоды была значимо ниже, чем у интактных и десимпатизированных крыс. Динамика изменений ХЭ-позитивной зоны НМС свидетельствует об ускорении появления качественных признаков, характеризующих периоды ее дефинитивного состояния и возрастной деструкции, свойственной десимпатизированному животному, но отмечено снижение активности фермента до следовой во все исследуемые периоды, выявляемой у десимпатизированных крыс с 2-месячного возраста. Нормализации обнаруженных отклонений в развитии МВ и НМС денервированной икроножной мышцы не отмечено до конца наблюдения.

82. Коева И.А., Бакальска М.В., Атанасова Н.Н., Давидов М.С.  
Koeva Y.A., Bakalska M.V.<sup>1</sup>, Atanassova N.N.<sup>1</sup>, Davidoff M.S.<sup>2</sup>

Department of Anatomy, Histology and Embryology, Medical University-Plovdiv, Bulgaria, <sup>1</sup>Institute of Experimental Morphology and Anthropology, Bulgarian Academy of Sciences-Sofia, Bulgaria; <sup>2</sup>Institute of Anatomy, University of Hamburg, Germany. E-mail: yvetta\_k@abv.bg

#### **NEURONAL MARKERS IN REGENERATING RAT LEYDIG CELLS AFTER TREATMENT WITH ETHANE DIMETHANE SULPHONATE**

Ethane-1,2-dimethanesulphonate (EDS) is a unique testicular toxicant which selectively and temporary destroys testicular

Leydig cells (LC). Later a new population of LC regenerates, apparently from mesenchymal fibroblast-like precursors. The restoration of new LC population after EDS passed through the same intermediate stages which occurred during normal postnatal development. For this reason EDS model has been used extensively to investigate the physiological role of different factors in the processes of LC regeneration and differentiation. The present study was aimed to establish whether regenerating LC possess immunoreactivity for neurotrophic factors comparable to that of adult LC and their specific receptors. Testes of mature Wistar rats were used that received single intraperitoneal injection of EDS (75 mg/kg body weight). The animals were killed 1, 7, 14, 21 and 35 days after initial treatment. The expression pattern of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), neurotrophin-3 (NT-3), glial-cell line neurotrophic factor (GDNF) and their specific receptors trkB, trkC and GFRa1 in newly formed LC after EDS treatment was established using specific polyclonal antibodies and highly sensitive immunohistochemical ABC detection kit. The results obtained demonstrate that the regenerating LC show similar immunoreactivity for the above mentioned neuronal antigens as developing and adult LC suggesting the common origin of the prenatal and postnatal LC population. The present findings support the presumption for a role of locally produced factors in the LC development and suggest that in addition to other growth factors, neurotrophic factors are involved in the differentiation processes in testis.

83. Коева И.А., Сивков С.Т., Акабадиев В.Х., Костадинов И.Д., Георгиева В.Г., Денева Т.И., Иванова Р.Ж.

Koeva Y.A.<sup>1</sup>, Sivkov S.T.<sup>1</sup>, Akabaliev V.H.<sup>2</sup>, Kostadinov I.D.<sup>3</sup>, Georgieva V.G.<sup>4</sup>, Deneva T.I.<sup>5</sup>, Ivanova R.J.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Anatomy, Histology and Embryology,

<sup>2</sup>Department of Psychiatry and Medical Psychology,

<sup>3</sup>Department of Pharmacology, <sup>4</sup>Department of Radiology,

<sup>5</sup>Department of Clinical Laboratory, Medical University Plovdiv, Bulgaria. E-mail: yvetta\_k@abv.bg

#### BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR IN BRAIN OF RATS IN EXPERIMENTAL MODEL OF SCHIZOPHRENIA

Schizophrenia is a complex disorder, which is characterized by disturbed information processing and variety of psychotic symptoms such as hallucinations and delusions. The maldevelopmental model of schizophrenia postulates pathological alterations in embryonic neurogenesis as the etiopathogenetic basis of schizophrenic psychoses. The neurotrophic factor hypothesis explains these neuropathological abnormalities as the result of alterations of the neurotrophin system caused by different mechanisms such as genetic, infectious and traumatic factors. The aim of the present study was to establish the immunohistochemical expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in the hippocampal formation of male rats in experimental model of schizophrenia. 7 days old male Wistar rats were divided into two groups: control and lesioned animals. Through a Hamilton needle the glutamatergic agonist ibotenic acid solution in lesioned rats or artificial physiological solution in control animals were infused bilaterally into the hippocampal formation. 35 and 56 days old control and lesioned animals were perfused intracardially with Zamboni's fluid. The brain was removed immediately and prepared for immunohistochemistry and routine morphological analysis. Using ABC immunohistochemical technique on cryostat coronal sections from brain blocks, in which the hippocampus is located, reduced immunoreactivity for BDNF was found in the hippocampal formation of lesioned rats compared to the control animals. The results obtained are additional evidence in support of the neurodevelopmental model and neurotrophic factor hypothesis for schizophrenia.

84. Козлов В.И., Цехмистренко Т.А., Черных Н.А.

Российский университет Дружбы народов; Институт возрастной физиологии Российской академии образования, Москва, Россия. E-mail: anatomy@med.rudn.ru

#### ПЕРИОДЫ СТРУКТУРНЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ АНСАМБЛЕВОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КОРЫ БОЛЬШОГО МОЗГА И КОРЫ МОЗЖЕЧКА ЧЕЛОВЕКА В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ ПО ДАННЫМ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

С целью выявления периодов развития ансамблевой организации экранных структур мозга методами компьютерного анализа оптических изображений, вариационной статистики и морфометрического синтеза [Стефанов С.Б., 1989] на препаратах, окрашенных по Нисслю, импрегнированных нитратом серебра по Петерсу и Гольджи, в годовых интервалах (1-й год жизни — по месяцам) исследованы преобразования цито-, фиброархитектоники и ансамблевой организации коры лобной области большого мозга (поля 44, 45, 8, 10 и 32/10) и коры мозжечка в 17 функционально различных корковых зонах у людей от рождения до 20 лет (118 наблюдений), при этом каждая из 21 возрастной группы описана по 30 количественным признакам. В постнатальном онтогенезе можно выделить 3 периода развития лобной области коры большого мозга: 1-й период — от рождения до 6 лет, 2-й — от 7 до 12 лет, 3-й — от 13–14 до 20 лет. Для коры мозжечка также характерны три качественно отличающихся периода развития: первый — от рождения до 5 лет, второй — от 6 до 12 лет, третий период совпадает по срокам с аналогичным периодом развития коры лобной области. От рождения до 5–6 лет в экранных структурах мозга доминируют процессы роста и дифференцировки, преобладают жесткие (доминантные) системные связи, детерминирован маловариантный характер развития. Структурные изменения фронтальной коры и коры мозжечка на разных системных уровнях синхронизированы. Увеличиваются толщина коры и слоев, размеры нейронов всех типов, дифференцируется их форма, нарастают площади профильных полей клеточных группировок в ансамблеобразующих корковых слоях; уровень их индивидуальной вариативности относительно низкий. От 6–7 до 12 лет доминируют процессы дифференцировки и специализации, интенсивно формируются гибкие (вероятностные) связи, детерминировано поливариантное развитие. Структурные изменения на разных системных уровнях имеют гетерохронный характер. Продолжается утолщение менее интенсивными темпами коры и слоев, увеличение размеров нейронов, площади клеточных группировок, усложняются проксимальные дендритные рамификации и увеличивается их длина. Волокнистый компонент наиболее развит в коре мозжечка, а также в глубоких слоях лобной коры. От 13 до 20 лет доминируют процессы специализации, преобладают вероятностные связи. Структурные изменения на разных системных уровнях постепенно стабилизируются. Среднестатистические показатели толщины коры и слоев не изменяются, варьируя индивидуально. Выявляются наиболее крупные нейроны всех типов. Волокнистый компонент коры хорошо развит в верхних слоях лобной коры. Установлено, что качественные изменения внутрисистемных взаимоотношений корковых формаций полушарий большого мозга наблюдаются от 8 до 9–10 лет, в коре мозжечка — от 6 к 7 годам преимущественно за счет нарастания внутрикорковых связей. В указанные сроки структурные преобразования коры большого мозга и мозжечка связаны, в основном, с усложнением фиброархитектоники, в том числе с развитием аксональных сплетений и дендритных рамификаций интернейронов ансамблеобразующих слоев. К 14–16 годам происходит окончательное оформление ансамблевой организации корковых формаций, отмечается формирование дистальных отделов дендритных и аксонных арборизаций с наивысшими порядками ветвления, завершаются

процессы специализации наиболее мелких интернейронов гранулярных и ансамблеобразующих слоев.

85. Колесник Ю.М., Лебедь Ю.В., Абрамов А.В.

Запорожский государственный медицинский университет, Украина. E-mail: lebed@patho.zsmu.edu.ua

#### **ПОСТНАТАЛЬНЫЙ МОРФОГЕНЕЗ ВАЗОПРЕССИН-ЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА В НОРМЕ И ЕГО МОДИФИКАЦИЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА**

Паравентрикулярное ядро (ПВЯ) гипоталамуса является одним из главных источников синтеза вазопрессина — нейрогомона, обеспечивающего нейроэндокринную регуляцию стрессорного ответа. В эмбриональный период морфогенез пептидэргических систем мозга является чувствительным к действию гормонов плацентарного происхождения, материнского организма и гормонов самого плода. Следовательно, стресс, испытываемый плодом во время внутриутробного периода развития, является фактором, который способен модифицировать морфогенез пептидэргических систем мозга. Цель нашей работы — изучить закономерности формирования вазопрессин-синтезирующих нейронов ПВЯ у нормальных и пренатально стрессированных крыс. Пренатальный стресс моделировали ежедневной жесткой 1-часовой иммобилизацией беременных самок линии Вистар в течение последней трети беременности. Изучали потомство мужского пола нормальных и стрессированных крыс, достигших возраста 1 сут, 2 нед, 1 и 5 мес. Мозг животных на 1 сут помещали в фиксатор Буэна и заливали в парафин. Вазопрессин в серийных фронтальных срезах гипоталамуса выявляли методом непрямой иммунофлюоресценции с последующей количественной оценкой с использованием системы анализа изображения VIDAS-386. У новорожденных самцов в норме вазопрессин выявлялся только в крупноклеточных нейронах заднелатерального субъядра (Зл-ПВЯ), а к 2-недельному возрасту также в заднемедиальном крупноклеточном (Зм-ПВЯ) и медиальном мелкоклеточном (ММ-ПВЯ) субъядрах. Вплоть до половозрелого возраста (5 мес) в ПВЯ увеличивались количество вазопрессин-иммунопозитивных нейронов, их площадь, концентрация нейрогомона в клетках и его содержание в ПВЯ. У пренатально стрессированных животных наблюдалось замедление развития вазопрессинэргической системы ПВЯ, и количество иммунопозитивных нейронов в Зл-ПВЯ у новорожденных было в 2 раза меньше, чем в норме. Тем не менее, к 2-недельному возрасту количество крупных вазопрессин-содержащих нейронов у них примерно в 4 раза превышало показатели в норме. Однако, к 1-месячному возрасту происходило уменьшение количества крупных иммунопозитивных нейронов и снижение концентрации в них вазопрессина ниже показателей в норме. Такая депрессия показателей сохранялась вплоть до половозрелого периода (5 мес). В отличие от крупноклеточных субъядер, количество вазопрессин-иммунопозитивных нейронов в ММ-ПВЯ к 2-недельному возрасту становилось в 2 раза, а к 1-месячному возрасту в 4 раза больше, чем у нормальных животных, без последующего изменения их численности вплоть до 5 мес жизни. Однако, если в норме в период с 1-го по 5-й месяц жизни наблюдается значительный (в 7 раз) прирост суммарного содержания вазопрессина в ММ-ПВЯ, то у пренатально стрессированных крыс отмечается депрессия данного показателя и содержание нейрогомона в этой структуре к 5-месчному возрасту более чем в 2 раза ниже нормы. Итак, постнатальный онтогенез характеризуется постепенным увеличением численности вазопрессин-иммунопозитивных нейронов в ПВЯ у нормальных крыс. Пренатальный стресс приводит к угнетению морфогенеза и снижению активности вазопрессинэргической системы ПВЯ.

86. Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Гиляров А.В., Ленцман М.Е., Власов Т.Д.

Институт экспериментальной медицины РАМН, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: iem@iem.ru

#### **РЕВЕРСИЯ ЭМБРИОНАЛЬНОГО ФЕНОТИПА ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПОД ВЛИЯНИЕМ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ОБЩЕЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

Известно, что в пренатальный период онтогенеза в клетках нейрального (радиальные глиоциты, нейральные стволовые клетки) и мезенхимного (эндотелиоциты капилляров) происхождения обнаруживается особый белок промежуточных филаментов — нестин. В постнатальный период онтогенеза синтез нестина в клетках головного мозга по мере их дифференцировки постепенно прекращается. Появление в головном мозгу взрослых млекопитающих после травмирующего воздействия клеток, содержащих нестин, обычно связывают с активацией пролиферации нейральных стволовых клеток. Цель настоящего исследования состояла в определении морфологических типов и областей локализации клеток головного мозга крысы, экспрессирующих нестин, после кратковременной общей ишемии головного мозга. Для создания ишемии головного мозга у крыс использовали двухсосудистую модель. На парафиновых срезах иммуноцитохимически выявляли нестин и глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) с помощью моноклональных (Rat 401, BD Pharmingen, США) и поликлональных (DakoCytomation, Дания) антител. Установлено, что в головном мозгу в постнатальном периоде, начиная с 3 сут, обнаруживаются клетки, дающие положительную реакцию на нестин. Большинство из них имеют морфологические признаки астроцитов и располагаются в гиппокампе в зоне повреждения нервных клеток. Сходное строение характерно и для активированных астроцитов, содержащих GFAP. Часть нестин-позитивных клеток имеют атипичные толстые отростки. Помимо активированных астроцитов, нестин обнаруживается и в таницитах, сохраняющих морфологическое сходство с радиальными глиоцитами, существующими в период эмбриогенеза. Таким образом, после кратковременной общей ишемии в головном мозгу крысы происходит реверсия эмбрионального фенотипа астроглиальных клеток. Учитывая необходимость активации миграционных процессов в головном мозгу в очаге частичного повреждения, можно предполагать, что экспрессия нестина в астроцитах после ишемического воздействия связана с обеспечением миграции нейральных стволовых клеток, микроглиоцитов или коммитированных клеток-предшественников в зоны локальной дегенерации нервных клеток. Это предположение подтверждается полученными данными, поскольку большая часть нестин-позитивных астроцитов выявляются в цитоархитектонической зоне гиппокампа (CA1), которая наиболее чувствительна к ишемическому повреждению.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (05-04-49397, 05-04-08072-офи).

87. Корсакова Н.В., Сергеева В.Е., Петров С.Б.

Чувашский государственный университет, г. Чебоксары; Казанский государственный медицинский университет, Россия. E-mail: kors@chuvsu.ru

#### **ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ $\alpha$ -ГЛАДКОМЫШЕЧНОГО АКТИНА КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ХРУСТАЛИКА В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ ВИДОВ ВОЗРАСТНОЙ КАТАРАКТЫ**

В опытах in vitro доказано [Saika S. et al., 2003], что эпителиальные клетки хрусталика после экспериментального повреждения подвергаются трансформации в миофибробласты, дающие реакцию с антителами к  $\alpha$ -гладкомышечному актину ( $\alpha$ -SMA). Произведено сравнительное исследование

дование человеческих хрусталиков, пораженных возрастной корковой и ядерной катарактой. Материал для исследования получен в ходе планового хирургического лечения катаракты у 10 мужчин в возрасте 60–70 лет. Иммуногистохимически с использованием антител к  $\alpha$ -SMA in vivo изучены изменение фенотипа и особенности экспрессии  $\alpha$ -SMA клетками человеческого хрусталика в условиях разных видов возрастной катаракты. Установлено, что при ядерной катаракте выявляется позитивная реакция на  $\alpha$ -SMA в области ядра хрусталика, которая имеет диффузный и очаговый характер. При этом клетки переднего эпителия хрусталика, а также хрусталиковые волокна, формирующие корковый отдел хрусталика, не демонстрируют специфического окрашивания. Срезы хрусталиков, пораженных корковой катарактой, демонстрируют негативную реакцию на  $\alpha$ -SMA как в корковых, так и в ядерных отделах хрусталика. Таким образом, по-видимому, экспрессия  $\alpha$ -SMA, и связанное с ней изменение фенотипа клеток хрусталика, имеют значение в этиопатогенезе, прежде всего, ядерной катаракты.

#### 88. Косицын Н.С.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия. E-mail: kositzyn@hotmail.ru

#### СТРУКТУРНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ В МЕЖНЕЙРОНАЛЬНЫХ СИНАПСАХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ

Впервые получены ультраструктурные и цитохимические корреляты активации мозга при умеренной гипоксии, что выражается в перераспределении белка из цитоплазмы нейронов в их примембранную область. Установлено, что эти процессы могут происходить в результате увеличения синтеза NO. Показано, что наиболее эффективно такое перераспределение белка может осуществляться в области активных зон синапса, что выражается в увеличении их протяженности и конформационной перестройке вещества синаптической щели. Предполагается, что эти процессы приводят к возникновению неспецифической эндогенной потенциации синапсов. Эти перестройки являются универсальными, возникают при действии различных экстремальных факторов и могут рассматриваться как отражение неспецифической активации мозга в ряду известных компонентов адаптационной реакции.

Работа поддержана грантом РФФИ 04-04-49398-а.

#### 89. Красников Г.В., Красникова И.В., Краснов И.Б.<sup>1</sup>

Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого; <sup>1</sup>Институт медикобиологических проблем РАН, Москва, Россия. E-mail: phisiologia@tspu.tula.ru

#### КОМПЕНСАТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ГИПЕРГРАВИТАЦИИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРЕБЫВАНИЯ В УСЛОВИЯХ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Исследование возможных способов компенсации негативных последствий длительного пребывания в условиях невесомости для структур мозга, является одной из важнейших задач космической медицины. В наземных условиях некоторые воздействия микрогравитации на нейроны, контролирующие движения, можно смоделировать на животных в условиях вывешивания в антиортостатическом положении (АНОП) при длительном отсутствии опорной и уменьшении двигательной нагрузки на задние конечности. Целью данной работы было исследование компенсаторных возможностей воздействия гипергравитации (2G) на грушевидные клетки верхней центральной дольки червя мозжечка при вывешивании в АНОП. Данная структура является представителем мышц задних конечностей. Гипергравитационное воздействие осуществлялось при вращении на центрифуге (ЦФ) в режиме 1 ч в день в течение 15 сут. После декапитации животных мозжечок фиксировали методом

погружения по стандартной методике [Wong-Riley M.T.T., 1979] и замораживали в жидком азоте. Анализ проводили с помощью телевизионно-компьютерного микроскопа на криостатных срезах толщиной 15 мкм. Оценивали морфометрические показатели нейронов и активность цитохром-оксидазы (ЦО) методом оптической денситометрии. Инкубацию срезов для определения активности ЦО проводили по стандартной методике [Wong-Riley M.T.T., 1979]. Уменьшение афферентного притока от задних конечностей приводит к гипопункции исследуемых нейронов мозжечка, о чем свидетельствует уменьшение площади сечения клетки, а также снижение оптической плотности. Вращение вывешенных в АНОП крыс на центрифуге приводит к возвращению морфо- и денситометрических характеристик исследуемых нейронов к исходному уровню. Наиболее значимые результаты исследования представлены в таблице. Таким образом, наши исследования показали, что использование кратковременного воздействия гипергравитации при указанных условиях позволяет компенсировать вызванные вывешиванием в АНОП изменения в нейронах.

| Показатели                         | Контрольная группа | АНОП        | АНОП+ЦФ     |
|------------------------------------|--------------------|-------------|-------------|
| Площадь клетки (мкм <sup>2</sup> ) | 316±5              | 298±4       | 338±6       |
| Оптическая плотность (%)           | 0,360±0,0020       | 0,310±0,004 | 0,340±0,004 |

90. Краснощекова Е.И.<sup>1</sup>, Самарина А.С.<sup>1</sup>, Федосеева К.Н.<sup>1</sup>, Агеевков М.А.<sup>1</sup>, Смолина Т.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет; <sup>2</sup>2-я детская больница, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: elfil@mail.ru

#### СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ КОРЫ ВИСОЧНОЙ ОБЛАСТИ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

Структурно-функциональная организация коры полушарий эмбрионального мозга существенно отличается от таковой зрелого мозга, а процесс ее становления характеризуется несколькими критическими периодами, в течение которых кора высоко уязвима. Один из таких периодов знаменуется присутствием временной эмбриональной структуры — субпластинки (sp). Данная структура, наравне с маргинальным слоем, формируется из препластинки и на протяжении всего периода своего существования образует временные синаптические связи со всеми кортико-петальными афферентными волокнами [Kostovic et al., 1990, 2002]. sp существует в эмбриональной коре всех млекопитающих, и в разные сроки, в зависимости от длительности периода внутриутробного развития, ее нейроны претерпевают частичную, генетически запрограммированную, элиминацию [Rakic, 2005]. У человека этот процесс происходит пренатально, начинается с 28-й недели и, по разным данным, заканчивается к 34–40-й неделе. В случае гипоксических и других неблагоприятных воздействий процесс запрограммированной гибели нейронов sp не осуществляется. Следствием этого является последующая патология неокортекса, сопровождающаяся дефицитом сенсорной, моторной и когнитивной функций [Fatemi, 2001; Beasley et al., 2002]. Несмотря на большой интерес к данной проблеме, точные сроки дифференцировки и критерии структурного выделения sp в коре мозга человека до конца не исследованы. Цель данной работы состояла в определении цитоархитектонических критериев выделения sp, для этого была изучена верхняя височная подобласть коры мозга 10 плодов человека от 16 до 40 нед развития. Материал заливали в парафин, срезы мозга окрашивали по Нисслю, после оцифровки препаратов определяли оптическую плотность слоев, производили морфометрию коры. У плодов 16–18 нед

развития кора отчетливо подразделяется на маргинальную зону (слой  $e_i$ ), корковую пластинку ( $cp$ ) и  $sp$ . Последняя отделена от  $cp$  узким просветлением и отличается высокой плотностью расположения клеток верхней зоны ( $sp_u$ ). Период с 20-й по 28-ю неделю характеризуется закономерным увеличением толщины коры и расслоением  $sp$ . Последнее в это время отличается от такового в зрелой коре и характеризуется чередованием очень плотноклеточных и более разреженных слоев. Плотноклеточными и, следовательно, обладающими высокой оптической плотностью являются: наружный край  $sp$  — слой  $e_{ii}$  и верхняя зона  $sp$  —  $sp_u$ . Слои сравнительно редкочеточные и с низкой оптической плотностью — это слой  $e_{iii}$  и недифференцированный комплекс слоев  $ev+evi$ . Начиная с 30-й недели, помимо продолжающегося утолщения коры, наблюдается постепенное снижение оптической плотности слоя  $e_{ii}$  и  $sp_u$ . Последняя к 33-й неделе развития перестает отличаться по плотности от вышележащего слоя  $evi$ . У плодов, начиная с 36-й недели, височная область характеризуется типичным для взрослого мозга расслоением коры, в которой можно выделить 6 цитоархитектонических слоев, при этом различия в их оптической плотности выражены слабо. Таким образом, во второй половине пренатального онтогенеза, по мере возрастания толщины коры, наблюдается переход от эмбрионального расслоения  $sp$  к типичному ее расслоению. При этом снижается плотность расположения клеток в слое  $e_{ii}$  — наружном крае  $sp$ , и  $sp_u$  — верхней зоне  $sp$ . Сравнивая два показателя, относительную оптическую плотность слоя  $e_{ii}$  —  $\Delta te_{ii}$  и субпластинки —  $\Delta t_{sp_u}$ , отмечали их положительную корреляцию. Последняя в дополнение к данным по нейронной организации  $sp$ , может быть использована как структурный критерий выделения  $sp$ .

*Работа выполнена при финансовой поддержке РГНФ (грант №04-06-00422а).*

#### 91. Кузнецова Т.В., Зайцева О.В.<sup>1</sup> Маркосова Т.Г.<sup>1</sup>

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, <sup>1</sup>Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: OVZaitceva@inbox.ru

#### РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ NADPH-ДИАФОРАЗЫ В СТРУКТУРАХ ТОРАКАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ И В НЕРВНОМЫШЕЧНЫХ ОКОНЧАНИЯХ КРЫЛОВОЙ МЫШЦЫ САРАНЧИ LOCUSTA MIGRATORIA L.

В настоящее время показана роль окиси азота (NO) как нейротрансмиттера в ЦНС ряда позвоночных и беспозвоночных животных. В ЦНС NADPH-диафороа действует через активацию гуанилатциклазы, циклогеназа, протеинкиназы С. Имеются данные, что NO задействуется в нейрональном развитии, процессах апоптоза, памяти, контроле кровотока у позвоночных животных. С помощью гистохимической процедуры, позволяющей выявить активность NADPH-диафороа, изучали представительство NO-синтазо-позитивных структур в брюшной нервной цепочке и крыловой мышце 112 особей (основной депрессор крыла) перелетной саранчи *Locusta migratoria* L. сразу после имажинальной линьки, когда насекомое еще не способно к стабильному полету. Выявлены особенности распределения таких структур в про-, мезо- и метаторакальном ганглиях. Отмечены скопления окрашенных клеточных тел в передне-коннективной области всех трех ганглиев груди. В мезо- и метаторакальном ганглиях такие клетки могут быть идентифицированы как мотонейроны 1-х сегментарных нервов, и содержат от 4 до 5 клеточных тел. Сложнее обстоит дело с идентификацией выявленных нейрональных отростков в области основного нейропила мезоторакального ганглия. Такие структуры лежат в непосредственной близости к медиальному дорсальному тракту и содержат разветвленные дендритические ветви. Проводящие волокна этого продольного тракта в проведенных нами исследованиях никогда не окрашивались ни в одном из торакальных ганглиев. В мезоторакальном ганглии в латеральной заднеконнективной

его области выявлена четко локализованная группа NADPH-диафороа-позитивно окрашенных тел мотонейронов, по-видимому, 4-го сегментарного нерва. В метаторакальном ганглии оказались окрашены не только мотонейроны 1-го нерва, но и клетки в 3-м и 4-м нейромерах этого ганглия. Так, в 3-м нейромере выделено 9–10 крупных нейронов, расположенных напротив выхода из ганглия непарного нерва 3-го нейромера, а в 4-м нейромере выявлены 3 крупные (по-видимому, нейросекреторные) клетки. При проведении гистохимической процедуры на мышце 112 особей саранчи показано наличие NADPH-диафороа-позитивных локусов в областях окончаний двигательного нерва на волокнах этой мышцы. Окрашенными оказались и многочисленные чувствительные клетки трахей, подходящих к волокнам этой мышцы. Обсуждается роль NO в изменении действия медиаторов (например, глутамата в центральных структурах и в нервномышечных окончаниях) и возможность включаться в процессы изменения спонтанной нейрональной активности в ЦНС саранчи. Высказано предположение, что таким образом NO может влиять на работу функционально различных генераторных систем. Результаты наших исследований дают возможность предполагать важную роль NO-циклической гуанозин монофосфатной системы не только в ЦНС (торакальных ганглиях), но и в структурах периферической нервной системы на определенных этапах онтогенетического развития насекомого.

*Работа выполнена при финансовой поддержке фонда РФФИ (грант 05-04-49-790).*

#### 92. Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е.

Санкт-Петербургский государственный университет, Россия. E-mail: cozzy@mail.ru

#### ВЛИЯНИЕ ДЖАСПЛАКИНОЛИДА НА $Ca^{2+}$ -СИГНАЛЫ В МАКРОФАГАХ

Одним из основных механизмов регулируемого входа  $Ca^{2+}$  в невозбудимые клетки является депо-зависимый или «емкостной» вход  $Ca^{2+}$ . В соответствии с моделью «емкостного» входа  $Ca^{2+}$ , вход  $Ca^{2+}$  регулируется степенью заполнения  $Ca^{2+}$ -депо таким образом, что опустошение депо активирует вход  $Ca^{2+}$ . В то же время, механизмы, с помощью которых информация об опустошении депо передается к  $Ca^{2+}$ -каналам в плазмолемме, до сих пор остаются неясными. Ряд моделей предполагает участие элементов цитоскелета в регуляции депо-зависимого входа  $Ca^{2+}$ . Известно, что джасплакинолид, выделяемый из морской губки *Jaspis johnstoni*, индуцирует полимеризацию и стабилизацию исключительно кортикальных актиновых филаментов. С использованием флуоресцентного  $Ca^{2+}$ -зонда Fura-2AM изучено влияние джасплакинолида на  $Ca^{2+}$ -сигналы, индуцированные пуринергическим агонистом УТФ или ингибиторами эндоплазматических  $Ca^{2+}$ -АТФаз тапсигаргином и циклопязоникой кислотой, в перитонеальных макрофагах крысы. Показано, что предварительная инкубация клеток с 10 мкМ джасплакинолида в течение 30 мин до воздействия УТФ не влияет на фазу мобилизации  $Ca^{2+}$  из депо, но приводит к значительному (70–80%) подавлению депо-зависимого входа  $Ca^{2+}$ . Сходное влияние оказывает джасплакинолид на фазы  $Ca^{2+}$ -сигналов, вызванных тапсигаргином или циклопязоникой кислотой. Полученные данные свидетельствуют о том, что джасплакинолид не влияет на мобилизацию  $Ca^{2+}$  из депо, а также что образование плотного слоя кортикального актина, индуцированное джасплакинолидом, препятствует связыванию между  $Ca^{2+}$ -депо и плазмолеммой. Во второй серии экспериментов макрофаги вначале стимулировали 200 мкМ УТФ в номинально бескальциевой среде. После окончания фазы мобилизации  $Ca^{2+}$  из депо, вызванной УТФ, клетки инкубировали с 10 мкМ джасплакинолида в течение 20 мин до введения 2 мМ  $Ca^{2+}$ . В данных условиях джасплакинолид практически не влияет на вход  $Ca^{2+}$ . Таким образом, нами показа-

но, что джасплакинолид предотвращает активацию депо-зависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$ , но не влияет на вход  $\text{Ca}^{2+}$  после того, как процессы, приводящие к активации депо-зависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$ , уже были запущены опустошением депо. В модели депо-зависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$  «связывание по типу секреции», предполагающей обратимую транслокацию и связывание  $\text{Ca}^{2+}$ -депо с плазмолеммой, актиновый цитоскелет, расположенный под плазмолеммой, играет ключевую роль в регуляции входа  $\text{Ca}^{2+}$  подобно тому, как это происходит при секреции. Образование плотного слоя кортикального актина при действии джасплакинолида препятствует входу  $\text{Ca}^{2+}$ , действуя в качестве физического барьера, который предотвращает связывание эндоплазматической сети с плазмолеммой. Согласно данной модели, при активации депо-зависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$ , после опустошения  $\text{Ca}^{2+}$ -депо кортикальные актиновые филаменты должны претерпеть реорганизацию, что позволит эндоплазматической сети подойти к плазмолемме. Стабилизируя кортикальные микрофиламенты, джасплакинолид делает такую реорганизацию невозможной. Полученные результаты свидетельствуют в пользу модели емкостного входа  $\text{Ca}^{2+}$  «связывание по типу секреции» для перитонеальных макрофагов крысы.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 03-04-49091 и гранта Минобразования «Развитие научного потенциала высшей школы» № 4681 (2005 г.).*

93. Курская О.В., Кантарь В.С., Тушмалова Н.А., Прагина Л.Л., Лосева Е.В.<sup>1</sup>

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, <sup>1</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия. E-mail: karkur@yandex.ru

#### ПОЛИДАН УСИЛИВАЕТ СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В НЕЙРОНАХ НЕОКОРТЕКСА И ГИППОКАМПА КРЫС

Препарат полидан, выделяемый из молок осетровых рыб, применяют в онкологической практике как стимулятор гемопоеза. Ранее на нескольких условно-рефлекторных моделях было показано, что полидан улучшает сохранение и воспроизведение памятного следа у крыс, т. е. проявляет ноотропные свойства. Мы предположили, что, как и многие ноотропные препараты, полидан может усиливать метаболические процессы в мозгу. Задача работы состояла в исследовании влияния полидана на морфофункциональные перестройки в нейронах дорсального гиппокампа и соматосенсорной области неокортекса мозга крыс. Работа выполнена на крысах-самцах линии Вистар (n=24) массой 180–200 г. Подопытным группам животных внутривенно однократно или пятикратно вводили 1 мл аптечного раствора препарата в дозе 75 мг/кг. Контрольным группам вводили 1 мл изотонического раствора. Через 2 ч после последней инъекции брали материал, который обрабатывали по стандартной методике для электронной микроскопии. Проводили морфометрический светооптический анализ нейронов гиппокампа и неокортекса на полутонких срезах (толщиной 1,5 мкм) и электронно-микроскопическое исследование ультраструктур нейронов в тех же областях мозга на срезах толщиной 50 нм. Для статистического сравнения групп использовали t-критерий для независимых признаков. При исследовании полутонких срезов у всех животных в полях гиппокампа и слоях (II и V) неокортекса было выделено 4 типа нейронов, различающихся по интенсивности окрашивания ядра и цитоплазмы. Нейроны выделенных клеточных типов отличались по размерам и количеству ядрышек в ядрах. Под действием разных схем применения полидана происходило перераспределение количества нейронов этих типов во всех изученных участках неокортекса и гиппокампа, которое могло свидетельствовать об усилении синтетических процессов. Количество ядрышек в ядрах этих нейронов во всех исследованных областях мозга

увеличивалось по сравнению с соответствующим контролем при обеих схемах введения полидана с высоким уровнем значимости, что указывало на усиление синтеза рибосомальной РНК. При электронно-микроскопическом исследовании белоксинтезирующего аппарата нейронов гиппокампа и неокортекса на фоне обеих схем введения полидана наблюдалось уменьшение количества свободных рибосом и увеличение числа рибосом, связанных с эндоплазматической сетью, а также увеличивалось число полисом и количество рибосом в одной полисоме. Однако при пятикратном введении препарата эти изменения были более выражены. Также на фоне полидана наблюдалось просветление матрикса и нарушение целостности крист митохондрий в нейронах, как неокортекса, так и гиппокампа. Важно подчеркнуть, что, если при однократном введении препарата эти изменения были функциональными, то пятикратное воздействие приводило к разрушению митохондрий. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об усилении процессов белкового синтеза и энергетического метаболизма в нейронах гиппокампа и неокортекса крыс под влиянием полидана. При этом пятикратное введение полидана вызывает гиперактивацию метаболических процессов в нейронах.

94. Лагутенко Ю.П.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: sotnikov@kolt.infran.ru

#### НЕКОТОРЫЕ НЕИЗВЕСТНЫЕ ТИПЫ ТКАНЕВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В АССОЦИАТИВНОМ НЕЙРОПИЛЕ БРЮШНОГО МОЗГА БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Исследование нейропила брюшного мозга полихеты *Nereis diversicolor* путем прижизненного окрашивания метиленовым синим позволило выявить тканевые рецепторы, необычного для беспозвоночных происхождения. Последние связаны с дорсальной и вентральной ассоциативными областями, подробно исследованными ранее [Лагутенко Ю.П., 1981]. Сравнительный анализ полученных данных со структурой и топографией ассоциативных областей *Nereis* позволяет прийти к выводу, что выявленные рецепторы являются частью ассоциативных клеток ЦНС исследованного животного. Среди указанных рецепторов можно назвать следующие: 1) распространенные сложно упорядоченные кустики; 2) клубочковидные спаренные рецепторы; 3) клубочковидные разьединенные рецепторы; 4) одиночные упорядоченные кустики в районе коннективов. Первые широко прилегают к наружной поверхности глиальной капсулы брюшного мозга. Образованы аксонами из состава дорсальной ассоциативной области. Вторые — образованы аксонами из вентролатеральной части ассоциативной области нейропила. Третьи так же как и вторые, образованы нейронами из вентральной ассоциативной области. Четвертый тип рецепторов относится к одиночным кустикам коннективов. После V-образного разделения единого отростка аксоны некоторое время идут в составе вентральной ассоциативной области нейропила, а затем переходят в область дорсальных ассоциативных волокон. Единый аксон в обеих областях нейропила идет, вероятно, церебропетально. О функциональном значении перечисленных типов рецепторов говорить можно лишь предположительно. Так, распространенные сложно упорядоченные кустики вероятно, иннервируют основания III и IV пары сегментарных нервов, в которых концентрировано расположены афферентные и эфферентные проводники. Нельзя исключить в этом месте сложных межнейронных связей, обеспечивающих локальные интеграционные мини-центры. Клубочковидные спаренные рецепторы, тесно прилежащие к наружной стенке глиальной капсулы, граничащей с отсеком целома, могут играть роль хеморецепторов, обеспечивающих регуляцию осмотического давления в целомической жидкости. Разьединенные кустики, вероятно, выполняют функцию механоре-

цепторов. Ту же, по-видимому, роль играют и одиночные упорядоченные кустики, расположенные в районе коннективов, фиксируя степень растяжения цепочки ганглиев в период локомоций червя. Вопрос о чувствительно-ассоциативной природе исследованных нейронов можно рассматривать с позиций гипотезы изложенной ранее [Сотников О.С., Лагутенко Ю.П., 2004].

95. Ланша В.И., Арчакова Л.И., Бочарова В.Н., Новаковская С.А.

Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь. E-mail: biblio@fiziol.bas-net.by

#### ГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В НЕКОТОРЫХ ВЕГЕТАТИВНЫХ ГАНГЛИЯХ КОТЫТ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

В работах И.А. Булыгина и сотр. (1976) получены данные, свидетельствующие об участии холин- и адренергических систем в функциональной активности вегетативных ганглиев. Однако закономерность формирования этих систем в онтогенезе остается мало изученной. Методом Фалька для выявления моноаминов и Карновского—Рутс для выявления ацетилхолинэстеразы (фермента, принимающего участие в гидролизе ацетилхолина) исследовали нейроны чревного сплетения (ЧС) и каудального брыжеечного ганглия (КБГ) у котят в возрасте от 1 сут до 1 мес. Показано, что в отличие от взрослых животных, у новорожденных котят в ЧС и КБГ преобладают в основном малые интенсивно флюоресцирующие (МИФ-) клетки, которые почти полностью заполняют строма ганглия. Ядра в большинстве МИФ-клеток не были видны из-за высокой концентрации амина. Основные нейроны ганглиев обладали слабо заметной диффузной флюоресценцией. Их тела не имели четких очертаний и были едва различимы под люминисцентным микроскопом. Адренергическая сеть нервных волокон и терминалей внутри ганглиев отсутствовала. К 5–7-м суткам постнатального развития интенсивность свечения нейробластов усиливалась, появлялись отдельные ярко флюоресцирующие терминали вокруг нейронов. Количество МИФ-клеток оставалось большим. Располагались они в стромах ганглиев как по одиночке, так и группами, образуя конгломераты. Были видны отростки, отходящие от некоторых клеток. Во время 2-й недели (7–14 сут) постнатального развития интенсивность свечения основных нейронов увеличивалась. Наряду с диффузной флюоресценцией цитоплазмы нейронов, наблюдались нейроны с интенсивно флюоресцирующими гранулами в их цитоплазме. Размеры клеток также увеличивались, интенсивность флюоресценции во внутриганглионарной сети нервных волокон усиливалась. Количество МИФ-клеток в стромах ганглиев уменьшалось. Часть МИФ-клеток обладали желтой флюоресценцией, характерной для серотонина. Интенсивность флюоресценции в нейронах и внутриганглионарной сети адренергических волокон этих ганглиев достигала уровня характерного для взрослых животных только к 1-месячному возрасту. При выявлении активности ацетилхолинэстеразы в ЧС и КБГ котят к 5–7-м суткам постнатального развития среди большого количества слабоокрашенных клеток встречались отдельные клетки с интенсивно окрашенной цитоплазмой. У котят в возрасте 14 сут количество таких клеток увеличивалось, появлялись холиннопозитивные волокна, количество которых к 1-месячному возрасту увеличивалось. После предварительной децентрализации ЧС и КБГ котят в возрасте 14 сут интенсивность флюоресценции в нейронах и волокнах усиливалась. Таким образом, структурно-функциональная организация вегетативных ганглиев у новорожденных котят и взрослых животных отличается по содержанию нейромедиаторов.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Фонда фундаментальных исследований, грант БРФФИ № Б04Р-039.

96. Ларионова Н.П.

Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

#### ПОПУЛЯЦИИ КЛЕТОК-ЗЕРЕН В МОЗЖЕЧКЕ ЛЯГУШКИ, КОМПЕНСИРУЮЩИХ ОТСУТСТВИЕ В НЕМ ТОРМОЗНЫХ НЕЙРОНОВ — КОРЗИНЧАТЫХ КЛЕТОК

Известно, что мозжечок (МЖ) лягушки обладает уникальной особенностью: в нем отсутствуют тормозные нейроны — корзинчатые клетки. На основании существующих к настоящему времени экспериментальных данных можно утверждать, что при определенном уровне возбуждения грушевидных клеток (ГК) — главных нейронов МЖ — часть клеток-зерен (КЗ) МЖ — входных нейронов МЖ — начинают синтезировать вещества, тормозящие активность ГК, компенсируя таким образом отсутствие в нем специализированных тормозных нейронов. Данное утверждение основано на следующих экспериментальных результатах. При исследовании влияния избыточной концентрации (1 мМ) глутамата (Glu — главного возбуждающего нейромедиатора мозга) на структуру зернистого слоя изолированного МЖ лягушки *Rana temporaria* in vitro была обнаружена разная реакция хроматина ядер КЗ на избыток активирующего влияния Glu. У одних КЗ (приблизительно 75–80%) наблюдалась дисперсия хроматина, который равномерно распределялся по ядру. У других КЗ (приблизительно 20–25%) хроматин имел вид электронно-плотных хлопьев разного размера, неравномерно распределенных по разбухшим ядрам КЗ с просветленной нуклеоплазмой. Этот экспериментальный результат дает основание утверждать, что в МЖ лягушки популяция КЗ неоднородна. В нем существуют, по крайней мере, две разные популяции КЗ. Этот факт дает о себе знать и в других экспериментальных условиях, например, при исследовании молекулярного слоя МЖ лягушки. В экспериментах на изолированном МЖ лягушки при исследовании главных синапсов МЖ — синапсов параллельных волокон (ПВ) — аксонов КЗ — на ГК была обнаружена концентрационно-зависимая реакция КЗ на присутствие оксида азота (NO) во внеклеточной среде. Было показано, что при концентрации 1 мМ NaNO<sub>2</sub> (NO — синтезирующее вещество) количество насыщенных медиаторными пузырьками бутонов (варикозностей ПВ, представляющих собой пресинаптические терминали ПВ-ГК-синапсов) вдвое больше, чем при меньших и больших концентрациях NO, соответственно 10 мкМ и 5 мМ. При концентрации NO 1 мМ в насыщенных бутонах наряду с электронно-прозрачными пузырьками наблюдались цепочки пузырьков с электронно-плотным (гормональным) содержанием. Наличие цепочек таких пузырьков в бутонах КЗ свидетельствует о процессе синтеза в КЗ гормона (гормонов). Из приведенных экспериментальных результатов следует вывод, что концентрационно-зависимый характер гормонального синтеза в КЗ представляет собой функциональный ответ КЗ на ретроградное воздействие NO, концентрация которого во внеклеточной среде является показателем уровня активности ГК, обладающих у лягушки мощной NO-синтазной активностью. Анализ результатов, приведенных в статье Ларионовой Н.П. и соавт. (1005), показал, что в МЖ лягушки не менее трети шипиков ГК (постсинаптических терминалей ПВ-ГК-синапсов) обладают NO-синтазной активностью (это близко по размерам к популяции КЗ, реагирующей кластеризацией хроматина на избыток возбуждающего нейромедиатора Glu во внеклеточной среде — приблизительно 25%), что позволяет ГК оказывать мощное ретроградное влияние на КЗ, способные синтезировать вещества, в конечном итоге тормозящие воздействие на ГК. В пользу тормозной реакции КЗ на увеличение концентрации NO от 0 до 1 мМ свидетельствует также снижение вдвое количества бутонов, источников Glu. На способность Glu-ергических нейронов синтезировать вещества, тормозящие активность ГК, указывают экспериментальные результаты,

демонстрирующие существование в гипоталамусе Glu-ергических нейронов, синтезирующих тиротропин-высвобождающий гормон, который депрессирует чувствительность ГК (а также пирамидных нейронов) к глутамату, тормозя таким образом активность ГК.

97. Ларионова Н.П., Реутов В.П., Самосудова Н.В., Чайлахян Л.М.

Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

#### **Glu- и NO-КОМПЛЕМЕНТАРНОСТЬ МЕЖКЛЕТОЧНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ГЛАВНЫХ СИНАПСАХ ИЗОЛИРОВАННОГО МОЗЖЕЧКА ЛЯГУШКИ**

В наших работах по исследованию влияния глутамата (Glu) и оксида азота (NO) на пластичность синапсов параллельных волокон (ПВ) на грушевидных клетках (ГК) была продемонстрирована Glu- и NO-зависимая нейро-нейронная и глиально-нейронная инкапсуляторная пластичность в синапсах ПВ на ГК изолированного мозжечка (МЖ) лягушки *Rana temporaria*. Эта пластичность обладала отчетливо выраженной транс-синаптической комплементарностью инкапсулирующих клеточных реакций, зависевших от дисбаланса концентраций Glu и NO, являющихся двумя последовательными веществами Glu-каскада шипиков. Так, при избыточной концентрации Glu *in vitro* (1 мМ) шипиковая инкапсуляция бутонов преобладала над бутонной инкапсуляцией шипиков, а глиальная инкапсуляция в виде обкруток наблюдалась вокруг шипиков и наоборот — при избытке NO ( $\text{NaNO}_2$ , 1 мМ) бутонная инкапсуляция преобладала над шипиковой, а глиальные обкрутки наблюдались вокруг бутонов. Появление глиальных обкруток вокруг шипиков в среде с повышенной концентрацией Glu, очевидно, связано с повышенной чувствительностью мембран шипиков ГК к Glu и необходимостью их защиты. Рецепторная чувствительность шипиков к Glu достаточно хорошо изучена как в синаптической зоне, так и вне ее, чего нельзя сказать о бутонах. Появление глиальных обкруток вокруг бутонов в среде с повышенной концентрацией NO, очевидно, связано с повышенной чувствительностью к NO мембран бутонов (например, существование на них NO-чувствительных рецепторов Glu), являющихся пресинаптическими терминалями аксонов клеток-зерен (КЗ — входных нейронов МЖ) и необходимостью защиты их мембран от избытка NO *in vitro*. Наличие NO-чувствительности у бутонов, источников Glu, вероятно, является механизмом ретроградного (возвратного) влияния NO на мембраны бутонов при прямой передаче информационного сигнала с бутонов на шипики. В работе А.Л.Бызова и В.В.Максимова (1998) показано, что прямая, или бутонная инкапсуляция шипика, связана с увеличением эффективности синапса, т. е. с увеличением влияния бутона на шипик. Аналогичным образом, можно предположить, что ретроградная, или шипиковая, инкапсуляция бутонов на фоне избыточной концентрации Glu представляет собой морфологический коррелят увеличения эффективности ретроградного NO-влияния шипиков на бутоны при избытке возбуждающего медиатора Glu *in vitro* ( $\text{NaNO}_2$ , 1 мМ). Обнаружена концентрационно-зависимая реакция КЗ на NO: при концентрации NO 1 мМ количество бутонов, насыщенных медиаторными пузырьками, вдвое выше, чем при 10 мкМ и 5 мМ  $\text{NaNO}_2$  *in vitro* (и в 4 раза выше, чем в норме и контроле). При этом в насыщенных бутонах наблюдались многочисленные цепочки пузырьков с электронно-плотным (гормональным) содержанием, направленные к активной зоне (к шипикам). Часть из них, не доходя до активной зоны, меняли направление, устремляясь к ближайшим астроцитам. Наши результаты продемонстрировали ПВ-ГК-синаптическое управление ядерными процессами вход-выходных нейронов МЖ, лежащее в основе координации вход-выходных информационных потоков, что дает основание называть ПВ-ГК-синапсы

главными синапсами МЖ. На основании приведенных результатов можно сделать вывод о том, что ретроградное шипиково-бутонное влияние в ПВ-ГК-синапсах МЖ является наименее изученным и нуждается в дальнейшем анализе, так как от него зависит такая важная роль МЖ, как качество выполняемых и контролируемых им функций.

98. Левченкова В.Д., Сатанова Ф.С., Борисенко О.В., Деревягин В.И.

Научный центр здоровья детей РАМН, Научно-исследовательский институт мозга РАМН, Москва. E-mail: sflora@yandex.ru

#### **ОСОБЕННОСТИ КОРКОВОГО ОТДЕЛА ДВИГАТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА МОЗГА У ДЕТЕЙ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ ЦНС**

Большую часть инвалидов с детства неврологического профиля составляют больные с перинатальным повреждением ЦНС, в том числе с детским церебральным параличом (ДЦП). Ведущим синдромом в клинической картине заболевания таких больных являются задержка и патология развития двигательных функций. С целью изучения патогенеза и морфологической основы заболевания был исследован головной мозг 12 детей с клинической картиной тяжелого перинатального повреждения ЦНС, умерших в возрасте от 17 дней до 2 мес 5 дней. Контролем служил мозг детей того же возраста, при жизни не имевших неврологической симптоматики. Макроскопически только у части больных были выявлены признаки дизонтогенетического развития в виде очаговой микрогрии (2), слабого развития вторичных и третичных борозд в лобной, височной, затылочной долях полушарий большого мозга (1), уменьшения размеров одного из полушарий мозжечка (1), однако при гистологическом исследовании у всех были обнаружены различные по степени выраженности дистрофические изменения нейронов. В поле 4 наблюдалось более редкое расположение тел нейронов по сравнению с контролем, имелись очаговые выпадения клеток, особенно в слоях III и V, гигантские пирамидные клетки Беца теряли гнездовый характер группировки, их апикальные отростки часто имели косое направление. Количество клеток Беца у детей с перинатальным повреждением ЦНС было значительно меньше, чем в контроле. У части больных наблюдались гетеротопии (густые групповые скопления нейронов), чаще в глубоких слоях коры. Выявленные изменения коркового отдела двигательного анализатора мозга приводили к уменьшению субординирующего влияния коры на нижерасположенные структуры, в том числе и на структуры продолговатого и верхних отделов шейных сегментов спинного мозга, способствовали их патологической активности, проявляющейся клинически усилением влияния примитивных тонических рефлексов на мышцы тела ребенка, задержкой или отсутствием формирования выпрямительных установочных рефлексов.

99. Лепехина Л.М.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: Lepekhina@iephb.ru

#### **ВЛИЯНИЕ НЕОНАТАЛЬНОЙ ГАНГЛИОСИМПАТОМИИ НА РАЗВИТИЕ НЕЙРОНОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ХОДЕ ОНТОГЕНЕЗА. ДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ**

Флюоресцентным методом Фалька показано, что у новорожденных крысят, особенно в первую неделю их жизни, структуры продолговатого и среднего мозга получают обильную симпатическую иннервацию из верхнего шейного ганглия (ВШГ). У взрослых эта иннервация не обнаруживается [Chen M.G.M., Levi-Montalcini R., 1978]. Учитывая эти данные, выяснение значимости симпатических влияний для развития нейронов головного мозга проводилось на крысках с удаленными ВШГ в первые 5 сут их жизни. Для

оценки функционального состояния нейронов применяли метод морфометрии. Серийные срезы мозга окрашивали крезильным фиолетовым прочным по методу Ниссля. Согласно полученным данным, средняя масса мозга у симпатотомированных крыс на 30% ниже, чем у интактных. Недостаточность трофического влияния симпатической нервной системы особенно выражена на определенной стадии развития нейронов, что совпадает с началом интенсивного роста цитоплазмы клеток в онтогенезе. Благодаря этому, эффект симпатэктомии проявляется не одновременно во всех структурах мозга и наиболее выражен в крупноклеточных, филогенетически древних структурах мозга, таких как латеральное ретикулярное ядро продолговатого мозга, дорсальное ядро блуждающего нерва, красное ядро, бледный шар, гиппокамп. Неонатальная ганглиосимпатэктомия вначале вызывает отставание в развитии нейронов в ходе онтогенеза, а потом их преждевременное старение и дегенерацию по типу пикноза, апоптоза. Очевидно, симпатическая нервная система участвует в противоапоптотных механизмах, сдерживая запуск апоптоза.

100. Лесова Л.Д.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Украина. E-mail: lesova@pochta.ru; serval@lib.crimea.ua

#### ЧУВСТВИТЕЛЬНАЯ ИННЕРВАЦИЯ ФАСЦИЙ МЫШЦ ЛОПАТКИ У ЧЕЛОВЕКА

Исследование органов движения представляет интерес, так как, являясь эфферентными органами, они в то же время имеют многочисленные афферентные связи с ЦНС. Поэтому исследования чувствительной иннервации фасций мышц лопатки весьма актуально. Методом импрегнации нитратом серебра по Бильшовскому—Грос в модификации Рассказовой выявлен хорошо развитый рецепторный аппарат фасций мышц лопатки у человека, который обнаруживается с 4-го месяца внутриутробного развития и развивается с нарастающей интенсивностью в последующие месяцы, когда фасции достигают структурной зрелости. Рецепторы в процессе онтогенеза усложняются и дифференцируются, что соответствует усложнению структуры фасций. Рецепторы выявлены во всех слоях фасций, тогда как в пристеночных фасциях рецепторы обнаружены только в их поверхностном листке. Рецепторный аппарат представлен инкапсулированными и неинкапсулированными нервными окончаниями различной степени сложности, располагающимися среди коллагеновых волокон соединительной ткани, на границе фасциальных и мышечных тканей, вблизи сосудов и нервов. Следует отметить, что подостная фасция содержит большее количество рецепторов, чем другие фасции лопатки. Если сопоставить данные о рецепторном аппарате фасций лопатки с биомеханическими закономерностями плечевого пояса и, особенно, фиксации лопатки, необходимой для создания надежной опоры при движении свободной конечности, можно рассматривать значение фасций мышц лопатки в более широком аспекте. Известно, что соединительнотканые компоненты мышцы, к которым относятся и фасции, рассматриваются как структуры, через которые происходит передача силы сокращения мышечного волокна к нагрузке. Соединительнотканые компоненты мышцы можно считать входящими в состав параллельного эластического компонента, который предусматривает мышечная модель Hill'a. При сокращении мышцы фасция, как и мышца, не изменяет объема, меняет форму, при этом эластические ее волокна растягиваются, а коллагеновые пучки и их слои смещаются друг относительно друга, вызывая изменения натяжения нервных терминалей, связанных с ними, что может вызвать деполяризацию мембран нервных окончаний и быть причиной возникновения нерв-

ного импульса. По-видимому, фасции мышц лопатки выполняют механическую тормозную функцию, предохраняя мышцы от повреждений при возможных перегрузках. С другой стороны, они представляют собой рецептивное поле, которое передает в ЦНС информацию о состоянии мышечного аппарата, его динамической и статической работе. В этом отношении понятно наличие пластинчатых телец (Фатера—Пачини) в фасциальных структурах мышц лопатки, поскольку они являются быстро адаптирующимися рецепторами и могут быть ответственны за регистрацию динамического состояния мышц. Возможно, что при статических напряжениях мышц активизируются и медленно адаптирующиеся нервные окончания. Наличие хорошо развитого и специализированного рецепторного аппарата в фасциях мышц лопатки у человека свидетельствует о том, что по своим структурным особенностям он способен сигнализировать о разных смещениях, натяжениях фасциальных пучков и может быть дополнительным регуляторным аппаратом мышечной деятельности.

101. Либин Л.Я.<sup>1</sup>, Дагаев С.Г., Ещенко Н.Д.<sup>1</sup>, Филько О.А., Кубарская Л.Г., Храброва А.В., Соловьева Н.Е.

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет. E-mail: leonidli@yandex.ru; НИИ токсикологии, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: dsg@admiral.ru

#### ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ БЛОКАДЫ D<sub>2</sub>- И NMDA-РЕЦЕПТОРОВ

Целью настоящего исследования являлся поиск коррелят между нарушениями дофаминовой и глутаматной (NMDA) регуляции в ЦНС и одним из показателей окислительного стресса — перекисным окислением липидов (ПОЛ) в коре, стриатуме и гиппокампе крыс *in vivo*. Для сопоставления показателей ПОЛ с нарушением дофаминергической и NMDA-медиации использовано модельное состояние двигательных нарушений (ДН). Оно возникало при фармакологической блокаде дофаминергической системы головного мозга и вызывалось введением селективного антагониста D<sub>2</sub>-рецепторов — галоперидола. Действие нейролептика модулировали неселективным блокатором каналов NMDA-рецепторов — кетамин [0,13 мг/кг, внутривенно (в/в)], участие которого в потенцировании ДН описано в предыдущих работах. ДН имеют дозозависимый характер и их наступление связано с блокадой 60–80% популяции D<sub>2</sub>-рецепторов стриатума, что достигалось введением галоперидола в среднееффективной дозе 0,32 мг/кг в/в. Таким образом, интенсивность ДН позволяла судить о вовлеченности дофаминергической системы в патологическое состояние. Выраженность ДН оценивали по трем тестам: скорости угасания ориентировочного рефлекса, тесту катаlepsии у бортика, способности изменять положение тела на наклонной плоскости. Определяли следующие продукты ПОЛ: диеновые и триеновые конъюгаты, флуоресцирующие продукты ПОЛ (основания Шиффа), фосфолипиды, рассчитывали индекс Клейна. Используемые в эксперименте животные были разделены на 2 группы сравнения: 1) контроль (растворитель) — галоперидол; 2) галоперидол + кетамин. Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы: 1. На фоне фармакологической блокады дофаминергической системы селективным D<sub>2</sub>-блокатором галоперидолом наблюдается накопление продуктов ПОЛ преимущественно в коре мозга и гиппокампе крыс. 2. Как и в предыдущих исследованиях, сочетанная блокада дофаминовой и глутаматной (NMDA) системы способствовала усилению ДН. При этом регистрировалось снижение содержания продуктов ПОЛ.

102. Лопатина Е.В.<sup>1</sup>, Карецкий А.В.<sup>2</sup>, Пеннийнен В.А., Хокканен В.М.<sup>2</sup>, Крылов Б.В.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН. E-mail: evl1112@infran.ru <sup>1</sup>НИИ кардиологии МЗ СР и <sup>2</sup>НИИ фтизиопульмонологии МЗ СР, Санкт-Петербург, Россия

#### МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК СЕТЧАТКИ ТЕПЛОКРОВНЫХ

Восстановление функций поврежденных тканей в последние годы связывают с возможностью пересадки стволовых клеток. На наш взгляд, не менее важен традиционный фармакологический подход, который позволяет благодаря внедрению новых лекарственных препаратов направленно регулировать рост и восстановление ткани, в частности ткани сетчатки глаза, после хирургических вмешательств и в ходе терапевтического лечения. В работе исследовали действие субстанции Q-134 (5-гидрокси-γ-пирон-2-карбоновая кислота) на процессы пролиферации ткани сетчатки. В качестве объектов исследования использовали 10–12-суточных куриных эмбрионов и кроликов породы шиншилла. Действие Q-134 на рост эксплантатов ткани сетчатки в органотипической культуре исследовали в диапазоне концентраций от  $10^{-6}$  до  $10^{-9}$  М. Субстанция Q-134 в концентрации  $10^{-9}$  М стимулировала рост эксплантатов ткани сетчатки на  $47,0 \pm 2,0\%$  ( $n=25$ ;  $P=0,05$ ) по сравнению с контролем ( $n=25$ ). Экспериментально доказано направленное действие субстанции на механизм мембранной сигнализации, в который вовлечена  $\alpha_3$  изоформа Na/K-АТФазы в качестве трансдуктора сигнала. Далее исследовали влияние Q-134 на процессы пролиферации клеток сетчатки глаза кролика на фоне противотуберкулезной терапии в модели туберкулезного хориоретинита. Антибактериальное действие Q-134 на штамм *M. tuberculosis* ЛИХТ-320 не обнаружено. Терапию Q-134 осуществляли в течение 10 сут, препарат вводили 1 раз в сутки парабюльбарно. Офтальмологический контроль в динамике и гистологическое исследование тканей глазного яблока показало, что Q-134 обладает выраженными трофическими свойствами по отношению к клеткам ткани сетчатки кролика. После терапии наблюдали значимое увеличение числа клеток пигментного эпителия, значительное уменьшение очагов поражения тканей глазного дна. Таким образом, результаты, полученные на различных моделях, свидетельствуют о перспективности использования препарата при лечении вторичных дистрофий сетчатки глаза различного генеза.

103. Лукашин В.Г.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: sotnikov@kolt.infran.ru

#### НЕКОТОРЫЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕСТНЫХ СЕНСОРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

Органы пищеварительного тракта обладают автоматизмом регуляции жизненных функций. Важная роль в этом принадлежит местным сенсорным элементам — нейронам II типа Догеля и их так называемым асиноптическим коротким дендритам. Последние образуют типичные рецепторные кусты непосредственно в интрамуральных вегетативных ганглиях или вблизи них. Длинные дендриты, не ветвясь, уходят далеко за пределы ганглия, и проследить их судьбу не удастся. Цель настоящего исследования — количественная оценка основных морфологических признаков названных структур, визуализированных по методу Бильшовского—Грос в межмышечном сплетении толстой кишки кошки. Была применена методика компьютерного анализа изображений, разработанная в нашем институте. Число исследованных нейронов — 40. Минимальное количество коротких дендритов у исследованных нейронов — 1, максимальное — 3. Нейронов с количеством коротких дендритов более одного — 12%. Общее же число отростков (длинных и коротких дендритов+аксон) минимально — 2, максимально —

7, в среднем — 3,8. Минимальное число разветвлений у одного короткого дендрита — 3, максимальное — 7, в среднем — 4,8. При этом число дендритных сегментов составляет минимально 6, максимально — 24, а в среднем — 11,7. Длина сегментов колеблется от 8,3 мкм до 167,7 мкм, в среднем — 67,8 мкм. Количество терминалей (пластинок, колечек и др.) у каждого короткого дендрита минимально — 5, максимально — 99, а в среднем — 32,9. Суммарная длина инициального сегмента и всех ветвей одного короткого дендрита составляет минимально 47 мкм, максимально — 2130 мкм, а в среднем — 574,4 мкм. Расстояние от центра тела сенсорного нейрона до наиболее удаленной терминали равняется минимально 57,3 мкм, максимально — 294,6 мкм, в среднем — 175,2 мкм. Площадь иннервации одного короткого дендрита (площадь рецепторного поля) составляет минимально 925 мкм<sup>2</sup>, максимально 38750 мкм<sup>2</sup>, в среднем 8308,9 мкм<sup>2</sup>. Суммарная площадь внешней нейрональной мембраны всех ветвей и окончаний дендрита колеблется от 593,5 мкм<sup>2</sup> до 17574,4 мкм<sup>2</sup>, средний показатель — 5272 мкм<sup>2</sup>. Из двух последних параметров можно легко вычислить важный показатель — удельную плотность иннервации, т. е. площадь рецепторного поля, приходящуюся на 1 мкм<sup>2</sup> внешней мембраны дендрита (рецептора). Минимально эта величина равна 2,06 мкм<sup>2</sup>, максимально — 3,11 мкм<sup>2</sup>, а в среднем — 1,6 мкм<sup>2</sup>. Площадь сечения тела сенсорного нейрона равняется минимально 1906,2 мкм<sup>2</sup>, максимально 5587,5 мкм<sup>2</sup>, в среднем — 3456,4 мкм<sup>2</sup>. Объем тела нейрона колеблется от 2845,9 мкм<sup>3</sup> до 14318,4 мкм<sup>3</sup>, среднее значение — 8177,9 мкм<sup>3</sup>. Отношение площади внешней мембраны тела нейрона к его объему выражается как 0,4:1,0. Это же соотношение для дендритов совершенно иное — 5:1. Такие различия свидетельствуют о гораздо более высокой чувствительности внешней мембраны дендрита (рецептора), чем мембраны тела нейрона. Проведенное исследование выявило значительный полиморфизм местных сенсорных элементов по всем морфометрическим показателям. В частности, плотность рецепторной иннервации различных участков ткани органа может отличаться в несколько раз. Большой разброс такого показателя, как суммарная длина ветвей, предположительно и частично может быть объяснено различной степенью сократимости дендритов у разных нейронов.

104. Любовцева Л.А., Тихонова Н.Н., Яшина Н.Е.

Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия. E-mail: www.histolog.chuvashia.com

#### БИОАМИНСОДЕРЖАЩИЕ СТРУКТУРЫ ТИМУСА И КОСТНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ АУТОМИЕЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ

Трансплантация костного мозга (КМ) — самый современный и эффективный способ лечения многих онкологических, гематологических и аутоиммунных заболеваний. Наряду с этим она служит прекрасным инструментом для изучения фундаментальных основ межклеточных взаимодействий в исследуемом органе и, следовательно, выявления взаимодействия нервной, эндокринной, кровяной и иммунной систем. Цель данной работы заключалась в определении содержания биогенных аминов (БА) в структурах тимуса и костного мозга через 15 и 40 мин, 1 и 2 ч после аутогенной пересадки КМ. Объектом исследования служил КМ 20 белых беспородных крыс-самцов средней массой 180 г. Для определения гистамина (Г) использовали люминесцентно-гистохимический метод Кросса и соавт. (1971). Серотонин (С) и катехоламины (КА) исследовали люминесцентно-гистохимическим методом Фалька—Хилларпа (1967). Гепарин и гликозаминогликаны выявляли с помощью окраски по А.Унна. Для состава

вления миеограммы использовали окраску КМ по Паппенгейму. Результаты исследования свидетельствуют о том, что аутомиелотрансплантация способствует увеличению содержания всех исследуемых БА (Г, С и КА) в структурах костного мозга, при этом максимальная величина показателей зарегистрирована через 40 мин после пересадки. Исключение составляют Г-содержащие тучные клетки, в которых максимальное количество этого диаминна наблюдается к 1-часовому сроку. Наибольшее число гранулярных люминесцирующих клеток (ГЛК), содержащих Г, обнаружено к 1 ч после проведения пересадки, а тучных клеток — к 40 мин. Максимальное число КА- и С-содержащих ГЛК зарегистрировано через 40 мин, а тучных клеток — через 1 ч. При этом в ГЛК происходит накопление БА, а в тучных клетках в это время идет усиленное созревание гепарина, который инактивирует излишки Г. В соответствии с выделением БА в миеограмме увеличивается число клеток, способных захватывать эти вещества (эозинофильные гранулоциты), и синтезировать гепарин (базофильные гранулоциты). При исследовании БА-содержащих структур тимуса выявлено максимальное содержание Г в ГЛК исследуемых зон органа (септы, субкапсулярная зона, толща, премедулярная зона, мозговое вещество) в срок 2 ч. Наибольшее содержание С определяется в премедулярной зоне и мозговом веществе долек тимуса через 1 ч, а в толще коркового вещества и субкапсулярной зоне — через 2 ч после пересадки. Количество КА максимально к 1 ч в мозговом веществе, а к 2 ч — во всех зонах коркового вещества. Пиковое содержание БА в тучных клетках наблюдается через 2 ч: С и КА в субкапсулярной зоне, а Г — в субкапсулярной и премедулярной зонах. Максимальное число ГЛК зарегистрировано в премедулярной зоне: Г-содержащих — через 1 ч, С- и КА-содержащих — через 2 ч. Наибольшее число БА-содержащих тучных клеток выявляется через 15 мин в толще коркового вещества. Таким образом, аутомиелотрансплантация способствует увеличению содержания БА в красном КМ через 40 мин, а в тимусе — через 1 ч после пересадки. В исследуемых органах число Г-содержащих ГЛК увеличивается через 1 ч, а С- и КА-содержащих клеток через 40 мин — в костном мозге и через 2 ч — в тимусе. Как в тимусе, так и в КМ вначале наблюдается тенденция к увеличению числа тучных клеток, а затем накопление в них БА.

#### 105. Лютикова Т.М.

Омская медицинская академия, Россия. E-mail Rector@omsk-osma.ru

#### СТРУКТУРНО-ЦИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЗГА ПОЗВОНОЧНЫХ НА УРОВНЕ НЕЙРОННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

В нашей лаборатории изучались нейронные популяции (НП) коры и подкорковых ядер большого мозга, коры и зубчатого ядра мозжечка, передних рогов спинного мозга отдельных представителей позвоночных животных, относящихся к классам Рыбы, Земноводные, Пресмыкающиеся, Птицы и Млекопитающие. Гетерогенность НП проявлялась при оценке морфометрических показателей (плотность распределения, линейные размеры нейронов, ядерно-цитоплазмальный коэффициент, степень хромофилии цитоплазмы) и характеристик белкового обмена (содержание и концентрация структурных белков в телах нейронов, цитоплазме и ядре, их соотношение). Определена связь варибельности показателей со средой обитания и степенью двигательной активности животных, что дает основание считать выявленные изменения приспособительными и принять их за основу при выделении эколого-морфологических групп позвоночных животных. Был применен нейропопуляционный подход, позволяющий выделить НП на основе морфологических, морфометрических, тинкториальных, цитохимических и других показателей этих клеток в различных структурах мозга. Применение функциональных, генетических и эволюционных подходов в сочетании с новыми методическими приемами дает дополнительные критерии различия НП. Количественные исследования на популяционно-клеточном уровне предоставили возможность достоверно оценить особенности мозга животных с неодинаковой двигательной активностью, обитающих в различных природных условиях. У всех изученных позвоночных животных имеется общий план строения образований двигательной системы мозга, что может быть объяснено общностью филогенетического происхождения [Оленев С.Н., 1987]. Отмеченное различие в нейронной организации мозга позвоночных возникает, возможно, благодаря действию законов филогенеза, которые были раскрыты впервые А.Н.Северцовым (1949) и разработаны применительно к тканям А.Г.Кнорре (1971). Рассматривая сравнительный эволюционный ряд позвоночных, было отмечено повышение уровня организации (ароморфозы), но в пределах одного класса или отряда отчетливо прослеживались отличия морфометрических и цитохимических показателей НП, что расценивалось как идиоадаптации — приспособление к конкретной среде обитания. Сравнение НП двигательного анализатора показало неоднозначность в развитии этих структур мозга у близких видов. Это свидетельствует о нарастании неоднородности НП в эволюционном ряду позвоночных животных. Такая закономерность находится в соответствии с принципом полиморфизма, характерным для эволюции.

#### 106. Лютикова Т.М., Жданова Н.Б.

Омская медицинская академия, Россия. E-mail Rector @omsk-osma.ru

#### ОСОБЕННОСТИ ЯДЕРНО-ЦИТОПЛАЗМЕННЫХ ОТНОШЕНИЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ НЕЙРОНОВ У ЖИВОТНЫХ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП

Актуальной проблемой функциональной нейроморфологии является анализ цитотипической характеристики нейронов различных образований мозга [Кнорре А.Г., 1971; Оленев С.Н., 1978, 1987 и др.]. Наряду с другими показателями, особый интерес вызывает изучение ядерно-цитоплазмальных отношений, так как размеры ядра и цитоплазмы, их соотношение, а также содержание в них важнейших химических компонентов могут служить адекватным отражением функционального состояния нейронов. Нами изучены структурно-метаболические особенности нейронных популяций (НП) представителей отряда Грызуны. В составе класса Млекопитающие их отличает необычная пластичность двигательных функций, связанная со сложностью организации переднего мозга и мозжечка. Объектами исследования были лабораторные (белая крыса, белая мышь), синантропные (серая крыса, домовая мышь), норные (полевка, слепушонка), амфибионтные (нутрия, ондатра) и планирующие (белка) животные. Неоднородность НП проявилась при оценке морфометрических показателей (линейные размеры нейронов, ядерно-цитоплазмальный коэффициент — ЯЦК) и параметров белкового обмена (содержание и концентрация структурных водонерастворимых белков в телах нейронов, ядре и цитоплазме, и их соотношение в последних). Полученные данные были сопоставлены с особенностями среды обитания и степенью двигательной активности животных. Анализ размеров нейронов в коре большого мозга грызунов показал, что площади сечения тел, ядер и цитоплазмы наименьшие у норных животных, самые большие — у амфибионтов. Установлена видоспецифичность структурного ЯЦК: в слое II+III двигательной области коры по убывающей — белая крыса, белая мышь, белка, ондатра, домовая мышь, серая крыса, полевка, нутрия, слепушонка. В слое V: белая крыса > ондатра > белая мышь > нутрия > белка > серая крыса > слепушонка > полевка > домовая мышь. Среди грушевидных нейронов коры

мозжечка наибольшие размеры ядра имели белки, ондатра, нутрия и серая крыса. Состояние белкового обмена НП (содержание и концентрация белковых веществ) обнаруживало видовую специфичность и различалось в отделах мозга. Наибольшая концентрация водонерастворимых структурных белков выявлена в ядрах нейронов слоя V у белки, нутрии и серой крысы, в грушевидных нейронах мозжечка — у серой крысы и белки. Соотношение концентрации этих белков в ядре и цитоплазме было наивысшим в слое V у белки и нутрии, в мозжечке — у белки и слепушонки. Отмеченные большие размеры ядер в нейронах образований двигательного анализатора у белки, нутрии, серой крысы можно связать с высоким уровнем функциональной активности нервных клеток этих животных. Выявленные нами особенности морфоцитохимических показателей НП дополняют характеристику животных различных экологических групп.

107. Макаров Ф.Н., Кавамура К.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: fnm@infran.ru

#### **МЕЖКОРКОВОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ И ОРГАНИЗАЦИЯ НЕРВНЫХ СВЯЗЕЙ В ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

Высшие отделы зрительной системы млекопитающих состоят из множества зрительных корковых областей и в целом они занимают значительную часть церебральной корковой поверхности. Межкорковое функциональное взаимодействие строится на существовании высокоупорядоченных разнообразных корково-корковых связей. Конструкция таких связей определяет иерархию зрительных корковых зон. Внутри- и межполушарные, внутри- и межзональные, короткие и длинные, прямые и обратные связи имеют особенности в послойной организации их инициальных нейронов. Варьируют комбинации различных типов клеток — по форме тела, по форме и числу отростков дендритов и аксонов, по набору медиаторов, модуляторов и других биологически активных веществ. Важной особенностью конструкции корковых связей является существование нейронных объединений (группирований) — корковые глазодоминантные и ориентационные колонки, блобы и кластеры. Нами проанализирован сложный паттерн распределения инициальных корково-корковых нейронов, формирующих межзональные связи полей 17, 18 и 21. Установлены количественные и векторные характеристики кластерной организации таких клеток с помощью морфометрических методик и методов кластерного анализа пространственного распределения объектов. Выявлены количественные различия в пространственной кластерной организации нейронов в коре зрительных полей 17 и 18. Это может объясняться характером распределения терминальных аксонных ветвлений исследованных нейронов в слоях коры зоны мишени — поле 21. Полученные данные необходимы для более углубленного понимания принципов построения зрительных связей в зависимости от анизотропии ретинопической магнификации.

108. Малафеева Е.Я., Андреевская М.В.

Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова, Россия. E-mail: operhir.spd@ma@mail.ru

#### **ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ МИОЦИТОВ ЛИМФАТИЧЕСКИХ СОСУДОВ БРЫЖЕЙКИ БЫКА ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНТИБИОТИКОВ**

В последние годы при лечении различных заболеваний широко применяются методы эндолимфатического введения антибиотиков, которые при этом могут изменить ультраструктуру стенки лимфатических сосудов и надолго затормозить их сократительную активность. Целью исследования было изучение влияния антибиотиков (клафорана и гентамицина сульфата) на ультраструктуру и сократительную деятельность

лимфатических сосудов брыжейки быка. При перфузии раствором клафорана в концентрации 2,5 г/л отмечалось уменьшение систолического объема (СО) до  $81 \pm 3\%$  от исходного, минутного объема (МО) до  $71 \pm 6\%$ , а также наблюдалось уменьшение частоты сокращения до  $87 \pm 6\%$ . При концентрации раствора клафорана 5 г/л было выявлено более выраженное уменьшение СО и МО. Наименьшее негативное действие на ультраструктуру клафоран оказывает в концентрации 2,5 г/л, при этом в эндотелиоцитах встречается преимущественно краевое расположение микропиноцитозных пузырьков у плазмолеммы. Гранулярная эндоплазматическая сеть расширена, что сопровождается утратой рибосом. Митохондрии набухают, кристы укорачиваются, а мембраны частично разрушаются. Миоциты также подвергаются отеку. Имеется большое количество пиноцитозных пузырьков, как связанных с плазмолеммой, так и свободно лежащих. Митохондрии имеют просветленный матрикс, в некоторых из них разрушены кристы. При увеличении концентрации клафорана до 5 г/л повреждающее действие на стенку лимфангионов усиливается. Гентамицин в концентрации 8 г/л вызывает полное обратимое угнетение сократительной функции лимфатического сосуда. Морфологически после перфузии гентамицина сульфатом в концентрации 8 и 16 г/л отмечались изменения во всех органеллах, в частности, митохондриях (вакуолизация) и ядре (вплоть до кариорексиса и кариолизиса), встречается разрыв плазмолеммы, как крайняя степень гидратации, происходит деполяризация основного вещества соединительной ткани. На основании полученных нами данных можно предположить, что растворы клафорана и гентамицина приводят к угнетению сократительной функции лимфатических сосудов и различной степени гидратации ультраструктурных компонентов клетки.

109. Малашко В.В., Ковалевич В.Л., Лавушева С.Н., Малашко Д.В.

Гродненский государственный аграрный университет, Беларусь. E-mail: science@uni-agro.grodno.by

#### **СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНИЗАЦИИ ЭНТЕРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ТЕЛЯТ И ПОРОСЯТ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ**

В 90-х годах разработки в области лазерной техники стали внедряться в практику ветеринарной медицины. При воздействии лазером на биологически активные точки кожи и подкожных структур возникает поток импульсов в ЦНС, вызывающий развитие общей реакции, что способствует перестройке деятельности многих систем организма. С учетом изложенного, изучена эффективность лазерного облучения телят и поросят, отстающих в росте и развитии (животные-гипотрофики), и реакция энтеральной нервной системы тонкой кишки на низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ). Облучение проводили лазером Айболит-КН 15 вдоль длиннейшей мышцы спины и поясницы мощностью 15 мВт на выходе излучателя продолжительностью 8 мин в течение 12 сут. Под влиянием НИЛИ наблюдались признаки повышения функциональной активности нейронов, о чем свидетельствуют гистохимические показатели. Активность сукцинатдегидрогеназы увеличивается на 12,4–23,7%, лактатдегидрогеназы — на 18,3–29,2%. Фотохимические эффекты НИЛИ, по-видимому, связаны не только с индукцией конформационных изменений молекул белка-фермента, но и мембранных структур. На электронно-микроскопическом уровне обнаружено увеличение протяженности активной зоны синапсов на 23,7–37,3%, формирование в области перикариона субповерхностных цистерн, представленных длинными осmioфильными гладкими мембранными структурами. Встречаются синапсы в 25–38% случаев с закрытой уплотненной щелью, с агрегацией синаптических пузырьков, особенно светлых пузырьков, что, очевидно, можно отнести к реактивной изменчивости

аксо-соматических контактов. Возрастает концентрация микротрубочек на площади среза  $1 \text{ мкм}^2$  до 250–280, что превышает контрольные данные на 46,4–58,4% ( $P < 0,05$ ). Отмечается большое разнообразие аксонных терминалей (АТ) по везикулярной плотности. В среднем на  $1 \text{ мкм}^2$  АТ в опыте приходилось 65–106, в контроле — 16–45 пузырьков. Это можно рассматривать, как одно из свидетельств значительной потенциальной эффективности синаптического действия. В контрольных образцах в синаптических бутонах и пресинаптических отделах аксонов обнаружено множество вакуолей различного размера, что свидетельствует о незавершенности формирования структур энтеральной нервной системы телат и поросят до 2-месячного возраста. Крайне редко встречаются щелевые или плотные соединения между нейронами. В подопытных группах найдены наряду с указанными контактами и щелевые соединения дендро-соматического и дендро-дендритного типов. Длина контактов варьирует от 0,2 до 0,8 мкм. По мнению многих исследователей [Моторина В.В., 1986; Satoh Н., 2003], щелевые соединения представляют собой электротонические синапсы на ранних этапах постнатального онтогенеза.

110. Малыхина Е.А.<sup>1</sup>, Катунина Е.А.<sup>1</sup>, Барсков И.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Российский государственный медицинский университет,

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт мозга РАМН, Москва, Россия. E-mail: ibarskov@hotmail.com

#### МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕКСИДОЛА В ЧЕРНОМ ВЕЩЕСТВЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ПАРКИНСОНИЗМЕ

Целью настоящей работы явилось проведение морфологического исследования эффективности применения антиоксиданта мексидола на модели паркинсонизма у экспериментальных животных. Для моделирования паркинсонизма использовали внутрибрюшинное введение крысам-самцам линии Вистар 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрапиридина (МФТП), который вызывает селективную дегенерацию дофаминергических нейронов черного вещества (ЧВ) и двигательные расстройства, характерные для болезни Паркинсона: акинезию, ригидность, тремор, феномен застывания, гиперсаливацию. Для нейрогистологического исследования животных под хлоралгидратным наркозом транскардиально перфузировали модифицированным фиксатором Теллессницкого—Лилли [Лилли Р., 1969] — смесью формалина—уксусной кислоты—спирта в пропорции 2:1:7. Гистологический материал обрабатывали по общепринятой методике. Парафиновые срезы окрашивали крезильным фиолетовым прочным по методу Ниссля. У контрольной группы животных, которым внутрибрюшинно вводили изотонический раствор, измененных нейронов в исследуемом материале выявлено не было. Введение МФТП приводило к нейрональной дегенерации ЧВ, снижению содержания меланина, а в отдельных клетках — полному исчезновению пигмента. Во всех участках ЧВ выявлялась пролиферация глии, сопровождаемая нейронофагией, частичным исчезновением и дистрофией (сморщиванием) нейронов. В экспериментальном материале от крыс, которым наряду с МФТП вводили мексидол по заранее определенной схеме, наблюдалось большее количество неизмененных и слабоизмененных нейронов во всей структуре ЧВ, по сравнению с таковым у животных, которым на фоне МФТП мексидол не вводили. Проведенное исследование позволяет утверждать, что препарат мексидол обладает определенными нейропротекторными свойствами при паркинсонизме.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ и Президента РФ для ведущих научных школ.

111. Мамкаев Ю.В., Лагутенко Ю.П., Темерева Е.Н.

Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург. E-mail: morphol@zin.ru; Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург. E-mail: Sotnikov@kolt.infran.ru; Московский государственный университет, Россия. E-mail: Temereva@yandex.ru

#### РАЗНЫЕ ПУТИ ЭВОЛЮЦИИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У ПАРЕНХИМНЫХ И ХОРОШО ЭПИТЕЛИЗИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ (ВКЛЮЧАЯ РАЗВИТИЕ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ КОНТАКТОВ)

Пути эволюции нервной системы тесно связаны со степенью эпителизации организмов. Когда процессы погружения, дифференциации и централизации нервной системы опережают эпителизацию, прежде всего — формирование эпидермального слоя, происходит поклеточное погружение нервных элементов и развивается многостволовая («ортогональная») нервная система, с последующей олигомеризацией продольных стволов: от большого и варьирующего их числа (8, 9, 10, 6 стволов) до выделения одной, главной пары, со сложной картиной ганглионизации (формирование по-разному устроенного ортогонального, а затем эндонального мозга). Этот путь эволюции характерен для плоских червей. Когда в эволюции происходит ранняя эпителизация, слабо еще дифференцированная нервная система остается в эпидермальном пласте, изначально формируются лишь один—два продольных ствола, а их погружение идет путем выделения из состава пласта благодаря появлению новой пограничной пластинки или путем образования различного рода складок, желобов, трубок. Это направление эволюции нервной системы характерно для большинства билатерий. Их нервная система из ортогональной не выводится. Различия в эволюции нервной системы у паренхимных и хорошо эпителизированных животных выявляются и на уровне межклеточной коммуникации. У хорошо эпителизированных животных с эпидермальной нервной системой (например, у представителей аннелид, форонид) синаптический аппарат устроен относительно просто, и развиты нейромышечные связи через базальную мембрану. У сравнительно слабо эпителизированных животных с паренхимной организацией (у турбеллярий, цестод) в погруженной нервной системе представлен высоко развитый синаптический аппарат, сопоставимый с таковым позвоночных (по степени развития асимметричных и поляризованных синапсов, конвергенций и дивергенций). При этом нейромышечные контакты осуществляются за счет как нервных отростков, так и мышечных. Кроме того, у турбеллярий выявлены своеобразные межклеточные контакты («лабиринты») между отростками нервных, мышечных и паренхимных клеток. Намечается некая морфологическая предпосылка для формирования глиальной системы. Как показано на примере некоторых турбеллярий, с развитием экстрацеллюлярного матрикса он начинает участвовать в межклеточной коммуникации. В этой связи клетки, в том числе и нейроны, образуют многочисленные выросты и впячивания, что существенно увеличивает клеточную поверхность.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 03-04-49656)

112. Масловский С.Ю., Аврунин О.Г.<sup>1</sup>

Харьковский государственный медицинский университет; <sup>1</sup>Харьковский национальный университет радиоэлектроники, Украина. E-mail: gavrun@list.ru

#### ВОЗМОЖНОСТИ ВОКСЕЛЬНЫХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЛУБИННЫХ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

Современный уровень развития томографической техники и методов обработки цифровых изображений позволяет создавать пространственные реконструкции исследуемых структур. При этом могут использоваться как методы визуализации исключительно внешней поверхности объектов, так и методы непосредственного отображения внутренней

структуры (объема) исследуемой области. Объемное изображение обладает значительно большей информативностью и наглядностью по сравнению со стандартными изображениями томографических срезов, однако для его визуализации в реальном масштабе времени требуются значительные вычислительные ресурсы, достижимые в настоящее время только на специализированных графических станциях. Объемная визуализация объекта основана на воксельном представлении реконструируемой области (voxel — Volume Element, элементарная единица объема), т. е. непосредственно на объемных данных, извлекаемых в результате послойного томографического сканирования головы пациента с фиксированным шагом. Программное обеспечение для визуализации объемной структуры объекта состоит из 4 расчетно-графических модулей: 1) модуль двухмерной обработки, позволяющий проводить стандартные процедуры коррекции и фильтрации изображений томографических срезов; 2) модуль построения объемной модели, в котором происходит визуализация исследуемого объекта на основе полутоновой воксельной модели, представляющей собой структуру, каждый элемент которой характеризуется координатами и интенсивностью в шкале серых тонов; 3) модуль выполнения геометрических преобразований (перенос, масштабирование, вращение) над пространственными объектами; 4) модуль интерактивной обработки и визуализации, в котором выполняется сегментация объемной модели и рендеринг отображаемых структур. Результаты визуализации воксельной модели позволяют отображать внутреннюю структуру головного мозга различными методами с максимальной реалистичностью, что наиболее актуально при детальном изучении взаимного расположения отдельных структур.

#### 113. Маслюков П.М., Емануйлов А.И.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия. E-mail: mpm@yma.ac.ru

#### ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК НЕЙРОНОВ ЗВЕЗДЧАТОГО УЗЛА МЫШИ

Нейротрансмиттерный состав нейронов звездчатого узла мышей разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-, 60-дневные) исследовали иммуногистохимическим методом. Наибольшее количество нейронов у мышей всех возрастных групп содержали фермент синтеза норадреналина—тирозингидроксилазу (ТГ). Относительное содержание таких нейронов в раннем постнатальном онтогенезе практически не менялось. У новорожденной мыши значительная часть нейронов вместе с ТГ содержала нейропептид Y (НПУ). В дальнейшем онтогенезе доля этих нейронов постепенно увеличивалась. Небольшое количество клеток уже с момента рождения содержали фермент синтеза ацетилхолина, а именно, холинацетилтрансферазу (ХАТ). Доля этих нейронов возрастала до 10-х суток жизни, а затем снижалась. Большинство ХАТ-позитивных нейронов у новорожденных, 10- и 20-дневных мышей также являлись ТГ-положительными. Однако доля нейронов, иммунореактивных к ХАТ и ТГ, быстро снижалась в первые 10 сут жизни. Подавляющее большинство холинергических нейронов у всех животных содержали вазоактивный интестинальный пептид (ВИП). Доля этих нейронов претерпевала изменения, сходные с колебаниями числа нейронов, иммунореактивных к ХАТ. Чуть менее половины всех ВИП-содержащих нейронов у новорожденных мышат проявляли одновременно иммунореактивность к ТГ, с 10-х суток жизни эта доля снижалась и далее существенно не менялась. Нейроны, иммунореактивные к соматостатину и галанину, у всех животных отсутствовали. При анализе морфометрических характеристик нейронов было выявлено, что нейроны, содержащие различные нейротрансмиттеры, имеют разные размеры. По средней площади сечения нейроны, содержащие ТГ и НПУ

были меньше, чем клетки, иммунореактивные к ХАТ. В возрасте от 10 до 30 сут НПУ-позитивные нейроны были значимо мельче, чем ТГ-иммунореактивные. Таким образом, набор нейротрансмиттеров, характерный для взрослого организма, присутствует в звездчатом узле уже с момента рождения. Так же как и у взрослых, у новорожденных основная масса нейронов содержат ферменты синтеза норадреналина, и имеется небольшая популяция клеток, не содержащая катехоламинов. Результаты настоящего исследования дополняют наши данные о постнатальном развитии нейронной организации, полученные ранее на котятках, в частности, о неоднородности клеточного состава нейронов звездчатого узла кошки уже к моменту рождения. Имеются отдельные популяции нейронов, различные по локализации, размерам, гистохимическим и функциональным характеристикам. Окончательно состав нейротрансмиттеров в узле стабилизируется к концу 2-го месяца жизни.

Работа поддержана РФФИ, гранты №№ 04-04-48364, 06-04-81021.

#### 114. Махмутов О.К., Иванова А.М., Е.И.Чумасов

Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, Россия.

#### СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОМ НЕРВЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЛИДОКАИНА

Работа выполнена на седалищном нерве 27 беспородных крыс-самцов массой 200–250 г. Были поставлены 2 серии экспериментов: в 1-й — на отпрепарированный на уровне верхней трети бедра нерв правой конечности апплицировали в течение 60 с 2% раствор лидокаина; во 2-й — изотонический раствор. В качестве контроля служили нервы интактных животных. Операцию проводили под рометар-теопенталовым наркозом. Рану ушивали обычным хирургическим методом. Материал брали через 3, 7, 15 сут (по 3 животных на временную точку) и фиксировали в 10% нейтральном формалине. В работе использовали метод импрегнции нитратом серебра по Бильшовскому—Грос в модификации Е.И.Чумасова (1976), судан черным для выявления миелиновых оболочек; срезы докрашивали гематоксилином—эозином. Через 3 сут в эпинеурии в опытах, в отличие от контроля, обнаруживаются гистиоцитарная реакция и воспалительные клеточные инфильтраты (моноциты, нейтрофильные гранулоциты, макрофаги). Периневрий слегка гипертрофирован, в нем наблюдается расслоение периневриальных футляров. В эндоневрии нервных стволов с помощью гистохимической реакции на фосфолипиды обнаружены реактивные изменения многих миелиновых волокон (МВ), а также распад их миелиновых оболочек на оvoidы, шары и небольшие глыбки. В некоторых случаях можно видеть «оголенные» на значительном протяжении аксоны, лишенные миелиновой оболочки. Среди продуктов распада общегистологическими методами выявлены моноциты, макрофаги и активированные эндоневральные фибробласты. Такие изменения МВ чаще встречаются по периферии нервных стволов, под периневрием. Нейрогистологическое исследование показало, что большинство аксонов реактивно изменены, но сохраняют свою непрерывность. Через 7 сут еще встречаются признаки воздействия на нерв лидокаина во многих миелинизированных сегментах МВ большого и среднего диаметра можно увидеть сильно расширенные воронкообразные насечки, гипертрофированные, булавовидной формы межузловые сегменты, вакуоли. Изредка наблюдаются продукты распада миелина. Большинство аксонов приобретает типичный для нормы вид; воспалительные инфильтраты исчезают. Через 15 сут по своей структуре нерв ничем не отличается от интактного. Сделан вывод, что данный анестетик, легко проникая через оболочки седалищного нерва, вызывает не только анальгезию, но и очаговую демиелинизацию периаксонального типа во всех его стволах. Установлено, что описанные изме-

нения обратимы и через 15 сут структурно-функциональное состояние нерва возвращается к норме.

*115. Меликсетян И.Б.*

Институт физиологии им. акад. Л.А. Орбели Национальной Академии Наук Армении, г. Ереван, Армения. E-mail: iram@neuroscience.am

**ВЫЯВЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ  $\text{Ca}^{+2}$ -ЗАВИСИМОЙ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ В КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС**

Разработан новый метод выявления активности  $\text{Ca}^{+2}$ -зависимой кислой фосфатазы, предназначенный для изучения цитохимической организации клеточных структур ЦНС. Целью настоящего исследования было установление оптимального количественного соотношения глицерофосфата, буфера, катионов металла в инкубационной смеси для избирательного и постоянного выявления перикарионов и отростков нервных клеток. Для обеспечения оптимальных условий, препятствующих растворению фосфатов в клеточных структурах мозга, выяснены влияния различных фиксирующих смесей и обработок. Определены условия, препятствующие растворению фосфатов в клеточных структурах до проведения реакции. Это одно из важных условий, обеспечивающих стабилизацию фосфора. В конечном итоге было установлено, что осаждение фосфора под действием фермента, как и в случае с ортофосфатами, подчиняется закономерности концентрационного взаимоотношения по Чилингаряну, и при желании экспериментатора можно добиться избирательного выявления различных клеточных структур нервной системы в диапазоне pH среды от 3,8 до 6,2. При выявлении активности кислой фосфатазы первичным продуктом реакции являются освобожденные под действием фермента фосфатные ионы, однако образование конечного продукта — осадка фосфата свинца зависит от состава инкубационной смеси и готовности соответствующих структур осаждать на своей поверхности преципитат. Конечный продукт реакции осаждается как на ферментно-активных структурах, так и на структурах, не обладающих ферментной активностью. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что при обеспечении оптимальных условий для выявления клеточных структур мозга мелкозернистый осадок фосфата свинца наблюдается в перикарионах и отростках нейронов, причем у большинства из них отростки прослеживаются на далеком от тела расстоянии. Нервные клетки отличаются не только по форме, размерам, характеру ветвления отростков, но и по степени интенсивности окрашивания и срокам выявления, причем эта разница прослеживается как в нейронах разных отделов мозга, так и в одной популяции. На основании данных, полученных при применении стандартного метода Гомори, укоренилось представление, что активность кислой фосфатазы в мозгу выявляется преимущественно в крупных клетках. В противоположность этому, данные, полученные при выявлении активности  $\text{Ca}^{+2}$ -зависимой кислой фосфатазы, указали на наличие активности фермента и в других нейронах, не выявляющихся стандартным методом. Выявление активности  $\text{Ca}^{+2}$ -зависимой кислой фосфатазы, помимо гистохимического значения, представляет определенный интерес в морфологическом отношении, так как при этом получается своеобразная картина, занимающая промежуточное положение между получаемой методом Ниссля и импрегнацией нитратом серебра. Таким образом, предложенный подход к изучению клеточных структур нервной системы обладает избирательностью, постоянной воспроизводимостью и четкостью получаемой картины. Кроме того, он недорогостоящий, нетрудоемкий, что позволяет применять его в повседневных исследовательских работах. Полученная морфологическая картина обладает большой информативностью и дает возможность в эксперименте судить о метаболизме исследуемых структур.

*116. Мельник Н.А.*

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев, Украина. E-mail: melnikn@mail.ru.

**РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ДЕМИЕЛИНИЗАЦИИ И РЕМИЕЛИНИЗАЦИИ**

Демиелинизирующие заболевания — это наиболее распространенные заболевания центральной (ЦНС) и периферической нервной систем, которые возникают при разрушении миелиновой оболочки нервных волокон. Считается, что в основе этиологии демиелинизирующих заболеваний лежит взаимодействие повреждающих факторов внешней среды и наследственности. Однако в последнее время ряд научных работ характеризуют демиелинизирующие заболевания как аутоиммунные, которые сопровождаются повреждением нейронов, что, в свою очередь, приводит к атрофии ЦНС и устойчивому неврологическому дефициту. Наиболее эффективными препаратами для лечения демиелинизирующих заболеваний являются рекомбинантные  $\beta$ -интерфероны (препараты Ребиф, Бетаферон), но экспериментальные исследования по изучению влияния этих препаратов на состояние нервных клеток органов ЦНС раньше не проводились. В последнее время для стимуляции восстановительных процессов часто используется лазерное облучение (ЛО), однако детальное изучение изменений тел нейронов и миелиновых нервных волокон при демиелинизирующем процессе и после использования ЛО отсутствует. Целью данной экспериментальной работы было изучение тел нейронов и миелиновых нервных волокон органов ЦНС при демиелинизации, после использования препарата Ребиф и ЛО. Исследование было проведено на 122 крысах-самках, у которых моделировали экспериментальный аллергический энцефаломиелит (ЭАЭ), используя гомогенат спинного мозга крысы и адьювант Фрейнда. Гистологические срезы ствола головного мозга, мозжечка и поясничного отдела спинного мозга окрашивали крезильовым фиолетовым, толудиновым голубым и гематоксилином—эозином. Были изучены все разновидности перикарионов клеток ствола головного мозга, спинного мозга и грушевидные клетки мозжечка. Определяли показатели площади (S) и периметра профильного поля перикариона, его ядра и показатели соотношений площадей сечения ядра и цитоплазмы. Миелиновые волокна органов ЦНС были изучены с использованием электронно-микроскопических методик. Проводили морфометрический анализ миелиновых нервных волокон на поперечных сечениях нервных волокон сканированных изображений электронных микрофотографий в интерактивном режиме с помощью программы UTHSCSA Image Tool for Windows. В условиях ЭАЭ тела нейронов ствола головного мозга, серого вещества поясничного отдела спинного мозга и грушевидных клеток мозжечка имеют реактивные и деструктивные изменения, которые были определены по изменению формы контура цитоплазмы и ядра нейрона, интенсивности их окраски и особенностей размещения хроматофильной субстанции. Более глубокие патологические изменения наблюдали в грушевидных клетках. Введение препарата Ребиф не влияло на восстановление тел нейронов в ранний срок исследования. В поздний срок исследования был определен дозозависимый эффект препарата Ребиф — увеличение дозы препарата улучшало состояние тел нейронов и миелиновых нервных волокон. Восстановление тел нейронов и миелиновых нервных волокон лучше проходило в стволе головного мозга. Использование ЛО на участок тела в проекции тимуса и селезенки не давало положительного эффекта на восстановление тел нейронов и миелиновых нервных волокон в ранний срок исследования. В поздний срок исследования наблюдали дозозависимый эффект восстановления тел нейронов и миелиновых нервных волокон. Оптимальная доза для восстановления нейронов и миелиновых нервных волокон —

проведение ЛО по 5 или 6 мин за один сеанс на участок тела в проекции тимуса и селезенки в течение 5 сут. Было определено, что стабильность структур миелиновой оболочки зависит от состояния тела нейрона и осевого цилиндра нервного волокна.

117. Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е.

Санкт-Петербургский государственный университет, Россия. E-mail: simelnitsky@hotmail.ru

#### ВЕРТМАННИН МОДУЛИРУЕТ ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНА НА ТРАНСПОРТ $\text{Na}^+$ В КОЖЕ ЛЯГУШКИ

Известно, что инсулин стимулирует транспорт  $\text{Na}^+$  через мембраны эпителиальных клеток амфибий. Влияние инсулина на транспорт  $\text{Na}^+$  в реабсорбирующих эпителиях является предметом интенсивных исследований в течение последних десятилетий, однако механизмы, лежащие в основе этого процесса, по-прежнему, неизвестны. Установлено, что фосфатидилинозитолкиназы являются важными регуляторными белками, опосредующими многие клеточные эффекты инсулина. С помощью метода фиксации потенциала исследовано влияние эффективного ингибитора фосфатидилинозитол-3- и 4-киназ вертманнина на эффект инсулина на транспорт  $\text{Na}^+$  в коже лягушки *Rana temporaria*. Для измерения электрических параметров кожи лягушки использовали автоматизированную установку фиксации потенциала и регистрации вольт-амперных характеристик. Транспорт  $\text{Na}^+$  оценивали как амилорид-чувствительный ток короткого замыкания ( $I_{SC}$ ). Для измерения вольт-амперных характеристик на кожу подавали линейноизменяющееся напряжение (ramp) со скоростью 20 мВ/с. В интервалах между измерениями вольт-амперных характеристик трансэпителиальный потенциал ( $V_T$ ) кожи поддерживали при 0 мВ (режим короткого замыкания) или при потенциале открытой цепи  $V_{OC}$  ( $V_{OC}=V_T$  при трансэпителиальном токе,  $I_T=0$ ). Из вольт-амперных характеристик определяли электрические параметры кожи:  $I_{SC} - (I_{SC}=I_T \text{ при } V_T=0)$ ,  $V_{OC}$  и трансэпителиальную проводимость —  $g_T$ . В конце каждого опыта в раствор, омывающий апикальную поверхность эпителиоцитов кожи, добавляли блокатор эпителиальных  $\text{Na}^+$ -каналов амилорид (20 мкМ). Показано, что добавление инсулина вызывает увеличение всех электрических характеристик кожи лягушки. В среднем, по данным 10 экспериментов, добавление 1 мкМ инсулина ( $130 \pm 10$  мин) на базолатеральной поверхности эпителиоцитов кожи вызывает увеличение  $I_{SC}$  на  $46 \pm 10\%$  ( $P < 0,01$ ),  $V_{OC}$  — на  $56 \pm 12\%$  ( $P < 0,01$ ), а  $g_T$  — на  $8,3 \pm 1,8\%$  ( $P < 0,05$ ). Обнаружено также, что предварительная обработка (в течение  $30 \pm 10$  мин) апикальной и базолатеральной поверхности эпителиоцитов кожи ингибитором фосфатидилинозитолкиназы вертманнином (1 мкМ), существенно снижает, но не предотвращает стимулирующее влияние инсулина на  $I_{SC}$ . В среднем, индуцируемое инсулином увеличение  $I_{SC}$  в этом случае составляет (по данным 5 экспериментов)  $37 \pm 4\%$  ( $P < 0,05$ ),  $V_{OC}$  —  $35 \pm 4\%$  ( $P < 0,01$ ); при этом не наблюдается изменения величины  $g_T$ . Полученные данные свидетельствуют о том, что фосфатидилинозитолкиназам принадлежит важная роль в реализации регуляторного действия инсулина на транспорт  $\text{Na}^+$  в коже лягушки.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 03-04-49091 и Гранта Минобразования «Развитие научного потенциала высшей школы» № 4681 (2005 г.).

118. Мельченко Е.А., Джандарова Т.И., Манюков Е.А., Затылкин Е.А.

Ставропольский государственный университет, Россия. E-mail: Djandarova@yandex.ru

#### ОРГАНИЗАЦИЯ ЦИРКАДИАНЫХ РИТМОВ СОДЕРЖАНИЯ ОБЩЕГО КАЛЬЦИЯ В КРОВИ, ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО МАГНИЯ И КОРТИКОСТЕРОИДОВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПОПАРАТИРЕОЗА

Как известно, магний (Mg) играет важную роль в жизнедеятельности организма, являясь кофактором различных ферментов, большая часть которых утилизирует АТФ. Кро-

ме того, он является природным и физиологическим антагонистом кальция (Ca). Нарушение баланса этих катионов приводит к опасным для жизни изменениям сердечного ритма, развитию патологии пищеварительного тракта, эндокринным заболеваниям и т. д. В связи с этим целью нашей работы было изучить особенности организации циркадианных ритмов (ЦР) содержания общего Ca (ОСа) в крови, внутриклеточного Mg (BMg) и 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) при обычном световом режиме. Исследования проведены на 72 белых крысах линии Вистар с экспериментальным гипопаратиреозом. Контролем служили интактные крысы. Для определения ЦР концентрации Ca, Mg и 11-ОКС кровь у животных брали из хвостовой вены в соответствии с процедурой «хронобиологического среза» [Карп В.П. и Катинас Г.С., 1997; 2000] в 10, 14, 18, 22, 2 ч и 6 ч в условиях обычного светового режима (12С:12Т). Данные обрабатывали на компьютере с использованием t-критерия Стьюдента и косинор-анализа. Как следует из полученных данных, максимум концентрации ОСа в крови у интактных крыс приходился на 14 ч. Косинор-анализ выявил положение акрофазы ЦР содержания ОСа в 15,8 ч. При этом существенное повышение содержания Mg в эритроцитах выявлялось в ночные часы (22 ч и 2 ч). Второй (менее выраженный) пик содержания BMg выявлялся в 10 ч. Поэтому при косинор-анализе обнаруживался существенный разброс значений акрофазы. Однако в целом можно было говорить о том, что наибольшее повышение содержания Mg приходилось на темное время суток. При этом у интактных крыс наиболее высокая гормональная активность надпочечников приходилась также на темный период суток. Следовательно, ЦР содержания ОСа и BMg и 11-ОКС находились в противофазе. Удаление околощитовидных желез (ОШЖ) приводило к значимому снижению среднесуточного содержания ОСа. При этом максимальное повышение концентрации Са наблюдалось в ночные часы (2 ч и 6 ч). По данным косинор-анализа, акрофаза ЦР содержания ОСа у животных с гипопаратиреозом приходилась на ночные часы (4, 8 ч). При удалении ОШЖ наблюдалось статистически значимое, по сравнению с интактными животными, повышение среднесуточных значений концентрации Mg в клетках. При этом повышение содержания Mg регистрировалось во второй половине ночи и в утренние часы. По данным косинор-анализа, акрофаза приходилась на утренние часы (8, 9 ч). Наиболее высокие значения 11-ОКС у крыс с гипопаратиреозом приходились на светлое время суток. Таким образом, нарушение функции ОШЖ сопровождается нарушением нормальных ЦР содержания ОСа в крови, BMg и 11-ОКС. При гипокальциемии нарушается механизм взаимообусловленной регуляции кальциево-магневых отношений. Проявлением этого и является, видимо, нарушение фазового соотношения ЦР содержания Са и Mg. Полученные данные указывают также на то, что ОШЖ могут выступать в роли регулятора циркадианной организации обмена Mg. При нарушении функции этих желез внутренней секреции дезорганизуется ритмостаз Са, Mg и кортикостероидов.

119. Меркулева Н.С., Макаров Ф.Н.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: makarov\_lab@infran.ru

#### КРАТКОВРЕМЕННАЯ СТИМУЛЯЦИЯ МЕЛЬКАЮЩИМ СВЕТОМ ПРИВОДИТ К ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЮ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ В ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЕ КОТЫ

Известно, что у животных, выросших в условиях специфического зрительного окружения происходит нарушение нормального развития зрительной системы [Hubel, Wiesel, 1963]. На настоящий момент существуют лишь отрывочные данные о влиянии на развивающуюся зрительную систему мелькающего освещения. При этом данный фактор являет-

ся неотъемлемым компонентом зрительного окружения человека. Предварительные исследования показали, что у котят, подвергавшихся ежедневным сеансам мелькающего с частотой 15 Гц света, в поле 17 коры мозга происходит реорганизация паттерна распределения активности дыхательного фермента цитохромоксидазы (ЦО) [Меркульева Н.С., Макаров Ф.Н., 2004]. Целью данного исследования было проверить, приводит ли мелькающее освещение к длительным структурно-функциональным изменениям в зрительной коре, или обнаруженное нами ранее регулярное распределение ЦО отражает лишь временные функциональные перестройки. Для этого в условиях естественного освещения были выращены 6 котят. В период с 10-й по 11-ю неделю жизни котят подвергали ежедневным сеансам стимуляции мелькающим с частотой 15 Гц светом. Взятие гистологического материала у животных 1-й группы (3 котенка) проводили сразу по окончании периода стимуляции, у котят 2-й группы — через 2 нед, во время которых котята находились в нормальной зрительной среде. Гистохимическое выявление фермента ЦО проводили на сагиттальных срезах зрительной коры по стандартной методике [Wong-Riley, 1979]. Доверительные интервалы вычисляли при уровне значимости 5%. У всех котят в поле 17 выявлено одинаковое распределение активности ЦО, представленное в виде регулярно чередующихся участков с высокой и низкой активностью — темные (ТП) и светлые «пятна», расположенных в слоях IV и VI. ТП слоев IV расположены строго над ТП слоя VI. Ширина ТП в слое IV и их период (расстояние между центрами) у котят 1-й группы составляли  $416 \pm 14$  мкм и  $788 \pm 83$  мкм, у котят 2-й группы —  $433 \pm 35$  мкм и  $780 \pm 7$  мкм. Ширина и период ТП в слое VI у котят 1-й группы составляли  $395 \pm 64$  мкм и  $792 \pm 51$  мкм, у котят 2-й группы —  $388 \pm 35$  мкм и  $792 \pm 61$  мкм. Для оценки интенсивности окрашивания ТП были вычислены значения их относительной оптической плотности (ОПотн.), которая определялась как частное от деления значений оптической плотности ТП и светлых участков между ними. Значения ОПотн. у котят двух групп были примерно равны и составляли  $1,14 \pm 0,03$  и  $1,160 \pm 0,010$ . Размер ТП и особенности их пространственной организации позволяют предположить, что эти структуры принадлежат системе корковых колонок и соответствуют расположенным в поле 17 колонкам глазодоминантности. Результаты исследования позволяют утверждать, что обнаруженные в слоях IV и VI колонки отражают не только функциональные, но и структурные перестройки в пределах поля 17, поскольку выявленные структуры сохраняются и после прекращения сеансов стимуляции мелькающим светом.

120. Минабаева З.Р., Калимуллина Л.Б., Шарафутдинова Л.А.

Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия. E-mail: sharipoval@yandex.ru

#### ТЕМНЫЕ И СВЕТЫЕ НЕЙРОНЫ ПЕРЕДНЕГО ОТДЕЛА МИНДАЛЕВИДНОГО ТЕЛА МОЗГА КРЫСЫ

Темные и светлые клетки, по мнению большинства исследователей, являются различными функциональными состояниями одной и той же клетки. По своей структурной организации темные и светлые нейроны миндалевидного тела (МТ) имеют черты, сходные с нейросекреторными клетками гипоталамуса [Сенчик, Поленов, 1967; Войткевич, Дедов, 1972; Гарлов, 1994]. Нами исследованы ультрамикроскопические характеристики нейронов передней амигдаларной области (ААА), переднего кортикального ядра (СОа) и центрального ядра (СЕ) МТ. ААА и СОа являются основными зонами полового диморфизма и способны оказывать модулирующее влияние на деятельность репродуктивных центров гипоталамуса. Одним из основных каналов связи МТ с остальным мозгом является его СЕ. По мнению ряда исследователей [Ахмаев И.Г. и Калимуллина Л.Б., 1993; Shinoda et al., 1994], СЕ также участвует в половой

дифференциации мозга. Наиболее существенными общими чертами для структурной организации клеточного ядра темных нейронов были следующие: 1) большие размеры; 2) неровные контуры поверхности ядер за счет многочисленных инвагинаций и выбуханий; 3) большое количество гранулярного материала, неоднородного по величине и по плотности; 4) крупное рыхлое ядрышко, находящееся чаще всего в центре ядра. Ядерная оболочка образована внутренней и наружной мембранами с большим количеством ядерных пор. Цитоплазма темных нейронов так же как и ядро обладала значительной электронной плотностью. Цитоплазматическая сеть имела местами характер гранулярной, в некоторых участках агранулярной. Комплекс Гольджи с признаками секреторной активности. Митохондрий в темных нейронах много, они равномерно распределены по всей цитоплазме. Для светлых нейронов характерно наличие светлого крупного ядра и электронно-прозрачной цитоплазмы. Контуры ядра в большей части ровные. Около внутренней ядерной мембраны локализуется краевой хроматин, количество которого больше, чем в темных нейронах. В центре ядра определяется компактное ядрышко. В цитоплазме выявляется большое количество митохондрий, располагающихся группами. Комплекс Гольджи локализован в перинуклеарной зоне перикариона и содержит меньшее число цистерн и микропузырьков, чем в темных нейронах. В периферических зонах цитоплазмы определяются осмиофильные лизосомы. В перикарионе светлых нейронов выявляются элементарные нейросекреторные гранулы. Опираясь на полученные данные и сведения литературы, мы предполагаем, что темные и светлые нейроны представляют собой две различные функциональные стадии жизнедеятельности нейросекреторных клеток МТ мозга. Темные нейросекреторные клетки отражают период создания (путем активизации процессов транскрипции и трансляции) и «упаковки» секрета, светлые — его транспортировки и дальнейшей эвакуации из клетки. Определялись тесные контакты тел нейронов со стенками сосудов. На наш взгляд, выявленные нами клетки с признаками нейросекреторной активности являются нейроэндокринными нейронами, которые могут быть частью гипоталамо-гипофизарной системы.

121. Мокрушина Е.А., Проничев И.В.

Удмуртский государственный университет, г. Ижевск, Россия. E-mail: piv@uni.udm.ru

#### ТОПИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЯДЕР ШВА У БЕЛОЙ МЫШИ

Несмотря на то, что о ядрах шва (ЯШ), как обособленном образовании, известно давно, роль этих структур до конца еще не выяснена, поскольку экспериментальное изучение ЯШ выполнено на небольшом числе представителей в ряду позвоночных и имеет фрагментарный характер. Вниманию многих исследователей привлекает тот факт, что ЯШ, помимо своей основной функции — регуляции сны и бодрствования, принимают участие в сенсорной габитуации, регуляции многих автономных функций, поведенческих актах и мотивационных процессах самоуправления, в том числе в двигательном контроле и торможении. Мы предполагаем, что ЯШ принимают участие в фациальном контроле. В связи с этим, предпринято комплексное исследование морфофункциональной организации ЯШ у белой мыши. В 1-й серии экспериментов, используя методы антероградной дегенерации нервных волокон, ретроградного транспорта флюорохрома примулина, а также пероксидазы хрена изучали афферентные и эфферентные связи ЯШ. Обнаружено, что ЯШ имеют прямые входы от моторной коры, верхних холмиков крыши среднего мозга, красного ядра, моторного и мезенцефалического ядер тройничного нерва и посылают свои проводники к ядру лицевого нерва (ЯЛН). Во 2-й серии экспериментов с использованием метода ми-

кростимуляции (МС) изучали топическую организацию ЯШ. В ходе МС различных отделов ЯШ были выявлены двигательные представительства (ДП) лицевых и соматических мышц, которые имели сложную пространственную организацию. Не установлены ДП в 1/3 ростральная области бледного ЯШ и 1/4 ростральная области большого ЯШ. По-видимому, данные области этих ядер не принимают участия в двигательном контроле. Большинство ДП мышц в ЯШ накладываются друг на друга и имеют зоны перекрытий, что определяет сочетанные движения, регистрируемые при МС ЯШ. Сочетанные движения при этом могут иметь несколько источников происхождения, причем, ЯШ, возможно, причастны к выполнению целостных поведенческих актов. С помощью метода МС были отмечены и особенности характера двигательных ответов (ДО) лицевых мышц при МС различных областей ЯШ, что указывает на некую функциональную неоднородность данных образований, а также на особенность характера нисходящих рафофациальных влияний у белой мыши. Различный характер ДО лицевых мышц при МС ЯШ позволяет сделать заключение о наличии прямых функциональных связей ЯШ с определенными субъядрами ЯЛН, что согласуется с морфологическими данными. Узкая функциональная специализация характерна для большого ЯШ. Именно в нем выявлена четкая миотопическая организация ДП вибрисс. Миотопическая организация обнаружена и в скрытом ЯШ. По-видимому, это указывает на более позднее формирование этих ядер в филогенетическом развитии ЦНС, что обеспечивает более тонкий контроль в управлении лицевой мускулатурой. С целью изучения характера нисходящих рафофациальных влияний нами проведены измерения латентных периодов ДО лицевых и соматических мышц. Полученные результаты указывают на различный характер связей ЯШ с ЯЛН. Так, коротколатентные ДО лицевых мышц (латентный период —  $ЛП=4,2\pm 0,3$  мс,  $n=92$ ) свидетельствует о наличии моносинаптических рафофациальных связей, что указывает на более быстрый модулирующий контроль ЯШ в управлении фациальными мышцами. Увеличение ЛП до 8–10 мс и 14–16 мс указывает на олигосинаптический характер рафофациальных связей. Кроме того, большие ЛП могут указывать и на наличие тормозных зон в ЯШ, что согласуется с данными литературы. Исходя из полученных результатов, можно предположить, что ЯШ являются не просто интегративной структурой, но и на основании интеграции сенсомоторных стимулов выполняют корректирующую, мотивационную функцию.

122. Морозов Ю.Е.<sup>1</sup>, Пиголкин Ю.И.

<sup>1</sup>Бюро судебно-медицинской экспертизы ДЗ Москвы, Россия. E-mail: mrvz@progtex.ru

#### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СОЧЕТАННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ И КАННАБИНОЛОМ

По распространенности и социальной значимости наркотических препараты каннабиса (конопля индийская, гашиш, марихуана) занимают третье место после табака и алкоголя. Согласно статистическим данным, в последние годы резко возросло количество сочетанных острых отравлений каннабинолами (КБ) и этиловым спиртом (ЭС), особенно среди подростков. Подобно алкогольным напиткам, КБ повышают риск противоправного поведения, в связи с чем установление каннабиноидной интоксикации (КИ), так же как и алкогольной (АИ), является важной задачей судебной медицины. Посмертная диагностика КИ и АИ основана на результатах судебно-химических исследований секционного материала, однако определение КБ ограничено их быстрым распадом в биологических тканях. Кроме этого, судебно-химические методы не позволяют судить о роли токсикантов в пато- и танатогенезе. Данные литературы убедительно свидетельствуют о том, что использование комплекса морфологических методов исследования (мор-

фометрических, гистологических, гистохимических) наряду с традиционными судебно-химическими и химико-токсикологическими, позволяет оптимизировать патоморфологическую диагностику отравлений. Являясь спиртами, КБ метаболизируются алкогольоксилирующими диафоразами, по остаточной активности которых они могут быть определены в тканях трупа гистохимическими методами. Проведено комплексное исследование сочетанных острых отравлений КБ и ЭС, включающее в себя расширенный эпидемиологический анализ (467 наблюдений), морфометрическое исследование (36 наблюдений), гистологическое изучение головного мозга, легких, надпочечников (78 препаратов), гистохимическое определение активности диафораз гипоталамуса (24 исследования). Во всех случаях сочетанное отравление было подтверждено результатами судебно-химического исследования, при котором в биологическом материале (кровь, моча) были идентифицированы КБ и ЭС. При выборочном изучении архивных документов в наркодиспансерах и бюро судмедэкспертиз Москвы, Краснодарского и Ставропольского краев за 2002–2004 гг. установлено ежегодное увеличение сочетанных отравлений: 2002 г. — 26%; 2003 г. — 30,5%; 2004 г. — 32%. Отравления чаще встречались у мужчин (72%) молодого возраста (20–35 лет), при транспортных травмах (54%), суицидальных попытках (19%) и несчастных случаях (39%). При осмотре отмечались гиперемия конъюнктивы, сухость слизистых оболочек рта и глотки. Количество проведенных исследований трупов с положительно установленной КИ было небольшим (2–7%) по сравнению с таковым у живых людей (93–98%), а также в сравнении с количеством исследований трупов на наличие АИ (98–99%). Среди методов, использованных для идентификации наркотически значимых КБ, иммунохимические (ПФИА, иммуноферментный анализ, иммунохимический анализ) отличались высокой чувствительностью, но низкой специфичностью по сравнению с результатами, полученными методами гистохимии, ГХ/МС, высокоэффективной жидкостной хроматографии. При морфологическом изучении органов (6 наблюдений) были установлены распространенные расстройства кровообращения в головном мозгу и легких, размягчение вещества мозга и расширение границ распространения темных клеток в корковом веществе надпочечников, индукция активности алкогольдегидрогеназы в супраоптическом и альдегиддегидрогеназы — в паравентрикулярном ядрах гипоталамуса.

123. Мошков Д.А., Михайлова Г.З., Тирас Н.Р., Штанчаев Р.Ш.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН г. Пушкино; E-mail: dmitrymoshkov@rambler.ru; Пушкинский государственный университет, Россия

#### ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АСИММЕТРИИ МАУТНЕРОВСКИХ НЕЙРОНОВ ЗОЛОТОЙ РЫБКИ

Исследовали функциональное проявление структурной асимметрии маутнеровских нейронов (МН) золотой рыбки, определяемой трехмерной реконструкцией по серийным гистологическим срезам. Изучали в норме и после различных унилатеральных воздействий, затрагивающих преимущественно один из двух МН, корреляцию между предпочтением рыбки поворачиваться вправо или влево в узком канале и размером тела, латерального и вентрального дендритов и начального сегмента аксона, а также суммарным объемом правого и левого МН. Результаты работы показали следующее. 1. Существует корреляция между строением одного нейрона и определенным уровнем активности, которую он проявляет в поведении как инициатор унилатерального поворота тела рыбки. Она предполагает, что именно структурная асимметрия двух зеркально расположенных нейронов реализуется в виде асимметричного моторного поведения. 2. Экспериментально индуцированное изменение моторной асимметрии рыбки сопровождается изменением структурной асимметрии их МН. Утомление нейрона коррелирует главным

образом с уменьшением его объема. Долговременная модификация функции МН, известная как адаптация, характеризующаяся повышенной сопротивляемостью утомительной стимуляции, сопровождается стабилизацией размеров МН. 3. Аппликация на МН веществ, деполимеризующих или полимеризующих актин, позволила определить, что изменения размеров МН и их стабилизация обусловлены изменением состояния нейронального актина. 4. Обнаружена прямая зависимость между эффективностью и размером нейрона. Вместе с тем, играет роль не столько величина индивидуального объема, сколько превышение объема контралатерального нейрона над объемом ипсилатерального его двойника в другой половине мозга, т. е. разностная величина объема, которая дает функциональное преимущество контралатеральному нейрону перед ипсилатеральным. Это структурное различие в абсолютных размерах может быть небольшим и затрагивать лишь часть МН, например, вентральный дендрит, но функционально существенным. 5. При анализе взаимосвязи моторной асимметрии рыбки и размеров различных частей МН выяснилось, что структурная асимметрия тела и латеральных дендритов, как правило, прямо коррелируют с моторной асимметрией рыбки. Взаимоотношение же вентральных дендритов и функциональной активности МН имеет реципрокный характер. Последнее позволяет предположить, что дендриты у МН, по крайней мере их проксимальные отделы, морфофункционально асимметричны и автономны, хотя они и составляют единое целое с нейроном. В целом, данные показывают, что МН являются адекватным объектом для исследования клеточных механизмов асимметрии моторной функции мозга, а также некоторых структурных механизмов адаптации и памяти на клеточном уровне.

*Работа выполнена при частичной поддержке грантами РФФИ (проект № 05-04-48839 и №05-04 48281) и Федерального агентства по образованию.*

#### 124. Мусеридзе Д.П., Сванидзе И.К.

Институт физиологии АН Грузии им. И.С. Бериташвили, г. Тбилиси, Грузия E-mail: igor-svanidze@mail.ru

#### **ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА НА НЕЙРОНЫ КОРЫ БОЛЬШОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС И ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ ВЫЗВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ**

Многочисленные исследования влияния этанола выявили чувствительность коры большого мозга в период морфофункционального становления ЦНС. Наблюдались изменения ультраструктуры и гибель нейронов, вследствие чего формировался плодотворный алкогольный синдром, ведущий к нарушению функций различных систем организма. Обнаружено, что в этом случае особенно страдают память и поведение животных. Исходя из сказанного, мы задались целью выявить изменения, вызванные влиянием этанола на лимбическую (энторинальная кора и поясная извилина) и моторную область коры мозга потомства тех самок, которые в период беременности и в течение 30 сут после рождения потомства вместо воды получали 15% раствор этанола. В этот же период, с целью коррекции изменений, вызванных этаноловой интоксикацией, животные, параллельно с этанолом получали препарат доливин. Доливин содержит антигипоксикант гипоксен, который, обладая высокими электрон-акцепторными свойствами, защищает мембраны нейронов от разрушительного влияния свободных радикалов, образующихся после воздействия этанола. При определении числа нейронов в лимбической и моторной коре на окрашенных крезильным фиолетовым препаратах было обнаружено, что пренатальное воздействие этанола вызывает снижение числа нейронов в период раннего постнатального развития животных (P3, P7, P15, P21, P30). Особенно сильно выраженные изменения наблюдались на 7-е сутки постнатальной жизни, когда у интактных животных отмечается увеличение массы мозга, усиление пролиферации глиоцитов, начинается синаптогенез. После приема доливина отмеченный выше процесс нормализуется, что выражается

в наличии большего количества нейронов в изученных областях коры головного мозга, по сравнению с таковым у животных, находящихся под этаноловым воздействием. Анализируя полученные данные, можно заключить, что пре- и постнатальная интоксикация этанолом вызывает гибель части нейронов в лимбической и моторной коре большого мозга на ранних этапах постнатального развития, в то время как доливин защищает нейроны от оксидативного стресса и может быть использован для коррекции нарушений, наблюдаемых вследствие алкогольной интоксикации.

#### 125. Мухина Ю.К., Хренов А.И.

Научно-исследовательский институт мозга РАМН, Москва, Россия.

#### **ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАРВАЛЬБУМИНОВЫХ НЕЙРОНОВ В ЭНТОРИНАЛЬНОЙ КОРЕ МОЗГА ВЗРОСЛОГО ЧЕЛОВЕКА**

Изучали парвальбумин-позитивные (PV+) клетки энторинальной коры мозга взрослого человека. PV+ клетки выявлялись со всеми дендритами, а часто и аксонами. PV+ нейроны наблюдались в основном в верхних слоях (II–III), в небольшом количестве — в глубоких (V–VI) и единичные в слое I. Иммуногистохимически выявленные виды PV+ клеток, идентичны изученным методом Гольджи, что позволило отнести их к проекционным или интернейронам. В слое I, в его средних и глубоких отделах, располагались крупные и средние PV+ клетки Кахаля—Ретциуса, а также единичные другие интернейроны: а) радиальные короткодendrитные (средние, мелкие) с округлым телом и отходящими от него по радиусам короткими гладкими прямыми слабо ветвящимися дендритами; б) беднодендритные микронейроны — очень мелкие клетки, с округлым телом и обычно с тремя очень короткими радиальными дендритами; в) ординарные биполярные — с 2–3 короткими чрезвычайно слабо ветвящимися дендритами, отходящими от полюсов тела клетки. В слое II не окрашивались основные проекционные нейроны, образующие характерные «крупноклеточные островки» этого слоя на препаратах, импрегнированных нитратом серебра по Гольджи. Выявлялись PV+ проекционные радиальные (R1 менее и R2 более разветвленные). Ретикулярные нейроны R1 были единичны, всегда находились в центре клеточных островков и окружены интернейронами — в большинстве радиальными короткодendrитными, мелкими ординарными биполярными (в меньшем числе) и беднодендритными микронейронами. Ретикулярные нейроны R2 находились в промежутках между клеточными островками (где проходят дендриты клеток нижележащих слоев, выявляющиеся при импрегнации по Гольджи) и проникали своими дендритами в слой I и в клеточные островки, как бы объединяя их. В промежутках между островками находились также единичные радиальные длиннодендритные интернейроны. Слой III содержал 3 вида проекционных клеток и 4 вида интернейронов. Проекционные нейроны включали: 1. Ретикулярные радиальные, преимущественно крупные R1 и R2. Эти нейроны преобладали среди всех других видов проекционных нейронов этого слоя и были рассеяны по всему поперечнику слоя. 2. Ретикулярные веретеновидные нейроны, среднего размера, с двумя длинными слабо ветвящимися дендритами, отходящими от противоположных полюсов тела клетки. Эти нейроны были единичны и располагались преимущественно в глубоких отделах слоя. 3. Пирамидные нейроны (густоветвистые клетки) крупные и средние, располагались в глубоких отделах слоя. Апикальный дендрит крупных пирамидных нейронов достигал слоя I, а у средних заканчивался в слое II. Интернейроны: четырех видов — радиальные наиболее многочисленные, длиннодендритные биполярные наблюдались в глубоких отделах слоя, ординарные биполярные встречались довольно часто по всему поперечнику слоя, беднодендритные микронейроны — малочисленные, располагались у

дендритов проекционных клеток. В слое V проекционными PV+ нейронами являлись лишь классические веретена (густоветвистые клетки). Интернейроны были двух видов: а) радиальные коротко- и длиннодендритные, подобные таковым слоя III; б) клетки средней величины (разновидность длиннодендритных биполярных с закрученными дендритами) довольно многочисленные, с относительно длинными слабо ветвящимися тонкими дендритами, некоторые из них в своих дистальных ветвях характерно плавно изгибаясь, распределяясь как бы по окружности придавали этим клеткам особый «изящный» вид; остальные дендриты вытягивались вертикально. В слое VI окрашивались 2 вида проекционных ретикулярных клеток — радиальные (R1 и R2) и веретенновидные, и 2 вида интернейронов — длиннодендритные биполярные и беднодендритные микронейроны.

*Работа поддержана грантом РФФИ №04-04-48851.*

*126. Мякишева С.Н., Костенко М.А., Фомкина М.Г.*

Институт биофизики клетки РАН, г. Пушкино, Россия.  
E-mail: myakisheva@mail.ru

#### **КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КЛЕТОК НЕЙРОБЛАСТОМЫ МЫШИ N1E-115 ПОД ДЕЙСТВИЕМ АГЕНТОВ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ. РОЛЬ САМОРЕГУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ**

На культуре клеток перевиваемой линии нейробластомы мыши N1E-115 проведены исследования по изучению дифференциации и подбору условий, необходимых для получения наибольшего числа дифференцированных клеток (ЧДК). Опыты проводили в присутствии различных индукторов морфологической дифференциации (диметилсульфоксида, форсколина и др.). Результаты проведенных экспериментов показали, что при культивировании в среде с 10% сывороткой в присутствии индукторов ЧДК составляет максимум 25–30%, в то время как в бессывороточной среде и среде с 1–2% сывороткой оно достигает 50–70% от общего числа клеток. В качестве индуктора морфологической дифференциации наилучшие результаты давал форсколин. Необратимая морфологическая дифференциация клеток нейробластомы под действием всех исследованных индукторов достигается практически одновременно на 3–4-е сутки, однако в солевых растворах клетки гибнут значительно быстрее, и для получения наибольшего ЧДК лучше использовать среду DMEM с 1–2% сывороткой или среду L-15. Наши исследования выявили, что в процессе дифференциации клетки нейробластомы выделяют в культуральную среду вещество, названное нами фактором дифференциации (ФД). Было изучено влияние ФД на электрофизиологические характеристики бислойных липидных мембран (БЛМ). В культуральной среде, не содержащей клеток, и среде, в которой находились пролиферирующие клетки, ФД не обнаружен. Исследования на БЛМ показали, что ФД обладает отчетливо выраженной мембранной активностью и способен формировать одиночные катионные каналы в липидном бислое. Изучение вольт-амперных характеристик показало, что каналы являются потенциал-зависимыми. При удалении мембранных компонентов из культуральной среды ЧДК значительно уменьшается даже в присутствии индукторов дифференциации. Это позволило нам сделать вывод, что мембранные компоненты обладают свойством синергизма в условиях, способствующих дифференциации.

*127. Нестерова И.В., Бобкова Н.В., Медвинская Н.И., Самохин А.Н., Александрова И.Ю.*

Институт биофизики клетки РАН, г. Пушкино, Россия.  
E-mail: nbobkova@mail.ru

#### **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙРОНОВ ВИСОЧНОЙ КОРЫ И ГИППОКАМПА У БУЛЬБЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС С РАЗНОЙ СПОСОБНОСТЬЮ К ОБУЧЕНИЮ**

Ранее нами было показано [Бобкова Н.В. и др., 2003, 2005], что удаление обонятельных луковиц у мышей сопровождается значительными нейродегенеративными измене-

ниями в мозгу и нарушением памяти, сходными с проявлениями при болезни Альцгеймера (БА). Работа проведена на бульбэктомированных (БЭ) крысах, у которых исследовали пространственную память в водном лабиринте Морриса. По способности к обучению БЭ-животные были разделены на 2 группы: хорошо обучающиеся (БЭХО) и плохо обучающиеся (БЭПО). Целью работы явилось исследование морфофункционального состояния нейронов височной коры и СА1-, СА3-полей гиппокампа у этих групп БЭ-животных в сопоставлении с таковым у контрольных ложнопериованных (ЛО) крыс. Для окраски замороженных срезов мозга использовали модифицированный метод Нисслера с кризоловым фиолетовым. Для выявления  $\beta$ -амилоидных депозитов использовали флюоресцентный краситель тиафлавин S и специфические моноклональные антитела к  $\beta$ -амилоиду. Через 8 мес после бульбэктомии БЭПО-животные характеризовались полным отсутствием обонятельных луковиц. У большинства крыс группы БЭХО были отмечены клеточные выросты в переднем отделе фронтальной коры. Вблизи мелких сосудов у БЭПО-крыс наблюдались периваскулярные и перичеселлярные гидропические лакуны. У этой группы крыс также было выявлено резкое нарушение цитоархитектоники височной коры и СА1-, СА3-полей гиппокампа, наряду с увеличением числа таких патологических признаков, как пикноз, кариолизис, цитоллиз и уменьшение числа нормально функционирующих нейронов по сравнению с группой БЭХО-крыс. По выраженности патологических реакций нейронов группа БЭХО-животных занимала промежуточное положение между группами БЭПО- и ЛО-крысами. Плотность расположения клеток у БЭПО-крыс незначительно отличалась от таковой у животных других групп. Однако у этих животных обнаружено большее количество плотных флюоресцирующих тиафлавин S-позитивных конгломератов. Иммуногистохимический метод выявил иммунопозитивные к  $\beta$ -амилоиду депозиты, которые располагались преимущественно во II и III слоях височной коры и СА1- и СА3-полях гиппокампа у БЭПО-крыс. Биохимические исследования выявили увеличение содержания  $\beta$ -амилоида в мозговых экстрактах всех БЭ-крыс, которое было наиболее выражено в группе БЭПО-животных. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что наличие клеточных выростов в ростральном отделе коры у БЭХО-крыс препятствуют развитию патологических реакций в нейронах височной коры и гиппокампа, морфофункциональное состояние которых в значительной степени коррелировало с уровнем пространственной памяти. Полное удаление обонятельных луковиц и вызванные этим нейродегенеративные изменения нейронов коры и гиппокампа у БЭПО-крыс сопровождались значительным ухудшением памяти.

*Работа выполнена при поддержке: Программы Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине» и гранта РФФИ-рНаукоград2004\_а № 04-04-97257.*

*128. Низамов Ф.Х., Речкалов А.А.*

#### **Тюменская государственная медицинская академия, Россия** **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АРТЕРИАЛЬНОЙ СЕТИ МЯГКОЙ ОБОЛОЧКИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА В ОНТОГЕНЕЗЕ**

Материалом для настоящей работы послужили 192 препарата головного мозга, взятых от трупов людей обоего пола в возрасте от новорожденности до 90 лет. Исследовано также 12 препаратов мозга от плодов первой и второй половины внутриутробного развития. Артериальная сеть мягкой оболочки головного мозга является важнейшим образованием, которому придается особое значение. У людей зрелого возраста полностью сформированная сеть характеризуется неравномерными диаметрами и длиной составляющих ее компонентов. Петли имеют очертания неправильных многоугольников с размерами от 185×1350 мкм до 2850×5130 мкм; по своему стро-

ению сеть объемна и сложна. Область поля 4 коры полушарий большого мозга характеризуется наличием многочисленных анастомозов диаметром от 60 до 150 мкм (в отдельных случаях до 250–300 мкм) в зонах смежного кровоснабжения средней и передней, средней и задней мозговой артерий. Соединения между собой ветвей одного и того же сосуда встречаются в меньшей степени, диаметр их обычно не превышает 40–70 мкм, поэтому их роль в мозговом кровообращении незначительна. Определенные изменения претерпевает артериальная сеть мягкой оболочки в пре- и постнатальном онтогенезе. Так, у плодов она может рассматриваться как единое целое благодаря наличию большого количества анастомозов между ветвями артерий, размеры петель колеблются от 50×150 мкм до 325×520 мкм. Выявляются большое количество незамкнутых петель. У новорожденных определяется уменьшение размеров петель: они составляют 35,3×28,6 мкм, внутри которых можно выявить еще более мелкие петельки. Этот феномен можно объяснить более быстрым темпом увеличения размеров самого мозга. В данной возрастной группе сохраняется значительное количество незамкнутых петель. При ее дальнейшем развитии определяется увеличение размеров и уменьшение количества незамкнутых петель артериальной сети, форма их становится самой разнообразной. Также увеличивается количество слепо заканчивающихся сосудов внутри петель. В подростковом периоде структура артериальной сети мягкой оболочки головного мозга и размеры ее петель не отличаются от таковых у взрослых людей. В пожилом и, особенно в старческом возрасте выявляется значительное разрежение сети за счет редукции многих ее звеньев. Наиболее отчетливо это разрежение определяется на тех препаратах, где мозговые артерии имеют атеросклеротическое поражение. Ухудшение условий коллатерального кровотока, выявляемое в зонах смежного кровообращения, сопутствует описанным изменениям. Таким образом, важная в функциональном отношении структура головного мозга — артериальная сеть мягкой оболочки в процессе онтогенеза претерпевает изменения, направленные на адекватное выполнение функций — равномерного снижения внутрисосудистого давления, являясь своего рода буфером между вне- и внутримозговыми артериями. Эти изменения имеют фазность течения, на основе которой можно выявить периоды становления (плоды второй половины внутриутробного развития, новорожденные), преобразований (первое детство, начало подросткового возраста), относительной стабилизации (конец подросткового возраста, зрелый возраст) и инволютивных изменений (со II периода зрелого, пожилого и, особенно, старческого возраста). Выявленные закономерности имеют значение для объяснения локализации участков размягчения мозга на основе тромбоэмболических поражений артерий головного мозга либо кровоизлияний в бассейне отдельных его сосудов.

129. Никандров В.Н., Гронская Р.И., Петрусенко Г.П., Полукошко Е.Ф.

Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь. E-mail: biblio@fizio.bas-net.by

#### **ВЛИЯНИЕ ТРОМБИНА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КУЛЬТУРЫ СПИНАЛЬНОГО ГАНГЛИЯ НОВОРОЖДЕННОЙ КРЫСЫ И АКТИВНОСТЬ ЭНЕРГО- И КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМЫХ ПРОТЕАЗ В КЛЕТКАХ ФЕОХРОМОЦИТОМЫ PC12**

Хорошо известная многофакторная протеаза — тромбин, отвечает за агрегацию тромбоцитов и свертывание крови, усиливает хемотаксис, участвует в обновлении внеклеточного матрикса и высвобождении цитокинов, особенно в ходе тканевой репарации и при развитии воспалительных и фибринопролиферативных патологических процессов и т. д., но влияние ее на нервную ткань изучено недостаточной. Исследовано действие тромбина в концентрациях 0,1, 1,0 и 10 ед/мл на культуры спинального ганглия новорожденной крысы. Отмечено дозозависимое увеличение размера зоны роста спустя 7–14 сут на 39 и 51% со-

ответственно при добавке тромбина 0,1 и 1,0 ед/мл. При этом часто граница ганглия теряла свои очертания. Нейроны в центре эксплантата располагались неплотно друг к другу. При определении сорбционной способности культивируемых клеток путем окраски нейтральным красным было показано дозозависимое снижение выживаемости последних на 31–67% при добавке в питательную среду 0,1 и 1 ед/мл тромбина. Внесение тромбина в концентрации 10 ед/мл в питательную среду являлось токсичным для изучаемых культур. Ганглии отклеивались от подложки, клетки зоны роста округлялись, отростки всплывали. Таким образом, тромбин, добавленный в состав питательной среды, с одной стороны, способствовал радиальному движению клеток в культуре, а с другой — снижал их выживаемость. Установлено значительное, статистически значимое снижение АТФ-зависимой протеазы в клетках PC12 при 20 мин инкубации их с тромбином в концентрации 0,005 и 0,05 ед/мл питательной среды и значимое возрастание — при концентрациях 0,2 и 0,5 ед/мл более чем в 2 раза (на 106 и 117% соответственно). В этих же условиях выявлено повышение активности I Ca<sup>2+</sup>-зависимой протеазы. При концентрациях тромбина 0,005, 0,05 и 0,2 ед/мл выявленные сдвиги активности этого фермента подтвердились статистическим анализом. Инкубация клеток PC12 с тромбином при концентрациях последнего 0,005, 0,05, 0,2 и 2 ед/мл вызывала значимый подъем активности II Ca<sup>2+</sup>-зависимой протеазы на 40, 62, 30 и 18% соответственно. Итак, действие тромбина при 20 мин его инкубации с клетками PC12 вызывает неоднозначный ответ энерго- и кальций зависимых протеаз. В одних случаях он индуцирует снижение, в других — значительную стимуляцию активности изучаемых протеаз, в третьих — не влияет на них.

130. Никитина Л.С., Дорофеева Н.А., Глазова М.В., Романова И.В. и Черниговская Е.В.

Институт эволюционной физиологии им. И.М.Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

#### **УЧАСТИЕ БЕЛКОВ АПОПТОЗА В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ МОЗГА**

Целью эксперимента было изучение характера влияния сигнальных белков апоптоза на нейрональную активность крыс линии Вистар. Полученные нами ранее данные на мышах «нокаутах» по генам p53 и Bcl-2 свидетельствуют об изменении активности вазопрессин- (ВП-) и катехоламин-ергических (КА-) нейронов гипоталамуса. Возможно, наблюдаемые нами изменения функциональной активности возникают в результате нарушений развития и функционирования как самих нейронов, так и регулируемых ими органов-мишеней. В связи с этим характер влияния проапоптозного белка p53 и антиапоптозного белка Bcl-2 на нейрональную активность мозга крыс были исследованы при внутрижелудочковом введении их химических ингибиторов (pifithrin и HA14-1, соответственно). При инактивации Bcl-2 усиливалась антидиуретическая функция гипоталамуса, что выражалось в увеличении активности синтеза ВП нейронами супраоптического (СОЯ) и паравентрикулярного (ПВЯ) ядер, где ВП-мРНК оценена с помощью гибридизации in situ и в снижении диуреза. При этом мы показали увеличение экспрессии МЕК-киназы, ключевой киназы MAPK-киназного каскада, запускающее фосфор-зависимые механизмы активации ряда транскрипционных факторов. При инактивации p53, напротив, антидиуретическая функция гипоталамуса снижалась, очевидно, за счет торможения выведения ВП из тел нейронов СОЯ и ПВЯ (накопление иммунореактивного ВП в телах нейронов при неизменной активности синтеза ВП). Активность экспрессии МЕК-киназы в этом случае не изменялась. Об изменении в активности КА-ергических нейронов гипоталамуса судили по изменению содержания тирозингидроксилазы (ТГ) — ключевого фермента синтеза КА: в аркуатном ядре экспрессия ТГ снижалась при инактивации обоих белков. В наружной зоне срединного возвышения содержание ТГ уменьшалось

при инактивации Bcl-2, что сопровождалось повышением уровня пролактина в крови. Одновременно с этим при инактивации Bcl-2 выявлено увеличение иммунореактивности ТГ в нейронах substantia nigra (SN) и уменьшение плотности иммунореактивности ТГ в nucl. accumbens (Acc). При инактивации p53 выявлено уменьшение иммунореактивности ТГ как в нейронах SN, так и в волокнах Acc. Однако достоверных изменений в стриатуме не выявлено. Результаты анализа теста «открытое поле» свидетельствуют, что у крыс, которым вводили блокатор Bcl-2, наблюдалось увеличение тревожности, а при введении блокатора p53 — ее снижение. При введении обоих блокаторов наблюдалось снижение исследовательской активности и не было выявлено изменений двигательной активности. Мы показали, что белки апоптоза участвуют в регуляции как гипоталамических нейросекреторных нейронов, так и дофаминергических нейронов мозга.

*Проект поддержан грантом РФФИ (№ 05-04-48099).*

131. *Николя М.Т., Демем Д.*

*Nicolas M.T., Demêmes D.*

UM2, CC101, CNRS, Montpellier, France. E-mail: mnico-las@univ-montp2.fr

#### **D-SERINE AND ITS METABOLIZING ENZYMES IN THE PERIPHERAL VESTIBULAR SYSTEM**

In the peripheral vestibular system, glutamate is the main neurotransmitter at the synapses between the sensory cells and the afferent dendrites of the vestibular nerve. Pharmacological and immunocytochemical studies demonstrated that the afferent excitatory synaptic neurotransmission in the vestibular sensory epithelium occurs through the activation of AMPA/KA, NMDA and metabotropic receptors. Evidence has recently been obtained demonstrating that the amino acid D-serine is the main endogenous co-agonist of the NMDA receptors in the mammalian central nervous system. (CNS) [Boehning and Snyder, 2003; Miller, 2004]. D-serine is considered as a gliotransmitter synthesized in protoplasmic astrocytes by the glial serine racemase [Wolosker et al., 1999]. Even though the presence and role of D-serine in the CNS is well documented, its role in sensory organs is still poorly understood. Here, we investigated the cellular distribution of D-serine and its synthesizing and degrading enzymes, serine racemase and D-amino acid oxidase in the rat vestibular sensory epithelium using immunocytochemistry and confocal microscopy. In the sensory epithelium, D-serine was detected in the supporting cells, cells surrounding the sensory cells and also in close contact with glutamatergic synapses. These synapses between the sensory cells and the afferent nerve fibers express the NMDA receptors. The supporting cells express glutamine, glutamine synthetase and GLAST, a glial specific transporter for glutamate. They may have similar functions to glial cells in the CNS and thus expression of D-serine suggests a neuromodulator role for D-serine at the glutamatergic synapses in the peripheral vestibular system. D-serine, serine racemase and D-amino acid oxidase were localized in the transitional cells, which are parasensory cells located between the sensory epithelium and the cation secretory epithelial cells that are the dark cells. These cells have secretory and absorptive functions. D-serine may be cotransported and/or exchanged with ions via an electrogenic process. We propose that the role of D-serine is not confined to neuromodulation and that this amino acid may serve as a metabolite regulating the ionic flux between endolymph and perilymph.

132. *Новаковская С.А., Арчакова Л.И., Тур Г.Е., Говорухина О.А.*

Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск. E-mail: biblio@fizio.bas-net.by; Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь

#### **СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАХАЛЯ ТОНКОЙ И ТОЛСТОЙ КИШОК У МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

Известно, что функциональная активность пищеварительного тракта обладает относительной автономностью. В условиях выключения нервных связей с ЦНС мышечная

оболочка кишечника сохраняет способность к спонтанным ритмическим сокращениям благодаря автоматизму гладкой мышечной ткани. Перистальтические сокращения, обеспечивающие продвижение содержимого кишки в абсорбальном направлении, осуществляется при обязательном участии энтеральных нервных сплетений, функционирующих как самостоятельные нервные центры. ЦНС выполняет в основном лишь регулирующую роль в их деятельности. В последние десятилетия в кишке зарегистрированы пейсмейкерные потенциалы в виде медленных волн деполяризации. В результате работ некоторых авторов установлено, что источником спонтанных сокращений круговой мышцы кишки является особый класс клеток, играющий важную роль в моторике пищеварительного тракта — так называемые интерстициальные клетки Кахаля, рассеянные в мышце и нервных сплетениях кишечника. Полагают, что клетки Кахаля обеспечивают распространение в стенке кишки медленных электрических волн и передачу моторных влияний с энтеральных нервов на миоциты кишки. В настоящее время интерстициальные клетки Кахаля рассматривают как пейсмейкерные клетки для спонтанных сокращений гладкомышечных оболочек пищеварительного тракта. Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы с помощью электронно-микроскопического метода выявить интерстициальные клетки Кахаля в стенке тонкой и толстой кишок, изучить их ультрамикроскопическую организацию и взаимоотношения с нервными и мышечными элементами кишечной стенки. Изучена ультрамикроскопическая организация энтеральных нервных сплетений, локализованных в подслизистой основе и в мышечной оболочке тонкой и толстой кишок человека и крысы. Среди нервных элементов мышечной оболочки отмечены биполярные и мультиполярные клетки, содержащие крупные ядра овальной формы, окруженные небольшим ободком цитоплазмы умеренной электронной плотности, содержащей отдельные митохондрии и рибосомы. Характерной чертой выявленных клеток являются отходящие от них узкие и чрезвычайно длинные неветвящиеся цитоплазматические отростки, проходящие вдоль элементов межмышечного нервного сплетения кишки и контактирующие с ними. Терминалы указанных отростков могут формировать друг с другом контакты, образуя единую сеть волокон. В подслизистой основе тонкой и толстой кишок также выявляются клетки подобной ультраструктурной организации. Многие из них имеют множественные цитоплазматические выросты, проходящие между нервными и другими клеточными элементами подслизистой основы. Цитоплазма указанных клеток содержит рибосомы и митохондрии. Поверхности этих клеток не покрыта базальной мембраной. В согласии с данными литературы можно полагать, что выявленные нами клетки кишки являются малодифференцированными фибробластоподобными структурами, относящимися к интерстициальным пейсмейкерным клеткам, специфическим маркером которых является рецепторная тирозинкиназа, c-kit. Указанный маркер в настоящее время успешно используется при изучении интерстициальных клеток Кахаля в кишечнике морской свинки, который определяет их точную локализацию в кишечной стенке.

133. *Новгородов Л.С.*

Московский Институт радиотехники электроники и автоматики (технический университет); Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗСР, Москва

#### **НЕЙРОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ НЕРВНЫХ СПЛЕТЕНИЙ ЛЕГКИХ У ЗАРОДЫШЕЙ ЧЕЛОВЕКА И КРОЛИКА**

Работа посвящена анализу пренатального развития нервного аппарата воздухоносных путей и легких зародышей человека и кролика. Материал брали в абортарии и в

лабораторных условиях в определенные дни после спаривания животных. Окраску срезов производили методами Кахалы—Фаворского и Бильшовского—Грос, проводили нейрористохимические исследования парасимпатических (холинергических) нервных элементов по методу Карновского—Руте и симпатических (адренергических) нервных сплетений — флюоресцентным методом. У 6-недельного эмбриона человека нервные пучки и стволы еще не определяются, а у 6,5-недельных зародышей удалось обнаружить первые пучки безмиелиновых нервных волокон, проникающих в закладку легкого по ходу воздухоносных путей (закладка гортани), а также вдоль кровеносных сосудов. У 7-недельного эмбриона нервные волокна прорастают в формирующиеся дольки легких; у 8-недельного зародыша нервные терминалы распространяются вдоль трахеи, закладки бронхиального дерева и по ходу сопровождающих их кровеносных сосудов. В указанные сроки нейрористохимические исследования не позволяют еще обнаружить в легких зародыша холин- и адренергические элементы. Вместе с тем следует подчеркнуть, что нейрористохимические исследования начинают выявлять холин- и адренергические нервные элементы в изучаемых тканях в срок 9–10 нед внутриутробного развития. Эти сроки следует рассматривать как начало медиаторного этапа формирования легких и сопровождающих кровеносных сосудов. Как известно, начало медиаторного этапа, совпадает с наступлением плодного периода развития [Швалев В.Н. и др., 1992]. Последующее развитие легких плода человека характеризуется проникновением нервных окончаний, как рецепторных, так и эффекторных, непосредственно в ацинусы и стенки альвеол. Кроме того установлено, что происходит иннервация париетальной и висцеральной плевры. В пренатальном периоде, как известно, начинаются дыхательные движения легких, что связано с развитием их нервного регуляторного аппарата. При изучении препаратов легких кролика на 14-е сутки нервных волокон замечено не было. Вместе с тем формирование первых сосудисто-нервных пучков в описываемых органах наблюдается на 15-е сутки. В последующем отмечается усложнение нервных сплетений легких, а начало медиаторного этапа их развития установлено на 17–18-е сутки.

#### 134. Оржиховская Н.С.

Научно-исследовательский институт мозга РАН, Москва, Россия. E-mail: irina\_bogolepova@mtu-net.ru

#### ПОЛОВОЙ ДИМОРФИЗМ И ЧИСЛЕННОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ ФОРМ ПЕРИНЕЙРОНАЛЬНЫХ ГЛИОЦИТОВ В ПОЛЯХ ЛОБНОЙ ОБЛАСТИ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

В настоящее время установлено, что степень функционирования нейронов и уровень их метаболической активности непосредственно связаны с количеством перинейрональной глии. Задачи данной работы — выявить межполовые различия в численности отдельных форм сателлитных глиоцитов (астро- и олигодендроцитов) в моторной и эмоциональной структурах лобной области взрослого человека. В правых и левых полушариях мозга мужчин и женщин, в полях 8 и 47 на фронтальных парафиновых срезах толщиной 20 мкм, окрашенных по Нисслию, в 0,001 мм<sup>3</sup> вещества мозга проводили дифференцировку астро- и олигодендроцитов (по П.Е. Снесареву). Определяли размер глионов, их плотность, а также их долю от общей плотности расположения сателлитных глиоцитов — показатели А/СГ и О/СГ, где А — плотность расположения астроцитов, О — плотность расположения олигодендроцитов, СГ — общая плотность перинейрональных глиоцитов. Обнаружено, что в обоих полях, в правых и левых полушариях женский (ж) мозг превосходит мужской (м) по количеству олигодендроцитов и уступает ему по количеству астроцитов. Так в поле 47 (слева) плотность олигодендроцитов равна 9,0±0,5 (ж) и 5,4±0,4 (м); в поле 8 — 8,0±0,3 (ж) и 6,7±0,4 (м). Плотность расположения астроцитов, соответственно — 1,6±0,6 (ж) и 2,3±0,5(м);

1,6±0,3 (ж) и 2,0±0,6 (м). В обоих полях у мужчин и женщин в правых полушариях преобладает численность астроцитов, а в левых — олигодендроцитов. Например, в поле 8 у женщин плотность расположения астроцитов равна 1,6±0,3 (лев.) и 2,0±0,5 (пр.), а олигодендроцитов — 8,0±0,3 (лев.) и 6,8±0,7 (пр.). У людей обоего пола доля сателлитных глионов различна в разных структурах. У женщин в поле 47 доля олигодендроцитов (показатель О/СГ) выше (82%), чем в поле 8 (75%), а астроцитов (А/СГ) — ниже (17% и 24%). У мужчин — обратная картина: в поле 47 доля олигодендроцитов меньше (68%), чем в поле 8 (77%), а астроцитов — больше (31% и 24%). Принимая во внимание участие олигодендроцитов в миелинизации волокон, а также прямую взаимосвязь между реактивностью олигодендроцитов и их количеством, можно предположить, что у женщин эмоциональное поле 47, а у мужчин моторное поле 8 отличаются друг от друга усиленным метаболизмом нейронов и более высоким уровнем установления временных связей.

#### 135. Орлова Т.В.

Научно-исследовательский институт мозга РАН, Москва, Россия. E-mail: TVOrlova0409@yandex.ru

#### СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ПРИ НАРУШЕНИИ КИНЕСТЕТИЧЕСКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ В МОЗЖЕЧКЕ У КОШЕК

Целью работы было изучение структурно-функциональной организации соматосенсорных афферентных проекций на симметричные структуры головного мозга, в частности на ядра мозжечка (МЖ), после односторонней перерезки половины покрывки среднего мозга, захватывающей все соматосенсорные пути к одной из половин переднего мозга (ПМ) наряду с другими восходящими и нисходящими проводящими путями, проходящими через это образование мозгового ствола. Каудальнее среднемозговой перерезки были исследованы вызванные потенциалы (ВП) на раздражение передней конечности в симметричных ядрах МЖ и ядрах дорсальных столбов спинного мозга. Перерезка половины покрывки среднего мозга не сопровождалась какими-либо изменениями ВП на это раздражение в ядрах мотара и зубчатых ядрах МЖ. Среднемозговая перерезка не вносила никаких изменений ни в распределение, ни в характер и последовательность компонентов ВП в этих структурах. Это свидетельствовало о том, что центробежные влияния ПМ, контролирующие соответствующую активность МЖ, не проходят через верхние ножки МЖ, одна из которых была пересечена, либо пути и влияния, их опосредующие, рассредоточены в обеих верхних ножках МЖ, и их действие менее заметно. Возможно, что центробежные влияния ПМ на ядра МЖ опосредуются в основном боковыми ножками, там где проходят кортико-пункто-мозжечковые связи. При регистрации ВП в контралатеральных структурах ПМ относительно данной перерезки и раздражаемой передней конечности, кроме лемнисковой, спино-цervико-таламической и контралатерального компонента спино-ретикуло-таламической систем, параллельно должна активироваться и спино-мозжечково-таламическая система. Однако, существуют экспериментальные данные о неполном перекресте восходящих связей МЖ со структурами ПМ [Angaut P. и Bowsher S., 1970; Батуев А.С. и Бабминдра В.П., 1984]. Для определения вклада мозжечковых восходящих связей в общую соматосенсорную афферентацию структур ПМ были исследованы ядра МЖ у животных, переживших в течение различных сроков (полгода, год и три года) перерезку половины покрывки среднего мозга, захватывающую верхнюю ножку МЖ. На серийных срезах мозга кошек были проведены количественные оценки объема и площади симметричных ядер МЖ (кровельных, промежуточных и зубчатых), окрашенных по методу Ниссли, с помощью телевизионного анализатора изображений. Статистически значимых различий в объемах ядер правого и левого полушарий МЖ

обнаружено не было, в отличие от асимметричных ретроградных изменений в симметричных ядрах дорсальных столбов спинного мозга после этой же операции, захватывающей лемнисковую систему. Данное явление также свидетельствует о двусторонних связях ядер МЖ с роstralными структурами ПМ, а при наличии двусторонних коллатералей нейрональных элементов ядер МЖ увеличивает их устойчивость к ретроградной дегенерации и соответственно уменьшает вклад проекций МЖ на структуры той половины ПМ, которая соответствует среднему мозговой перерезке.

136. Орлянская Т.Я., Христова Ю.Ю., Панфилов А.М., Кузнецов М.А., Киселев А.Ю.

Омская медицинская академия, Россия

#### **МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ МОЗГА КРЫС ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ЛЕТАЧИМИ ОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ**

Ингалянты бытового назначения, являющиеся первичными психоактивными веществами, существенно влияют на функционирование нервной системы, напрямую воздействуют на мозг, поражая области, ответственные за движение и мышление. Целью настоящего исследования было сравнительное изучение состояния нейронных популяций (НП) слоя V коры переднего мозга и НП ганглионарного слоя — грушевидных клеток мозжечка в норме и при моделировании острого ингаляционного отравления парами бытового клея. В работе использованы 2 группы беспородных белых крыс массой 150–180 г: 1-я — интактная, 2-я — подопытная. Животных 2-й группы подвергали в течение 20 мин острому воздействию насыщающих концентраций летучих компонентов клея «Момент» (паров бензина, ксилола, полиизоцианатов). При их вдыхании проявлялись сигналы защиты организма: слезоточивость, раздражение слизистых оболочек носа, рта, нарастала вялость и гиподинамия. В течение периода воздействия крысы находились преимущественно в «состоянии ожидания», не предпринимая попытку выбраться из камеры, что явно указывает на подавление «инстинкта опасности». После воздействия головной мозг фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин, делали серийные срезы. В подопытной группе подсчет клеток с различной степенью хромофилии их цитоплазмы на окрашенных по Нисслю препаратах в НП слоя V коры переднего мозга и ганглионарного слоя мозжечка выявил (по сравнению с контролем) значимое нарастание числа «темных» — гиперхромных и тотально-гиперхромных клеток. Среди клеток ганглионарного слоя мозжечка типично появление сморщенных клеток, реже клеток-теней. Исходя из полученных данных, у крыс после острого воздействия летучими органическими соединениями нарастание в НП клеток гиперхромных и тотально-гиперхромных, возможно, следует расценивать как включение компенсаторных возможностей организма в ответ на испытываемое воздействие на уровне НП изученных отделов головного мозга.

137. Отеллин В.А., Хожай Л.И., Коржевский Д.Э., Павлова Н.Г., Константинова Н.Н., Старорусская А.Н.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Институт экспериментальной медицины РАМН, Институт акушерства и гинекологии им. Д.О.Отта РАМН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: otellin@infran.ru

#### **СТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ ПЛАЦЕНТАРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ РАЗВИВАЮЩИХСЯ ЭМБРИОНОВ**

Наши исследования клеточных и тканевых механизмов развития эмбрионов и плодов после гипоксических воздействий на беременных животных показали, что имеют место существенные нарушения развития эмбрионального мозга, которые сохраняются после рождения и сочета-

ются с рядом расстройств в научении и в мотивационно-эмоциональной сфере. Одновременно с этим отмечены существенные перестройки в развивающейся плаценте. Наши эксперименты и исследования клинического материала с верифицированной плацентарной недостаточностью, установили в сосудах развивающейся плаценты ряд морфологических перестроек, которые лежат в основе нарушений гемодинамики (гибель эндотелиоцитов, гладких миоцитов, появление большого числа макрофагов и т. д.) и проницаемости (коллагенизация базальных мембран). При развернутой клинической картине декомпенсированной плацентарной недостаточности регистрируется комплекс морфологических изменений в сосудах, стромах ворсинок и вневорсинчатом трофобласте, отражающий нарушения плацентарного кровотока и функций плацентарного барьера. При этом обнаруживается снижение пролиферативной активности трофобластических элементов и эндотелия капилляров. В ряде капилляров наблюдается локальное исчезновение маркера CD31, ответственного за адгезию между тромбоцитами и эндотелиоцитами. Увеличение межкапиллярных пространств вызвано значительным отложением коллагена IV типа, который аккумулируется периваскулярно. Эти материалы в сопоставлении с данными клиницистов привели нас к логическому и фактически обоснованному мнению о том, что гипоксия — ишемия развивающегося мозга является результатом плацентарной недостаточности. Поэтому изучение плацентарного кровотока, механизмов формирования плацентарной недостаточности, ее патогенеза является единственным научно обоснованным путем к разработке новых мер диагностики, лечения и профилактики патологического развития плода.

Работа поддержана грантом Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине».

138. Охотин В.Е.

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

#### **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕЙРОГЛИОФОРМНЫХ КЛЕТОК НЕОКОРТЕКСА И ГИППОКАМПА**

Самые мелкие корковые интернейроны, похожие величиной тела на клетки глии, впервые описал Кахаль. Сходство нейронов с астроцитами позволило автору метко назвать их нейроглиоформными или паукообразными, так как контуры каждой клетки едва просматриваются на фоне взаимопереплетающихся дендритов, а тела кажутся погруженными в паутиноподобное сплетение аксона, напоминая паука в окружении собственной паутины. Гладкие, лишённые шипиков дендриты нейроглиоформных клеток (НГК) выглядят как извилистые нити, образующие дендритное поле шириной до 150 мкм. Чрезвычайно тонкий немиелинизированный аксон НГК диаметром менее 0,5 мкм имеет еле заметный холмик и очень короткий начальный сегмент. Многочисленные коллатерали аксона возникают путем многократного дихотомического ветвления и, бесконечно варьируя, формируют гомогенное густо разветвленное сплетение, которое подобно «клубку спутанной пряжи» плотно оплетает отростки дендритов родительской клетки. Коллатерали аксона имеют волнистый ход и ровную, без варикозных расширений, поверхность, либо несут регулярные четковидные утолщения, посредством которых плотно прилегают к дендритам близлежащих клеток. Реконструкция с помощью светлой камеры хорошо импрегнированных НГК показывает наличие среди них двух разновидностей клеток: с ограниченным и широким ареалом аксонального ветвления. В первом случае аксонное сплетение имеет округлые очертания и полностью заключено внутри дендритной территории. Здесь аксонное и дендритное сплетения взаимоперекрываются. Аксонная арборизация НГК второго типа обычно в 1,5–2 раза превосходит поперечник дендритного

поля и распространяется на 300–400 мкм. Отдельные коллатерали аксона НГК могут петлевидно пенетрировать соседние слои коры, где образуют бусинковидные терминальные разветвления. НГК представляют собой типичные тормозные ГАМК-ергические элементы и, в отличие от остальных типов интернейронов, выявляются во всех слоях неокортекса. В слоях II–VI они постоянно диагностируются при иммуноцитохимическом окрашивании срезов коры на кальбиндин (Сb). В молекулярном слое наблюдается обратная картина. НГК здесь, как правило, Сb-негативные. В гиппокампе НГК располагаются исключительно в лакунозно-молекулярном слое поля СА1. Они хорошо маркируются с помощью иммуноцитохимической реакции на активин-2, нейропептид Y (NPY) и NO-синтазу (NOS). Одновременная соэкспрессия и солокализация в НГК двух антагонистов: вазодилатора — NOS и вазоконстриктора — NPY, находятся в полном соответствии с новой парадигмой [Harrison et al., 2002] о прямом участии тормозных корковых интернейронов в регуляции сосудистого тонуса и локального кровотока.

### 139. Охотин В.Е.

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

#### ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ НЕЙРОТРАНСМИССИЯ В НЕОКОРТЕКСЕ И ГИППОКАМPE И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ

Тормозные интернейроны новой коры связаны между собой не только химическими синапсами, но и высокоспецифичными электрическими контактами [Galarreta, Hestrin, 2001; Bennett, Zukin, 2004; Connors, Long, 2004; Gibson et al., 2004; Sohl et al., 2005]. В электрически связанных сетях интернейроны локализуются внутри дендритных ветвлений, а локусы контактов в этих сетях на ультраструктурном уровне определяются как соединения типа щелевых между телами и/или дендритами исследованных клеток [Tamas et al., 2000; Szabadics et al., 2001]. Электрическая нейротрансмиссия опосредует быстрые изменения нейрональной активности, а ее эффекты не связаны с синаптической задержкой проведения импульса. Вполне естественно, что идентификация электрических синапсов в сети тормозных интернейронов является новым этапом в развитии представлений о морфофункциональной архитектонике мозга. Как известно, основная парадигма классической нейробиологии о синаптическом способе передачи информации между нейронами формировалась в результате столкновения в конце XIX — начале XX вв. двух антагонистических концепций: нейронной доктрины Кахала—Шеррингтона и ретикулярной теории Гольджи. Между тем Гольджи, отстаивая свою позицию, писал: «структурный контакт, или объединение между двумя нервными волокнами — не вполне достаточное условие для функциональной связи между различными нейронами, поскольку электрический ток может связывать два проводника в отсутствие непосредственного контакта между ними» [Golgi, 1891]. Спустя столетие гипотеза Гольджи как дополнение к нейронной теории, основы которой остаются неизменными, получила экспериментальное подтверждение на примере изучения и открытия электрических связей между тормозными интернейронами в неокортексе и гиппокампе [Zsiris, Maccaferri, 2005; Price et al., 2005]. Электрические и химические синаптические связи, устанавливаемые различными типами интернейронов, высокоспецифичны и позволяют каждой тормозной сети функционировать независимо [Gibson et al., 1999]. Вместе с тем, как химические, так и тормозные электрические сети играют дополнительную роль в облегчении синаптической пластичности, консолидации долговременной информации [Buzsaki, Draguhn, 2004] и поддержании синхронности среди осциллирующих нейронов [Kopel, Ermentrout, 2004].

### 140. Охотин В.Е.

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

#### РОЛЬ ХИМИЧЕСКИХ И ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИНАПТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ НЕЙРОГЛИОФОРМНЫХ КЛЕТОК В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ КОРКОВЫХ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ

В коре мозга существуют два типа тормозных постсинаптических потенциалов (ТПСП). Быстрое торможение опосредуется ионотропными ГАМК(А)-рецепторами, а медленное — вызывается метаботропными ГАМК(В)-рецепторами. Нейроглиоформные клетки (НГК) образуют аксо-дендритные контакты по типу en passant, в которых постсинаптическими мишенями преимущественно выступают шипики дистальных отделов дендритов пирамидных нейронов. При этом 30% контактов приходится на шейки дендритных шипиков, а 40% — на головки; стволы дендритов являются мишенями лишь в 29% случаев [Simon, 2005]. В тех синапсах, которые устанавливаются на шипиках, но не на стволах дендритов пирамидных нейронов, НГК генерируют комбинированные ТПСП, опосредованные ГАМК(А)- и ГАМК(В)-рецепторами. В этом и заключается уникальное положение НГК, которое они занимают в архитектуре и связях новой коры, в отличие от других тормозных интернейронов, способных генерировать ТПСП только через ГАМК-А-рецепторы [Tamas et al., 2003]. НГК связаны между собой не только химическими синапсами, но и высокоспецифичными электрическими контактами [Simon et al., 2005]. Специфичность тормозных электрических сетей и связей в новой коре проявляется в том, что каждый тип из известного списка тормозных интернейронов устанавливает электрические контакты исключительно с клетками своего типа, т. е. с одноименными нейронами, в результате чего в неокортексе формируются автономные сети из однотипных интернейронов [Connors and Long, 2004]. Электрические связи НГК имеют более широкое пространственное распространение и значительно отличаются от сети тех электрических контактов, которые устанавливают другие типы ГАМК-ергических нейронов [Simon et al., 2005]. Отличие здесь состоит в том, что поздно разряжающиеся НГК, одновременно, образуют реципрокные электрические синапсы, как с другими НГК, так и с различными типами интернейронов. К ним относятся: медленно разряжающиеся двухпучковые и двухбукетные нейроны, быстро разряжающиеся корзинчатые клетки и клетки-канделябры, а также регулярно разряжающиеся неклассифицированные интернейроны. В этом мультикомпонентном континууме связей НГК с одной стороны, являясь звеном, интегрирующим отдельные электрически сопряженные локальные сети из гомотипических интернейронов, а с другой — вызывают химически опосредованные ГАМК(А) и ГАМК(В) тормозные постсинаптические потенциалы на дендритах пирамидных нейронов. Отличительные особенности организации связей НГК убедительно указывают на их ключевую роль для поддержания синхронной и ритмической активностей в корковых сетях.

### 141. Павлик Л.Л., Безгина Е.Н., Шубина В.С.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пушкино, Россия. E-mail: pavlikl@mail.ru

#### МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТА АППЛИКАЦИИ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО ДОФАМИНА НА МАУТНЕРОВСКИЕ НЕЙРОНЫ ЗОЛОТОЙ РЫБКИ

Изучение ультраструктурных механизмов длительной потенциации электотонической передачи в смешанных синапсах маутнеровских нейронов (МН) золотой рыбки, вызываемой аппликацией дофамина (ДА), привело нас к предположению, что этот нейротрансмиттер кроме известного лигандного взаимодействия с рецепторами, активирующего нейроны, оказывает также более длительное и не-

специфическое полимеризующее действие на актиновый компонент цитоскелета. Оно проявляется в примембранной области увеличением размера актинсодержащих десмосомоподобных контактов (ДПК) и в глубине цитоплазмы наличием пучков актиновых волокон, отсутствующих в норме. Возможность такого полимеризующего эффекта ДА подтверждена в экспериментах *in vitro* при взаимодействии его с мономерным актином. На основании этих фактов можно предположить, что ДА способен проникать в нейроны и связываться с актином цитоскелета, полимеризуя его, что в свою очередь влияет на функциональное состояние нейрона в целом. Вместе с тем, нельзя исключить и того, что наблюдаемые структурные перестройки цитоскелета являются вторичными, т. е. индуцируются изменением ионного состава цитоплазмы под влиянием взаимодействия ДА с рецепторами. Чтобы исключить воздействие ДА на рецепторы, можно было предварительно заблокировать их. В нейронах имеется несколько видов ДА-рецепторов, не считая их подтипов, однако универсальные блокаторы, обладающие высокой специфичностью и избирательностью для всех рецепторов или их большинства одновременно, отсутствуют. Поэтому проводить подобные эксперименты *in vivo* пока технически трудно и вряд ли целесообразно. Другим способом решить эту проблему можно, если использовать какое-либо синтетическое вещество, производное ДА, не обладающее медиаторными свойствами и не имеющее рецепторов на мембранах клеток. В этой работе мы провели сравнительное изучение эффектов аппликации на МН ДА и вещества из класса пиримидинов, так называемого (ЭДМОФ)ДА, синтезированного на основе ДА, содержащего в положении азота N1 этил-(диметоксифенильный) фрагмент. Это производное ДА в силу своей искусственности не должно иметь собственных рецепторов на мембране, а так как по своей формуле оно отличается от собственно ДА, то не может быть лигандом к уже существующим рецепторам. Аппликация (ЭДМОФ)ДА на МН давала тот же функциональный эффект, что и аппликация собственно ДА — предохраняла МН от утомления, вызванного длительной стимуляцией. В результате ультраструктурного анализа выявлены аналогичные пучки волокон в цитоплазме и увеличение размеров ДПК. Кроме того, как ДА, так и (ЭДМОФ)ДА приводили к достоверному увеличению числа актиновых мостиков в щели ДПК, играющих роль шунтов для трансинаптической передачи кальциевого сигнала в смешанных синапсах. В предварительных опытах также установлено, что (ЭДМОФ)ДА при взаимодействии с мономерным актином индуцирует его полимеризацию. Таким образом, результаты показывают, что вещество, по-видимому, не обладающее медиаторными и лигандными свойствами, но по реакции с актином похожее на ДА, дает тот же морфофункциональный эффект, что и ДА. Это не противоречит выводу о том, что и (ЭДМОФ)ДА, и ДА при достаточной длительности действия и избыточности концентрации способны проникать в постсинаптические нейроны и оказывать воздействие на цитоскелетный актин.

*Работа поддержана грантом РФФИ(№ 05-04-48281).*

#### 142. Павлович Е.Р., Подтетенев А.Д.

Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗСР, E-mail: erp114@mail.ru; 1-я государственная клиническая больница им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ИННЕРВАЦИИ МАТКИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

Одной из актуальных проблем функциональной нейроморфологии является изучение иннервации внутренних органов, претерпевающих циклические и некоторые особые функциональные преобразования, среди которых недостаточно изученной является матка. Гистохимическими мето-

дами была показана богатая адренергическая иннервация небеременной матки экспериментальных животных и человека. Мало исследован вопрос иннервации матки в разные сроки беременности женщин и в родах с использованием метода электронной микроскопии. Исследовали материал миометрия, полученный во время абдоминальных родов, выполненных по экстренным показаниям со стороны матери или плода у 10 рожениц с физиологической или патологической родовой деятельностью. Кесарево сечение выполняли в нижней трети матки. 5 женщин имели физиологическую родовую деятельность, а еще 5 имели дискоординацию родовой деятельности матки или ее слабость при сроке беременности от 37 до 40 нед. Возраст женщин был от 21 до 38 лет (средний возраст —  $26 \pm 2$  лет). В части случаев имела место острая или хроническая гипоксия плода. Для диагностики иссекали участок матки, промывали 0,1 М фосфатным буфером и помещали в 4% раствор параформальдегида на несколько суток в холодильник ( $t=4^\circ\text{C}$ ). Дополнительно фиксировали материал в 1%  $\text{OsO}_4$  2 ч. Проводили дегидратацию материала в спиртах возрастающей концентрации и заключали в аралдит. Биоптаты ориентированно размещали в капсулах для полимеризации. С блоков получали срезы толщиной 1–2 мкм и окрашивали толудиновым синим. После светооптического исследования матки выбирали участок для ультратомии. Ультратонкие срезы толщиной 50–70 нм контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-100 С при 80 кВ с начальным увеличением от 2600 до 30 000 раз. При светооптическом исследовании препаратов обнаружено, что в нижнем сегменте миометрия матки первородящих женщин отчетливо видны пучки гладких миоцитов (ГМ), элементы микрососудистого русла и соединительной ткани. Нервные проводники не были обнаружены на полутонких срезах ни в одной из прослоек соединительной ткани. Электронно-микроскопический анализ выявил в миометрии наличие разного количества светлых и темных ГМ в мышечных пучках. Светлые ГМ характеризовались отчетливо выраженным развитием контрактильного и синтетического аппарата, а темные — только контрактильного. При анализе контактов ГМ миометрия были обнаружены простые примыкания клеточных мембран и десмосомоподобные соединения, которые встречались как при контактах бок в бок, так и на их отростках при контактах конец в конец. Нексусы в исследованном материале встречались редко и были очень короткими. Десмосомоподобные контакты ГМ встречались часто и обнаруживались как при контактах одного типа ГМ, так и при контактах светлых миоцитов с темными. Вблизи сосудов и ГМ были видны параллельно лежащие остатки базальных мембран безмиелиновых нервных волокон, которые напоминали таковые в миокарде при денервации животных [Павлович Е.Р., 1985; 1997], и в патологии у человека [Павлович Е.Р., 1998], что на наш взгляд подтверждает данные литературы [Савицкий Г.А. и Савицкий А.Г., 2003; Ермошенко Б.Г. и соавт., 2003] о физиологической денервации матки в родах. Обсуждается возможная роль ультраструктурных находок в понимании характера регенерации нервных волокон в послеродовом периоде у женщин с нормальной и патологической родовой деятельностью.

#### 143. Паникян К.К.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: workmessage@mail.ru

### КРИТЕРИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛОКАЛИЗАЦИИ FOVEA CENTRALIS СЕТЧАТКИ ГЛАЗА КОШКИ

Fovea centralis (Fc) сетчатки глаза — это особая ее область, обладающая наивысшей остротой зрения и отличающаяся гистологическим строением от других участков сетчатки. В то же время невооруженным глазом определить

локализацию Fc не представляется возможным, так как ее диаметр очень мал (около 0,9 мкм у взрослой кошки). Целью данного исследования явилась разработка метода для определения точной локализации Fc. Для этого была усовершенствована методика изготовления тотальных препаратов сетчатки [Stone J., 1981]. В ней указано, что при микроскопии тотальных препаратов Fc визуализируется как скопление мелких клеток. Кусочки сетчатки размером примерно 0,8×0,8 мм фиксировали в забуференном 1% глутаральдегиде в смеси с 3% параформом. Для окраски были использованы общегистологические (гематоксилин—эозин, тионин, судан черный) методики. Ориентиром для взятия кусочков сетчатки послужило слепое пятно (СП) и магистральные артериальные сосуды. Во всех исследованных нами препаратах выявлена характерная картина ветвления артериальных сосудов в области Fc. Вблизи СП в направлении Fc отходят два сосуда, которые, дугообразно изгибаясь, подходят к ней с двух сторон, вблизи нее разветвляются на все более и более мелкие веточки, вплоть до концевых капилляров. Третий сосуд выходит из СП на значительном расстоянии от первых двух, идет в радиальном направлении, а затем поворачивает к Fc, также разветвляется на сеть более мелких сосудов и концевых капилляров. В зоне, где заканчиваются концевые капилляры, Fc четко определяется как участок ткани округлой формы, лишенный сосудов. В тотальных препаратах, окрашенных тионином, на периферии сетчатки визуализируются характерные для нее крупные ганглионарные клетки, расположенные как обособленно, так и группами, и отделенные друг от друга капиллярами. Однако вблизи Fc эти клетки становятся более редкими и мелкими. В самой Fc они отсутствуют. Благодаря этому становится возможным различить скопление мелких, полигональной формы, плотно прилегающих друг к другу клеточных элементов внутреннего ядерного слоя сетчатки. Установлено, что при окраске тотальных препаратов суданом черным хорошо выявляются многочисленные пучки тончайших аксонов, радиально сходящиеся к СП. Вблизи Fc эти пучки, дугообразно изгибаясь, обходят ее с двух сторон, а в самой Fc не визуализируются. Полученные результаты позволяют определять локализацию Fc даже в неокрашенных кусочках сетчатки. Для этого достаточно под лупой выявить участок с характерным рисунком сосудов и отсутствием крупных ганглионарных клеток.

144. Панов И.Р., Тенчева З.С.

Panov Y.R., Tencheva Z.S.

University Hospital Losenetz and Institute of Physiology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria. E-mail: ts\_panov@yahoo.com

#### ERRORS AND COMPLICATIONS DURING INTRACRANIAL TRANSPLANTATION IN ANIMAL EXPERIMENTS

The authors present analysis of the errors and complications during intracranial transplantation in rats. Neural transplantation was performed in the brain of 139 rats. Fetal brain tissue fragments of E15, E18, E21 and cell suspension of dopaminergic cells from anterior mesencephalon were engrafted without immunosuppression and antibiotic prophylaxis. The animals were divided into 9 groups depending on implantation site — subarachnoidal, cortical, intraventricular, direct intracerebral, intracerebral in artificial cavity and depending on the volume of the cell grafts. Histological and histochemical studies were conducted one to six months after transplantation. The authors present analysis and alternative surgical technique to deliver viable grafts and to minimize implantation-related trauma to the host brain.

145. Панова Т.И.

Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького, Украина. E-mail: panova-tatyana@mail.ru

#### ОРГАНИЗАЦИЯ ПУТИ СИГНАЛИЗАЦИИ ОТ ОPIOИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Строение сигнального пути от опиоидных рецепторов к внутриклеточным и мембранным эффекторам включает в

себя следующие основные звенья: рецептор → G-белок → эффектор. В 1999 г. группой исследователей была выдвинута гипотеза о существовании альтернативного пути мембранной сигнализации, в котором роль G-белка выполняет убаин-зависимая натрий-калиевая АТФаза: рецептор → АТФаза → эффектор. Роль эффектора в этом пути выполняют медленные тетродотоксинчувствительные натриевые каналы дорсальных рогов спинного мозга. Основанием для формирования такого представления послужили эксперименты, в которых при активации опиоидных рецепторов коеновой кислотой медленных натриевых каналов в patch-clamp изменялся под влиянием ингибитора натрий-калиевой АТФазы убаина, но не менялся под влиянием ингибитора G-белков коклюшного токсина. Целью данного исследования была проверка этой гипотезы с помощью изучения активности натрий-калиевой АТФазы плазматических нейрональных мембран в присутствии коеновой кислоты. Для этого ткани спинномозговых ганглиев и спинного мозга крыс измельчали и обрабатывали на льду в тefлон-стеклянном гомогенизаторе Даунса в 5-кратном объеме 25 мМ трис-HCl буфера (pH 7,3), содержащем 250 мМ сахарозы, 1 мМ ЭГТА и 1 мМ ЭДТА, коктейль ингибиторов протеаз, 1 мМ ДДТ. Гомогенат центрифугировали 5 мин (350 g, 4°C), потом супернатант центрифугировали в ступенчатом градиенте плотности Перкола 20 мин (10 000 g, 4°C). При этом мембраны разделились путем флотации на 5 фракций. Фракции в отдельности замораживали при -80°C. В дальнейшем для проведения исследований АТФазной активности аликвоты размораживали, преинкубировали 45 мин в буфере, содержащем 120 мМ KCl, 25 мМ трис-HCl буфера (pH 7,3), 1 мМ ЭГТА и 1 мМ ЭДТА, коктейль ингибиторов протеаз, 1 мМ ДДТ, 2,5 мМ АДФ, 5 мМ NaNO<sub>3</sub>, 50 мкг/мл сапонины при 4°C в Thermomixer comfort (Eppendorf). Затем инкубировали фракции мембран с коеновой кислотой или с морфином. Туда же добавляли меченый АТФ (250 000 распадов на пробу) и 0,5 мМ немеченого АТФ — субстрата для АТФазы. В смесь добавляли высокоспецифический ингибитор кальциевой АТФазы тапсигаргин. Реакцию инкубирования проводили 30 мин при 37 °C в Thermomixer comfort (Eppendorf). Объем инкубационной смеси 100 мкл. Реакцию останавливали 1 мл взвеси охлажденного активированного угля (Sigma, размер ячеек 100–400 мкм) в 50 мМ растворе одноосновного фосфата натрия. Взвесь осаждали центрифугированием. Аликвоты супернатанта переносили в сцинтилляционную жидкость и анализировали в сцинтилляционном счетчике Rackbeta (Amersham). Данные представлены в виде значений радиоактивности и соответствующей им активности фермента, выраженных в виде освобожденного из АТФ ортофосфата на 1 мг белка за 1 мин. Рассчитывали константу Михаэлиса (Km) и максимальную скорость реакции фермента V<sub>max</sub>. Объем проведенных исследований: 12 экспериментов. Коеновая кислота предоставлена группой исследователей из Института физиологии им. И.П.Павлова (Санкт-Петербург). Изучение активности натрий-калиевой АТФазы показало, что этот фермент не чувствителен к действию коеновой кислоты в ее физиологических концентрациях: 1, 10, 50, 100 мкМ. Лишь при концентрации 250 мкМ (т. е. слишком большой для специфического действия) наблюдался эффект. Таким образом, данные проведенного исследования показывают, что коеновая кислота не влияет на активность натрий-калиевой АТФазы, и, следовательно, не подтвердили гипотезу о том, что коеновая кислота может модулировать прохождение сигнала от рецептора к эффектору клетки через натрий-калиевую АТФазу.

Работа выполнена на средства гранта Президента Украины № 34 на 2005 г.

146. Папков В.Г., Баранова Т.Ю., Громова Т.М.

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова, Россия

#### **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ ЯДЕР ПРИ ОСТРОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ КРОВООБРАЩЕНИЯ**

Интерес к исследованию структуры гипоталамуса при недостаточности кровообращения обусловлен важной ролью данного отдела головного мозга в поддержании гомеостаза организма. Нарушение кровообращения неизбежно оказывает влияние на функционирование его ядер. Исследованы аркуатное (АЯ), супраоптические (СОЯ), паравентрикулярные (ПВЯ) и задние ядра (ЗЯ) гипоталамуса 27 мужчин, погибших вследствие острой недостаточности кровообращения. В 13 наблюдениях причиной смерти явился инфаркт миокарда, в 14 наблюдениях смерть наступила от острой очаговой ишемической дистрофии миокарда (ООИДМ) — острой коронарной недостаточности. Контрольную группу составили 7 наблюдений, в которых смерть мужчин наступила от различных травм, за исключением черепно-мозговой. Парафиновые срезы соответствующих отделов гипоталамуса обрабатывали с помощью гистологических, гистохимических и импрегнационных методик. Для оценки функционального состояния ядер проведена карิโอметрия в 100 нейронах каждого ядра с последующим вычислением среднего объема ядер нейронов (СОЯН). Результаты исследования обработаны статистически. В исследованных ядрах возникают дисциркуляторные процессы в форме дистонии, эритроцитов, периваскулярного и перикеллолярного отека. Изредка встречались периваскулярные диапедезные кровоизлияния. Данные процессы выражены более значительно при инфаркте миокарда. На фоне указанных процессов развиваются дистрофические изменения нейронов. Однако большинство клеток сохраняют признаки высокой функциональной активности. СОЯН АЯ, СОЯ, ПВЯ и ЗЯ гипоталамуса в контрольной группе наблюдений равен соответственно: 215,8 мкм<sup>3</sup>, 448,2 мкм<sup>3</sup>, 325,7 мкм<sup>3</sup>, 210,16 мкм<sup>3</sup>. У людей, погибших вследствие ООИДМ, СОЯН данных ядер равен 239,95 мкм<sup>3</sup>, 447,2 мкм<sup>3</sup>, 329,69 мкм<sup>3</sup> и 273,71 мкм<sup>3</sup>, а у людей, погибших от инфаркта миокарда, — 285,28 мкм<sup>3</sup>, 613,37 мкм<sup>3</sup>, 425,11 мкм<sup>3</sup> и 372,85 мкм<sup>3</sup>, соответственно. Полученные результаты исследования свидетельствуют о неодинаковом изменении показателя функционального состояния гипоталамических ядер у людей, погибших от различных проявлений ишемической болезни сердца. При ООИДМ значимое возрастание СОЯН обнаружено лишь в АЯ, оказывающем регулирующее влияние на деятельность аденогипофиза, и в ЗЯ, принимающем участие в регулировании иммунного состояния организма. При инфаркте миокарда значительное возрастание СОЯН обнаружено во всех исследуемых ядрах, что указывает на усиление функционирования также и крупноклеточных ядер, синтезирующих вазопрессин и окситоцин. Выявленные различия показателей функционального состояния гипоталамических ядер обусловлены, очевидно, особенностями патогенеза заболевания. Так, ООИДМ характеризуется кратковременностью течения и поэтому изменение СОЯН АЯ и ЗЯ отражает состояние данных ядер, существовавшее до возникновения рокового приступа. При инфаркте миокарда, в условиях более длительного течения болезни, наблюдается дальнейшее возрастание СОЯН мелкоклеточных ядер, а также происходит увеличение СОЯН крупноклеточных ядер. Выявленное неоднозначное изменение СОЯН при различных вариантах течения ишемической болезни сердца представляет собой патогенетическую перестройку гипоталамуса.

147. Папков В.Г., Прошина Ю.В.

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова; Рязанское Бюро судебно-медицинской экспертизы, Россия

#### **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ ЯДЕР ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ**

Тяжелая черепно-мозговая травма (ЧМТ) характеризуется нарушением жизненно важных регуляторных функций ЦНС. Регуляторные центры эндокринной и иммунной систем, водно-минерального обмена, тонуса гладкой мускулатуры локализуются в гипоталамусе, поэтому представляет интерес выяснение морфологических изменений его ядер при ЧМТ. Исследованы аркуатное (АЯ), супраоптические (СОЯ), паравентрикулярные (ПВЯ), задние ядра (ЗЯ) гипоталамуса 25 мужчин, погибших от ЧМТ. Контрольную группу составили 7 наблюдений, в которых смерть мужчин наступила от травм другой локализации. Парафиновые срезы гипоталамуса обрабатывали при помощи гистологических, гистохимических, импрегнационных методик. Для уточнения функционального состояния ядер вычисляли средний объем ядер нейронов (СОЯН) каждого ядра. Для этого в каждом ядре проведено измерение объема ядер 100 нейронов. В крупноклеточных ядрах, кроме того, определяли соотношение нейронов, находящихся в различных фазах (стадиях) нейросекреторного процесса (по А.Л.Поленову): 1-я фаза — покоя и начала синтеза, 2-я фаза — накопления, 3-я фаза — выведения, 4-я фаза — опустошения, 5-я фаза — депонирования нейросекрета. К последней фазе отнесены также пикноморфные нейроны. Во всех ядрах выявлены дисциркуляторные процессы в виде дистонии сосудов, отека. Сравнительно часто обнаруживались кровоизлияния в верхней части ПВЯ и в ЗЯ. Возрастающее количество пикноморфных нейронов. СОЯН АЯ, СОЯ, ПВЯ и ЗЯ в контрольной группе наблюдений равен 215,8 мкм<sup>3</sup>, 448,2 мкм<sup>3</sup>, 325,7 мкм<sup>3</sup>, 210,16 мкм<sup>3</sup> соответственно. У людей, погибших вследствие ЧМТ, СОЯН равен 234,9 мкм<sup>3</sup>, 448,7 мкм<sup>3</sup>, 348,9 мкм<sup>3</sup> и 228,43 мкм<sup>3</sup> соответственно. Результаты этого исследования свидетельствуют о возрастании показателя функциональной активности в ядрах гипоталамуса, регулирующих состояние эндокринной и иммунной систем, а также тонус гладкой мускулатуры. Сохранение СОЯН СОЯ на уровне контроля можно расценить в качестве показателя стабильности водно-минерального обмена на раннем этапе ЧМТ. В СОЯ у контрольной группы людей относительное содержание нейронов с признаками различных стадий нейросекреторного цикла было следующим: 1-я фаза — 13,4%, 2-я фаза — 28%, 3-я фаза — 28%, 4-я фаза — 29,2%, 5-я фаза — 1,4%. В группе людей, погибших от ЧМТ, относительное содержание нейросекреторных клеток — 1-я фаза — 11,8%, 2-я фаза — 14,6%, 3-я фаза — 15,9%, 4-я фаза — 46,8%, 5-я фаза — 9,8%. В ПВЯ контрольной группы наблюдений относительное содержание нейронов составило: 1-я фаза — 19,8%, 2-я фаза — 27,6%, 3-я фаза — 21,6%, 4-я фаза — 24,4%, 5-я фаза — 6,6%. В группе людей, погибших от ЧМТ, относительное содержание нейронов составило: 1-я фаза — 14,3%, 2-я фаза — 12%, 3-я фаза — 12,9%, 4-я фаза — 44,6%, 5-я фаза — 15,8%. Таким образом, в крупноклеточных ядрах возникает нарушение цикличности нейросекреторного процесса, что характеризуется уменьшением доли клеток с признаками фаз покоя и начала синтеза, накопления и выведения нейросекрета. Значительное возрастание доли нейронов с признаками 4-й и 5-й фаз может быть расценено как показатель задержки нейросекреторного процесса на стадии опустошения и усиления дистрофических процессов в клетках.

147а. *Парамонова Н.М.*

Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, С.-Петербург, Россия. E-mail: Sotnikov@kolt.infran.ru

**ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙРОНОВ ЗУБЧАТОЙ ИЗВИЛИНЫ ГИППОКАМПА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ОГНЕСТРЕЛЬНОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

Наиболее частым и опасным повреждением головы как военного так и мирного времени является огнестрельная черепно-мозговая травма (ОЧМТ). Особенность огнестрельного ранения как этиологического фактора, приводящего к серьезным нарушениям мозговой деятельности, нередко не совместимым с жизнью, заключена в фокусированном высокоскоростном ударе. В силу своей баллистической характеристики пуля в состоянии вызывать сотрясение мозга даже в случаях, когда она не проникает в полость черепа, а лишь незначительно повреждает мягкие ткани головы. Большинство нейроморфологических и патофизиологических исследований ОЧМТ касались в основном вопросов нарушений цереброваскулярных взаимоотношений и повреждения гематоэнцефалического барьера, их роли в патогенезе травматической болезни. Особенности ультраструктурной реорганизации нейронов и глио-нейрональных взаимодействий в остром периоде изучены недостаточно и относятся к более поздним срокам наблюдений. Целью данного исследования было изучение ранних реактивных изменений нейронов при воздействии ударной волны на значительном расстоянии от раневого канала. На отработанной ранее в лаборатории электронной микроскопии совместно с кафедрой судебной медицины ВМедА модели изучали гиппокамп, находящийся в зоне молекулярного сотрясения. У кроликов породы шиншилла, предварительно наркотизированных тиопенталом натрия, сразу после нанесения ранения выделяли фронтальные срезы гиппокампа, вырезали кусочки, соответствующие полям СА1-СА4 аммонова рога и дорсальному и вентральному плечам зубчатой извилины, которые обрабатывали по стандартной методике для электронной микроскопии. Анализ состояния структур гиппокампа на полутонких срезах выявил неоднородную реакцию его нейронов на ОЧМТ. Наиболее глубокие изменения коснулись клеток-зерен зубчатой извилины, особенно ее дорсального плеча. В середине слоя клеточных тел отмечено диффузное просветление их цитоплазмы. У нижних нейронов отчетливо выраженный хроматолиз локализовался, в основном, на стороне, обращенной к мшистым волокнам — к области контактов аксонов клеток-зерен зубчатой извилины и дендритов больших пирамидных нейронов СА3-СА4 полей аммонова рога. На ультраструктурном уровне было обнаружено, что в результате ОЧМТ между клетками-зернами образовались множественные и протяженные контакты, напоминающие щелевые и плотные, длина которых в 6–8 раз превышала аналогичные соединения у интактных животных. Нередко между рядом лежащими нейронами, на участках, не имеющих глиальных прослоек, наблюдали перфорации контактирующих плазмолемм. Все обнаруженные изменения межклеточных коммуникаций основных представителей нейронов зубчатой извилины свидетельствуют о формировании между ними синцитиальных связей в острый период огнестрельной черепно-мозговой травмы.

148. *Пасикова Н.В., Мац В.Н., Кузнецова Г.Д.*

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия. E-mail: natalya\_ab@mail.ru

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЛИО-НЕЙРОНАЛЬНЫХ СООТНОШЕНИЙ В ГИППОКАМPE КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР, ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ И НЕ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ К АУДИОГЕННЫМ СУДОРОГАМ**

Основываясь на полученных нами ранее данных о различии в клеточном составе моторной коры крыс, предрасположенных к эпилепсии, и животных без эпилептического статуса, мы поставили цель выявить структурные различия в дорсальном гиппо-

кампе у этих животных. Известно, что гиппокамп является одной из структур мозга, вовлеченных в формирование эпилептического статуса организма. Анализировали клеточный состав гиппокампа у двух групп животных: крыс линии Вистар, предрасположенных к аудиогенным судорогам (опыт), и крыс, не отвечающих на звуковой стимул эпилептическими припадками (контроль). Через 2 мес после тестирования, когда электрофизиологические и поведенческие характеристики этих животных не отличались от нормы, головной мозг извлекали и фиксировали в 4% растворе параформальдегида. На парафиновых фронтальных срезах мозга, окрашенных по методу Ниссля, подсчитывали количество нейронов, сателлитов и свободных глиоцитов на фиксированной площади под микроскопом при об. 40, ок. 20. Оказалось, что плотность расположения нейронов в дорсальном гиппокампе подопытных крыс была на 3,2% ниже, чем у животных, не склонных к эпилепсии. Суммарная плотность глиоцитов у подопытных крыс на 7,1% была значимо выше, чем в контроле. При этом основной вклад в превышение контрольных данных приносили сателлиты — выше контрольных показателей на 10,1% ( $P < 0,005$ ), тогда как плотность расположения свободных глиоцитов была больше всего на 4,99%. Характерно, что у контрольных животных все показатели (плотность расположения нейронов и различных видов глиоцитов) в правом полушарии головного мозга были значительно меньше, чем в левом. В тоже время у подопытных крыс эти показатели были одинаковыми в правом и в левом полушарии, либо в правом полушарии были выше показателей суммарной плотности глиоцитов. Можно предположить, что поле СА3 дорсального гиппокампа участвует в формировании эпилептического статуса у животных, предрасположенных к аудиогенным судорогам, при этом значительный вклад принадлежит глиоцитам. Кроме того, роль правого и левого полушарий головного мозга неоднозначна.

149. *Пашина Н.Р.*

Научно-исследовательский институт мозга РАН, Москва, Россия

**КОМПЕНСАТОРНЫЕ РЕОРГАНИЗАЦИИ В РЕЛЕЙНОМ СОМАТОСЕНСОРНОМ ЯДРЕ ТАЛАМУСА ПРИ ДЕАФФЕРЕНТАЦИИ КЛАССИЧЕСКИХ СОМАТОСЕНСОРНЫХ ПУТЕЙ**

На световом и электронно-микроскопическом уровнях, в разные сроки после перерезки правой половины покрывки среднего мозга были изучены морфологические изменения в соматосенсорном ядре таламуса (ССЯТ) кошки. Были выключены все восходящие соматосенсорные пути, идущие по данной стороне мозгового ствола в таламус (экспериментальная модель иннервационной апраксии). После операции у животных наблюдались явления афферентного паралича левой конечности. Животные, обученные до операции нажимать левой лапой на предъявляемую мишень, были не способны осуществить выработанное движение этой (деафферентированной) конечностью. Через 2–3 нед двигательные нарушения исчезали, а животные вновь начинали использовать левую лапу для правильного условно-рефлекторного ответа. Задачей исследования было установление соответствующих структурных изменений в центральном ССЯТ — вентро-базальном ядерном комплексе и поиск морфологического субстрата, обеспечивающего восстановление нарушенных функций. Проведенные морфометрические исследования правого и левого ССЯТ таламуса показали сохранность нейронного состава не только на стороне, противоположной перерезке, но и на ипсилатеральной. Выпадения нейронов, как предполагалось, на стороне операции не наблюдалось. В деафферентированном ССЯТ были выявлены нейроны с разной степенью обратимого хроматолиза через 3–5 сут после операции, 1 мес и 3 мес. Хроматолиз был сильнее в ранние сроки, к 3 мес в нейронах наблюдались явления частичного хроматолиза, которые отмечались, хотя и в значительно меньшей степени, в нейронах ССЯТ интактной половины мозгового ствола. Электронно-

микроскопическое исследование позволило выявить структурные перестройки на уровне синаптических контактов в ССЯТ на стороне операции. Характерной особенностью синаптической организации ССЯТ, как главного реле соматосенсорной чувствительности, является наличие сложных синаптических гломерул — когда на одном дендрите заканчиваются от пяти и более аксонных синаптических бляшек, окруженных общей глиальной прослойкой. В ССЯТ на стороне операции в синаптических гломерах в ранние сроки после операции были хорошо видны аксонные терминалы с характерными признаками темной и светлой дегенерации. При этом в таких гломерах имелись аксонные терминалы полностью заполненные синаптическими пузырьками, что говорит об их высокой функциональной активности. Сохранность количественного нейронного состава ССЯТ таламуса с обеих сторон, особенно на стороне операции, подтверждает положение, согласно которому в ССЯТ заканчиваются не только нервные пути, идущие по соответствующей стороне мозгового ствола, но и восходящие афферентные волокна, идущие по противоположной стороне и переходящие на другую сторону на уровне перехода среднего мозга в межоточный. Эти дополнительные неклассические экстраlemnисковые пути проводят необходимый приток афферентной информации в правое ССЯТ, что и обеспечивает нейронную сохранность этого ядра. Более того, компенсация нарушенных двигательных функций возможна за счет перераспределения синаптической нагрузки в гломерах.

150. Пашенко П.С., Рисман Б.В., Сухотерин А.Ф., Жуков А.А., Айтышева О.С.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: paschenkops@yandex.ru

#### УЛЬТРАСТРУКТУРА МЕЖНЕЙРОННЫХ СИНАПСОВ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗОК

Работа посвящена исследованию структурно-функциональных преобразований в межнейронных синапсах (МНС) центрального (area postrema, ядра спинного мозга) и периферического (грудные узлы симпатического ствола, чревные узлы) отделов нервной системы в условиях хронического воздействия на организм гравитационных перегрузок (ГП). Моделирование ГП кранио-каудального направления величиной 4–6 единиц производили путем вращения 28 белых беспородных крыс в возрасте от 8 до 34 нед на центрифуге с радиусом плеча 1,5 м по собственной методике [Пашенко П.С., 1993, 1999]. Контроль составили 12 интактных животных. Материал исследовали с помощью комплекса анатомических, гистологических, стереометрических и электронно-микроскопической методик. Ультраструктура МНС (преимущественно аксо-дендритических и аксо-соматических) в различных отделах нервной системы имеет принципиально одинаковую организацию. МНС имеют пресинаптическую часть, содержащую равномерно распределенные по всей поверхности светлые холинэргические синаптические пузырьки, а также немногочисленные пузырьки с электронно-плотной сердцевиной, четко контурированную синаптическую щель и постсинаптическую часть, в которой выявляется постсинаптическое уплотнение. Значимым моментом в структуре пре- и постсинаптической части в норме является наличие митохондрий с сохраненными кристами ламеллярного типа. После хронического воздействия ГП изменения в одних случаях проявляются дегенерацией МНС по «светлому» типу, в других — по «темному». В первом случае синаптические пузырьки частично разрушены, происходит их скопление и адгезия возле пресинаптической мембраны. Наблюдается значительное снижение количества светлых пузырьков, вплоть до трех-четырех пузырьков на срезе нервной терминали. Это явление можно объяснить истощением синаптической передачи. Также отмечаются начальные явления деструкции крист

и вакуолизации митохондрий в аксоплазме окончаний. Во втором случае отмечаются признаки дальнейших дегенеративных изменений в пресинаптической части, которые проявляются необратимой деструкцией митохондрий вплоть до преобразования их в резидуальные тельца. Последние многочисленны, что свидетельствует о дегенерации МНС по «темному» типу. Морфометрически установлен кранио-каудальный градиент нарастания числа дегенерирующих МНС в различных отделах нервной системы. При этом максимальное их количество было отмечено в узлах чревного сплетения и, особенно, в поясничном отделе спинного мозга, в заднем роге которого доля терминалей находящихся на разных стадиях деструкции достигла  $78,0 \pm 2,6\%$ , в то время как в шейном отделе их содержание оказалось почти в 2 раза меньше ( $41,0 \pm 1,5\%$ ;  $P < 0,05$ ). Таким образом, воздействие ГП в необычных для организма режимах является экстремальным фактором, вызывающим не только компенсаторно-приспособительные, но также и деструктивные изменения в МНС различных отделов нервной системы. Такие изменения при многократном воздействии ГП выявляются как в симпатическом и парасимпатическом отделах вегетативной нервной системы, так и в центральном отделе соматической нервной системы, что в целом может свидетельствовать о системности их развития.

151. Петренко В.М.

Государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: petrpug@mail.ru

#### ИННЕРВАЦИЯ КЛАПАННОЙ ЧАСТИ ГРУДНОГО ПРОТОКА У ЧЕЛОВЕКА И БЕЛОЙ КРЫСЫ

Клапаны играют ключевую роль в организации лимфооттока из органов, однако нервная регуляция их движений до сих пор не изучена. В литературе приводятся данные о распределении нервных структур в стенке грудного протока у человека и ряда млекопитающих животных, но без их описания в составе клапанных заслонок. Клапанные заслонки представляют собой круговые складки внутренней оболочки грудного протока, образующиеся при участии средней оболочки. Гладкие миоциты последней формируют круговую мышцу клапанного валика, а гладкие миоциты внутренней оболочки входят в состав створки. Не сложно предположить, что субэндотелиальные нервные структуры, описанные в литературе, могут проникать в толщу клапана. С целью проверить данное предположение, была выполнена работа на тотальных препаратах и серийных гистологических срезах грудного протока и его изолированных клапанов, импрегнированных солями серебра по Бильшовскому—Грос, окрашенных пикрофуксином по ван Гизону и галлоцианином по Эйнарсону. Миелиновые и безмиелиновые нервные волокна разной толщины и их пучки подходят к стенке грудного протока на всем его протяжении, но преимущественно в области «перехватов». Около стенки и в поверхностных слоях наружной оболочки встречаются инкапсулированные нервные окончания типа осязательных и пластинчатых телец. В основании клапана наблюдается значительное утолщение наружной оболочки. В адвентициальный «башмак», опору клапанной заслонки проникают миелиновые, но чаще безмиелиновые нервные волокна разной толщины. Они формируют адвентициальное (поверхностное) нервное сплетение, в составе которого определяются нервные окончания с разным строением. Около средней оболочки сплетение становится более густым: надмышечное (глубокое адвентициальное) нервное сплетение отчетливо определяется у человека на месте продольного мышечного слоя наружной оболочки, который у крысы чаще всего отсутствует. В клапанной части грудного протока адвентициальные нервные сплетения сгущаются и сливаются над мышцей клапанного валика, около которой определяются толстые и тонкие нервные волокна и полиморфные нервные окончания, в том числе — плексиформные. В

створку клапана грудного протока проникают, как правило, только тонкие безмиелиновые нервные волокна. Они дровидно ветвятся и достигают свободного края створки, истончаясь в этом направлении. Нервные терминалы отличаются радиальной и косорадиальной ориентацией в клапанной створке, черной окраской при импрегнации нитратом серебра. Желто-коричневые или фиолетовые, гораздо более толстые пучки коллагеновых волокон ориентированы в створке преимущественно поперечно или косопоперечно. Нервные окончания в створке имеют чаще форму усов или пучков, в том числе около ее свободного края. Чрезвычайно тонкие эфферентные нервные волокна определяются главным образом как цепочки «бусинок» (варикозные расширения эфферентных терминалов). Таким образом, нервные структуры пронизывают всю толщу стенки грудного протока и входят в состав клапанной створки. Размеры, сложность строения и плотность распределения нервных структур в стенке грудного протока коррелируют с такими же характеристиками его оболочек: обнаружено их уменьшение от периадвентиции к эндотелию, от основания клапана к свободному краю его створки и у крысы по сравнению с человеком.

152. Петрова Е.С., Отеллин В.А.

Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: iem@iem.spb.ru

#### ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СЕРОТОНИНА НА РАЗВИТИЕ НЕОКОРТЕКСА КРЫС НА МОДЕЛИ ЭКТОПИЧЕСКОЙ НЕЙРОТРАНСПЛАНТАЦИИ

Трансплантация эмбриональных закладок ЦНС в эктопические участки, как метод культивирования *in vivo*, позволяет изучать механизмы регуляции процессов пролиферации и дифференцировки клеток в развивающемся мозге. Целью настоящего исследования явилось выяснение гистобластических потенциалов эмбриональных закладок неокортекса крыс после воздействия ингибитора серотонина — пара-хлорфенилаланина (ПХФА) с использованием метода эктопической нейротрансплантации. Фрагменты дорсолатеральной стенки переднего мозгового пузыря 14-суточных эмбрионов, полученных от крыс, которым на 11-е сутки беременности вводили ПХФА (400 мг/кг), пересаживали в нерв взрослых крыс. Изучали митотическую активность пересаженных нейроэпителиальных клеток и дифференцировку нейральных элементов через 1, 7, 10 сут после операции. Контролем служили трансплантаты аналогичных закладок интактных 14-суточных эмбрионов крыс. Установлено, что через 1 сут митотический индекс клеток в подопытных трансплантатах в 2,5 раза ниже, чем в контрольных. Выявлено, что инкубирование таких закладок перед пересадкой в питательной среде, содержащей серотонин-креатинин сернокислый (3 мкг/мл), способствует делению нейроэпителиальных клеток трансплантатов. Через 7–10 сут в контрольных и подопытных трансплантатах снижается число митотически делящихся клеток, формируются группы нейробластов и молодых нейронов. В трансплантатах закладок эмбрионов крыс, которым вводили ПХФА, нейральные элементы не достигают такой степени дифференцировки, как в нейротрансплантатах интактных эмбрионов. Они имеют меньшие размеры ядер, более узкий ободок цитоплазмы, менее развитые отростки. Таким образом, показано, что дефицит серотонина в пренатальный период развития приводит к снижению митотической активности нейроэпителиальных клеток дорсолатеральной стенки переднего мозгового пузыря и задержке дифференцировки нейронов. Предполагается, что уменьшение числа делящихся клеток-предшественников и задержка их дифференцировки объясняются увеличением продолжительности клеточного цикла этих клеток после воздействия ПХФА. Результаты исследования подтверждают, что серотонин влияет на митотическую активность нейроэпителиальных клеток и дифференцировку нейронов в развивающемся неокортексе.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ: 04-04-48227 и «Ведущие научные школы РФ» № 1163.2004.

153. Пивнева Т.А., Цупиков О.М., Скибо Г.Г.

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН, г. Киев, Украина. E-mail: tpivneva@yahoo.com

#### ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИИ НА МИКРОГЛИАЛЬНУЮ И АСТРОГЛИАЛЬНУЮ РЕАКЦИИ В ЗОНЕ CA1 ГИППОКАМПА ПЕСЧАНКИ

Пирамидные нейроны зоны CA1 гиппокампа избирательно чувствительны к глобальной ишемии. Известно, что после ишемии гибель нейронов происходит по отставленному типу; глиальная реакция в зоне CA1 в постишемическом периоде до настоящего времени остается недостаточно выясненной. Исследовали реакцию микроглии и астроцитов гиппокампа у песчанок (*Meriones unguiculatus*) в разные сроки после ишемии во всех слоях зоны CA1. Кратковременную глобальную ишемию мозга вызывали путем двусторонней окклюзии *a.carotis communis* в течение 7 мин. Для выявления глиальной реакции применяли иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов гиппокампа с использованием антител к астроцитам (GFAP) и микроглиоцитам (Iba1). Статистический и морфометрический анализ распределения GFAP- и Iba1-позитивных клеток проводили с применением компьютерной программы ImageTool (США). Измеряли площадь каждого слоя гиппокампа и рассчитывали плотность локализации микроглиоцитов и астроцитов во всех слоях зоны CA1 гиппокампа на 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сутки после ишемического воздействия. Полученные данные сравнивали с результатами иммуноокрашивания глиоцитов у ложнопериоперированных животных. Результаты работы показали, что уже на 3-и сутки после глобальной ишемии микроглиоциты трансформировались из разветвленной, в состоянии покоя, формы в отчетливо выраженную кустистую и амебодную. Количество Iba1-позитивных микроглиоцитов увеличивалось во всех слоях CA1 зоны, и их наибольшая плотность локализации отмечалась в str. pyramidalе на 14-е сутки после повреждения. Увеличение количества GFAP-позитивных астроцитов отмечалось также на 3-и сутки после ишемического воздействия. Они располагались равномерно во всех слоях гиппокампа с несколько повышенной плотностью в str. lacunosum-moleculare, str. moleculare (в областях локализации синаптических терминалов коллатералей Шаффера). В этих слоях максимальное увеличение количества GFAP-позитивных астроцитов наблюдалось на 2-й неделе после экспериментального воздействия. На 30-е сутки реактивность как астроцитов, так и микроглиоцитов была несколько снижена по сравнению с таковой на 14-е сутки во всех слоях зоны CA1. Таким образом, полученные результаты показывают, что после вызванной кратковременной ишемии прослеживается связь между степенью морфологических изменений нейрональных клеток и уровнем активации глиоцитов, что отражает динамику повреждения нейронов гиппокампа после ишемии.

154. Пиголкин Ю.И.<sup>1</sup>, Морозов Ю.Е.

<sup>1</sup>Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова МЗСР, Россия. E-mail: mma-sechenov@mtu-net.ru

#### АЛКОГОЛЬОКИСЛЯЮЩИЕ ДИАФОРАЗЫ И ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ЭТАНОЛА ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

При исследовании трупов острая алкогольная интоксикация (ОАИ) определяется по уровню алкоголемии, устанавливаемой методом газо-жидкостной хроматографии, как содержание этилового спирта в крови трупа в концентрации, превышающей 0,5‰, а также на основе патоморфологических данных, указывающих на прямое цитотоксическое действия этанола и его главного метаболита ацетальдегида. Основными морфологическими признаками ОАИ являются изменения, выявляемые

гистологически (нарушения проницаемости сосудистых стенок, агрегатного состояния крови, некроз, некробиоз клеток) и гистохимически (индукция или ингибирование ферментативной активности алкоголь- и альдегидокисляющих диафораз). Определение метаболической активности диафораз в ранние сроки после смерти, позволяет судить о прижизненной функциональной активности органов и их систем, а также о наличии в них преобладающих по тяжести поражений, что, в свою очередь, дает возможность более обоснованно трактовать пато- и танатогенез. Данные литературы свидетельствуют, что для оценки тяжести ОАИ важно учитывать не только уровень алкоголемии, но и фазу динамики этанола, которая устанавливается по соотношению концентраций алкоголя в крови и моче на момент наступления смерти. Если количество алкоголя в крови преобладает над его содержанием в моче, то регистрируется фаза резорбции, если это отношение равно 1,0 — фаза равновесия, если оно меньше 1,0 — фаза элиминации (выведения) этанола. Исследованы 118 случаев смерти с ОАИ и 30 контрольных наблюдений (при отсутствии ОАИ). Изучено 460 гистологических и 453 гистохимических микропрепаратов. Активность алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы определяли в органах, являющихся «мишенями» для прямого токсического действия этанола (головной мозг, надпочечники, печень). В контрольной группе наблюдений установлено дифференцированное распределение диафораз в функционально-структурных зонах изученных органов. ОАИ сопровождалась отчетливо выраженными, но неоднозначными изменениями ферментативной активности. Статистически значимые коррелятивные связи между уровнем алкоголемии и активностью диафораз были установлены только в 4% сравниваемых показателей. Для исследования зависимости активности диафораз от условий, сопутствующих ОАИ, проведена дополнительная группировка наблюдений и анализ показателей с учетом пола, возраста, причин смерти и фаз ОАИ. При выделении из общего количества исследованных случаев дополнительных групп наблюдений, отличающихся перечисленными признаками (без учета фаз ОАИ), и их раздельном сравнительном изучении, статистически значимые согласованные изменения показателей уровней алкоголемии и активности диафораз в функционально-структурных зонах изученных органов были установлены в 17% сравниваемых показателей. Учет фаз ОАИ в дополнении к уже проанализированным показателям, позволил увеличить количество статистически значимых коррелятивно согласованных изменений (по типу прямой и обратной отрицательной связи) до 22%.

155. Платонов И.А., Степанова И.П., Мочалова Л.Б.

Смоленская государственная медицинская академия, Россия

#### НЕЙРОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОРЫ ПОЛУШАРИЙ БОЛЬШОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ТИМОАНАЛЕПТИКОВ

В нашем исследовании было изучено влияние тимоаналептиков при остром и хроническом их применении внутривенно (в/в) или через рот (per os) на кору полушарий большого мозга. Анализ гистологических срезов показал, что тианептин в дозе 0,31 мг/кг per os в течение 1,5 ч и 7 сут, кломипрамин в дозе 25 мг/кг в/в в течение 1 ч и 7 сут, а также амитриптилин 55 мг/кг в/в в течение 1 ч и 7 сут вызывают нейрональные изменения в коре полушарий большого мозга крыс. При однократном введении препаратов для нейронов коры полушарий большого мозга, преимущественно слоев III и V, характерны изменения обратимого приспособительного характера, а к 7-м суткам введения препаратов происходит нормализация строения тела нейронов и их дендритов, увеличение длины апикальных и боковых дендритов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что данные тимоаналептики обладают нейропротективными свойствами и увеличивают пластичность нервной системы.

156. Плотникова С.И., Исавнина И.Л.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: office@iephb.ru

#### НЕЙРОНЫ НАДПОТОЧНОГО ГАНГЛИЯ ЛИЧИНКИ СТРЕКОЗЫ AESCHNA, ВОЗМОЖНО СВЯЗАННЫЕ С ОБОНЯНИЕМ

Вопрос об обонянии у низших птеригот нельзя считать полностью выясненным. В связи с этим нами было предпринято изучение мозга личинки стрекозы Aeschna. Препараты окрашивали метиленовым синим. В латеральной доле протоцеребрума обнаружены 4 однотипных нейрона с богатыми арборизациями. Их тела лежат вблизи клеток Кенйона. От каждого клеточного тела отходит отросток, который разделяется на 2 ветви. Одна из них — дендрит — ветвится около вертикальной доли грибовидного тела, другая — аксон — идет в латеральную долю протоцеребрума и дает ответвление, охватывающее всю долю. Эти окончания очень похожи на разветвления и концевые аппараты нисходящего нейрона гломеруло-антеннального тракта антеннальной доли у мухи. Как нам удалось наблюдать на большом материале при изучении нейропилля ганглиев брюшной цепочки насекомых, нейроны, выполняющие сходные функции у разных насекомых, дают очень похожие арборизации. Этот факт наводит на мысль: не имеют ли обнаруженные у личинки Aeschna нейроны отношение к обонянию? Нам также удалось увидеть вхождение в латеральный протоцеребрум чувствительных волокон от рецепторов антенны. Эти факты позволяют предположить, что, возможно, латеральный протоцеребрум древнего насекомого стрекозы частично выполняет функцию антеннальной области высших насекомых.

157. Подгорный О.В., Марей М.В.<sup>1</sup>, Полтавцева Р.А., Сухих Г.Т.<sup>1</sup>, Александрова М.А.

Институт биологии развития РАН, E-mail: aleksandrova@vigg.ru; <sup>1</sup>Центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, Москва, Россия

#### НЕЙРАЛЬНЫЕ СТЕЛОВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА IN VIVO И IN VITRO

Нейральные стеловые клетки (НСК) дают начало нейронам и глиоцитам в развивающейся и дефинитивной нервной системе. В нервной ткани эти клетки успешно определяются благодаря экспрессии белка промежуточных филаментов — нестина. В настоящей работе изучали структуру нестинэкспрессирующих клеток в мозгу и сетчатке 9–10-недельных эмбрионов человека, их поведение в культуре ткани и после трансплантации в головной и спинной мозг. При культивировании были использованы среды DMEM и F-12, комплемент N2 с добавками FGF-2 и EGF, гепарин и гентамицин/амфотерицин. Морфологические исследования проводили с применением гистологических и иммуногистохимических методов. Исследования показали, что в нативных эмбриональном переднем мозгу и сетчатке отчетливо выявляются нестинпозитивные клетки. В мозгу несколько слоев НСК в вентрикулярной зоне, за которыми следуют коммитированные нейрональные клетки, расположенные в субвентрикулярной зоне. В сетчатке НСК имеют структуру радиальных глиоцитов, их ядра распределяются в наружном слое, а отростки протягиваются к внутреннему слою, формируя каркас для миграции презумптивных нейронов. При культивировании обоих типов тканей, в культуре выявляются нейробласты, глиобласты, но главное, что в них длительно сохраняются клетки, экспрессирующие нестин. Эти клетки из мозгу и сетчатки по поведению и строению сходны. Они прикрепляются к пластику культуральной посуды и представляют собой вытянутые или расплющенные клетки, напоминающие глиоциты первого и второго типа. По мере культивирования в них наблюдается совместная экспрессия нестина с виментином, нестина с глиальным кислым белком, нестина с фибронектином, но не

было отмечено совместной экспрессии с  $\beta$ III-тубулином (маркером нейробластов). Нестинпозитивные НСК пролиферировали и длительно переживали после трансплантации культур в различные отделы головного мозга или в спинной мозг крыс. Они формировали длинные отростки, которые выходили за пределы трансплантатов и глубоко врастали в ткань мозга реципиента. Миграция НСК наблюдалась, главным образом, по волоконным трактам и по сосудам. В головном мозгу преобладала миграция по сосудам. НСК нередко выявлялись в нескольких сотнях микрометров от места введения, плотно расположенные вокруг сосуда. В спинном мозгу клетки далеко мигрировали по волокнам белого вещества, вытягивая длинные отростки вдоль направления движения. В ряде случаев, в головном и в спинном мозгу были выявлены своеобразные комплексы между трансплантированными НСК и капиллярами реципиента. При этом НСК, морфологически сходные с радиальными глиоцитами, формировали вокруг капилляра подобие нейроэпителия. Проведенные исследования продемонстрировали, что нестинпозитивные клетки человека сохраняют статус стволовых клеток при культивировании и после трансплантации. В среде взрослого мозга они формируют длинные отростки, широко мигрируют по сосудам и аксональным трактам, своеобразно взаимодействуют с капиллярами, что предполагает возможную рекапитуляцию ниши стволовых клеток, несмотря на межвидовые различия.

*Работа поддержана грантом РФФИ 05-04-48031 и программой «Молекулярная и клеточная биология» № 10002-251/П-143-150/010403-048.*

158. Полковников Ю.Ф., Шербина А.Н., Тертышный С.И.

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

#### **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБМЕНА РИБОНУКЛЕОПРОТЕИДОВ НЕЙРОНОВ ЗОНЫ ИШЕМИЧЕСКОЙ ПОЛУТЕНИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКИХ ИНСУЛЬТАХ**

Выявление критических порогов кровотока, связанных с утратой электрической функции нейронов и нарушения клеточного и ионного гомеостаза при ишемических инсультах указывает на важность изучения внутриклеточного метаболизма в нейронах зоны ишемической полутени. Учитывая, что важным звеном внутриклеточного метаболизма нейронов является обмен рибонуклеопротеидов (РНП), целью работы было изучение изменений распределения РНП в нейронах перифокальной зоны ишемического инфаркта. Изучен головной мозг 18 умерших больных в возрасте 50–60 лет с полушарными и стволовыми инфарктами мозгового. Для светооптического и электронно-микроскопического исследования брали участки коры и ствола мозга из перифокальной зоны инфаркта. Выявление РНП проводили методом регрессивного контрастирования. У умерших через 1–8 сут от начала заболевания в нейронах перифокальной зоны полушарных и стволовых инфарктов количество гиперхромных клеток возрастало на 15–30%. При обзорной электронной микроскопии в таких нейронах обнаруживалась дегрануляция гранулярной эндоплазматической сети (ГЭС) с увеличением количества свободных рибосом и полирибосом разной электронной плотности, набухание митохондрий с деструкцией основной массы крист. Некоторые из митохондрий трансформировались в вакуоли и миелоноподобные тела. Ядра нейронов характеризовались наличием глыбок конденсированного хроматина, локализованного у ядерной оболочки. Отмечалась эволюция сдвигов обмена РНП в нейронах с разной степенью ишемических повреждений. В нейронах с минимальными изменениями в структуре наблюдалось резкое возрастание электронно-плотных перихроматиновых гранул (ПХГ), локализующихся в нуклеоплазме и околоядрышковом пространстве, увеличивалось количество полей интерхроматиновых гранул

(ИХГ), и количество компактного хроматина. В перикарионе отсутствовали фибриллярные РНП и превалировали обедненные РНК полисомы. Выявлялись набухание и фрагментация цистерн ГЭС с диссоциацией рибосом. В нейронах с выраженными изменениями выявлялась агрегация гранулярных РНП в конгломераты, локализованные преимущественно у ядерной оболочки. В цитоплазме таких нейронов были выражены признаки хроматолиза. Нейроны с грубыми деструктивными изменениями характеризовались накоплением гетерохроматина в ядре, перенасыщением нуклеоплазмы ИХГ и ПХГ с их агрегацией в конгломераты, а также глубокими инвагинациями ядерной оболочки, отсутствием РНП в ядрышке, которое было представлено только белковым матриксом. Отмечались очаговые расширения перинуклеарного пространства, распад полирибосом в цитоплазме и внутриядерных инвагинациях, фрагментация и деструкция цистерн ГЭС. Погибшие клетки характеризовались тотальным хроматолизом или гомогенизацией цитоплазмы (в зависимости от превалирования процессов лизиса или коагуляции), распадом ядрышковых, ядерных и цитоплазматических РНП. Таким образом, перенасыщение ядра гранулярными РНП при отсутствии фибриллярных форм РНП, а также распад полирибосом в цитоплазме и внутриядерных инвагинациях, отражает необратимость повреждения ядерно-цитоплазматического транспорта в ишемических нейронах зоны ишемической полутени.

159. Попова Э.Н., Копытова Ф.В., Медникова Ю.С.

Научно-исследовательский институт мозга РАМН, Институт высшей нервной деятельности РАН, Москва, Россия. E-mail: Kopytova\_fv@mail.ru

#### **ИЗМЕНЕНИЯ МЕЖНЕЙРОНАЛЬНЫХ СВЯЗЕЙ И СЛЕДОВОГО УСВОЕНИЯ РИТМА НЕЙРОНАМИ ГИППОКАМПА У СТАРЫХ ЖИВОТНЫХ**

Известно, что старение сопровождается снижением интегративных возможностей мозга, ухудшением процессов обучения и памяти. Цель настоящей работы — сопоставить изменения межнейрональных связей, в частности, аксо-дендритных синапсов, и следового усвоения ритма (аналог условного рефлекса на время) нейронами гиппокампа у старых животных. Показано, что в гиппокампе старых животных имеется полиморфизм изменений различных компонентов аксо-дендритных контактов. В большинстве синапсов сильнее повреждается их постсинаптическая часть, чем пресинаптическая. При этом деструктивные изменения более выражены в крупных и среднего размера дендритах светлых нейронов. Синапсы на таких дендритах сохраняются, но имеют небольшие по протяженности «активные зоны», а пресинаптический отросток содержит многочисленные синаптические пузырьки, не связанные с пресинаптической мембраной, что считается показателем «неактивного» состояния синапсов и приводит к нарушениям структуры и функции постсинаптических нейронов. На дендритах темных нейронов синаптические контакты, как правило, отсутствуют, а сами дендриты окружены внедряющимися отростками астроцитов. Ультраструктура многих пресинаптических терминалей не изменяется, но встречаются пресинаптические отростки, дегенерирующие по светлomu и темному типу. В конечной стадии такой отросток теряет связь с постсинаптическим компонентом и окружается набухшими отростками астроцитов. Вместе с тем имеются активно функционирующие синапсы со значительной протяженностью «активной зоны» и концентрацией синаптических пузырьков около пресинаптической мембраны, а также десомомовидные контакты, что в какой-то мере компенсирует возрастную гибель аксо-дендритных связей, чем можно объяснить сохранение в гиппокампе старых кроликов спонтанной активности нейронов, хотя и на низком уровне и наличие слабой реактивности клеток к раздражителям. При старении у животных нарушается способность к сохране-

нию и следовому воспроизведению ритма предъявляемого периодического раздражения (0,5–1,0 Гц). По-видимому, распространенность деструктивных изменений межнейронных связей и преобладание в гиппокампе старых кроликов резко гипо- и гиперхромных клеток обуславливают существенное ухудшение способности гиппокампальных нейронов к пластическим перестройкам и обучению. Спектральный анализ импульсации нейронов показывает, что многократная периодическая стимуляция не приводит к сколько-нибудь выраженному феномену следового усвоения ритма ни в один из 3–4 дней эксперимента. Следовая активность не выявляется и на следующий день опыта до предъявления ритмического раздражения. Таким образом, на стадии позднего онтогенеза гибель части аксо-дендритных синапсов с одной стороны, и деструктивные изменения дендритов с другой — приводят к нарушениям афферентации нейронов гиппокампа, первичной обработки поступающей к ним информации и к затруднению ее трансформации в спайковую активность, а в результате — к снижению уровня спонтанной импульсации нейронов, регулирование которой в процессе функционирования лежит в основе интегративной деятельности мозга.

*160. Порцева В.В.*

Ярославская государственная медицинская академия, Россия. E-mail: slav@yma.ac.ru

**СЕГМЕНТАРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В НЕЙРОЦИТАХ СПИННОМОЗГОВЫХ ГАНГЛИЕВ У БЕЛЫХ КРЫС**

Целью настоящей исследования явилось выявление возрастных сегментарных особенностей активности NADPH-диафоразы (NADPH-d) и холинэстеразы (ХЭ) в спинномозговых ганглиях (СМГ) у интактных крыс. На криостатных срезах (толщина 20 мкм) II грудного, IV поясничного, II крестцового СМГ справа изучена активность NADPH-d и ХЭ. Исследование проведено на самках интактных белых крыс линии Вистар различного возраста (от 3 до 180 сут). Цифровые данные получены с помощью видеоанализатора Bioscan (Минск, Конако) и обработаны методами вариационной статистики (Excel-97). Значимость различий оценена по критерию Стьюдента. Установлено, что активность NADPH-d и ХЭ в нейронах правых СМГ различных уровней начинает выявляться на 3-и сутки жизни крысы. Продукт реакции равномерно распределяется в цитоплазме нейроцитов у животных всех возрастных групп. На всех сегментарных уровнях в нейронах СМГ отмечено постепенное увеличение активности NADPH-d с 3-х по 7-е сутки с последующим снижением показателей к 10-м суткам. Затем активность фермента меняется волнообразно в нейронах ганглиев всех уровней, но отмечается гетерохронность этих волн. Так, в нейронах грудных и крестцовых СМГ пики активности NADPH-d приходятся на 14-е и на 60-е сутки, стабилизация активности фермента отмечается на 90-е сутки жизни животного. В нейронах поясничных СМГ пики активности NADPH-d приходятся на 21-е и на 90-е сутки, с более поздней стабилизацией показателей активности на 120-е сутки. На всех уровнях активность NADPH-d в нейронах СМГ снижается на 180-е сутки, причем уровень активности не отличается от такового у новорожденных. В целом, максимальная активность NADPH-d отмечается в крестцовых СМГ, ниже — в грудных СМГ, минимальная — в поясничных СМГ всех возрастных групп. В нейронах СМГ на всех уровнях отмечено увеличение активности ХЭ на 5-е сутки с последующим снижением к 21-м суткам и резким увеличением к 30-м суткам. При этом максимальная активность фермента выявлена на 30-е сутки жизни животных. С 60-х суток активность ХЭ снижается, с последующей стабилизацией показателей активности. На всех уровнях активность ХЭ в нейронах СМГ после 120-х суток постепенно возрастает, достигая максимальных

значений к 180-м суткам. Показатели активности ХЭ в СМГ имеют сегментарные особенности в ранние сроки жизни крысы: максимальная активность фермента выявлена с 3-х по 5-е сутки в крестцовом, с 7-х по 14-е сутки в поясничном, с 21-х по 30-е сутки в грудном СМГ. В последующие сроки наблюдения сегментарные особенности активности ХЭ нивелируются. Исследование активности NADPH-d и ХЭ в нейронах СМГ различных сегментарных уровней выявило зависимость активности ферментов, особенно, NADPH-d, от спинального уровня и от периода онтогенеза.

*161. Прасмыцкий О.Т., Абашева Г.К., Петрусенко Г.П.*

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь. E-mail: Prasmyski@tut.by

**ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ КРОВИ НА СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ПОЛИТРАВМОЙ**

В лечении травматической болезни наряду с хирургическими, фармакологическими средствами применяют и физиотерапевтические, в частности, лазеротерапию, механизм положительного лечебного эффекта которой недостаточно изучен. В настоящем сообщении представлены результаты изучения осмотергентной резистентности эритроцитов (РЭ) и деформируемости эритроцитов (ДЭ) у 24 больных с политравмой (ПТ) и 16 первичных доноров. У больных с ПТ повреждения костных и мягких тканей сочетались в 19 случаях с черепно-мозговой травмой, а в 17 случаях — с повреждением внутренних органов, 10 больных — мужчины в возрасте в среднем 34 года и 14 — женщины — в возрасте в среднем 42 года. Средний возраст доноров — 35 лет. Внутривенное лазерное облучение крови (ВЛОК) проводили через световод, введенный в периферический катетер, по схеме: первые 10 мин — низкоинтенсивным лазерным излучением красной области спектра (670 нм), следующие 10 мин — лазерным излучением инфракрасной области спектра (780 нм) с мощностью светового потока на выходе 10–11 мВт. Суммарное время воздействия 20 мин. Сеансы лазеротерапии проводили ежедневно с 1-х по 7-е сутки травматической болезни. Кровь для исследований брали непосредственно перед началом облучения и через 40 мин после окончания лазерного воздействия на компоненты крови и сосудистой стенки. Кровь брали по этапам в 1-е, 3-и, 7-, 14-е и 21-е сутки с момента получения травмы. Из пробы крови выделяли эритроциты, промывали их изотоническим раствором в соотношении 1:1. 0,02 мл полученной взвеси эритроцитов использовали для оценки ДЭ фильтрующим методом [Катюхин Л.Н., 1995]. Определяющее значение для оксигенации тканей имеют вязкостно-эластичные свойства мембран эритроцитов. Доступным методом изучения является определение РЭ к мочевиному гемолизу [Бондарев Л.С. и др., 1990]. Устойчивость эритроцитов определяли в изотонических растворах мочевины (18 г/л) и хлорида натрия (8,5 г/л) в следующих объемных соотношениях: 50:50, 55:45, 60:40. Изотонический раствор мочевины служил эталоном 100% гемолиза. В 1-е сутки после получения травмы через 1 ч после ВЛОК РЭ возрастала на 27%, 38% и 10% в соответствующих разведениях мочевины: 50:50, 50:45 и 60:40. На 3-и сутки исследования РЭ возрастала на 72%, 63% и 34% в соответствующих разведениях мочевины у больных, которым проводили ВЛОК, по сравнению с РЭ без ВЛОК. На 7-е сутки с момента получения травмы РЭ после ВЛОК не менялась в разведениях мочевины 50:50 и 55:45 по сравнению с таковой до облучения, а в рабочем растворе 60:40 РЭ была снижена на 15%. После отмены сеансов ВЛОК на 14-, 21-е сутки исследования РЭ у больных, получавших ВЛОК, была выше на 24% и 13% в рабочих растворах мочевины 55:45 и 60:40 по сравнению с РЭ в группе больных без облучения. Сеансы ВЛОК больных с ПТ через 1 ч после начала лазеротерапии повышали

ДЭ при прохождении через капиллярный канал искусственных мембран (время прохождения эритроцитов по микроканалам фильтра сокращалось с 12,0 с до 10,5 с ( $P < 0,05$ )). Следовательно, ВЛОК, повышая РЭ, улучшает структурно-функциональное состояние мембраны эритроцитов.

162. Пушкарев Ю.П., Синельникова Е.В., Скворцова М.Ю., Смирнов О.Н.

Санкт-Петербургская государственная Педиатрическая медицинская академия, Россия

#### МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОНТУРОВ РЕГУЛЯЦИИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Механизмы осуществления депонирующей и эвакуаторной функций мочевого пузыря — хороший пример иерархии контуров его регуляции. Еще 80 лет тому назад изучение центральной конструкции системы мочевого пузыря — уретры [Боккерс Л.А. и Шумовский В.М.; Беррингтон Ф. и др.] привело к выявлению рефлексов, которые позднее приобрели более конкретные топографо-функциональные черты. Среди этих рефлекторных цепей управления постулируются пять, причем две из них имеют короткий спинномозговой уровень замыкания. Так, поток импульсов от рецепторов уретры к спинномозговому центру мочеиспускания способствует полному опорожнению пузыря. Другой рефлексный круг начинается от рецепторов детрузора, поток импульсов от которых достигает крестцовых сегментов спинного мозга, приводит к торможению мотонейронов, иннервирующих периуретральную мускулатуру, вызывает расслабление последней, что способствует мочеиспусканию. Три других контура замыкаются в высших отделах ЦНС. Первый круг регуляции соединяет лобные доли полушарий большого мозга с ретикулярной формацией. Расположенные здесь двигательные центры мускулатуры мочевого пузыря связаны с таламусом, лимбической системой и базальными ядрами. От последних осуществляется тормозящее влияние на преганглионарные парасимпатические нейроны и, возможно, мотонейроны каудальных отделов спинного мозга. Кора полушарий большого мозга осуществляет произвольную регуляцию акта мочеиспускания. Хорошо известный в технике принцип, согласно которому сложно устроенные механизмы ломаются быстрее, здесь оказывается справедлив: созревая в первые годы постнатального развития, эта функциональная петля в старости разрушается. Другой контур регуляции включает проводники от барорецепторов мочевого пузыря к ретикулярной формации, а также ретикулоспинальные пути, благодаря влияниям которых осуществляется координированный рефлекторный акт эвакуации мочи. Наконец, последний контур, начинаясь от проприорецепторов мышц тазового дна, прослеживается до таламуса, оттуда к коре, от нее по пирамидальному пути сигналы следуют к мышцам тазового дна. Осуществляется контроль сегментарной иннервации поперечнополосатой периуретральной мускулатуры. При нарушении этого пути возникает стойкое расслабление наружного сфинктера уретры. Нами доказано, что рефлекторные дуги, связывающие детрузор с мочеточниками и уретрой (некоторые рефлексы Баррингтона), частично замыкаются в периферическом контуре, на уровне пузырного сплетения. При децентрализации мочевого пузыря сначала изрядно «протекает». Через несколько дней после операции животных депонирующая и эвакуаторная функции пузыря отчасти восстанавливаются, как мы полагаем, за счет рефлекторной деятельности пузырного сплетения. Возможно, механизм этого явления связан с повышением чувствительности децентрализованных (денервированных) структур. Представляется, что нарушение функций мочевого пузыря при ряде заболеваний определяется дискоординацией его вегето-соматической регуляции.

163. Пуцин И.И., Бардеева А.С., Каретин Ю.А.

Институт биологии моря ДВО РАН, г. Владивосток, Россия. E-mail: pushchin@imb.dvo.ru

#### СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И КЛАССИФИКАЦИЯ ГАНГЛИОНАРНЫХ КЛЕТОК СЕТЧАТКИ САЛАМАНДРЫ NOTOPHTHALMUS VIRIDESCENS (AMPHIBIA: URODELA: SALAMANDRIDAE)

Проведен комплексный анализ строения и топографии ганглионарных клеток сетчатки (ГКС) саламандры *Notophthalmus viridescens*. Клетки визуализировали методом витального ретроградного мечения биотинилированными декстран-аминами из зрительного нерва, наблюдали и изучали на тотальных препаратах сетчатки. Оценивали ряд параметров, характеризующих размеры тел и дендритных полей (ДП) клеток, а также общую протяженность и развитость дендритных ветвлений, в том числе общую длину дендритов, площадь ДП, периметр ДП, число точек ветвления дендритов, число дендритов первого порядка, коэффициент изрезанности клеточной границы, площадь и периметр тела клетки и (4 способами) фрактальную размерность дендритных ветвлений. Клетки обнаружили достаточно высокую вариативность по большинству исследованных параметров, что отразилось на величине соответствующих индексов мультимодальности, приближающихся к 0,5 или превосходящих эту величину. Типизация клеток была выполнена методом кластерного анализа в модификации Варда. По результатам кластеризации было выделено 6 клеточных типов. Клетки, отнесенные к разным типам, значительно различались как по переменным кластеризации, так и по переменным, полученным в результате факторного преобразования матрицы переменных кластеризации (ортогональное выделение факторов с varimax-вращением). Различия касались в первую очередь размеров ДП и общей протяженности дендритов; мелкие клетки, отнесенные к разным типам, отличались по сложности дендритной организации и площади тела. Настоящая система типов ГКС нотофтальмуса хорошо соответствует таковой, предложенной для других хвостатых и, в меньшей степени, бесхвостых земноводных; типы крупных ГКС, выделенные у нотофтальмуса, по строению и стратификации весьма сходны с таковыми, описанными у прочих амфибий и костистых рыб, что свидетельствует в пользу выдвинутой ранее Куком с соавторами гипотезы о симплезиоморфии и потенциальной гомологии крупных ГКС низших позвоночных [Cook et al., 1999]. Принимая во внимание известные корреляции между типом ответа ГКС и уровнем стратификации дендритов в толще сетчатки, а также между размерами ДП и центра рецептивного поля ГКС [Famiglietti, Kolb, 1976; Cook, McReynolds, 1998], морфологическим типам ГКС нотофтальмуса можно поставить в соответствие физиологические типы этих клеток, известные по результатам микроэлектродных отведений из зрительного нерва и зрительного тектума [Dowling, Werblin, 1969; Werblin, Dowling, 1976; Grusser-Cornehls, Himstedt, 1973; Марголис, Мантейфель, 1978]: ГКС нотофтальмуса первого типа — детекторы затемнения, характеризующиеся постоянной импульсной активностью в темноте, тормозящейся при увеличении уровня освещенности; ГКС второго типа — детекторы изменяющегося контраста, реагирующие на диффузное освещение поля как on-off элементы; ГКС третьего типа — детекторы движущегося контраста, некоторые из которых обладают дирекциональной чувствительностью; ГКС четвертого—шестого типов — элементы on-off-типа с небольшими (6–9°) рецептивными полями, реагирующие лучше всего на движение небольших темных стимулов.

164. Пуйаль Ж., Рэймон Ж.

Puyal J.<sup>1</sup>, Raymond J.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>IBCM, University of Lausanne, Switzerland; <sup>2</sup>Universite Montpellier 2, F-34095 Montpellier Cedex 09, France, E-mail: jraymond@univ-montp2.fr

#### GLUTAMATERGIC NEUROTRANSMISSION, PLASTICITY AND POSTNATAL DEVELOPMENT OF THE RAT VESTIBULAR NUCLEI. FUNCTIONAL NEUROMORPHOLOGY

The vestibular nuclei (VN) receive and integrate various inputs involved in postural and oculomotor reflexes. In the VN, the main excitatory neurotransmitter is glutamate which can act either through ionotropic (iGluR) or metabotropic (mGluR) receptors. The VN differentiate very early in the development of the brainstem and the different neuronal types are present in the nuclei at birth. However, these neurons and their connections are not mature and undergo changes and reorganization of their synaptic contacts during postnatal stages. The successive patterns of parvalbumin and calbindin in the VN permitted to map the postnatal development and synaptic reorganization of vestibular and cerebellar projections [Puyal J. et al., 2002]. We hypothesized that the synaptic remodeling that occurs during the maturation of the VN and afferents may affect changes of the expression and distribution of various aspects of the glutamatergic synapses: iGluR, mGluR and D-serine which is now considered as a gliotransmitter and an endogenous co-agonist of the NMDA receptor. To study the plasticity of the glutamatergic neurotransmission during VN postnatal rat development, we performed different studies, using RT-PCR, nonradioactive in situ hybridization, immunocytochemical observations by confocal and electron microscopy and semi-quantitative immunoblotting with specific antibodies. We also analyzed how the time course of changes relates to the functional maturation of vestibular neuron activity. 1. Significant variations of iGluR sub-units expressions were demonstrated. The progressive acquisition by NMDA receptors of a functional complex pattern combining NR2A, 2B and 2C subunits lead to a reduction of their sensitivity [Sans et al., 2000]. 2. Changes in long term synaptic efficiency demonstrated that, first a LTD then a LTP [Puyal J. et al., 2003] underline, the progressive maturation of expression and distribution of receptors facilitating synaptic responses (mGluR1 and NMDA receptors) and the diminution of inhibitory receptors (mGluR5). 3. Changes of the expression and distribution of D-serine in glial cells support their involvement in the glutamatergic maturation of the brainstem vestibular networks. The cellular and molecular aspects of the developmental plasticity in the VN provide a more general analysis on new aspects of the basic properties of glutamatergic synapse maturation.

165. Раденович Л., Селакович, Стан М., Баич А., Андьюс П.  
Radenovic L.<sup>1</sup>, Selakovic V.<sup>2</sup>, Stan M.<sup>1</sup>, Bajic A.<sup>1</sup>, Andjus P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology and Biochemistry, Faculty of Biology, University of Belgrade. E-mail: lira@ibiss.bg.ac.yu; <sup>2</sup>Institute for Medical Research, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia and Montenegro

#### NEUROPROTECTION BY MK-801 FOLLOWING CEREBRAL ISCHEMIA IN MONGOLIAN GERBILS

Global cerebral ischemia in Mongolian gerbils is an established model in experimental research on cerebral ischemia which is characterized morphologically by a selective neuronal damage in the hippocampus, striatum and cortex. Elevated glutamate levels are thought to be a primary cause of neuronal death after global cerebral ischemia. The purpose of this study was to investigate the potential neuroprotective effects of dizocilpine malate (MK-801), a non-competitive glutamate antagonist, in the model of 10 min gerbil brain ischemia. Gerbils were given MK-801 (3 mg/kg i. p.) or saline immediately after the occlusion prior to testing. On day 4 after reperfusion, neuronal damage was examined in the hippocampus (30 µm) and striatum slices (5 µm) stained with haematoxylin—eosin, fluorescent Nissl staining and membrane tracer DiI. We analyzed striatum and C1

and C3 regions of hippocampus by confocal microscopy. Neuroprotection is determined by quantifying the degree of cell loss, reduction of morphologically damaged cells and the degree of preservation of recognizable neuroanatomical pathways after the ischemic insult. Our previous results demonstrated that the neuronal damage induced by sustained ischemia is related to abnormalities in glutamatergic function associated with NMDA receptors. We explore this idea with different parameters of behavioral measurements of locomotor activity and different duration of ischemia. By incorporating functional measures and longer postischemic period into our experimental protocol we hoped to increase the reliability of our model system. Finally, we demonstrated the connection between these results and striatal and hippocampal histological results. All of this may contribute to better understanding of this pathophysiological process causing ischemic neuronal damage.

166. Ржеутская Р.Е.

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь. E-mail: rgeutskaja@tut.by

#### ВЛИЯНИЕ РЕАМБЕРИНА НА СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ БОЛЬНЫХ С ТЯЖЕЛОЙ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

Проблема тяжелой внебольничной пневмонии (ВП) в настоящее время является весьма актуальной. Гипоксия и интоксикация, сопровождающие тяжелое течение ВП, взаимосвязаны и взаимообусловлены (эффект взаимного потенцирования или отягощения) и являются основными факторами танатогенеза. Это определяет необходимость поиска новых методик лечения с применением антиоксидантов, антигипоксантов. Целью данного исследования явилось изучение влияния препарата Реамберин (Р) (инфузионный препарат на основе 2% раствора соли янтарной кислоты с М-метил-глюкаминном с добавлением сбалансированного набора микроэлементов — калия, натрия и магния) на активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояние антиоксидантной системы (АОС). Для исследования отобраны 24 больных с пневмонией III—V класса по шкале Fine в возрасте от 19 до 78 лет (17 мужчин, 7 женщин), находившихся на лечении в отделении интенсивной терапии и реанимации (ОИТР) 6-й клинической больницы г. Минска. В 1-й группе (12 человек, 8 мужчин, 4 женщины, в возрасте от 19 до 78 лет, с тяжестью состояния по шкале Fine: III класса — 5 человек, IV класса — 4 человека, V класса — 3) в комплексе лечения Р не применяли. Во 2-й группе (12 человек, 9 мужчин, 3 женщины, в возрасте от 26 до 71 лет, с тяжестью состояния III класса — 6, IV — 3, V — 3) Р вводили внутривенно, капельно (90 капель в минуту) в виде 1,5% раствора по 400 мл, 1 раз в сутки, в течение 5–7 сут. Пробы крови для исследования брали на 1-е (I этап), 3-и (II этап), 5–7-е (III этап), 14-е сутки лечения. Полученные данные сравнивали с аналогичными, контрольными, полученными у 12 здоровых доноров. Активность процессов ПОЛ анализировали по концентрации в плазме малонового диальдегида (МДА), определявшейся с помощью тиобарбитуровой кислоты; состояние АОС — по активности супероксиддисмутазы (СОД), установленной непрямой спектрофотометрическим методом. Средний койко-день пребывания в стационаре у больных 1-й группы составил 24±8 (2-я группа — 24±9), продолжительность пребывания в ОИТР больных 1-й группы была 9±9 (2-я группа — 8±8). В 1-й группе респираторная поддержка потребовалась у двух больных, во 2-й — у трех. В 1-й группе на 1-е сутки уровень МДА был значимо выше нормы (3,5±0,4 мкмоль/л, P<0,05 при норме 3,0±0,3 мкмоль/л) и сохранялся высоким на протяжении всех периодов. Во 2-й группе данный показатель был значимо ниже, чем в 1-й группе во все периоды, и незначительно отличался от нормальных значений. Уровень СОД был значимо ниже в 1-й группе, чем во 2-й, и увеличивался только к 7-м суткам, за-

тем снижался к 14-м. Применение Р приводило к уменьшению концентрации МДА и возрастанию активности СОД во 2-й группе. Полученные результаты дают основание рекомендовать включение Р в комплекс интенсивной терапии больных с тяжелой ВП.

167. Романова Т.П., Богомолова Н.В., Воробьева Г.П., Уварова И.А.

Саратовский государственный медицинский университет, Россия

#### ИЗМЕНЕНИЕ СООТНОШЕНИЯ В СИСТЕМЕ НЕЙРОН—ГЛИЯ—КАПИЛЛЯР БОЛЬШОГО МОЗГА ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС ПРИ СТРЕССЕ

Цель настоящей работы — изучить характер ответной реакции нейронов, перинеурональных глиоцитов и капиллярного русла коры большого мозга гипертензивных крыс при воздействии стрессорных факторов. Исследования проведены на 50 половозрелых крысах-самцах массой 220–250 г нормотензивной линии WKY и гипертензивной линии SHR-SP. Комбинированный стресс моделировали путем воздействия на иммобилизованных крыс прерывистого акустического раздражителя (100 дБ) по методике, разработанной Т.П.Романовой (1989). Уровень артериального давления измеряли до и после эксперимента с помощью электросфигмоманометра Natsume KN-209 (Япония). Животных декапитировали через 1 ч после завершения опыта. Морфологический и морфометрический анализ проводили на серийных срезах головного мозга, окрашенных гематоксилином—эозином, по Нисслю, железным гематоксилином. Предварительный анализ состояния изучаемых показателей в коре большого мозга интактных животных обеих линий показал, что артериальная гипертензия у SHR-SP сопровождается уменьшением на треть плотности капиллярного русла ( $P < 0,001$ ), снижением на 42% ( $P < 0,001$ ) количества нейронов и увеличением на 24% числа глиоцитов ( $P < 0,02$ ). Под воздействием стрессорных факторов уровень артериального давления у гипертензивных крыс повысился с  $201 \pm 4$  до  $242 \pm 12$  мм ртутного столба ( $P < 0,001$ ). При этом в головном мозгу выявлено резкое полнокровие во всех звеньях микроциркуляторного русла, развитие периваскулярного отека, нарушение проницаемости стенки микрососудов. Количество функционирующих капилляров, переполненных кровью с признаками стаза и сладжирования эритроцитов, увеличивалось с  $8,3 \pm 0,4$  до  $12,9 \pm 0,8$  ( $P < 0,02$ ). Значимых изменений плотности расположения нейронов не обнаружено, однако размеры большинства нейронов уменьшились, при окраске по Нисслю выявлялся гиперхроматоз, вакуолизация цитоплазмы, среди них появились клетки-тени, отмечался перичеселлюлярный отек. Дистрофические повреждения нейронов сопровождались увеличением числа перинеурональных глиоцитов (на 22%,  $P < 0,02$ ). В коре большого мозга после стрессорного воздействия обнаружены многочисленные мелкоочаговые кровоизлияния, в подкорковых узлах — более крупные. Проведенные исследования показали, что, артериальная гипертензия у интактных SHR-SP сопровождается изменением соотношения нейронов и глиоцитов коры большого мозга при уменьшении количества функционирующих капилляров. Действие комбинированного стресса на фоне артериальной гипертензии приводит к нарушению кровообращения, к развитию дистрофических изменений нейронов, увеличению глиально-нейронального индекса. Усугубляющими факторами, приводящими к нарушению доставки кислорода и других необходимых веществ нейронам в период напряжения, могли быть застойные процессы в микроциркуляторном русле головного мозга, следствием которых явилось развитие множественных полиморфных геморрагических очагов.

168. Руденок В.В.

Государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь. E-mail: roudenok@bsmu.by

#### ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ НЕЙРОПЕПТИДОВ СИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ ЧЕЛОВЕКА

Изучение экспрессии нейропептидов в вегетативной нервной системе привлекает в последние годы все большее внимание. Наряду с классическими нейротрансмиттерами нейропептиды участвуют в проведении нервного импульса в синапсе и опосредуют различные физиологические эффекты со стороны органов-мишеней. Однако работ, касающихся возрастной динамики экспрессии нейропептидов, в мировой и отечественной литературе немного, и практически отсутствуют данные по выявлению этих субстанций в симпатических ганглиях в онтогенезе человека. Целью настоящей работы явилось изучение экспрессии кальцитонин-ген-родственного пептида (CGRP) и вазоактивного интестинального пептида (VIP) методом непрямой иммуногистохимии, в шейных, грудных, поясничных симпатических узлах, полученных при аутопсии недоношенных и доношенных новорожденных, детей и взрослых различных возрастных групп. Результаты исследований показали, что в постнатальном онтогенезе человека имеют место различия в экспрессии нейропептидов в развивающихся и зрелых нейронах паравертебральных ганглиев. Эти изменения свидетельствуют о функциональной лабильности и меняющихся свойствах CGRP и VIP в различные периоды онтогенеза человека — от индукторов роста и дифференцировки в неонатальном периоде развития до транзитерной и модуляторной роли у взрослых. Совокупность полученных данных открывает качественно новый уровень в понимании механизмов дифференцировки нервных клеток и нейротрансмиттерной пластичности эфферентного звена симпатической части вегетативной нервной системы.

169. Рыбаков А.Г., Иванов Н.М.

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия

#### СОСТОЯНИЕ АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ И ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ ИННЕРВАЦИИ ЖЕЛУДКА ПРИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ

Состояние адренергической и холинергической иннервации желудка при язвенной болезни было изучено гистохимическими методами. Объектом исследования служил желудок, резецированный у пациентов, страдавших гастродуоденальными язвами (44 случая). Установлено, что у большинства пациентов с язвенной болезнью желудка длительностью до 5 лет отмечается относительная сохранность адренергических нервных элементов. В стенке желудка обнаруживались сплетения, умеренно флюоресцирующие изумрудно-зеленым светом. Волокна и терминалы имели хорошо выраженные варикозные утолщения. По мере увеличения длительности заболевания от 6 до 10 лет интенсивность флюоресценции нервных элементов снижалась. В подслизистой основе и мышечной оболочке желудка встречались немногочисленные периваскулярные сплетения и волокна. У пациентов с язвенным анамнезом свыше 10 лет установлено резкое нарушение адренергической иннервации. В подслизистой основе и мышечной оболочке наблюдались отдельные волокна и терминалы с плохо выраженными варикозными утолщениями и слабой флюоресценцией. При гистохимическом исследовании холинергической иннервации у большинства пациентов с язвенной болезнью желудка длительностью до 5 лет установлена низкая активность ацетилхолинэстеразы нервных элементов. Нейроны интрамуральных ганглиев окрашивались неравномерно и имели размытые контуры. На месте отдельных узлов обнаруживались скопления зерен желтовато-коричневого цвета. При язвенной болезни продолжительностью от 6 до 10 лет и больше также установлена низкая активность ацетилхолин-

эстеразы нейронов и волокон подслизистого и мышечно-кишечного нервных сплетений. Нейроны окрашивались в желтый цвет, нервные пучки имели размытые контуры и давали слабо положительную гистохимическую реакцию. В составе нервных пучков встречались фрагментированные волокна. При гистохимическом исследовании адренергической иннервации у большинства пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки длительностью до 5 лет наблюдались нейромедиаторные нарушения. В подслизистой основе и мышечной оболочке обнаруживались отдельные слабо флюоресцирующие волокна и терминали. Их варикозные утолщения были плохо выражены, а в межварикозных промежутках не всегда выявлялись катехоламины. При дуоденальных язвах продолжительностью от 6 до 10 лет нейромедиаторные расстройства прогрессировали. Во всех оболочках стенки органа наблюдалось снижение плотности адренергических структур и интенсивности их свечения. Волокна и терминали имели нечеткие размытые контуры и подвергались распаду. У пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки свыше 10 лет отмечалось резкое снижение запасов катехоламинов в адренергических структурах желудка. В подслизистой основе и мышечной оболочке встречались единичные волокна и терминали, которые обладали едва заметной флюоресценцией. Изучение холинэргической иннервации при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки длительностью до 5 лет показало высокую и умеренную активность ацетилхолинэстеразы нервных элементов. Ганглии интрамуральных сплетений состояли из нейронов, окрашенных в темно-коричневый или черный цвет. Волокна нервных пучков также давали резко и умеренно положительную гистохимическую реакцию и имели черную или коричневую окраску. У большинства больных с язвенным анамнезом от 6 до 10 лет установлена умеренная активность ацетилхолинэстеразы нейронов интрамуральных ганглиев и волокон подслизистого и мышечно-кишечного сплетений. При язвенной болезни двенадцатиперстной кишки свыше 10 лет выявлена низкая активность ацетилхолинэстеразы нервных элементов желудка. Нейроны интрамуральных ганглиев и пучки волокон давали слабо положительную гистохимическую реакцию, имели размытые контуры и желтую окраску.

170. Рыбакова Г.И., Сотников О.С.

Институт физиологии им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: o.s.sotnikov@mail.ru

#### СИНЦИТИАЛЬНАЯ СВЯЗЬ НЕЙРИТОВ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ

Для того чтобы выявить принципиальную возможность формирования синцития в нервной ткани, удобнее всего исследовать живые нейроны в культуре ткани. Нейроны окологлоточного кольца моллюска *Lymnaea stagnalis* выделяли ферментативным путем и помещали в питательную среду Игла с определенным химическим составом. Наблюдение за поведением нейронов осуществляли путем цифровой видеосъемки. С помощью этой методики продемонстрированы различные особенности сократительной функции нейритов. При этом впервые была обнаружена способность к слиянию мембран и цитоплазмы нейритов между собой. Было показано, как в краткосрочной культуре происходит постепенное слияние двух ветвей одного нейрита в единую структуру. В дальнейшем слившиеся отростки сокращаются как единый отросток. Такой же процесс слияния наблюдается и при соприкосновении отростка с телом нейрона. В дальнейшем происходит исчезновение границы между ними и полное вливание отростка. При образовании петли у изолированного безглияльного волокна и контакте двух его участков между собой отмечается их синцитиальная связь с образованием крупного цитоплазматического расширения, что легко прослеживается в световом фазово-контрастном микроскопе благодаря воз-

можности наблюдать динамику процесса. Прямым доказательством цитоплазматического слияния нейритов в культуре ткани является перемещение цитоплазматических везикул по контактирующим отросткам разных нейронов, что показано нами впервые. Кроме того, оказалось, что установление контакта между отростками соседних нейронов обеспечивает оба отростка трофическим влиянием каждой из клеток, т. е. они имеют синцитиальную связь. Поэтому при дегенерации тела одного из нейронов его отростки, контактирующие с нейритами другого нейрона, не испытывают валлеровской дегенерации. По нашему мнению, это первое экспериментальное доказательство возможности в результате образования синцития избежать валлеровской дегенерации нейрита при его изоляции от тела клетки. Обсуждая полученные данные, следует уточнить, не являются ли полученные результаты чисто культуральным феноменом. Изолированные нейроны для культуры обычно выделяются с использованием протеолитических ферментов, а в литературе имеются указания на то, что такая обработка способствует слиянию клеток. Электронная микроскопия нейритов моллюска, обработанных нами проназой, выявила их массовое контактирование со слиянием мембран и образованием плотных контактов, которые, как известно, всегда предшествуют слиянию клеток. Поэтому обработка протеазами вполне может способствовать слиянию нервных отростков непосредственно после их обработки проназой. По нашему мнению, есть фактор, который также, несомненно, влияет на процесс слияния нейронов — это отсутствие глиальных оболочек у нейритов. Отросток клетки-сателлита *in situ* у взрослых животных почти всегда разделяет тела нейронов и нервные отростки. В этом отличие нейронов от других клеток, и это, как мы полагаем, является причиной почти полного отсутствия синцитиальной связи нейронов у взрослых. Однако в эмбриогенезе и в раннем постнатальном онтогенезе большинство проводников составляют безглияльные нервные волокна, что должно способствовать слиянию их мембран и возможному образованию синцития.

171. Рыжова И., Ноздрачев А., Демем Д., Рэймон Ж.

Ryzhova I.<sup>a</sup>, Nozdrachev A.<sup>a</sup>, Dememes D.<sup>b</sup>, Raymond J.<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Pavlov Institute of Physiology, RAS, St. Petersburg, Russia. E-mail: Ryzhova@infran.ru; <sup>b</sup>INM.INSERM U583, Hospital Saint Eloi, Montpellier, France. E-mail: dememes@univ-montp2.fr; <sup>c</sup>CNRS, Universite Montpellier2, France. E-mail: jraymond@univ-montp2.fr

#### IMMUNOCYTOCHEMICAL DETECTION OF METABOTROPIC GLUTAMATE RECEPTORS IN THE FROG VESTIBULAR PERIPHERAL ORGANS

Vestibular system plays an important role in maintaining balance, posture, and muscular tone, in movement co-ordination in all species. The peripheral part of the vestibular system includes the semicircular canals and the otolithic organs innervated by the fibres of the vestibular ganglion neurons. Receptors of the vestibular system belong to secondary sensing one: sensory cells contact with the afferent nerve fibres via synapses. Numerous data indicate that glutamate is the main neurotransmitter in the afferent synapse of the vestibular sensory epithelium. It is now accepted that the effect of glutamate is mediated by both ionotropic (iGluRs) and metabotropic (mGluRs) glutamate receptors localized in pre- and postsynaptic membranes. It is crosstalk between iGluRs and mGluRs that ensures the synaptic plasticity in the excitatory amino-acid synapses. Data on the presence of mGluRs in the synapses of the vestibular epithelium are meagre. Group I mGluRs was revealed in vestibular sensory cells [Guth et. al., 1998; Hendricson and Guth, 2002], suggesting the modulation of transmitter release on presynaptic membrane of sensory cells. In this study we examine whether the mGluRs are localized in postsynaptic membrane. We have studied the expression of mGluR1 and mGluR 2/3 in the vestibular ganglion cells with immunoperoxidase and immunofluorescence

methods using light and confocal microscopy. The specificity of antibodies for mGluRs was controlled by western blot analysis. Immunoblots of frog brain for mGluR1a antibody revealed a single band with molecular weight about 142 kDa and for mGluR 2/3 a single band about 100 kDa. These data are consistent with molecular weights of mGluRs from rat brain. Intense immunoperoxidase and immunofluorescence labeling for mGluR1a and mGluR 2/3 were revealed in all neuron somas of the vestibular ganglion. mGluR 2/3 immunoreactivity was also revealed in Schwann cells surrounding neurons at high magnification of confocal microscope. The data provide strong evidence that different subtypes of mGluRs are expressed in the frog vestibular ganglion suggesting the migration of the expressed proteins to postsynaptic membrane. Taking into consideration the fact that different subtypes of mGluRs are linked with different second messenger cascades, we can suggest that the synaptic transmission in the frog vestibular sensory epithelium can be modulated at postsynaptic level.

172. Самосудова Н.В.<sup>1</sup>, Реутов В.П.<sup>2</sup>, Ларионова Н.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем передачи информации РАН; <sup>2</sup>Институт нейрофизиологии и высшей нервной деятельности РАН, Москва, Россия

#### НЕЙРОНО-ГЛИАЛЬНЫЕ КОНТАКТЫ В МОЛЕКУЛЯРНОМ СЛОЕ МОЗЖЕЧКА ПРИ СТИМУЛЯЦИИ ПАРАЛЛЕЛЬНЫХ ВОЛОКОН В ПРИСУТСТВИИ ОКСИДА АЗОТА (МОДЕЛЬ ИНСУЛЬТА)

Ранее нами были изучены ультраструктурные изменения в молекулярном слое мозжечка (МЖ) при повышенной концентрации нейромедиаторов: глутамата и оксида азота (NO). Известно, что глутамат в больших концентрациях вызывает повреждение нейронов и играет существенную роль в ряде заболеваний (инсульт, травмы мозга, эпилепсия и др.). NO, являясь свободным радикалом и синтезируясь на одном из этапов разрушительного глутаматного каскада, также может сильно повреждать нервную ткань, в частности, специфично действует на клеточные и внутриклеточные мембраны, вызывая их распад. В процессе работы был установлен важный факт, касающийся проявления защитной реакции со стороны глиоцитов по отношению к нейронам [Самосудова Н.В. и др., 2005], а именно, в условиях глубокого повреждения отростки глиоцитов (ОГ) видоизменяются, межклеточные щели суживаются, между ограничивающими их мембранами появляются мостики, состоящие из адгезивных белков (септальные контакты). Такие отростки образуют спиралевидные структуры вокруг синапсов. В настоящей работе при глубоком повреждении молекулярного слоя МЖ лягушки наблюдали значительное разрушение терминалей аксонов клеток-зерен и некоторых ОГ. Однако, наряду с разбухшими ОГ, потерявшими все цитоплазматические элементы, встречались нормальные ОГ, в которых присутствовала цитоплазма и большое количество зерен гликогена. Именно такие жизнеспособные ОГ, по-видимому, образуют защитные «обкрутки» вокруг синапсов и бутонов. Кроме того, мы наблюдали тесное взаимодействие между выходящими из бутонов через разрыв мембраны синаптическими пузырьками, их содержимым (глутаматом) и ОГ с зернами гликогена. Глутамат присутствовал на месте разрыва мембраны бутона в виде электронно-плотного материала. Наблюдаемая картина соответствует современным представлениям о существовании тесного взаимодействия нейрона и глиоцита как интегральной единицы [Fellin T. и Carmignoto G., 2004]. Глутамат, попавший в глиоцит в условиях ишемии, может быть использован либо в других еще неповрежденных нейронах, либо его избыток переводится в глутамин для предотвращения дальнейшей нейротоксичности. Наличие зерен гликогена в ОГ в условиях отсутствия кислорода и глюкозы может служить источником как глюкозы, так и, в конечном счете, АТФ для выживания нейронов и сохранения функции синапсов.

173. Сатанова Ф.С.

Научно-исследовательский институт мозга РАН, Москва, Россия. E-mail: sflora@yandex.ru

#### ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО КОНЦЕНТРАТА В СПИННОЙ МОЗГ КРЫС

Целью настоящего исследования явилось иммуногистохимическое изучение апоптоза при экспериментальной травме спинного мозга крыс, а также определение возможного влияния денатурированного желткового концентрата (ДЖК) на его строение. В эксперименте были использованы 18 беспородных крыс (самок) массой 250–300 г. Наркоз проводили внутривентральным введением этилового эфира. После ламинэктомии извлекали блок спинного мозга на протяжении 3–4 мм (на уровне T<sub>IX</sub>–T<sub>X</sub> позвонков). В подопытной группе дефект спинного мозга заполняли ДЖК. В контрольной группе крыс трансплантацию вещества желтка не применяли, а дефект мозга пассивно заполняли кровью. Иммуногистохимические исследования проводили через 4 ч, 3, 14, 40 сут и 3 мес после травмы. Исследование выявило хронологическую зависимость гибели клеток спинного мозга после острой экспериментальной травмы. В веществе спинного мозга неоперированной крысы (негативный контроль) клетки в состоянии апоптоза выявлены не были. В контрольной группе число клеток в состоянии апоптоза увеличивалось к 3-м суткам, далее снижалось и достигало максимальных значений к 40-м суткам после травмы с постепенным уменьшением к концу исследования. В подопытной группе животных с желтковым трансплантатом проявилась сходная динамика процесса. Тем не менее имелось различие в количестве апоптотических клеток между этими группами животных: в группе с желтковым трансплантатом среднее число клеток в состоянии апоптоза было значительно меньше. Апоптоз был верифицирован только в глиоцитах, тогда как признаков апоптоза в нейронах обнаружено не было. Одной из причин этого может быть специфический характер травмы в настоящем эксперименте: при пересечении мозга из области травмы ткань удаляли; кроме того, отсутствовал ишемический компонент, который неизменно присутствует при закрытой туловой травме спинного мозга. Важным является оценка глубины распространения апоптоза от места травмы на протяжении ткани мозга. Литературные данные по этому вопросу значительно различаются. S.Wada и G.L.Li выявляют апоптоз на протяжении нескольких сегментов от места травмы, в то время как X.Z.Liu отмечает его лишь в зоне нескольких миллиметров от первичного повреждения. Часто такая разница связана с условиями эксперимента и протяженности исследования ткани мозга. В целом можно сказать, что при достаточно большом количестве полей исследования, апоптоз выявляется на значительном удалении от первичного места травмы, что было доказано настоящим исследованием.

174. Сафонова Г.Д., Коваленко А.П., Хомичева Е.А.

Российский научный центр «Восстановительная ортопедия и травматология» им. акад. Г.А. Илизарова, г. Курган, Россия. E-mail: gip@rncvto.kurgan.ru

#### ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПИННОМОЗГОВЫХ ГАНГЛИЕВ СОБАК

Спинномозговые ганглии беспородных собак как объект исследования при дистракционном остеосинтезе представляют интерес в связи с тем, что в их состав входят чувствительные нейроны, получающие информацию о состоянии удлиняемого сегмента конечности. Представленные в литературе сведения о ганглиях собак большей частью касаются анатомических особенностей. Целью настоящей работы являлось комплексное изучение морфометрических характеристик нейроцитов спинномозговых ганглиев, участвующих в иннервации голени. Исследовали спинномозговые ганг-

лии  $L_{VII}$  10 взрослых беспородных собак в возрасте 1–3 лет массой тела от 15 до 30 кг. Материал фиксировали в смеси Бродского, изготавливали продольные серийные парафиновые срезы толщиной 5 мкм. На препаратах, окрашенных по Нисслию, подсчитывали количество нейроцитов в срезах средней части ганглия. С использованием АПК МОР-Videoplan (Opton, Германия) на препаратах, окрашенных по Эйнарсону, изучали размерные характеристики перикарионов всех нейроцитов, имеющих в плоскости среза ядрышко, с вычислением диаметра эквивалентного круга, площадь которого равна площади сечения перикариона. В программе ВидеоТест — Мастер Морфология 4.0 (Россия) определяли коэффициент удлиненности как отношение максимального диаметра к минимальному. Построение гистограмм распределения диаметра перикариона нейроцитов, вычисление относительного содержания малых, средних и крупных нейроцитов, а также статистическую обработку материала осуществляли в программе Microsoft Excel. Исследованные спинномозговые ганглии  $L_{VII}$  располагались на уровне межпозвоночных отверстий, имели форму эллипса. Средние размеры: продольный —  $6,15 \pm 0,18$  мм, поперечный —  $2,70 \pm 0,06$  мм. Проведенные нами ранее на нефиксированном материале исследования морфометрических характеристик спинного мозга и прилежащих нервных структур, в том числе спинномозговых ганглиев, показали, что размеры указанных анатомических объектов не зависят от пола и массы тела беспородных собак [Сафонова Г.Д., Коваленко А.П. и Еманов А.А., 2003]. Также ранее было установлено, что в центральной части данных ганглиев собак располагается от 600 до 650 нейроцитов различных размеров, имеющих ядро в плоскости продольного среза [Сафонова Г.Д. и Калякина В.И., 1988]. Как показало настоящее исследование, количество нейроцитов, имеющих в плоскости среза ядрышко, составляет от 70 до 100. Коэффициент удлиненности тел нейроцитов различных размеров варьирует от 1,3 до 1,7. Согласно результатам построения гистограмм распределения размеров перикариона, можно выделить три группы нейроцитов: малые с диаметром до 45 мкм (62,8%), средние — 45–60 мкм (12,4%) и крупные — более 60 мкм (24,8%). Диаметр большинства малых нейроцитов находится в диапазоне 25–40 мкм, что составляет 50,8% от общего количества тел измеренных клеток, при этом встречается небольшое количество клеток меньшего размера — 5,2%. Максимальное количество вариантов крупных нейроцитов — 17,6% находится в диапазоне 65–80 мкм, клетки большего диаметра — до 100 мкм составляют 3,6%, наблюдаются единичные клетки с диаметром свыше 100 мкм. Диаметр нейроцитов среднего размера располагается на гистограмме распределения в указанном выше диапазоне равномерно.

175. Сашков В.А.

Институт возрастной физиологии РАО, Москва, Россия.  
E-mail: sashkov@mail.ru

#### **ВЛИЯНИЕ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА НА ДИНАМИКУ КАТЕХОЛАМИНОВ В ЛИМБИЧЕСКИХ СТРУКТУРАХ МОЗГА В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ И УГАСАНИЯ УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА У КРЫС**

Для выяснения нейрохимического и функционального значения различных отделов мозга в процессе образования временных связей и хранения энграмм памяти при нарушении кальциевого гомеостаза были проведены эксперименты по изучению влияния гиперпаратиреоза на содержание катехоламинов в лимбических структурах мозга в ходе формирования и угасания условного рефлекса. В опытах использовали интактных крыс и животных, которым были трансплантированы три пары дополнительных околощитовидных желез от крыс-доноров (в каждой группе по 15 животных). Условную реакцию активного избегания вырабатывали в Y-образном лабиринте в течение 7 сут, а на 8-е сутки тестировали сохранение данной реакции. За процессами пере-

обучения и произвольного угасания рефлекса наблюдали в течение последующих 5 сут с тестированием сохранения памятного следа через 24 ч. На ключевых этапах эксперимента извлекали лобные и лимбические отделы коры, гипоталамус и гиппокамп для определения в них содержания норадреналина и дофамина флюориметрическим методом. Результаты исследований показали, что содержание дофамина у крыс контрольной группы через 7 сут после обучения условной реакции активного избегания в гипоталамусе и в гиппокампе значительно повышается при его снижении в лимбической и лобной коре. Содержание норадреналина значительно повышается во всех изученных лимбических структурах мозга. В процессе переобучения концентрация катехоламинов снижается в гипоталамусе и в лимбической коре и значительно возрастает в гиппокампе. Изучение процессов произвольного угасания приобретенного ранее навыка указывает на снижение содержания дофамина в гипоталамусе, в лимбической и в лобной коре, однако его значения в гиппокампе стабилизируются на 5-е сутки тестируемого периода на уровне обученных животных. Содержание норадреналина в процессе произвольного угасания условного рефлекса в гипоталамусе и в гиппокампе снижается, но повышается в лимбической и лобной коре. В условиях гиперпаратиреоза при формировании условного рефлекса выявлено повышение содержания дофамина в гипоталамусе, в лимбической и лобной коре и его снижение в процессе переобучения и произвольного угасания приобретенного ранее навыка. Содержание дофамина в гиппокампе значительно повышается при обучении и переобучении условным рефлексом, однако снижается при произвольном угасании навыка. Содержание норадреналина в процессе выработки условного рефлекса в гипоталамусе значительно увеличивается по сравнению с исходными показателями и снижается при переобучении и угасании приобретенного ранее навыка. Формирование условной реакции активного избегания и последующая ее перестройка приводит к значимому увеличению содержания норадреналина в гиппокампе и в коре большого мозга, а произвольное угасание рефлекса сопровождается снижением содержания норадреналина в гиппокампе и в лобной коре при его повышении в лимбической коре. Полученные данные указывают на изменение катехоламинергического обеспечения функциональной системы условного рефлекса при нарушении кальциевого гомеостаза в организме, а также подтверждают представление о нейрохимической специализации макроструктур головного мозга, участвующих в организации адаптивного поведения, обучения и памяти.

176. Свешников А.В.

Научно-исследовательский институт мозга РАМН, Москва, Россия

#### **КОМПЬЮТЕРНАЯ ОБРАБОТКА И АНАЛИЗ ИЗОБРАЖЕНИЯ, ПОЛУЧЕННОГО ПРИ СВЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ**

Методы ручной морфометрии, до сих пор применяющиеся в морфологии, обладают рядом недостатков, основными из которых являются низкая точность и большая трудоемкость исследования. При этом погрешность составляет 10–15%. Основные погрешности определения морфологических структур связаны с определением геометрических параметров. Получение статистически достоверной информации методами ручной морфометрии делает исследование малоэффективным и придает некоторую субъективность. К явным недостаткам световой микроскопии можно отнести: качество оптики; качества изучаемого объекта (он всегда имеет определенную толщину, и все его части не могут одновременно находиться в фокусе); невозможность равномерного освещения всего поля зрения и т. д. Остается открытым вопрос об экстраполяции данных, полученных в двухмерной системе координат

нат, на трехмерную структуру изучаемого объекта. Пространственная трехмерная структура тканей остается практически неизученной, поэтому современные представления о строении тканей являются в основном плоскостными. Обработка изображения ставит перед собой две основных задачи: улучшение качества и анализ изображения. Неправильная или некорректная обработка приводит к накоплению ошибок и артефактов и существенно снижает достоверность полученной информации. Однако используемые морфологами так называемые автоматизированные морфометрические системы, по сути, таковыми не являются, поскольку требуют приложения ручного труда. Специализированное программное обеспечение зачастую не доступно исследователям из-за высокой стоимости. Применяемые аппаратные комплексы практически ничем не отличаются друг от друга и не имеют морфологической специфичности. Разработки программного обеспечения в этой области позволяют надеяться, что в ближайшее время будут созданы программные комплексы, отвечающие всем требованиям исследователей. Компьютерный анализ морфологических структур является новым перспективным методом исследования, который открывает совершенно новые возможности перед морфологами, позволяя получить максимум информации из изучаемого объекта, обработать большое количество данных, значительно повысить точность и производительность морфометрических исследований. Создание компьютерных баз данных оцифрованных изображений позволяет хранить информацию в удобном для обработки формате и облегчает доступ к данным для их дальнейшей обработки. Информация в электронном виде может сохраняться неограниченное время. Появление большого количества морфометрических программных комплексов позволяет остановить свой выбор на самых оптимальных для проводимого исследования.

177. Свинов М.М., Яблонская А.М., Косицын Н.С.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия. E-mail: svinov@ihna.ru

#### **ВКЛАД СТРУКТУРНОЙ РЕОРГАНИЗАЦИИ ДЕНДРИТОВ И АКСОДЕНДРИТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ I СЛОЯ КОРЫ БОЛЬШОГО МОЗГА В ПРОЦЕСС ОБЩЕЙ АКТИВАЦИИ МОЗГА**

Неспецифическая активация коры, осуществляемая за счет влияния подкорковых структур мозга, необходима для поддержания определенного уровня бодрствования и обеспечения процессов внимания, обучения и памяти, в связи с чем является актуальным изучение конкретных механизмов и структур, обеспечивающих это влияние на уровне коры полушарий большого мозга. Афферентные волокна из неспецифических подкорковых структур приходят к поверхностным слоям коры, в основном к I слою. В настоящей работе применяли общее и локальное дозированное гипоксическое воздействие, приводящее к структурным модификациям элементов I слоя коры полушарий большого мозга с целью изучения функциональных последствий таких перестроек. В условиях гипоксического воздействия были отмечены гетерохронно протекающие ультраструктурные перестройки в элементах плексиформного слоя коры, которые могут быть связаны с феноменом задержанного торможения. «Острая» фаза при действии гипоксического фактора (фаза потери сознания) характеризуется главным образом структурными изменениями синаптического аппарата, которые запускают последующие процессы в постсинаптических отделах нейрона. Фаза, следующая за «острой», наблюдается в течение нескольких часов после воздействия. Для нее характерно отсутствие отчетливых изменений в структуре митохондрий и синапсов. Не наблюдается изменений в структуре периваскулярной астроглии. Изменения касаются прежде всего дендритов, появляются варикозные рас-

ширения дистальных локусов дендритов в I (плексиформном) слое коры, которые отсутствуют в проксимальных участках дендритов. Изменения в дистальных частях дендритов характеризуют тормозное состояние коры, что выражается в отсутствии реакции активации в ЭЭГ на прямую стимуляцию коры, которая появляется при восстановлении структуры дендритов. В дальнейшем, спустя 1 сут после воздействия, могут наблюдаться изменения в периваскулярной глиии, выражающиеся в увеличении ее объема и накоплении огромного количества гликогена. Структурные перестройки в дистальных частях дендритов I слоя могут продолжаться в течение суток и более при интактном состоянии других нервных элементов коры. Таким образом, структурные модификации дистальных частей дендритов I слоя коры могут играть в этом процессе охранительную роль, ограничивая избыточный афферентный приток из центров неспецифической активации в кору полушарий большого мозга.

*Работа поддержана грантом РФФИ 04-04-49398-а.*

178. Сергутина А.В.

Научно-исследовательский институт мозга РАН, Москва, Россия. E-mail: es-gershtein@mtu-net.ru

#### **ДЕЙСТВИЕ ДЕЛЬТА-СОН-ИНДУЦИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА НА МОЗГ КРЫС ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ L-ДОФА (ЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

Крысы линии Вистар (устойчивые к стрессу) и Август (предрасположенные к стрессу) в норме различаются рядом цитохимических показателей активности ферментов в структурах мозга. Было показано, что крысы линии Август по сравнению с крысами линии Вистар обладают значимо более низкими показателями активности моноаминоксидазы (МАО) (субстрат серотонин) в хвостом ядре (базальные ганглии), а МАО (субстрат триптамин) и аминопептидазы (АМП) — в гиппокампе (поле СА3), роль которого в определении индивидуально-типологических характеристик рассматривается как одна из ведущих. Использовали крыс Вистар с максимальной (более 140 пересечений квадратов за 5 мин), а крыс Август с минимальной (менее 70 пересечений квадратов за 5 мин) горизонтальной двигательной активностью в «открытом поле». Хроническое введение L-ДОФА (2 нед, в дозе 50 мг/кг массы тела в сутки) у крыс Август вызвало дифференцированное возрастание активности МАО (субстраты триптамин и серотонин), глутаматдегидрогеназы (ГДГ) и АМП в гиппокампе, хвостом и прилежащем ядрах, и, наименее значительное, в сенсомоторной коре. У крыс Вистар влияние L-ДОФА ограничивалось возрастанием активности ГДГ в хвостом и прилежащем ядрах. Сравнение после введения L-ДОФА активности ферментов в исследованных образованиях у крыс Август и Вистар выявило значимое различие (более высокий уровень активности АМП у крыс Август) лишь в прилежащем ядре, которое рассматривают как промежуточное между лимбическими и двигательными структурами мозга. Ранее было показано, что в «открытом поле» крысы линии Август при введении L-ДОФА проявляют нехарактерную для него тормозную поведенческую реакцию. Формирующееся состояние нервной системы у этих крыс выражается в заторможенности внешних движений и длительной неподвижности в различных позах на периферии «открытого поля». Крысы Вистар, наоборот, в «открытом поле» демонстрируют снижение чувства страха, чаще, чем в норме, выходят в его центр, и увеличивают свою двигательную активность. По-видимому, результаты цитохимических исследований можно рассматривать как морфохимическое выявление проблемной зоны в системе структур мозга, ответственных за формирование и реализацию целенаправленного поведения при функциональных нарушениях (гиперфункция дофаминергической системы). Однократное введение дельта-сон-индуцирующего пептида — ДСИП (60 мкг/кг массы тела) на фоне хронического действия L-ДОФА у крыс Август вы-

зывало нормализацию активности АМП и ГДГ в структурах мозга, а на активность МАО влияло незначительно. У крыс Вистар ДСИП также незначительно влиял на измененную под действием L-ДОФА активность ГДГ, но вызывал дифференцированное увеличение активности МАО (триптамиин и серотонин) в исследованных структурах мозга. Сравнение активности ферментов в мозгу крыс Август и Вистар после введения ДСИП на фоне L-ДОФА показало, что у крыс Август уровень активности МАО (серотонин) ниже не только в хвостатом ядре (как в норме), но и в прилежащем ядре и даже в сенсомоторной коре, а в гиппокампе — ниже уровень активности МАО (триптамиин) и ГДГ, чем у крыс Вистар. По-видимому, ДСИП оказывает регулирующее действие на метаболизм структур мозга через серотонинергическую систему, однако его влияние на гиппокамп может иметь свою специфику.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 03-04-48350.*

179. Скибо Г.Г., Коваленко Т.Н., Осадченко И.А.

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН, г. Киев, Украина. E-mail: gskibo@biph.kiev.ua

#### СТРУКТУРНАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ ГИППОКАМПА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА

Острый ишемический инсульт занимает важное место среди патологии мозга в связи с чрезвычайно высоким уровнем смертности, инвалидизации и социальной дисадаптации больных, пораженных данным недугом. В конце прошлого столетия был открыт феномен так называемой отсроченной гибели нейронов, т. е. такого состояния, когда гибель нервных клеток наступает лишь спустя некоторое время после ишемического воздействия. На протяжении этого периода нейроны сохраняют способность к восстановлению своей функции, что можно достичь с помощью фармакологических препаратов. В связи с этим особый интерес представляют данные о морфофункциональном состоянии этих клеток в течение первых суток после ишемического воздействия. Поэтому целью нашего исследования стало изучение структуры нейронов и синаптического аппарата зоны СА1 гиппокампа, характеризующейся высокой чувствительностью к ишемическому воздействию. Ишемическое воздействие *in vivo* моделировали при 4-сосудистой (крысы) или 2-сосудистой (монгольские песчанки) двусторонней окклюзии сонных артерий в течение 12 и 7 мин, соответственно, и последующей реперфузии в течение 15 мин, 2 ч, 1, 3 или 6 сут. После этого производили прижизненную перфузию — фиксацию мозга, ткань гиппокампа закладывали в эпоксидные смолы согласно общепринятой методике. Исследование включало световую и электронную микроскопию, а также анализ изображений с применением методов компьютерной морфометрии. Светооптический анализ показал, что в используемой модели имела место отсроченная гибель нейронов, которая проявлялась увеличением количества поврежденных и погибших нейронов зоны СА1 гиппокампа, которое зависело от времени реперфузии. Повреждение нервных клеток проявлялось структурными признаками некротического, апоптотического или смешанного характера. Ультраструктурный анализ синаптического аппарата нейропилы выявил его высокую пластичность, которая проявлялась уже в первые 15 мин после ишемического воздействия и увеличивалась со временем реперфузии. Пластическая перестройка выражалась в изменениях соотношения различных форм синаптических контактов. Наблюдалось существенные изменения пространственного распределения синаптических пузырьков в пресинаптических терминалях, проявляющиеся нарушением структуры кластеров пузырьков и увеличением их расстояния до активной зоны синапса, изменялась также структура постсинаптического уплотнения. На основании полученных данных можно сделать следующие выводы: 1) использованная модель экспериментальной ишемии является адекватной для

изучения клеточных механизмов ишемического повреждения мозга и анализа фармакологической коррекции данного состояния; 2) пластические изменения в зоне СА1 гиппокампа наступают уже через 15 мин после ишемического воздействия, а структурные изменения синаптического аппарата возрастают с увеличением времени реперфузии, что, вероятно, может быть одной из причин отсроченной гибели нейронов.

180. Скляр О.П.

Научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: skljarov@admiral.ru

#### НЕЙРОННАЯ МОДЕЛЬ «ХРОНИЧЕСКОГО» ЗАИКАНИЯ

Заикание, как феномен, можно рассматривать с различных позиций — с позиций логопедии, психиатрии, а также с точки зрения функциональной нейроморфологии. В ходе многолетних экспериментальных исследований мы убедились в отличии ритмов нормальной речи и речи при заикании. Мы будем понимать под ритмом чередование длительностей «голосовых» и «неголосовых» сегментов в речи, или просто — чередование V и U сегментов (V/U-ритм). Изменения при заикании проявляются в отличиях соответствующих средних длительностей сегментов и их коэффициентов вариации. Экспериментально установленный критический переход от ритма речи с запинками к ритму нормальной речи позволил нам принять гипотезу Фейгенбаума о том, что сегменты ритма подчиняются квадратичному отображению с управляющим параметром. Многолетние исследования фонетики в онтогенезе, а также различных форм заикания показали, что нейрофизиологический смысл управляющего параметра — это «торможение», оказываемое в соответствующем звене иерархии нейронных структур, ответственных за ритм. Например, первичное усложнение ритма детской фонетики происходит под влиянием все возрастающего торможения идущего от стриатума на паллидум. Закон квадратичного отображения формирует геометрическое место точек устойчивых состояний — сегментов ритма (сценарий ритмов). Переходы между этими состояниями соответствуют регулярным ритмам детской лепетной речи и ритмам повторяющихся запинок ранней формы заикания, зачастую в форме судорог. Под влиянием все возрастающего тормозного влияния коры на подкорковые образования, ритм нормальной речи становится иррегулярным. Однако с возрастом, при дальнейшем росте торможения со стороны гипоталамо-гипофизарно-адреналового комплекса, появляющаяся запинка невротического характера в виде пауз молчания, perseverаций и т. д. Такая форма заикания, сопровождающаяся как запинками-повторами, так и невротическими запинками, носит название «хронического» заикания. Последнее является «камнем преткновения» для логопедов, так как для редукции запинок-повторов требуется увеличивать торможение в речевых нейронных центрах, а для редукции невротических запинок — наоборот, требуется снижение торможения в речевых центрах. Похоже, проблема находит решение в рамках функционального нейронного моделирования. Оказывается, управляющий параметр в сценарии ритмов прямо пропорционально связан с «тормозящей» активностью нейронного ансамбля, ответственного за ритмообразование. Активность здесь определяется как относительное число нейронов, эмитирующих спайки, в единицу времени. Можно показать, что при учете конечности времени задержки только лишь «тормозящая» популяция нейронов способна организовывать кластеры нейронов, испускающих спайки синхронно (при средних значениях синаптических проводимостей) или в противофазе (при низких синаптических проводимостях). Это же подтверждает прямое решение уравнения Фоккера—Планка для нейронной плотности в случае «тормозной» активности. Действительно, «тормозная» активность представляет

собой осциллирующую функцию времени, постепенно затухающую к фоновому уровню активности, который соответствует полной десинхронизации «тормозных» нейронов за время 200 мс. Можно предположить, что всплески осцилляций, которые около 40–50 мс находятся выше фонового уровня «торможения», приводят к появлению невротических запинок при «хроническом» заикании, а всплески, находящиеся ниже фонового уровня, приводят к появлению запинок-повторов с судорожной окраской. В пользу такой трактовки служит также хорошо известный факт, что частичная блокировка ГАМК, основного тормозного медиатора, ведет к возникновению тех или иных судорожных проявлений типа эпилепсии.

#### 181. Слук Б.А.

Государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь

### МОЛЕКУЛЯРНО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭВОЛЮЦИИ ТКАНЕЙ

Молекулярно-биохимические основы эволюции тканей пока изучены недостаточно. Предполагается, что формирование первичных клеточных колоний происходило в результате появления способности клеток к агрегации и образованию контактов между ними за счет формирования специфических контактных молекул. В начальных стадиях межклеточной адгезии ведущая роль, вероятно, принадлежала адгезивным молекулам семейства кадгеринов. Способность к адгезии связана с нейтрализацией отрицательного заряда клеточной мембраны двухвалентными катионами ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Появление адгезивных межклеточных соединений позволило сформировать лабильные, а затем стабильные сообщества клеток и клеточные пласты. Появление белков контактных участков — коннексина и дискоидинов — позволило формировать более сложные межклеточные соединения, что привело к объединению цитоскелетов соседних клеток в стабильную единую систему (десмосомы), а через возникшие щелевые контакты позволило обмениваться информацией (метаболическая интеграция) и функционировать совместно. Параллельно или позднее приобретения способности к агрегации на поверхности клеток появляются специфические лектины, связывающие углеводы. Углеводы формирующегося гликокаликса играли решающую роль в сцеплении клеток, а также участвовали в регуляторных процессах торможения их роста. Клетки формирующихся тканей приобретали свой специфический набор многочисленных рецепторов, распознававших различные сигналы внешней среды и передававших их внутрь клетки. Дифференцировка клеточных элементов тканей на выполнении специализированной функции происходила с появлением в клетках аденилатциклазы (АЦ) и фосфоэстеразы. АЦ включалась в механизмы трансмембранной передачи сигналов и сопряжения с рецепторами еще у одноклеточных организмов, но окончательное формирование всех компонентов аденилатциклазного комплекса в общую функциональную систему для проведения регуляторных сигналов произошло лишь при переходе от одноклеточных к многоклеточным организмам. Это обеспечило увеличение потока информации в клетки и их специализацию. С образованием стабильного сообщества каждая клетка занимает в нем определенное положение и накапливает информацию о своем топологическом положении в нем (позиционная информация), что закрепляется генетически в процессе эволюции и обеспечивает в последующем образование упорядоченного пространственного расположения структур в тканях. Дальнейшая эволюция тканей обуславливалась наличием средовых различий и реализовалась на основе следующих процессов: миграции и/или «оседлости» клеток, образующих ткани; формирования полярности клеток и организма в целом; наличия в клеточных сообществах физико-химиче-

ских градиентов; различий в пролиферации отдельных клеточных сообществ; взаимодействия клеток.

#### 182. Слук Б.А., Вольнец В.В., Кюнель В., Руденок В.В.

Государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь. E-mail: roudenok@bsmu.by; Университет г. Любека, Германия

### ЭКСПРЕССИЯ НЕЙРОПЕПТИДА ГАЛАНИНА В СИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ ПРИ ХИМИЧЕСКОЙ ДЕСИМПАТИЗАЦИИ ГУАНЕТИДИНОМ

В нейронах симпатических узлов наряду с классическими нейротрансмиттерами норадреналином и ацетилхолином распределены транскмиттеры других химических групп. При этом их содержание в симпатических узлах изменяется как в онтогенезе, так и при экспериментальных воздействиях. Одним из экспериментальных методов, позволяющих детально понять феномен множественности нейротрансмиттеров, является метод химической десимпатизации гуанетидином. Целью исследования явилось изучение экспрессии нейропептида галанина (НГ) в симпатических узлах белой крысы в норме и при химической десимпатизации гуанетидином. Непрямым иммуногистохимическим методом с антителами к НГ (peninsula INC 7153) исследованы шейно-грудные узлы белых крыс — контрольных и получавших ежедневно в течение 3 нед гуанетидин в дозе 40 мг/кг. В шейно-грудных узлах контрольной серии животных выявлены редкие НГ-иммунореактивные (ИР) нервные клеточные и волокнистые структуры. Кроме того, изредка прослеживались НГ-ИР малые гранулосодержащие клетки. В симпатических узлах подопытной серии белых крыс на фоне резкого снижения (до 40%) числа ганглионарных нейронов обнаруживалось значительное увеличение количества НГ-ИР структур. Положительную реакцию на НГ демонстрировали до 75% нейронов, имеющих различную форму и размеры клеточного тела. Наши данные свидетельствуют о значительном повышении синтеза НГ в симпатических узлах белой крысы при химической десимпатизации гуанетидином, что указывает не только на нейротрансмиттерную гетерогенность узлов, но и на многообразие функций и пластичность экспрессии нейромедиаторов в норме и эксперименте.

#### 183. Сокол А.В., Таранда Н.А., Новиков О.В., Кюнель В., Руденок В.В.

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь. E-mail: roudenok@bsmu.by, Университет г. Любека, Германия

### ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ СИНАПТОФИЗИНА В СИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ ЧЕЛОВЕКА

Используя метод непрямой иммуногистохимии изучено распределение синаптофизина (СФ) — интегрального гликопротеина малых синаптических пузырьков — в симпатических узлах плодов, доношенных и недоношенных новорожденных (аутопсийный материал). В исследованных паравертебральных узлах выявлены СФ-позитивные аксональные терминалы и гранулы, а также расположенные группами клетки. Размеры клеточных групп зависят от топографии и степени зрелости узла. Как правило, наибольшие клеточные скопления (до 140 клеток) обнаруживались в симпатических узлах недоношенных новорожденных и располагались у полюсов или в субкапсулярной зоне. В отдельных узлах от крупных очаговых скоплений по направлению к центральной зоне прослеживались мигрирующие клеточные элементы. Кроме того, СФ-иммунореактивные гранулы и тонкие волокна встречались в симпатических узлах недоношенных гораздо реже, чем у доношенных новорожденных. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что экспрессия СФ в развивающихся паравертебральных узлах зависит от степени дифференцировки нервных элементов, и моноклональные антитела к этому гликопротеину могут использоваться как маркер си-

наптической зрелости периферических эфферентных центров симпатической нервной системы.

184. Соколов В.И., Чумасов Е.И., Атагимов М.З.

Государственная академия ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: @gavm.spb.ru

#### ГИСТОГЕНЕЗ ХРОМАФФИННОЙ ТКАНИ НАДПОЧЕЧНИКА

Методами световой, электронной микроскопии и цитохимии изучены ранние стадии развития хромаффинной ткани надпочечника свиньи. Установлено, что на 5-й неделе в интерреналовую закладку надпочечника со стороны брюшной аорты из нервного гребня вырастают нервно-клеточные тяжи, состоящие из «голых» аксонов, нейробластов, леммобластов, малодифференцированных камбиальных клеток и скоплений хромаффинобластов и хромаффиноцитов. «Голые» аксоны на концах имеют конусы роста, заполненные ростовыми пузырьками. Внутри интерреналовой закладки аксоны следуют либо в виде тонких пучков или дают диффузные арборизации, а некоторые — находятся в тесной связи с мигрирующими хромаффинными клетками. Хромаффиноциты селективно окрашиваются по методу Вуда (А-клетки в розовый, а Н-клетки — в яркий золотистый цвет) и дают положительную хромаффинную реакцию по Хилларпу и Хекфельту. Электронно-микроскопически в хромаффинобластах и хромаффиноцитах обнаружены мелкие (50–65 нм) и крупные (100–250 нм) секреторные гранулы, сходные по структуре с гранулами НА- и А-клеток зрелого мозгового вещества надпочечника. Клетки вступают во взаимосвязь друг с другом и сателлитоцитами, которые окружают их своей базальной мембраной. Образуются первые синаптические контакты «голых» аксонов с хромаффинными клетками и их отростками. Хромаффинные элементы в центре фетальной коры образуют различных размеров глобулярные структуры, мелкие дольки и тяжи из плотно прилегающих друг к другу клеток, имеющих округлую или полигональную форму и размеры 7–13 мкм, связанных точечными плотными контактами; иногда встречаются расширенные межклеточные пространства. Клетки в «мозговых шарах» находятся на различных стадиях дифференцировки. Одни клетки, функционально активные, имеют крупные светлые ядра с узким ободком гетерохроматина. Их цитоплазма заполнена различными по размерам секреторными гранулами, имеет хорошо развитый комплекс Гольджи, гладкую и гранулярную эндоплазматическую сеть (Гр ЭПС), митохондрии, лизосомы и другие органеллы общего значения. Другие клетки с более темным ядром, небольшим объемом цитоплазмы и меньшим числом секреторных гранул и органелл представляют собой хромаффинобласты. Третий тип — мелкие (6–7 мкм), округлые клетки с темным ядром и электронно-плотной цитоплазмой, в которой выявляются короткие, редкие цистерны ГрЭПС, митохондрии, множество свободных рибосом, но отсутствуют секреторные гранулы — малодифференцированные клетки. В «мозговых шарах» встречаются сателлитоциты, сходные по структуре с нейролеммоцитами аксонов ПНС. У них овальное, богатое хроматином ядро, тонкий электронно-плотный ободок цитоплазмы, веретеновидная или треугольная форма. Хромаффиноциты способны на ранних стадиях синтезировать и выделять в кровь суммарные катехоламины. В участках контакта этих клеток с синусоидными капиллярами встречаются все переходные стадии секреторного цикла. На более поздних стадиях (вплоть до рождения) продолжается пролиферация и дифференцировка А- и НА-хромаффинных клеток. Таким образом, можно констатировать, что среди мигрирующих в составе нервно-клеточных тяжей, вырастающих в фетальную кору надпочечника, находятся хромаффинные элементы различной степени дифференцировки, включая прогениторные клетки хромаффинной ткани мозгового вещества надпочечника —

единственной нейроэндокринной железы периферической нервной системы.

185. Сокуренок Л. М., Раскалей В.Б., Горovenko Л.К.

Национальный медицинский университет, г. Киев, Украина. E-mail: l-sokurenko@mail.ru

#### ИЗМЕНЕНИЯ СПИННОМОЗГОВЫХ ГАНГЛИЕВ КРЫС В УСЛОВИЯХ МИКРОМЕРКУРИАЛИЗМА (ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Целью данного исследования явилось выявление особенностей структурных нарушений спинномозговых ганглиев, возникающих под влиянием малых доз соединений ртути в хроническом эксперименте. Исследования были проведены на 30 белых крысах линии Вистар, разделенных на 3 группы. Первую группу составили интактные животные; вторую группу — животные после 10 введений (2 нед) хлорида ртути в дозе 1/100 ЛД<sub>50</sub> внутрибрюшинно (в/б); третью группу — животные после 50 введений (10 нед) хлорида ртути в дозе 1/100 ЛД<sub>50</sub> в/б. При кратковременной интоксикации наблюдается мозаичное просветление нейроплазмы в результате уменьшения количества структур эндоплазматической сети, свидетельствующее о нарушении синтетических процессов в нейронах. При этом страдает энергетический аппарат клетки, что связано с декомплексацией крист отдельных митохондрий. Выявляются сосуды со спавшимися просветами или наличием в них электронно-плотного содержимого, что является результатом гипоксического состояния. При долговременной интоксикации происходит активация аутолитических процессов в нейронах. В кровеносных сосудах наблюдается обтурация просветов форменными элементами крови. Эндотелиоциты сосудов имеют микроворсы на апикальной поверхности, а также миелоноподобные структуры в цитоплазме. Наличие в последней липидных включений, свидетельствует о нарушении перекисного окисления липидов. В целом, состояние кровеносных капилляров подтверждает наличие гипоксии. Нарушение структуры миелиновых оболочек с расширением маунтнеровского пространства, повреждением миелина в зоне насечек с образованием мелких миелиновых завитков, просветление нейроплазмы свидетельствует о процессах сильно выраженных дегенеративных изменений. Это подтверждают изменения глиоцитов, сопровождающиеся декомплексацией крист отдельных митохондрий, маргинальным расположением хроматина в ядрах. Таким образом, проведенные исследования указывают на отчетливо выраженные ультрамикроскопические изменения в спинномозговых ганглиях под действием малых доз солей ртути.

186. Сорокин А.А.<sup>1</sup>, Угрюмов М.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН E-mail: alexey.sorokin@mail.ru; <sup>2</sup>Институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва, Россия

#### ЭКСПРЕССИЯ ФЕРМЕНТОВ СИНТЕЗА ДОФАМИНА В НЕДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ СТРИАТУМА И ЛИМБИЧЕСКИХ СТРУКТУР МОЗГА У КРЫС

В различных отделах мозга наряду с дофаминергическими нейронами (ДЕН), обладающими полным набором ферментов синтеза дофамина (ДА), обнаружены недофаминергические нейроны (НДЕН), экспрессирующие только один из ферментов — тирозингидроксилазу (ТГ) или декарбоксилазу ароматических L-аминокислот (ДАА). В нашей лаборатории на примере туберо-инфундибулярной ДА-ергической системы показано, что такие моноферментные нейроны совместно осуществляют синтез ДА. Целью данной работы явилась экспериментальная проверка нашей гипотезы о том, что функциональная недостаточность nigrostriatalной ДА-ергической системы также сопровождается экспрессией ферментов синтеза ДА в НДЕН, в данном случае в стриатуме. Задачи работы — выяснить, осуществляется ли экспрессия ферментов синтеза ДА нейронами стриатума у крыс:

а) на тех этапах онтогенеза, когда уже произошла дифференцировка нейронов стриатума и черного вещества, но синаптическая ДА-ергическая иннервация стриатума еще не сформировалась, т. е. в условиях дефицита ДА в норме; б) при фармакологически вызванной дегенерации ДЕН черного вещества у взрослых животных, т. е. в условиях дефицита ДА в патологии — при паркинсонизме. Показано, что в пренатальном периоде, т. е. до формирования синаптической иннервации, многочисленные ТГ-иммунореактивные нейроны расположены в ядре терминальной полоски и амигдалоидной зоне, а единичные нейроны рассеяны в дорсальном отделе стриатума. ТГ-иммунореактивные нейроны перестают выявляться в раннем постнатальном периоде, что совпадает по времени с синаптогенезом. Полученные данные позволяют предположить, что ДА оказывает ингибиторное влияние на экспрессию ТГ в нейронах стриатума и некоторых лимбических структур. При решении второй задачи было показано, что дегенерация ДЕН компактной части черного вещества, вызванная введением 6-гидроксидофамина в медиальный пучок переднего мозга, сопровождается появлением в стриатуме нейронов, экспрессирующих как отдельные ферменты (ТГ), так и оба фермента синтеза ДА. Таким образом, ферменты синтеза ДА экспрессируются в НДЕН стриатума и некоторых лимбических структур при функциональной недостаточности ДЕН, иннервирующих эти отделы мозга.

*Работа выполнена при поддержке грантов: РФФИ (№ 05-04-48829); Президента РФ по поддержке ведущих научных школ (НШ-1884.2003.4); программы Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине» и программы Отделения биологических наук РАН «Интегративные регуляции функций в онтогенезе».*

187. Сосунов А.А., Ховряков А.В., Круглякова Е.П., Шиханов Н.П., Подрезов М.А., Швалев В.Н., Медведев Д.И., Кругляков П.П.

Российский университет дружбы народов, Москва, Россия. E-mail: kpp99@mail.ru; Мордовский государственный университет, г. Саранск, Россия. E-mail: khovryakov@mail.ru; Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ СР, Москва;

Колумбийский университет, США

#### **РОЛЬ NO-СИНТАЗОСОДЕРЖАЩЕЙ СИСТЕМЫ И ЕЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИНГИБИТОРА (L-NAME) В РАЗВИТИИ НЕВРОЗА, ОБУСЛОВЛЕННОГО ХРОНИЧЕСКИМ СТРЕССОМ**

Известно, что хронический стресс, исходом которого является развитие невроза, может быть одной из основных причин развития нейродегенеративных изменений в головном мозгу. В последнее время в развитии патологии нейронов и глиоцитов большое значение придается оксиду азота (NO). Целью данной работы было выяснение возможной роли NO-синтазосодержащей системы и ее неспецифического ингибитора (L-NAME) в развитии невроза, обусловленного хроническим стрессом. В проведенном исследовании впервые показано, что в использованной парадигме хронического стресса с развитием экспериментального невроза у животных происходит усиление экспрессии нейрональной конститутивной и индуцибельной изоформ NO-синтазы (NOS) в нейронах головного мозга и гиппокампа. Ранее во многом аналогичные результаты об усилении экспрессии разных изоформ NOS в головном мозгу крыс были показаны только при иммобилизационном стрессе. Принципиальное отличие использованных моделей развития стресса с преобладанием воздействия на высшие проявления деятельности мозга в проведенном исследовании может свидетельствовать о большом значении NO в реализации стрессовых реакции в головном мозгу так же как и об общности механизмов нервного звена хронического стресса. Является ли повышение экспрессии NOS защитным механизмом или отражает процесс развития нейродегенератив-

ных изменений? Однозначного ответа на этот вопрос в настоящее время дать не представляется возможным. Известно, что NO принимает участие во многих процессах в нервной системе, в том числе и связанных с памятью и обучением (посредством поддержания длительной синаптической потенциации и возможно, депрессии). Полученные нами данные о том, что ингибитор NOS способствует отрицательным проявлениям хронического стресса могут свидетельствовать о протекторном эффекте NO в используемой нами модели стрессорного воздействия. Следует отметить, что при иммобилизационном стрессе наблюдался противоположный эффект ингибитора NOS — его введение приводило к нейропротекции. Такое различие в результатах, по-видимому, связано, прежде всего, с тем, что в наших экспериментах L-NAME как неспецифический ингибитор блокировал активность всех изоформ фермента, что в первую очередь могло отразиться на снижении кровотока и соответственно способствовать патологии нейронов. Полученные нами данные свидетельствуют об усилении продукции NO в разных отделах головного мозга при хроническом стрессе. Особый интерес в этом плане представляет гиппокамп, как отдел мозга, ответственный за реализацию превращения кратковременной памяти в долговременную, и область, часто являющаяся источником развития не поддающихся медикаментозному лечению эпилепсий. По нашим данным, в гиппокампе наблюдается значительное повышение экспрессии как нейрональной NOS, так и индуцибельной NOS, что может являться одной из причин нейротоксичности и последующей гибели нейронов, в том числе и путем апоптоза.

188. Сотников О.С., Запryanова Э.<sup>1</sup>, Сергеева С.С., Делева Д.<sup>1</sup>, Парамонова Н.М., Фильчев А.<sup>1</sup>, Султанов Б.<sup>1</sup>

Институт физиологии им. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: o.s.sotnikov@mail.ru; <sup>1</sup>Институт экспериментальной патологии и антропологии БАН, г. София, Болгария. E-mail: lab.myelin@abv.bg.

#### **ПРИ ДЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩЕМ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИЕЛИНОВЫХ ВОЛОКОН НАЧИНАЮТСЯ С ОСЕВОГО ЦИЛИНДРА**

Наши электрофизиологические микроэлектродные исследования показывают, что сыворотка крови больных рассеянным склерозом (РС) так же, как и сыворотка крови кроликов с высоким титром антител к ганглиозидам, вызывает однотипные изменения формы спонтанного спайка нейрона и характерные перестройки пластичности его внешней мембраны при синаптическом частотном раздражении. Так как ганглиозиды являются компонентами мембран нейрона, а антитела к ним в течение 40 мин существенно изменяют канальные свойства мембран, нами высказано предположение о первичности изменений нейритов и вторичности повреждения миелиновых оболочек (МО) при демиелинизирующем аллергическом энцефаломиелите (АЭ), включая РС у человека. Целью настоящего исследования был анализ ультраструктуры миелиновых волокон мозга крыс Lewis на ранних доклинических этапах экспериментального АЭ, а также волокон зрительных нервов людей, пораженных РС. На 6-е сутки после инъекции крысам сыворотки, содержащей антитела к ганглиозидам, обнаружены волокна, у которых при полной сохранности МО имеются существенные изменения ультраструктуры осевых цилиндров. В нейроплазме при полном отсутствии нейротрубочек количество нейрофиламентов увеличено. Примечательно, что наличие большого количества нейрофиламентов характерно и для безмиелиновых нервных волокон. Концентрация нейрофиламентов нередко сопровождалась уменьшением диаметра осевого цилиндра, а также набуханием и расслоением внутренних пластин МО, контактирующих с нейритом. У более измененных волокон наблюдали расслоение следующих, более поверхностных, слоев миели-

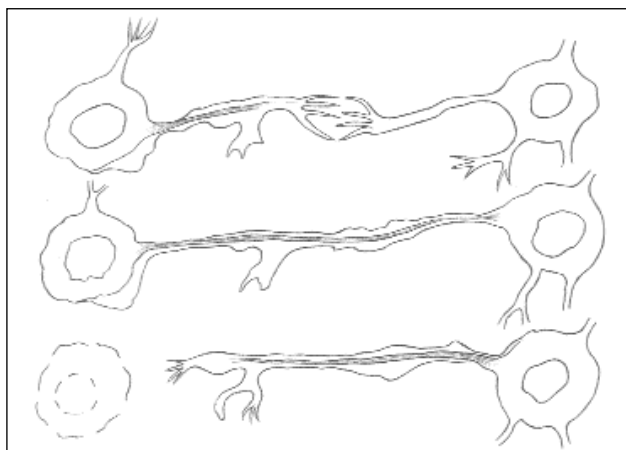
на. При этом толщина МО увеличивалась пропорционально уменьшению диаметра осевого цилиндра. Картина изменений волокон зрительного нерва у больных с РС существенно отличается от той, что наблюдается на доклинических этапах АЭ в эксперименте. На фоне резкого увеличения межклеточного пространства и активации клеток микроглии выявлено большое количество полностью разрушенных миелиновых волокон, а также волокон с различной степенью деструкции МО и осевого цилиндра. Характерно также явление концентрации нейрофиламентов в аксонах при полном отсутствии нейротрубочек. При этом уменьшение диаметра нейрита и отек периаксонального пространства выражены значительно, чем в эксперименте. У регенерирующих волокон с новой тонкой компактной МО, без расщепления слоев миелина, наблюдается значительное изменение нейроплазмы. Таким образом, электронно-микроскопические исследования подтверждают данные, полученные в ходе электрофизиологических экспериментов, позволяющие утверждать, что при демиелинизирующем АЭ, включая РС, изменения миелиновых волокон начинаются с нейрита.

189. Сотников О.С., Рыбакова Г.И., Малашко В.В., Соловьева И.А.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: o.s.sotnikov@mail.ru; Государственный аграрный университет, г. Гродно, Белоруссия

#### КОНТАКТНАЯ И СИНЦИТИАЛЬНАЯ СВЯЗИ НЕЙРОНОВ

В докладе обсуждается очень старая проблема контактной, или синцитиальной, связи нейронов в нервной системе. Подтверждая незыблемость нейронной теории, авторы все-таки приводят данные о возможности нейронального синцития в таких случаях, как образование кольцевидных структур, покрытых миелином в зоне дендритов, нервных аркад в области тела нейрона или при толстых прямых анастомозах между телами нейронов. Авторам удалось с помощью компьютерной цейтраферной видеомикроскопии выявить в культуре изолированных нейронов механизмы формирования таких структур. Впервые приведены доказательства и временные параметры слияния отростков живого нейрона, продемонстрировано слияние фрагментов изолированного безглиального волокна. В диссоциированной культуре нейронов выявлен процесс формирования синцитиальной связи между отростками разных нейронов. Продemonстрировано, что нервные отростки одного нейрона, установившие связь с другим нейроном, после гибели тела клетки (их трофического центра) не претерпевают валлеровской дегенерации (рисунок). В течение нескольких часов удается наблюдать транслокацию цитоплазматической варикозности по ветвям из одного нейрона в другой. С помощью электронной микроскопии нервных отростков кле-



ток интрамурального сплетения кишки в раннем постнатальном периоде удалось выявить все переходные стадии от слияния и перфорации мембран контактирующих нейритов до полного слияния нейроплазмы отростков с образованием остаточных мембранных структур в области бывшего мембранного межклеточного контакта. Учитывая полученные экспериментальные данные о возможности слияния нейритов в культуре, а также в реальных условиях развивающейся нервной системы, авторы высказывают гипотезу о теоретической возможности восстановления целостности пересеченных при травме нейритов путем слияния периферических и центральных культей.

190. Стельмашук Е.В.<sup>1</sup>, Беляева Е.А.<sup>2</sup>, Андреева Н.А.<sup>1</sup>, Исаев Н.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт мозга РАН, E-mail: stelmash@synaptology.ru; <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

#### СНИЖЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ КЛЕТОК-ЗЕРЕН МОЗЖЕЧКА ПРИ АЦИДОЗЕ

В головном мозгу при гипоксии/ишемии и травме происходит значительное закисление межклеточной и внутриклеточной среды. Ацидоз может как сам по себе активно влиять на жизнеспособность нейронов, так и модулировать действие других повреждающих факторов. Однако механизмы гибели в зрелых и незрелых нейронах могут быть различными. Исследование выполнено на молодых (2–4-дневных) и зрелых (7–9-дневных) культурах клеток-зерен мозжечка, полученных из мозга 8-суточных крыс линии Вистар методом ферментно-механической диссоциации. Была разработана модель культивирования нейронов в условиях низких значений внеклеточного pH, для чего культуры на 24 ч помещали в бессыороточную питательную среду с пониженным содержанием гидрокарбоната натрия или в сбалансированный солевой раствор с кислым (6,0–6,5) или нейтральным (7,2–7,3) pH. При исследовании живых культур с помощью фазово-контрастной микроскопии было обнаружено, что понижение pH питательной среды до 6,0 и 6,5 индуцирует гибель клеток-зерен как в молодых, так и в зрелых культурах. Количественный анализ фиксированных культур показал, что степень гибели нейронов прямо пропорциональна уровню наружного ацидоза, причем в молодых культурах она значимо выше, чем в зрелых. Так, в зрелых культурах при pH 6,5 выживало  $78 \pm 4\%$  нейронов, а при pH 6,0 —  $67 \pm 4\%$ , тогда как в молодых —  $58 \pm 4\%$  и  $34 \pm 5\%$  соответственно. По морфологическим признакам (фрагментация ядра, отсутствие набухания) тип гибели нейронов, вызванный внешним ацидозом, может быть охарактеризован как апоптоз. Многие токсические воздействия на нейроны опосредованы каскадом реакций, индуцируемых гиперактивацией рецепторов глутамата. Известно, что в зрелых нейронах основной механизм их гибели обусловлен глутаматной токсичностью, однако в результате недостаточной нейрорхимической дифференцировки незрелых нейронов этот механизм, связанный с индукцией глутаматного каскада, полностью реализоваться не может. Наблюдавшаяся нами гибель нейронов не зависела от активации ионотропных рецепторов глутамата, так как ингибитор AMPA/каинатных рецепторов CNQX не уменьшал этот показатель, а активация NMDA-подтипа рецепторов глутамата в этом случае также исключается, поскольку они блокируются при низких значениях pH [Andreeva N., Khodorov B., Stelmashuk E. et al., 1992]. Поэтому логично сделать вывод, что вызванная ацидозом гибель нейронов не связана с глутаматной токсичностью, а может быть обусловлена другими факторами, такими как нарушение энергетики, ионного баланса клеток или увеличение генерации перекисных соединений.

Работа поддержана грантами РФФИ 05-04-48412, 05-04-48411, 05-04-49697.

## 191. Степаненко А.Ю.

Харьковский государственный медицинский университет, Украина. E-mail: advin@ic.kharkov.ua

**МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВАСКУЛЯРИЗАЦИИ ГРУШЕВИДНЫХ НЕЙРОНОВ КОРЫ МОЗЖЕЧКА ЧЕЛОВЕКА**

В слое грушевидных клеток (ГК) коры мозжечка капилляры распределены неравномерно и концентрируются вокруг нейронов, обеспечивая индивидуальное кровоснабжение каждой ГК. Целью проведенного исследования была морфометрическая характеристика васкуляризации ГК филогенетически разных отделов коры мозжечка человека. Исследование проведено на полутонких срезах, представляющих собой фронтальные сечения коры мозжечка. Подсчитывали количество капилляров вокруг ГК и их расстояние до ее тела. Установлено, что две трети ГК коры мозжечка человека имеют единственный капилляр (70% — в новом мозжечке, по 66% — в древнем и старом). Два капилляра имеют 14% ГК в новом, 12% — древнем и только 5% — в старом мозжечке. Капиллярные сечения отсутствуют вокруг 13% нейронов нового мозжечка, 16% — древнего и 30% — старого. Капиллярный индекс составлял соответственно 1,1 для нового, 1,0 — древнего и 0,8 — старого мозжечка. В среднем капиллярный индекс в коре мозжечка человека равен 0,9. На расстоянии до 10 мкм от тела нейрона располагаются 62% капилляров в новом мозжечке, 43% — в старом и 53% — в древнем. При этом часть капилляров прилегают к телу нейрона настолько близко, что создается впечатление контакта капилляра с нейроном. Таких капилляров в новом мозжечке 9%, в древнем — 14% и старом — 4%. По мере удаления от тела нейрона плотность расположения капилляров падает. На расстоянии до 20 мкм расположены соответственно 23%, 28% и 37%, а на расстоянии до 30 мкм — 15%, 19% и 20% капилляров. Таким образом, анализ васкуляризации нейронов слоя ГК коры мозжечка человека показывает, что ГК в дольках филогенетически нового мозжечка находятся в лучших условиях трофического обеспечения, чем в древнем и старом. Установленные закономерности васкуляризации коры мозжечка человека совпадают с ранее полученными данными о васкуляризации слоя ГК коры мозжечка некоторых лабораторных животных.

## 192. Строев С.А., Тюлькова Е.И., Глуценко Т.С., Рыбникова Е.А., Пельто-Хуикко М., Самойлов М.О.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия; Университет Тампере, Финляндия. E-mail: s\_stroev@hotmail.com

**ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛОЙ И УМЕРЕННОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА СОДЕРЖАНИЕ Cu, Zn-СУПЕРОКСИДИСМУТАЗЫ В НЕЙРОНАХ ОБЛАСТЕЙ CA1 И CA3 ГИПОКАМПА КРЫС**

Молекулярные механизмы, обеспечивающие адаптацию нейронов к гипоксии и последующей реоксигенации, включают активацию экспрессии антиоксидантов, в том числе Cu, Zn-супероксиддисмутазы (СОД-1). Прекоondиционирование умеренными гипоксическими воздействиями повышает резистентность мозга к последующей тяжелой гипоксии [Владимиров и др., 1939; Kitagawa et al., 1990; Самойлов М.О. и др., 2001]. Нами было показано [Строев С.А. и др., 2003], что тяжелая гипобарическая гипоксия повышает содержание СОД-1 в нейронах гиппокампа к 24-часовому сроку реоксигенации. Через 3 ч после окончания тяжелой гипоксии значимых изменений ее экспрессии не наблюдалось. Однако в случае предварительного прекоondиционирования тремя сеансами умеренной гипоксии содержание СОД-1 было значимо повышено уже к 3 ч после окончания тяжелой гипоксии. Известно, что критическим сроком для запуска апоптоза являются первые 2–4 ч

после гипоксического воздействия [Fujimura et al., 2000]. Поэтому повышение содержания СОД-1 в этот срок может рассматриваться как важный механизм нейропротективного действия прекоondиционирования. Однако оставалось неясным, с чем связано повышение содержания СОД-1 в нейронах гиппокампа прекоondиционированных крыс через 3 ч после тяжелой гипоксии: с индукцией экспрессии СОД-1 умеренными воздействиями еще до тяжелой гипоксии или с модификацией реакции на саму тяжелую гипоксию. Для решения этого вопроса нами были проведены исследования собственного влияния умеренной гипоксии. Содержание СОД-1 исследовали в зонах CA1 и CA3 гиппокампа крыс через 3 и 24 ч после 1-кратной и 3-кратной (1 раз в сутки) умеренной (2 ч, 360 мм рт. ст.) гипобарической гипоксии. Исследование проводили иммуноцитохимическим методом с последующим количественным анализом микроизображений. Было показано, что в области CA1 иммунореактивность к СОД-1 к 3 ч значимо повышалась, но затем к 24 ч значимо снижалась по сравнению с исходным уровнем как после 1-кратного, так и после 3-кратного действия умеренной гипобарической гипоксии. В области CA3 в 3-часовой срок не отмечалось статистически значимых изменений иммунореактивности ни после 1-кратного, ни после 3-кратного воздействия; значимое снижение иммунореактивности отмечалось к 24 ч после 1-кратной, но не 3-кратной гипоксии. Таким образом, в обеих областях умеренная гипоксия вызывает фазные изменения содержания СОД-1. Однако к 24 ч после 3-кратного прекоondиционирования (т. е. к тому моменту, в который начиналось действие тяжелой гипоксии) содержание СОД-1 было либо снижено (CA1), либо близко к контрольному уровню (CA3). Следовательно, нейропротективный эффект прекоondиционирования в ранние сроки после тяжелой гипоксии обусловлен не накоплением в ходе прекоondиционирования антиоксидантного белка, а модификацией самой реакции на тяжелую гипоксию, что может быть связано с накоплением мРНК данного белка или с регуляцией скорости его трансляции.

## 193. Судеева В.С.

Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия

**ВЛИЯНИЕ ШУМА НА БИОАМИННЫЙ СТАТУС ТУЧНЫХ КЛЕТОК ТИМУСА ВО ВРЕМЯ ГИБЕРНАЦИИ**

Целью данного исследования явилось изучение влияния шума на уровень биогенных аминов в тучных клетках тимуса во время зимней спячки. В работе были использованы белые беспородные крысы-самцы массой 180–200 г. Подопытные крысы были разделены на 2 группы: 1) интактные, 2) стрессированные. Для выявления катехоламинов и серотонина криостатные срезы обрабатывали люминесцентно-гистохимическим методом В. Falck, N. Hillarp, (1962) в модификации Е.М. Крохиной (1969). Для количественного определения содержания биогенных аминов была использована микрофлюорометрия. Проведенное исследование показало, что во время зимней спячки содержание всех биогенных аминов у интактных крыс находится на относительно низком уровне: катехоламинов в декаде 74 усл. ед., серотонина — 143 усл. ед. У стрессированных шумом (кратковременным) крыс содержание катехоламинов во время гибернации резко увеличилось в 2,5 раза (187 усл. ед.), а серотонина — в 2,7 раза (390 усл. ед.). Выявленные изменения содержания биогенных аминов в тучных клетках тимуса крыс можно рассматривать как адаптацию, так как процесс пробуждения во время глубокой зимней спячки явился отклонением от нормы. Следует подчеркнуть, что восприимчивость к этому воздействию в разное время неодинакова из-за хронобиологических факторов. Результаты настоящей работы сопоставимы с исследованиями, проведенными нами ранее (1996), в которых наблюдали повышение содержания биогенных аминов в период пробуждения.

194. Суфианов А.А., Якимов Ю.А., Суфианова Г.З.

Восточно-Сибирский научно-практический центр малоинвазивной нейрохирургии СО РАМН, г. Иркутск, Россия. E-mail: neuro@medk.baiikal.ru

#### МИКРОАНАТОМИЯ МЕЖНОЖКОВОЙ ЦИСТЕРНЫ

С целью изучения микроанатомического строения, структуры, содержимого, границ межножковой цистерны (МЦ) под операционным микроскопом с использованием микрохирургического набора инструментов проведено микроанатомическое исследование 14 препаратов головного мозга. Семь анатомических препаратов изучены методом поэтапного микропрепарирования, микрофотографирования и морфометрии. На 7 анатомических препаратах изучали пластинчатые срезы головного мозга с инъекцией красного латекса в МЦ. МЦ представляет собой подпаутинное пространство, ограниченное ножками мозга, задним продырявленным веществом, мостом, гипоталамусом, крючками паратриггемальной извилины и несколькими паутинными мембранами (диэнцефальная пластинка, мезэнцефальная пластинка, диэнцефально-мезэнцефальная пластинка мембраны Лилиеквиста, латеральная понтомезэнцефальная мембрана и медиальная понтомезэнцефальная мембрана). Во всех анатомических препаратах МЦ имеет форму усеченной пирамиды, основанием обращенной к спинке седла и скату, верхней частью — к межножковой ямке. Расстояние от бифуркации базиллярной артерии до переднего края сосцевидных тел равно  $5,2 \pm 1,2$  мм. Расстояние от бифуркации базиллярной артерии до воронки гипофиза равно  $11,0 \pm 0,8$  мм. Поперечный размер МЦ (на уровне выхода глазодвигательного нерва из мезэнцефальной пластинки мембраны Лилиеквиста) —  $25,0 \pm 1,5$  мм. Так как МЦ является сложным объемным структурным комплексом нервных, сосудистых, мембранных и трабекулярных образований, то целесообразно разделить ее на 2 части: поверхностную (свободную) и глубокую (сосудистую). Однако следует отметить, что ни в одном случае на нашем материале не отмечалось четкой мембранной границы разделяющей эти части МЦ. Согласно наиболее значимым анатомическим и эндоскопическим ориентирам, для объективизации изучения МЦ, обоснования, а также надежного безопасного выполнения эндоскопических манипуляций в этой области мы считаем границей этого деления условную плоскость, проходящую от переднего края сосцевидных тел до передней адвентициальной стенки бифуркации базиллярной артерии. Поверхностная часть располагается впереди от условной границы, занимает большую часть МЦ, содержит хорошо визуализируемые ствол базиллярной артерии и верхние мозжечковые артерии, поэтому более безопасна для микро- и эндохирургических манипуляций. Глубокая часть МЦ располагается сзади от условной линии, содержит много сосудистых, нервных, трабекулярных, мембранных образований и является, на наш взгляд, менее предпочтительной для микро- и эндоскопических манипуляций, в связи со значительным риском повреждения жизненно важных структур головного мозга.

195. Сухов А. Г., Кириченко Е. Ю., Повилайтите П. Е.

Научно-исследовательский институт нейрокибернетики Ростовского государственного университета РОПАБ, Россия. E-mail: w701@krmc.ru

#### СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФОКАЛЬНОЙ ВЕРЕТЕНООБРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В КОЛОНКАХ СОМАТИЧЕСКОЙ КОРЫ МОЗГА КРЫС

Веретенообразная активность является одной из наиболее характерных и часто наблюдаемых форм ритмогенеза мозга животных и человека. Ранее нами в экспериментах с микроэлектродной регистрацией была установлена возможность локального развития фокальной веретенообразной активности в отдельных структурно-функциональных колонках соматической коры крыс в зоне проекции вибрисс

[Сухов, 1995]. Согласно классической, доминирующей до настоящего времени гипотезе Андерсена и Экклса (1962), внутриверетенный ритм обусловлен повторной ритмичной активацией поствозбудительного возвратного торможения в таламокортикальных нейронах (НР) с последующим вторичным вовлечением в ритмическую активность корковых НР. Однако в наших опытах веретена, особенно вызванные, чаще наблюдались в коре и обычно без участия релейного ядра таламуса, что говорит об их внутрикорковом генезе. Мы полагаем, что ведущую роль в развитии корковых веретен играют не вспышки повторной таламокортикальной активации, а волны ритмичной, эндогенной гиперполяризации корковых НР, формируемые потенциал-зависимыми пейсмейкерными Н-каналами, выявленными во многих отделах мозга, в том числе и у НР соматической коры крыс [Santoro et al., 1994–2004]. По нашим данным, высокая степень синхронизации пейсмейкерной активности НР одной корковой колонки и индивидуальные особенности ее фокальной веретенообразной активности, сравнительно с активностью соседних колонок, обеспечиваются локальными внутриколончатными системами различных тормозных НР, имеющих особую пространственную структурную организацию связей в форме химических и электрических синапсов. В опытах с ретроградным аксонным транспортом флюорохрома примулина, микродозы которого вводили в отдельную корковую колонку через микроэлектрод, установлено, что аксоны звездчатых, предположительно тормозных НР в бочонках каждой колонки не выходят за ее пределы [Сухов, 1992]. На препаратах, окрашенных по Гольджи, дендриты 85% этих звездчатых клеток были направлены во внутреннюю часть соответствующего бочонка, пересекаясь между собой на расстоянии 70–90 мкм от тела клеток, расположенных в стенках бочонков, что способствует формированию здесь не только химических аксондендритных, но и дендро-дендритных электрических синапсов, выявляемых в наших ультраструктурных исследованиях и описанных в литературе [Connors, Long, 2004]. Мы полагаем, что подобная локальная пространственная организация дендритов и аксонов звездчатых НР в бочонках коры мозга крыс является структурной основой локальной организации веретенообразной активности в этих отдельных идентифицированных корковых колонках. При этом электрические дендро-дендритные сигналы обеспечивают синхронизацию пейсмейкерных осцилляций мембраны тормозных НР одной колонки даже при подпороговых для спайковой активности значениях, а химические синапсы усиливают процессы синхронизации только при возникновении импульсных, особенно пачечных разрядов тормозных клеток.

196. Таланов С.А., Олешко Н.Н., Майский В.А., Сагач В.Ф.

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, г. Киев, Украина. E-mail: talanov@biph.kiev.ua

#### МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ОСНОВНЫХ АФФЕРЕНТОВ НЕОСТРИАТУМА В УСЛОВИЯХ ОДНОСТОРОННЕГО ВЫКЛЮЧЕНИЯ МЕЗОНЕОСТРИАТНОЙ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ (МОДЕЛЬ ГЕМИПАРКИНСОНИЗМА)

Одностороннее разрушение мезонеостриатной дофамин (ДА)-ергической системы производили посредством микроинъекции в медиальный переднемозговой пучок взрослых крыс линии Вистар 8 мкг нейротоксина 6-гидроксидофамина (6-ГОДА), растворенного в 4 мкл изотонического раствора, содержащего 0,1% аскорбиновой кислоты в качестве стабилизатора, тормозящего окисление 6-ГОДА. Для высокоэффективного действия нейротоксина за 30 мин до его инъекции животным вводили паргиллин (40 мг/кг, внутривенно — в/в), тормозящий метаболизм 6-ГОДА моноаминоксидазой, и дезипрамин (25 мг/кг, в/в), тормозящий захват нейротоксина норадренергическими нейронами. В контрольных опытах проводили все указанные манипуляции, за исключением инъекции

6-ГОДА. В этих случаях в мозг вводили в том же объеме лишь 0,1% раствор аскорбиновой кислоты. Через 1 нед после операции у животных исследовали вращательные движения в контрлатеральную по отношению к оперированному полушарию сторону, которые вызывали введением ДА-миметика — апоморфина (0,4 мг/кг, в/б). Морфологические исследования проводили на животных, у которых наблюдалось более 6 оборотов в минуту в течение 30 мин после введения апоморфина. Через 3 нед после инъекций 6-ГОДА или аскорбиновой кислоты животным вводили в симметричные участки неостриатума обоих полушарий по 1,5 мкл 10% водного раствора примулина или по 0,5 мкл 30% водного раствора пероксидазы хрена. Ретроградно меченные нейроны исследовали в срезах переднего и среднего мозга. Кроме того, в опытах с введением примулина FAGLU-методом дополнительно была исследована флюоресценция катехоламинов в клетках среднего мозга. Одностороннее введение нейротоксина вызывало существенное уменьшение числа ДА-содержащих нейронов более чем на 93% в компактной и латеральной частях черного вещества и более чем на 91% в вентральном поле покрышки оперированного полушария по сравнению с интактным. В контрольных опытах инъекция в мозг раствора аскорбиновой кислоты приводила к менее значительному, до 20%, уменьшению числа ДА-ергических клеток в среднем мозгу на стороне операции. Установлено, что в клетках слоев V и VI сенсомоторной коры происходит более интенсивная аккумуляция как примулина, так и пероксидазы хрена на стороне введения нейротоксина по сравнению с интактной, и наоборот, в неспецифическом парафасцикулярном ядре таламуса ретроградное мечение нейронов в денервированном полушарии было менее активным. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что одностороннее выключение мезо-неостриатной дофаминергической системы приводит к пластическим изменениям в коре и таламусе: патологическому усилению кортико-неостриатных, и уменьшению таламо-неостриатных функциональных связей.

197. Тенчева З.С., Панов И.Р.

Tencheva Z.S., Panov Y.R.

Institute of Physiology, Bulgarian Academy of Sciences and University Hospital Losenetz, Sofia, Bulgaria. E-mail: tencheva@mail.bol.bg

#### INTRACEREBRAL PROGRESSION OF C6 RAT GLIOBLASTOMA FOLLOWING NEUROTRANSPLANTATION OF C6 GLIOMA CELLS PRETREATED WITH NEUROPEPTIDES AND MAPK INHIBITOR

There is increasing evidence to suggest that neuropeptides may have widespread effects as regulators of growth and proliferation of neural and non-neural cells. There is considerable evidence that the MEK/ERK cascade is involved in the cell growth and differentiation of various types of cells. The ERKs exert control over cellular proliferation and morphological transformation by phosphorylating both nuclear and cytoplasmic substrates, including transcription factors. The authors have monitored cell invasive behavior, obtained data on cell invasion, proliferation and transcriptional regulation of C6 glioma cells treated with opioids, endothelin 1 and ERK1/2 specific inhibitor PD98059. To explore proliferation fates of C6 glioma cells in different environmental conditions, C6 cells were treated in vitro, and implanted into the brain using a new model for cortical-arachnoidal implantation. <sup>3</sup>H-Thymidine incorporation and mobility shift assays were used to study changes following neuropeptide and inhibitor treatment of C6 glioma cells. Preliminary in vitro studies have indicated that opioids and ERK1/2 inhibitor PD98059 inhibit the proliferation of cultured C6 glioma cells and induce regulation of the E2F family of transcription factors. Endothelin 1 strongly increased C6 glioma proliferation. The model used in this study is artificial, but it may provide specific insight into the behavior of in vitro manipulated invasive cells.

198. Теплов А.Ю.

Казанский государственный медицинский университет, Россия. E-mail: AlikTeplov@mail.ru

#### ИЗМЕНЕНИЕ СИЛЫ СОКРАЩЕНИЯ ИЗОЛИРОВАННЫХ «БЫСТРОЙ» И «МЕДЛЕННОЙ» МЫШЦ МЫШИ ПРИ БЕЛКОВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ

Исследования механизма изменения сократительных свойств скелетных мышц (СМ) с различным фенотипом в условиях аллергической перестройки были проведены на морских свинках. Однако, до настоящего времени не был исследован характер возможных изменений сократительных свойств СМ при сенсibilизации такого классического объекта иммунологических исследований, каким является мышца. Целью настоящей работы явилось изучение влияния белковой сенсibilизации на сократительные ответы изолированных СМ голени мыши: «быстрой» (длинного разгибателя пальцев) и «медленной» (камбаловидной) — вызываемые холинномиметиком карбахолином (Кх). Эксперименты проводили на мышцах обоего пола массой 17–22 г. Животных сенсibilизировали овальбумином с гелем гидроокиси алюминия (150 мкг в 0,5 мл изотонического раствора + 2 мкг сухого вещества геля) внутрибрюшинно, дважды. Вторая инъекция — через 14 сут после первой. В эксперимент животных брали на пике сенсibilизации — на 7–10-е сутки после 2-й инъекции. Механомиографические исследования проводили на препарате изолированной СМ в условиях изометрии, при постоянной перфузии раствором Кребса. Сокращение, вызываемое Кх в концентрациях от  $2 \times 10^{-5}$  М до  $3 \times 10^{-3}$  М, регистрировалось фотоэлектрическим преобразователем. Анализировалась сила сокращения мышцы. Показано, что сила сокращения «быстрой» СМ у несенсibilизированной мыши на Кх в субмаксимальной концентрации ( $7 \times 10^{-4}$  М) —  $77 \pm 6$  мг. Белковая сенсibilизация приводит к уменьшению силы сокращения «быстрой» СМ до  $51 \pm 5$  мг ( $P < 0,05$ ). У камбаловидной СМ несенсibilизированной мыши Кх в субмаксимальной концентрации ( $5 \times 10^{-4}$  М) вызывает сокращение силой  $238 \pm 21$  мг. Белковая сенсibilизация приводит к увеличению силы сокращения «медленной» мышцы до  $353 \pm 23$  мг ( $P < 0,01$ ). Обнаруженные факты свидетельствуют о морфофункциональной разнородности изучаемых СМ. Изменения, возникающие в мышечных волокнах при сенсibilизации, могут затрагивать, предположительно, поверхностную мембрану, механизмы электро-механического сопряжения и систему сократительных белков. В представленной работе посредством регистрации сокращения изолированной мышцы, вызываемого Кх, продемонстрировано влияние сенсibilизации в первую очередь на холиноопосредованные процессы возбуждения мембраны мышечных волокон.

199. Теплов А.Ю., Бутинова Н.В.

Казанский государственный медицинский университет, Россия. E-mail: AlikTeplov@mail.ru

#### ВЛИЯНИЕ АТФ НА СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ИЗОЛИРОВАННОЙ М. SOLEUS МЫШИ

Механизмы влияния АТФ на морфофункциональное состояние скелетных мышц (СМ) теплокровных животных в настоящее время подвергаются активному изучению. Роль этого соединения в качестве эндогенного модулятора синаптической передачи изучена достаточно подробно. Однако влияние АТФ непосредственно на сократительную функцию СМ исследовано в значительно меньшей степени. Для быстрой (m. extensor digitorum longus) и смешанной (диафрагма) изолированных мышц мыши показана способность экзогенной АТФ изменять их сократительную функцию, причем обнаруженное действие проявляется через P2-рецепторы. Для медленных же мышц мыши характер ее изменения до настоящего времени остается неисследованным. Работа выполнена на m. soleus мыши. В экспериментах использовали животных обоего пола массой 25–32 г.

Сокращение СМ вызывали агонистом — холиномиметиком карбахолом (Кх). Изолированную мышцу помещали в термостатируемую ванночку. Изометрия достигалась предварительным растяжением СМ в течение 40 мин с силой 500 мг при постоянной перфузии раствором Кребса. Кх добавляли в ванночку с 30-минутными интервалами, при остановленной перфузии в субмаксимальной концентрации ( $5 \times 10^{-4}$  М), после чего СМ отмывали чистым перфузионным раствором. Регистрировали силу и скорость сокращения. Влияние АТФ на сократительную функцию СМ оценивали по различиям контрактильных характеристик до и после 5-минутной инкубации ее в растворе, содержащем изучаемый агент в концентрации  $1 \times 10^{-4}$  М. Эксперименты проводили при температуре 20–21°C. В контроле сила сокращения была  $180 \pm 7$  мг, скорость —  $16,6 \pm 1,3$  мг/с. После влияния АТФ сила сокращения возросла до  $224 \pm 13$  мг, что составило 124,2% от контроля ( $P < 0,05$ ). Скорость сокращения также увеличилась до  $28,3 \pm 1,8$  мг/с, или до 170,3% от контроля ( $P < 0,01$ ). Эффекты АТФ устранялись агонистом Р2-рецепторов сураминол (100 мМ). Замена АТФ на аденозин в тех же экспериментальных условиях не приводила к изменению параметров Кх-вызванного сокращения. Обнаруженная способность экзогенной АТФ увеличивать силу и скорость сокращения изолированной медленной мышцы, вызванного Кх, позволяет констатировать, что АТФ способна изменять функциональные свойства различных СМ — и быстрых, и медленных, и имеющих смешанный состав мышечных волокон. Механизмы этого влияния имеют, предположительно, общую природу как в медленной, так и в других (быстрых либо смешанных) мышцах, на что указывает факт опосредованности проявлений обнаруженного феномена Р2-рецепторами, как в медленной, так и в других СМ. Изучение механизмов влияния АТФ на сократительные свойства СМ, а также различий этих механизмов в мышцах с различным фенотипом, как в норме, так и в различных моделях экспериментальной патологии требует проведения дальнейших исследований.

200. Тирас Н.Р.,<sup>1</sup> Михайлова Г.З.,<sup>1</sup> Мошков Д.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН; <sup>2</sup>Государственный университет, г. Пушкино, Россия. E-mail: ntiras@mail.ru

#### ЭФФЕКТ НЕЙРОТОКСИНА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ЯДА СКОРПИОНА, С УСТАНОВЛЕННЫМ МЕХАНИЗМОМ ДЕЙСТВИЯ НА МАУТНЕРОВСКИЕ НЕЙРОНЫ МАЛЬКОВ ЗОЛОТЫХ РЫБОК

Ранее нами показано, что эффект фракции полипептидов яда среднеазиатского черного скорпиона заключается в повышении устойчивости мавтнеровских нейронов (МН) мальков золотых рыбок к утомляющей электрической стимуляции слухового нерва или естественной стимуляции вестибулярного аппарата. Мишенью действия этой фракции яда, как выяснилось, оказались расположенные рядом с активными зонами химических синапсов актин-содержащие десмосомоподобные контакты (ДПК) между примембранными участками аксонных терминалей и плазмолеммой МН. Гипертрофия ДПК под действием полипептидов связана с возрастанием содержания актина в его полимерной форме в этой области. Данные позволили предсказать, что яд может содержать пептиды, специфически взаимодействующие с актином. Действительно, исследования *in vitro* взаимодействия субфракций яда и мышечного актина позволили идентифицировать три компонента, вызывающие полимеризацию глобулярного актина с образованием нитей. Два компонента представляют собой смесь пептидов и требуют дальнейшего разделения, а третий — является однородным полипептидом, который ранее уже был выделен и охарактеризован как токсин Osk1, блокирующий слабопроводящие кальций-зависимые калиевые каналы в гибридных клетках нейробластомы и глиомы. Представлялось

важным провести дальнейшие исследования по выяснению эффекта этого токсина на морфофункциональные свойства МН. Показано, что токсин, так же как цельный яд и так же как фракция яда, из которой он был выделен, индуцирует устойчивость МН к утомлению, вызываемому длительной стимуляцией. В отличие от цельного яда полипептид в исследуемых концентрациях не вызывал гибели животных и повреждений МН. На гистологическом уровне он препятствовал уменьшению объемов МН при длительной стимуляции. На ультраструктурном уровне мишенью его действия оказались ДПК и активные зоны афферентных химических синапсов МН. Морфометрический анализ ультраструктуры показал, что под действием токсина происходит уменьшение протяженности активных зон синапсов по сравнению с контролем. В противоположность этому, протяженность ДПК растет, увеличивается площадь как аксонной, так и цитоплазматической «половинок» ДПК, а также их удельная глубина (площадь), выраженная как отношение площади «половинки» к ее длине. К таким же количественным изменениям активных зон и ДПК, как и исследуемый токсин, приводит адаптация МН к утомлению. Таким образом, впервые показано, что в отличие от актин-полимеризующих токсинов, выделенных из других организмов (грибы, губки), яд скорпиона содержит проникающий в клетку нетоксичный полипептид, индуцирующий защиту структуры и функции МН золотых рыбок от утомляющей стимуляции. Полученные результаты ставят на обсуждение вопрос о возможном полифункциональном свойстве токсинов с известными канальными эффектами.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, Федерального агентства по образованию и гранта РФФИ 05-04-48839.*

201. Топорова С.Н., Шкорбатова П.Ю., Алексеев С.В.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: sntoporova@infran.ru

#### КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОННЫХ СВЯЗЕЙ ОТДЕЛЬНЫХ КОЛОНОК ЗРИТЕЛЬНЫХ ПОЛЕЙ 17, 18 У КОШЕК С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ КОНВЕРГЕНТНЫМ КОСОГЛАЗИЕМ

Ранее нами были количественно оценены нейронные связи отдельных корковых колонок полей 17, 18 у кошек с нормальным зрительным опытом [Топорова С.Н., Алексеев С.В., 2003]. В настоящей работе исследовали нейронные связи корковых колонок у кошек с нарушением зрительного опыта, вызываемым экспериментальным конвергентным косоглазием (ЭКК). У 17 котят на 10–14-е постнатальные сутки под наркозом удаляли наружную прямую мышцу одного или обоих глаз, что вызывало отклонение зрительных осей глаз в медиальную сторону (ЭКК). Через 4–5 мес микроионофоретически в корковые поля 17, 18 вводили пероксидазу хрена и определяли количество ретроградно меченных клеток. Были исследованы 9 колонок поля 17 и 15 колонок поля 18. По сравнению с нормой, у кошек с ЭКК, наряду с вариабельностью в размере областей меченых клеток в полях 17 и 18 для колонок этих полей (внутренние связи) наблюдалась большая вариабельность и в количестве меченых клеток (от 2 до 160 клеток). Однако количество меченых нейронов слоев А дорсального ядра наружного коленчатого тела, афферентирующих корковые колонки нормального глаза и отклоненного глаза (прямые связи), значимо не различалось. У кошек с ЭКК было обнаружено увеличение количества нейронов задней медиальной латеральной борозды, иннервирующих колонки поля 18, и уменьшение количества нейронов поля 19, посылающих аксоны к колонкам полей 17, 18 (обратные связи). Таким образом, ЭКК приводит к реорганизации обратных связей, обеспечивающих передачу информации из экстрастриарных корковых полей в первичные зрительные поля.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 03-04-48258 и 06-04-49391.*

202. *Тугой И.А., Строев С.А.*

Университет Тампере, Финляндия. E-mail: ivan@cs.uta.fi;  
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

#### **ПРОГРАММА MORPHIX ДЛЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО И ДЕНСИТОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ЦИФРОВЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ**

Компьютерная программа (П) Morphix разработана нами для морфологического и денситометрического анализа цифровых изображений. П автоматизирует подсчет объектов, а также анализ их размера и оптической плотности. Объекты выделяются пользователем вручную. Для каждого объекта П может автоматически рассчитывать площадь и минимальную, среднюю, максимальную и интегральную оптическую плотность. По любому из этих пяти параметров П позволяет автоматически ранжировать объекты по классам, количеству и значениям которых устанавливаются пользователем. В простейшем случае П может использоваться для автоматизированного подсчета объектов, например, окрашенных клеток на цифровых микрофотографиях в заданной пользователем рамке. В этом случае программа применима, в частности, для обработки простых морфологических изображений с окраской по Нисслю, TUNEL-детекции апоптоза и любых других исследований, связанных с подсчетом неспецифически или специфически окрашенных объектов. Возможности денситометрии позволяют использовать П, в частности, для количественного анализа содержания белка иммуноцитохимическим методом и экспрессии РНК методом гибридизации *in situ*. П позволяет анализировать как темные объекты на светлом поле, так и светлые объекты на темном (методы, связанные с использованием радиоактивной или флуоресцентной метки). Помимо микроизображений, П применима для обработки результатов электрофореза и некоторых видов хроматографии. Таким образом, поскольку заложенный в П алгоритм не зависит от природы окраски изображения, П Morphix может быть применима в самом широком спектре цитологических, гистологических, цито- и гистохимических и молекулярно-биологических исследований. Изначально П Morphix была разработана нами для автоматизации количественного иммуноцитохимического анализа экспрессии ряда ферментов в гиппокампе и коре мозга. Следует отметить, что до сих пор значительное количество иммуноцитохимических исследований проводятся на качественном или полуквантитативном уровне. Это делает оценки иммунореактивности весьма субъективными и трудновоспроизводимыми. П Morphix не только упрощает количественный анализ, но и позволяет однозначно описать способ ранжирования клеток по классам, повышая, тем самым, объективность и верифицируемость результатов и возможности точного воспроизведения исследования. Важное отличие П от существующих аналогов (Videotest Morphology, Image-Pro Plus by Media Cybernetics) состоит в том, что Morphix был разработан нами для решения сравнительно узкой группы конкретных задач и потому он прост в освоении и использовании. Интерфейс П проверялся на целевой группе пользователей и дорабатывался с целью достижения максимального удобства и эффективности работы. В отличие от дорогостоящих аналогов, исследователям академических научных институтов России Morphix предоставляется бесплатно.

203. *Туманский В.А., Тертышный С.И.*

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

#### **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КАРДИОРЕСПИРАТОРНЫХ ЯДРАХ СТВОЛА МОЗГА ПРИ ОСЛОЖНЕННЫХ ИНСУЛЬТАХ**

Неблагоприятные исходы при острых нарушениях мозгового кровообращения (ОНМК), связывают с развитием вторичного стволового синдрома, сопровождающегося дис-

функцией кардиореспираторных центров, изменения в которых еще недостаточно полно освещены в морфологических работах. Цель данной работы — изучить выраженность патоморфологических изменений в кардиореспираторных ядрах ствола мозга при осложненных инсультах. С помощью комплекса нейроморфологических методов, был изучен ствол головного мозга 30 умерших больных с полушарными инфарктами и внутримозговыми кровоизлияниями, осложненными развитием вторичного стволового синдрома. У больных при развитии инсультов и умерших в течение 12–24 ч от начала заболевания при анатомической сохранности стволовых отделов мозга на территории его кардиореспираторных центров наблюдаются ишемические сосудисто-дисциркуляторные изменения, которые проявлялись прекращением кровотока, спадением некоторых капилляров, развитием вазогенного отека, появлением мелких диапедзных периваскулярных кровоизлияний. Они отмечались в 72% наблюдений при гематомах размером более 100 мкм<sup>2</sup> и в 100% наблюдений при прорыве крови или некротических масс в ликворные коммуникации с тампонадой III и IV желудочков. Вторичные очаговые геморагии регистрировались на всем протяжении среднего мозга и моста, в продолговатом мозгу они были единичны. На фоне сосудисто-циркуляторных расстройств отмечалось плазматическое пропитывание стенок отдельных артериол. Дисциркуляторные изменения выявлялись на территории парабрахияльного ядра и латерально расположенного от него ядра Kolliker-Fusa, нейроны которых ответственны за частоту дыхания. Менее выраженные изменения отмечались на территории латерального ретикулярного ядра, участвующего в кардиоваскулярной регуляции. В кардиореспираторных ядрах определялись мозаично-мелкоочаговые ишемические повреждения нейронов. В ядрах моста через 3–4 сут выявлялось до 50% сморщенных, пикноморфных или резко оксифильных нейронов со сморщенным пикнотичным ядром, обнаруживался также частичный хроматолиз, явления острого набухания или «ишемические изменения», без тотального некроза клеток. При остром ишемическом набухании отмечалось просветление нуклеоплазмы и цитоплазмы нейронов из-за редукции рибонуклеопротеинов, увеличение объема ядра и цитоплазмы клетки. В эти же сроки отмечено снижение ядерно-цитоплазматического отношения в нейронах латерального ретикулярного ядра и парабрахияльных ядер на 17,2%, через 5 сут оно было снижено на 31%, за счет уменьшения объемов ядер. При этом можно предположить, что в эти сроки активируются процессы гибели нейронов путем апоптоза, морфологической особенностью которого является коллапс ядра. На 5–6-е сутки и в более поздние сроки отмечалась локальная миграция в зоны ишемии нейтрофильных гранулоцитов и макрофагов, разрушение отдельных астроцитов и олигодендроцитов и активация фагоцитарной активности микроглиоцитов. Итак, в основе поражения жизненно важных центров ствола мозга у больных с полушарными инсультами лежат сосудисто-дисциркуляторные изменения и ишемические повреждения нейронов кардиореспираторных ядер. Обнаруженные изменения могут являться морфологической основой нарушения кардиореспираторных функций ствола мозга и играть решающую роль в танатогенезе у больных с ОНМК.

204. *Фатеев И.В., Василевич С.В., Ченур С.В., Быков В.Н.*

Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

#### **ВЛИЯНИЕ ОТРИЦАТЕЛЬНО ЗАРЯЖЕННЫХ ЭЛЕКТРОДОВ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА ПОСЛЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ**

Влияние уровня окислительно-восстановительного потенциала тканей на активность факторов транскрипции и экспрессию генов остается предметом широкой дискуссии,

в которой принимают участие различные специалисты. Установлено, что прооксиданты усиливают активность факторов транскрипции и стимулируют синтез белков, необходимых для осуществления адаптации, а антиоксиданты в большинстве случаев, напротив, замедляют кинетику этих реакций. Учитывая данные биохимических исследований, возникла гипотеза о возможности изменения окислительно-восстановительного потенциала тканей и влияния на скорость репаративных процессов посредством пленок, на которых создается статический заряд определенной величины (электретов). В эксперименте на крысах моделировали повреждение волокон седалищного нерва официальным раствором хлорида кальция, который апплицировался на нерв после препарирования. Животным контрольной группы зону повреждения нервных проводников закрывали незаряженной тефлоновой пленкой, тогда как в подопытной группе применяли отрицательно заряженные пленки, покрытые пятиокисью тантала. Рану послойно ушивали. Животных выводили из опыта на 7-е сутки эксперимента. Иссеченные образцы тканей седалищного нерва обрабатывали стандартными нейростологическими методами с приготовлением как расщепленных, так и полутонких препаратов. Показано, что применение хлорида кальция способствует развитию отека интранервальной соединительной ткани с расширением капилляров и стазом крови в них. Нейролеммоциты увеличивались в размерах, а их перикарионы, а также расширенные за счет отека насечки миелина сдавливали осевой цилиндр, формируя варикозные деформации. К 7-м суткам у животных контрольной группы отмечали появление изменений цитоскелета нейритов с нарушением их целостности при валлеровской дегенерации. У подопытных животных, которым накладывали пленки с электретным покрытием, к окончанию периода наблюдения отмечали очаговую пролиферацию нейролеммоцитов и значительно большее количество тонких гипераргирофильных нервных волокон с колбами роста или без них. Количество же волокон, подверженных валлеровской дегенерации, на протяжении нерва оставалось без изменений, так же, как и количество тканевых базофилов и степень их дегрануляции. Развитие невромы не наблюдали, однако при применении электретных покрытий существенно возрастало количество клеток фибробластического дифферона и коллагеновых волокон, созревание которых изменяло направленный ход нервных волокон. Эти изменения представляли собой вариант своеобразной склеротизации нерва, однако ограничений для регенерации нейритов с характерными изменениями растущих волокон у крыс не прослежено. Таким образом, применение электретных покрытий способствовало активации пролиферации глиоцитов и элементов фибробластического дифферона, а также увеличивало количество вновь образованных нервных волокон. Стимулирующий эффект электретов не является тканеспецифичным и прослеживается как в поврежденном нерве, так и в окружающих его тканях.

205. Филимонов В.И.<sup>1</sup>, Тятенкова Н.Н.<sup>2</sup>, Невзорова М.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ярославская государственная медицинская академия;  
<sup>2</sup>Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Россия

#### МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЛУКОВИЦЫ БЕЛОЙ КРЫСЫ

Исследованы особенности строения обонятельных лукович белой крысы в 1-, 3-, 5-, 7-, 10-, 14-, 21-, 30-, 60-, 90-е и 180-е сутки после рождения (всего 44 наблюдения). Материал фиксировали в 4% формалине и заливали в парафин согласно общепринятой методике. Поперечные срезы обонятельных лукович окрашивали тионином по методу Ниссля. Сравнивали строение обонятельных лукович в медиальном, латеральном, вентральном и дорсальном секторах. В течение исследованного периода площадь сечения

обонятельных лукович увеличивалась, они вытягивались дорсо-вентрально. У новорожденных животных клубочки имели небольшой размер и располагались в 1 ряд с большими промежутками друг от друга. К 14-м суткам клубочки были расположены плотно, иногда группами по 3–4, в дорсальном секторе в 1, а в других секторах — в 1–2 ряда. Толщина слоя клубочков (СК), составлявшая у новорожденных  $50,6 \pm 2,6$  мкм, с возрастом увеличивалась, достигая у 2-месячных крыс  $145 \pm 12$  мкм, затем значимо не изменялась. Плотность расположения клубочков, после рождения равная  $20,9 \pm 1,1$  клубочков/мм, начала увеличиваться со 2-го по 6-й месяц жизни животных и составила в итоге  $42,4 \pm 2,3$  клубочков/мм длины одноименного слоя. За исследуемый период в 2 раза увеличилась и средняя площадь сечения клубочка, достигнув у 6-месячных животных  $2243 \pm 151$  мкм<sup>2</sup>. Митральные клетки, расположенные у новорожденных крысят в 2–4 ряда, у 21-суточных животных располагались преимущественно в 1 ряд. Плотность расположения митральных клеток уменьшалась от  $259 \pm 12$  клеток/мм длины слоя митральных клеток (СМК) у новорожденных до  $81,2 \pm 2,7$  клеток/мм у 6-месячных животных. Толщина СМК также уменьшилась с  $43,5 \pm 2,6$  до  $25,6 \pm 1,4$  мкм. Толщина плексиморфных слоев обонятельных лукович в течение исследуемого периода времени увеличивалась. Однако, если толщина наружного плексиморфного слоя (НПС) возросла почти в 4,5 раза, то толщина внутреннего плексиморфного слоя (ВПС) увеличилась незначительно — на 33%. Общее соотношение слоев, которое в ранние сроки можно представить так: СК3 (слой клеток-зерен) > СК > СМК > НПС > ВПС, у полугодовалых животных изменяется следующим образом: СК3 > НПС > СК > ВПС > СМК. Уже у новорожденных животных отмечалась асимметричность строения обонятельных лукович, которая с возрастом становилась все более выраженной. Толщина основных слоев обонятельных лукович: СК и СМК, плотность расположения клубочков и митральных клеток в разных секторах обонятельных лукович были различны. У новорожденных животных значения перечисленных показателей были максимальны в вентральном и медиальном и уменьшались в латеральном и дорсальном секторах. У взрослых крыс в порядке убывания следуют медиальный, латеральный, вентральный и дорсальный секторы. Таким образом, в первые полгода жизни увеличивалась площадь сечения обонятельных лукович белой крысы, толщина ее слоев (кроме СМК), площадь сечения и плотность расположения клубочков. Плотность расположения митральных клеток с возрастом уменьшалась. Во все исследованные сроки обонятельные луковичы белой крысы имели асимметричное строение.

206. Фоканова О.А., Румянцева Т.А.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия. E-mail: slav@yma.ac.ru.

#### ВЛИЯНИЕ ДЕСИМПАТИЗАЦИИ НА АКТИВНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ В НЕЙРОЦИТАХ БОЛЬШОГО ТАЗОВОГО ГАНГЛИЯ У БЕЛЫХ КРЫС

Цель настоящего исследования — выявить влияние химической десимпатизации на становление активности моноаминоксидазы (МАО) в нейронах большого тазового ганглия у растущей белой крысы. МАО выявляли методом Гленнера на криостатных срезах (толщиной 20 мкм) большого тазового ганглия у 48 самок белых крыс линии Вистар в возрасте от 30 до 180 сут. Десимпатизацию моделировали путем ежедневных инъекций гуанетидина ( $60–70$  мг/кг) с 3-х по 29-е сутки жизни крысы, что позволяет достичь гибели 90–95% нейроцитов в шейно-грудном ганглии. Активность МАО определяли на видеоанализаторе Bioscan (Минск, Конако) в цитоплазме нейроцитов. Параллельно, на парафиновых срезах ганглия, окрашенных тионином, оценивали степень выраженности дистрофических явлений. Полученные первичные данные обрабатывали ме-

тодами вариационной статистики с помощью программы Excel-97, значимость различий оценивали по критерию Стьюдента. Конечный продукт реакции на МАО в нейритах распределялся диффузно и в норме, и при десимпатизации. Средние показатели активности МАО в нейритах контрольной группы изменялись в пределах от 59,5 до 50,6 опт. ед. Максимальное значение активности отмечалось на 30-е сутки жизни животного (59,5 опт. ед.). На 60-е сутки показатель активности фермента понижался до 50,6 опт. ед. и впоследствии значимо не изменялся в течение всего периода наблюдения. Учитывая стабилизацию показателя, можно считать, что система вышла на дефинитивный уровень на 60-е сутки. На фоне введения гуанетидина наблюдалось снижение активности МАО, которое сохранялось еще в течение 1 мес после окончания инъекций, т. е. до 60-х суток жизни крысы. В период с 60-х до 90-х суток активность фермента возрастала до контрольного уровня ( $P > 0,05$ , различия 3–5%). У 90–120-суточных крыс показатель активности фермента не отличался от контроля. Однако в отдаленные сроки (150–180 сут) активность МАО вновь возрастала, превышая контрольный уровень на 28 и 21% ( $P > 0,05$ ) соответственно. Параллельно оценивали дистрофический индекс нейритов ганглия, который показал, что количество нервных клеток при десимпатизации резко снижено. Уже на момент окончания инъекций (30 сут) было отмечено резкое увеличение дистрофического индекса популяции нейритов, встречались гибнущие нейриты, серые шары. Количество дистрофически измененных нейритов было максимальным на 30–60-е сутки жизни крысы, а в отдаленные сроки постепенно снижалось. Это доказывает, что десимпатизация вызывает гибель значительной части нейритов вследствие первичного токсического эффекта гуанетидина или вторичной гибели вследствие дистрофического процесса. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что десимпатизация изменяет нормальное становление активности МАО в постнатальном онтогенезе крысы и приводит в конце наблюдения (на 150–180-е сутки) к компенсаторному повышению ферментной активности, направленному на восстановление уровня обмена катехоламинов в нейритах большого тазового ганглия.

207. Фрумкина Л.Е., Лыжин А.А., Боголепов Н.Н., Хаспеков Л.Г.

Научно-исследовательский институт мозга РАМН, Москва, Россия. E-mail: khaspek@cc.nifhi.ac.ru

#### УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ КОРРЕЛЯТЫ ОБРАТИМОСТИ ИШЕМИЧЕСКИХ НЕЙРОДЕСТРУКТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ-ЗЕРНАХ МОЗЖЕЧКА

Исследование механизмов повреждения нейронов и поиск нейропротекторных соединений при ишемической патологии ЦНС является актуальной проблемой современной неврологии. Важное место в решении этой проблемы занимает экспериментальное моделирование ишемических нейродеструктивных процессов *in vitro* с использованием культуры клеток и ткани различных структур головного мозга. Данная модель позволяет в строго контролируемых экспериментальных условиях оказывать дозированное ишемическое воздействие на культивируемые клетки, воспроизводимое путем кислородно-глюкозной депривации (КГД), изучать динамику и механизмы нейродеструктивных и репаративных процессов во время постишемического реоксигенационного периода, а также выявлять нейропротекторные свойства биологически активных веществ и фармакологических препаратов. В данной работе проведено сравнительное электронно-микроскопическое исследование патоморфологических изменений, происходящих в культивируемых нейронах сразу после КГД и в постишемический период, с целью определить вероятность обратимости этих изменений и восстановления нормальной ультраструктуры нейро-

нов во время реоксигенации. Работа выполнена на культурах клеток-зерен мозжечка 7–9-дневных крыс. Через 7–8 сут культуры подвергали КГД, для чего их переносили из питательной среды в деоксигенированный стандартный сбалансированный солевой раствор (pH 7,4), лишенный глюкозы, и помещали в атмосферу чистого аргона на 60–80 мин. Реоксигенацию проводили в течение 3–4 ч в том же солевом растворе, но с нормальным содержанием кислорода и глюкозы. Одновременно в таком же растворе на протяжении всего эксперимента инкубировали контрольные культуры. В течение всего периода *in vitro*, а также во время КГД и реоксигенации культуры выдерживали в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе (5%  $\text{CO}_2$ , 95% воздуха) при температуре  $35,5^\circ\text{C}$ . Для электронно-микроскопического исследования одну группу культур фиксировали сразу после КГД, другую — после реоксигенации. Контрольные культуры из той же серии фиксировали через 60–80 мин и 3–4 ч после инкубации в нормальном солевом растворе. О возможности обратимости начальных деструктивных изменений ультраструктуры нейронов свидетельствует исчезновение после реоксигенации таких нарушений, наблюдаемых сразу после КГД, как усиленная агрегация ядерного хроматина, умеренный гиперхроматоз и гомогенизация цитоплазмы, набухание митохондрий или уплотнение их матрикса. На активацию репаративных процессов во время реоксигенации указывает восстановление белоксинтезирующей и энергообразующей систем, о чем свидетельствует равномерное распределение полисом и рибосом в цитоплазме и на цистернах гранулярной эндоплазматической сети и появление крупных почкующихся митохондрий. Кроме того, появляются симметричные синаптические контакты, где аксоны идентифицируются по наличию в них большого количества синаптических пузырьков, что, вероятно, является следствием компенсаторной пространственной реорганизации и восстановления межклеточных взаимоотношений в результате активации сохранившихся контактов и элиминации неактивных форм синапсов. Полученные данные расширяют перспективу фармакологической коррекции нарушений ультраструктуры нейронов при ишемии с использованием нейротекторных соединений, которые, с одной стороны, могут способствовать ускорению обратимости этих нарушений, а с другой — препятствовать их развитию.

Исследование выполнено при поддержке Гранта РФФИ № 05-04-49444 и Гранта Президента РФ для ведущих научных школ № НШ-1799.2003.4.

208. Ховряков А.В., Круглякова Е.П., Шиханов Н.П., Подрезов М.А., Медведев Д.И., Сосунов А.А., Кругляков П.П.

Российский университет дружбы народов, Москва. E-mail: krp99@mail.ru; Мордовский государственный университет, г. Саранск, Россия. E-mail: khovryakov@mail.ru; Колумбийский университет, США

#### НЕЙРОН-ГЛИЯ-КАПИЛЛЯРНЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Важное теоретическое и практическое значение имеет изучение закономерностей морфологической перестройки, возникающей в нервной системе при действии различных стрессорных факторов. Стресс, или общий адаптационный синдром, является одной из наиболее распространенных реакций организма на неблагоприятные или новые условия существования. Практически все системы и органы вовлекаются в ответную реакцию, где нервная система, наряду с эндокринной, имеет определяющее значение, как в течение, так и в результирующем эффекте стрессового воздействия. Стресс, особенно хронический, может приводить к значительным нарушениям в ЦНС, что отчетливо проявляется как в изменении поведенческих реакций, так и в структурных изменениях многих областей головного мозга. Целью данного исследования было изучение структурных пе-

рестроек нейрон-глия-капиллярных взаимоотношений в коре головного мозга и гиппокампе белых крыс при хроническом стрессе. Церебральные сосудистые нарушения при хроническом стрессе проявлялись сосудистой дистонией, гипер- и гипотензивными состояниями. Гипотонические изменения выражались в нарушении сосудистого тонуса, главным образом капилляров, и наличии спавшихся стенок микрососудистого русла. Гипертонические изменения выражались в дилатации сосудов. Встречались сосуды с гомогенизированными утолщенными стенками и утолщением базальной мембраны эндотелия, вследствие гидратации и набухания, что ведет к нарушению как транспортных, так и, особенно, барьерных функций стенки капилляра. Также кровоснабжение клеток нарушалось вследствие наблюдаемого интерстициального отека в периваскулярном пространстве и расширения перикапиллярной «муфты» из-за набухания тел и отростков астроцитов. Все эти изменения, по-видимому, приводят к развитию церебральной гипоксии у экспериментальных животных, что вызывает ультраструктурные изменения нейронов и глиоцитов. Вслед за повреждением и гибелью нейронов остатки последних фагоцитируются клетками глии, что на фоне снижения активности лизосомальных ферментов приводит к накоплению в телах глиоцитов крупных вторичных лизосом и липофусциновых включений нейронального происхождения. В дальнейшем, по-видимому, глиальные макрофаги могут мигрировать к кровеносным сосудам, у стенок которых располагаются отростки и тела глиоцитов, нагруженные шлаками. В результате этого затрудняется обмен между кровью и тканью мозга, что в свою очередь приводит к дальнейшему углублению деструктивных изменений в нейронах. Таким образом, при хроническом стрессе наблюдаются ультраструктурные изменения компонентов гематоэнцефалического барьера в виде: дистрофических изменений эндотелия сосудов, утолщения его базальной мембраны и расширения перикапиллярного пространства. Итак, наше исследование показало, что отмеченные изменения имеют дезадаптационный характер, способствуя развитию гипоксии и последующим патологическим изменениям нейронов и глиоцитов.

209. Хожай Л.И., Неокесарийский А.А.

Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: astarta05@rambler.ru

**ДИНАМИКА ФОРМИРОВАНИЯ АСТРОЦИТОВ И ИХ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ В НЕОКОРТЕКСЕ МЫШИ ПОСЛЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО БЛОКИРОВАНИЯ СИНТЕЗА СЕРОТОНИНА**

Иммуногистохимическое исследование показало, что в норме у мышей клетки, дающие положительную реакцию на глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), появляются в 1-ю неделю после рождения в слое I во всех исследованных областях неокортекса. По мере развития процесс дифференцировки астроцитов постепенно интенсифицируется. В первые постнатальные дни тела астроцитов и их отростки появляются вокруг сосудов и около стенок боковых желудочков. В неокортексе животных, развивающихся в условиях блокирования синтеза серотонина, в 1-й постнатальный день обнаружена крайне слабая реакция на GFAP только вокруг очень крупных сосудов мозга. На 10-е сутки постнатального развития у них в слое I area cingularis, occipitalis, temporalis число GFAP-реактивных тел клеток и их отростков меньше, чем у контрольных животных и примерно соответствует их числу в аналогичных областях на 5-е сутки постнатального развития. В других слоях неокортекса GFAP-положительные тела клеток и их отростки не выявляются, а в белом веществе их значительно меньше, чем в контроле. В исследовании особое внимание было обращено на ультраструктуру глиоцитов, которые играют важную роль как в обмене веществ между нейронами и крове-

носной системой, так и в формировании гематоэнцефалического барьера. Электронно-микроскопическое исследование показало, что у животных, развивающихся на фоне дефицита серотонина, на 30-е сутки постнатальной жизни характерной структурной особенностью астроцитов, в отличие от контроля, явилось наличие многочисленных вакуолей в цитоплазме. Значительное их количество присутствует в отростках астроцитов, прилегающих к базальной мембране капилляров. Клетки микроглии, обнаруженные в нейропиле верхних слоев неокортекса, обладают чрезвычайно высокой электронной плотностью. В цитоплазме присутствуют плотно расположенные гранулы. Ядро также электронно-плотное с неровными трудноразличимыми контурами. Эти клетки своими отростками контактируют с дендритами, аксонами и синаптическими окончаниями и окружают их. Часто эти клетки трансформируются в макрофаги и фагоцитируют погибшие клетки. Выявленная высокая фагоцитарная активность глиальных макрофагов, вызвана значительной гибелью нейронов во всех слоях неокортекса.

*Работа поддержана грантом РФФИ 04-04-48227 и Программой Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине».*

210. Цехмистренко Т.А., Черных Н.А.

Российский университет Дружбы народов, Институт возрастной физиологии Российской академии образования, Москва, Россия. E-mail: anatomy@med.rudn.ru

**АНСАМБЛЕВАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЭКРАННЫХ СТРУКТУР МОЗГА КАК ОСНОВА АНАЛИЗА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ КОРЫ МОЗЖЕЧКА ЧЕЛОВЕКА В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

С целью анализа особенностей морфофункциональных изменений экранных структур мозга человека в постнатальном онтогенезе изучали структурные аналоги модульной организации в коре полушарий мозжечка людей от рождения до 20 лет. Материал исследования (всего 118 наблюдений) группировали с годовыми интервалами. Для оценки специфики возрастных изменений нейроархитектоники в функционально различных отделах коры на верхней и нижней поверхностях полушарий применяли компьютерные методы количественных гистологических исследований. Установлено, что в ходе возрастных преобразований происходит увеличение площадей группировок (кластеров) зернистого слоя во всех исследованных корковых зонах. Совершенствование кластерной организации проявляется уменьшением относительного количества мелких и увеличением количества средних, крупных и сверхкрупных группировок, распределение которых по размерным классам во всех возрастных группах подчиняется закону Пуассона. Сопоставление полученных результатов с данными о функциональных особенностях микроструктурных компонентов позволило сформулировать гипотезу о двухуровневом слоисто-кластерном принципе ансамблевой организации коры мозжечка. В соответствии с последним, морфологической основой внутрикоровых модулей мозжечка являются 2 типа специфических локальных сетей. Сенсорные локальные сети 1-го уровня приурочены к гранулярному слою мозжечка; их автономность прослеживается в кластеризации этого слоя благодаря гнездным скоплениям клеток-зерен, включающих окончания моховидных волокон и клетки Гольджи. На данном уровне ансамблевой организации обеспечивается обработка различных входных сигналов о работе текущих двигательных синергий и информации от дистантных рецепторов на основе принципа сенсорных коррекций, а также формирование и синхронизация вызванной притоком афферентной информации ритмической активности, транслируемой на грушевидные клетки через параллельные волокна. Моторные локальные сети 2-го уровня обеспечивают выходные сигналы из коры мозжечка и тем самым оп-

ределяют степень церебеллярных регуляторных влияний на другие отделы мозга. Основу модульной организации моторных сетей 2-го уровня составляют грушевидные клетки с автономным, компактным и регулярным распределением дендритных и аксонных арборизаций друг относительно друга, обеспечивающие фазный специфический выход нейронных ансамблей. На 2-м модульном уровне последовательно-избирательная конвергенция возбуждения осуществляется благодаря включению в локальные распределенные сети корзинчатых, и звездчатых нейронов молекулярного слоя, а также лиановидных волокон. Гипотеза о двухуровневой слоисто-кластерной модульной организации коры мозжечка позволяет не только проследить специфику возрастных изменений модульной организации в функционально разных корковых зонах, но и обсудить некоторые возможные функциональные последствия различий в темпах созревания тех или иных компонентов коры мозжечка.

211. Чайковский Ю.Б., Геращенко С.Б., Дельцова Е.И.

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев; Ивано-Франковский государственный медицинский университет, Украина. E-mail: axon@optima.com.ua

#### **ПЕРИФЕРИЧЕСКИЙ НЕРВ: НЕЙРО-СОСУДИСТО-ДЕСМАЛЬНЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ**

В экспериментах на собаках и белых крысах установлены закономерности протекания реактивных, альтеративных, компенсаторных реакций и процессов регенерации периферических нервов, которые возникают при различных патогенных воздействиях. В основу работы положен принцип комплексного изучения всех составных частей периферического нерва и его сегментарных центров с учетом взаимодействий между нейронами и перинейрональными структурами, которые обеспечивают трофику нервной клетки (гемомикроциркуляторное русло, глиоциты, соединительнотканная строма). Применение указанных методических приемов позволило раскрыть новые аспекты и установить закономерности протекания регенераторного процесса в периферических нервах после их перерезки и с использованием различных способов сшивания, видов шовного материала и методов фармакологической коррекции. Установлено, что в области регенерационной невротомии наблюдается соответствие в расположении нервных, сосудистых и соединительнотканых элементов. Показано, что особенности реактивных свойств гемомикроциркуляторного русла периферических нервов и зависимость его структуры от строения соединительной ткани регенерационной невротомии следует учитывать при внедрении в практику нейрохирургии новых материалов и методов нейрорафии. Нами установлено, что отморожение тазовых конечностей вызывает существенные изменения гемомикроциркуляторного русла седалищного нерва крыс (увеличивается его емкость, повышается проницаемость гемато-эндоневрального барьера, возникает вазогенный отек эндоневрия), что ведет к прогрессированию дегенеративных изменений нервных волокон. В условиях эксперимента изучены закономерности морфогенеза токсических нейропатий, вызванных антибластомными препаратами разных классов (этопозид, доксорубин, цисплатин, винкристин). Они различаются характером морфологических изменений, их последовательностью и сроками возникновения. Это обусловлено отличиями в воздействии химиопрепаратов на различные компоненты нейроглиокапиллярных комплексов периферических нервов, спинномозговых узлов и двигательных сегментарных центров. Нами впервые показано, что этопозид-индуцированная нейропатия развивается как первичная аксонопатия. Прогрессирование дегенеративных изменений нейронов обусловлено глубокими нарушениями гемато-эндоневрального барьера периферических нервов, гемато-энцефалического барьера двигательных сегментарных центров и отеком стро-

мы спинномозговых узлов с гибелью большого числа сенсорных нейроцитов. В патогенезе доксорубин-индуцированной нейропатии существенную роль играет нарушение системы эндоневральной микроциркуляции, наряду с непосредственным токсическим влиянием на перикарионы двигательных и сенсорных нейроцитов. В отличие от описанных выше нейропатий смешанного характера, цисплатин вызывает повреждение перикарионов и периферических отростков афферентных нейроцитов, связанное с преимущественным поражением их белоксинтезирующего аппарата. Возникающие на поздних этапах нейропатии нарушения гемомикроциркуляторного русла седалищного нерва и спинномозговых узлов способствуют углублению дистрофических изменений. В опытах по моделированию винкристин-индуцированной нейропатии нами показано, что нарушения аксонного транспорта, связанные с повреждением микротрубочек преимущественно чувствительных нейроцитов, усугубляются гипоксией нервного ствола.

212. Чайковский Ю.Б., Сокуренок Л.М.

Национальный медицинский университет, г. Киев, Украина. E-mail: l-sokurenko@mail.ru

#### **РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ СПИННОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ МИКРОМЕРКУРИАЛИЗМА**

В условиях урбанизации и развития промышленности происходит интенсивное загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами. При длительном воздействии их на организм человека даже в небольших концентрациях возникают отравления. Одним из наиболее опасных загрязнителей является ртуть и ее соединения. Основным клиническим проявлением интоксикации последними является неврологический синдром. Данных о морфологическом субстрате нейротоксикации солями ртути и фармакологических эффектов нейротропных препаратов в условиях микромеркуриализма недостаточно, что требует более глубокого изучения этой проблемы. Цель нашего исследования — выявить особенности структурных нарушений поясничных и крестцовых сегментов спинного мозга в условиях микромеркуриализма, а также под влиянием фармакологических протекторов. Экспериментальные исследования проведены на 60 белых крысах линии Вистар, разделенных на 6 групп. Первую группу составили интактные животные. Второй группе крыс вводили хлорид ртути в дозе 1/100 ЛД<sub>50</sub> внутривенно (10 введений в течение 2 нед) и 50 введений (в течение 10 нед). В остальных 4 группах на такой же модели интоксикации изучали влияние унитиола, тиотриазолина, магния-В6 и милдроната, которые использовали для монотерапии после прекращения введения сулемы в течение 2 нед перед умерщвлением животных. Исследовали препараты спинного мозга, окрашенные по Нисслю с помощью морфометрических методов. Анализ полученных результатов показал, что профилактические введения унитиола сдерживают токсические влияния соли ртути на мотонейроны спинного мозга. Использование магния-В6 нормализует морфометрические показатели мотонейронов спинного мозга, что подтверждает его нейротропное действие. Это влияние более выражено при длительном (10 нед) введении малых доз хлорида ртути. При использовании препарата Тиотриазолин наблюдаются те же тенденции, что и при применении универсального антидота унитиола. Морфометрическая картина изменений мотонейронов спинного мозга и глиоцитов, окружающих их, свидетельствует о большей степени их выраженности в условиях микромеркуриализма под влиянием тиотриазолина. Коррекция изменений морфометрических показателей мотонейронов спинного мозга и окружающих их глиоцитов препаратом Милдронат в условиях микромеркуриализма так же является эффективной, что подтверждается статистическими данными. Проведенные исследования демонстрируют

статистически значимые морфологические изменения в нейронах спинного мозга под действием малых доз соли ртути. При фармакологической коррекции микромеркуриализма выявлена эффективность антидотной терапии тиотриазолином, а также подтверждены нейропротекторные свойства магния-В6 и позитивное влияние метаболитного препарата Милдронат, что позволяет включать их в схему лечения хронической интоксикации.

213. Чалисова Н.И., Закуцкий А.Н., Комашня А.В., Анискина А.И., Соловьев А.Ю., Филиппов С.В.

Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

#### МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ АМИНОКИСЛОТ В КУЛЬТУРЕ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ

В настоящее время накапливаются данные о возможностях применения аминокислот при лечении ряда злокачественных опухолей — рака предстательной железы, лимфом [Talberg et al., 1997, 1999; Naase et al., 2002], что может быть связано с усилением апоптоза под влиянием аминокислот. Проведено скрининговое исследование влияния 20 заменимых и незаменимых аминокислот на развитие органотипической культуры фрагментов незрелой ткани селезенки 1-дневных крыс. Эксплантаты развивались в чашках Петри на коллагеновой подложке в питательной среде, содержащей одну из аминокислот в эффективной концентрации 0,05 нг/мл. Оценивали морфометрическими методами индекс площади (ИП), как показатель развития эксплантатов, индекс апоптоза (ИА) при окраске по методу Мозера и иммуногистохимическим методом исследовали экспрессию проапоптотического белка p53. В культуре незрелой лимфоидной ткани все аминокислоты, за исключением глицина, гистидина, метионина, лейцина и изолейцина, вызывали апоптоз, который был особенно отчетливо выражен при действии четырех полярных аминокислот — лизина, аргинина, аспарагина и глутаминовой кислоты. При этом ИП уменьшался на 28–40% по сравнению с контролем. В то же время ИА увеличивался при действии данных аминокислот на 40–120%, что отражает участие процессов апоптоза в ингибировании развития незрелой лимфоидной ткани 1-дневных крыс. При иммуногистохимическом исследовании найдено, что экспрессия белка p53 в зоне роста эксплантатов увеличивается — под влиянием глутаминовой кислоты на 38%, аспарагина на 24%, лизина на 25%. Таким образом, аминокислоты, являющиеся структурными элементами молекул белков и пептидов, сами могут обладать модулирующими свойствами в отношении основных физиологических процессов (пролиферации и апоптоза) в клетках лимфоидной ткани. Во 2-й серии опытов для изучения механизмов этих эффектов использовали аминокислоты, ковалентно связанные с поверхностью пор (диаметром 30–500 нм) трековых мембран, (созданных на основе полиэтилентерефталата), в тех же расчетных концентрациях, что и в 1-й серии. Мембраны помещали на коллагеновую подложку, эксплантаты росли на них, причем в контроле на мембранах, не связанных с аминокислотами, ИП эксплантатов селезенки не отличался от ИП контрольных эксплантатов в 1-й серии, т. е. сами мембраны не оказывали влияния на развитие эксплантатов. Мембраны с лизином или глутаминовой кислотой вызывали такое же снижение ИП, как в 1-й серии. Так глутаминовая кислота снижала ИП на  $43 \pm 11\%$  ( $n=20$ ,  $P<0,05$ ) по сравнению с контролем ( $n=18$ ). Можно полагать, что глутаминовая кислота и лизин оказывают влияние через рецепторы на клеточной мембране, так как растущие клетки эксплантатов селезенки непосредственно соприкасались с аминокислотами, ковалентно связанными с поверхностью мембран. Однако мембраны с аргинином и аспарагином не оказывали влияния на развитие эксплантатов, и ИП оставался на уровне контроля. Таким образом, эти аминокислоты действуют на лимфоидные клетки, по-видимому, только при свободном нахождении в питательной среде и могут проникать в клетки с помощью переносчиков, например, катионных аминокислотных транспортеров.

214. Черных Н.А.

Российский университет дружбы народов, Москва, Россия. E-mail: anatomy@med.rudn.ru

#### НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВОЗРАСТНЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ ЦИТОАРХИТЕКТониКИ, ФИБРОАРХИТЕКТониКИ И МОДУЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЛОБНОЙ КОРЫ БОЛЬШОГО МОЗГА И КОРЫ МОЗЖЕЧКА ЧЕЛОВЕКА

Изучены особенности макро- и микроуровневой структурной организации лобной области коры большого мозга и коры мозжечка человека от рождения до 20 лет (118 наблюдений). Для гистологического анализа кусочки коры брали в полях 44, 45, 8, 10 и 32/10 лобной коры и в 17 корковых зонах, относящихся к архи-, палео-, пренео- и неоперебеллуму. На сагиттальных срезах, окрашенных по Нисслю, импрегнированных нитратом серебра по Петерсу и Гольджи, используя компьютерный анализ оптических изображений, исследовали региональные особенности развития группировок нейронов и пучков радиарных волокон в ансамблеобразующих слоях коры полушарий большого мозга, а также грушевидных нейронов, клеток Гольджи и клеточных агрегаций зернистого слоя в коре мозжечка. Исследование динамики возрастных преобразований цитоархитектоники, фиброархитектоники и модульной организации лобной коры большого мозга человека показало, что в постнатальном онтогенезе формообразующим фактором в структуре внутрикорковых ансамблей является образование микроциркуляторного русла и созревание пирамидных нейронов. Темпы развития пирамидных и звездчатых нейронов тесно связаны с развитием волокнистого компонента коры, уровнем афферентации и степенью вовлечения в систему внутрикорковых связей. Выявлена специфичность структуры и установлены особенности возрастных преобразований микроансамблей функционально различных полей лобной коры. На 1-м году жизни и в течение первого детства развиваются преимущественно базальные отделы группировок, тогда как после 5–6 лет наблюдается интенсивное развитие их апикальных отделов. Во всех группировках в постнатальном онтогенезе присутствуют мелкие пирамидные нейроны, составляющие, по-видимому, морфофункциональный клеточный резерв, обеспечивающий надежность функционирования неокортекса. В исследуемых полях веретенообразные интернейроны располагаются, как правило, вне группировок III и V слоя, обеспечивая тормозные влияния на несколько смежных группировок одновременно. В то же время активность нейронов, входящих непосредственно в состав гнездных группировок, по-видимому, регулирует интернейронный аппарат, включающий мультиполярные длинно- и короткоаксонные нейроны. Такие различия в регуляции деятельности группировок предопределены структурой последних: малоклеточные, состоящие преимущественно из однородных пирамидных нейронов лестничные группировки резко контрастируют с многоклеточными, включающими различные по типам, форме и размерам нейроны, гнездными группировками смешанного типа. Несмотря на структурные различия, во всех исследованных полях лобной коры с возрастом, особенно после 11–12 лет, отмечается уменьшение плотности расположения нейронов в группировках, что, по-видимому, связано с постепенным нарастанием волокнистого компонента в лобной коре. В коре мозжечка в ходе постнатального развития на микроструктурном уровне наблюдается увеличение в объеме грушевидных нейронов и клеток Гольджи, усложнение дендритных и аксонных арборизаций интернейронов молекулярного слоя. Нейроны постепенно приобретают специализированную форму и характеризуются полиморфностью клеточных тел, структуры и пространственной ориентации дендритных ветвлений. Наблюдается увеличение площади профильных полей и усложнение композиции нейронных группировок зернистого слоя. Гетероморфность и зональная гетерохрония в развитии микроструктурных компонентов коры мозжечка прослеживается до 12–15 лет.

215. Чмыхова Н.М.<sup>1</sup>, Бабалян А.Л.<sup>1</sup>, Дитятев А.Е.<sup>2</sup>, Веселкин Н.П.<sup>1</sup>, Клеман Х.-Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия; E-mail: nchmykhova@mail.ru; <sup>2</sup>Институт физиологии Бернского университета, Швейцария

### ТРЕХМЕРНАЯ СТРУКТУРА ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ ВХОДОВ ПОЯСНИЧНЫХ МОТОНЕЙРОНОВ ЛЯГУШКИ

В электрофизиологических экспериментах на изолированном препарате спинного — продолговатого мозга лягушек *Rana ridibunda* и *Rana temporaria* с параллельными внутриклеточными отведениями от поясничных мотонейронов и моносинаптически связанных с ними ретикулоспинальных, проприоспинальных и дорсальнокорешковых волокон осуществляли инъекцию маркеров, пероксидазы хрена или нейробиотина, в оба элемента для выявления структуры связи. Настоящая работа представляет анализ компьютерных реконструкций трех идентифицированных синаптических входов поясничных мотонейронов лягушки. Для сравнения были выбраны пары волокно — мотонейрон с числом возможных контактов около 20. Показано, что дендритное поле мотонейронов очерчивалось эллипсоидом, вытянутым в ростокаудальном направлении; связи устанавливались 1–6 коллатеральными волокнами, а все возможные контакты обнаруживались в сером веществе. Наряду с основным местом окончания первичных афферентов дорсального корешка на дорсальном дендритном дереве (16 контактов), контакты располагались и на вентромедиальном дендрите (3 контакта). Ретикулоспинальное волокно оканчивалось на четырех дендритных деревьях, вентромедиальном, дорсальном и двух ростокаудальных (19 контактов). Контакты проприоспинального волокна с регистрируемым мотонейроном распределялись на его 2 вентромедиальных дендритах (20 контактов и 1 контакт). В результате исследования были получены данные, свидетельствующие о том, что не только дорсальное, латеральное и дорсомедиальное дендритные деревья поясничных мотонейронов лягушки являются каналами получения афферентных импульсов дорсальнокорешковых и нисходящих волокон вентролатеральных трактов [Szekely, 1976], но и ростокаудальные и вентромедиальные дендриты.

Работа выполнена при поддержке грантами РФФИ (проект 05-04-48296), (проект 03-04-49643), Министерства образования и науки (проект НШ — 2165.2003.4), СПб НЦ РАН и Швейцарского национального научного фонда (проект 31-45729.95).

216. Чучков В.М., Селякин С.П., Назаров С.Б.

### ИЖЕВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ, РОССИЯ ПРИМЕНЕНИЕ ГИДРОКСИАПАТИТОВОГО КОМПОЗИТА «ЛИТАР» В УСЛОВИЯХ ИНФЕКЦИОННО-АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ДЛЯ РЕПАРАЦИИ ТКАНЕЙ ЛЕГКОГО

Биодеградирующие имплантационные материалы на основе полимерной органической матрицы и гидроксиапатита могут найти широкое применение в различных отраслях медицины. Физико-химические исследования кинетики деминерализации материала «ЛитАр» и экспериментально-морфологический анализ его биодеградации в зоне имплантации позволили получить достоверные данные о том, что фактором, индуцирующим репаративную регенерацию, является не гидроксиапатит, а коллаген. Имплантацию материала «ЛитАр» в паренхиму легких собак, страдающих фиброзно-кавернозным туберкулезом, осуществляли в стерильных условиях под внутривенным наркозом. После обработки операционного поля выполняли боковую торакотомию слева, производили заполнение легочной каверны материалом «ЛитАр» с последующим ее ушиванием. На 3-, 14-е и 25-е сутки производили реторакотомию и резекцию ле-

вого легкого. Полученный материал легкого изучали гистологически и под электронным микроскопом. В зоне имплантации материала «ЛитАр» в паренхиму легких в течение 1-х суток после операции наблюдалась его интенсивная биодеградация. Среди коллагеновых волокон определялось большое число иммунокомпетентных клеток с преобладанием эозинофильных гранулоцитов. Значительное число клеток фиксировалось к набухшим коллагеновым волокнам, которые в зонах контакта истончались, разрыхлялись и фрагментировались. Зона имплантации материала «ЛитАр» через 14 сут после операции представляла собой скопление неизмененных и распадающихся нейтрофильных гранулоцитов, сохраненных эозинофильных гранулоцитов и многочисленных групп гигантских клеток, различных по форме и площади, а также небольших фрагментов коллагеновых волокон. На 25-е сутки после операции в зоне имплантации материала «ЛитАр» наблюдалось скопление многоядерных гигантских клеток в кооперации с лимфоцитами и макрофагами. Лишь в отдельных участках обнаруживались фагоциты, разрушающие тканевый детрит с включенными в него группами нейтрофильных гранулоцитов. Материал «ЛитАр» постепенно замещался растущей грануляционной тканью с большим числом кровеносных микрососудов. Интенсивное новообразование микрососудов наблюдалось и на значительном удалении от зоны имплантации материала «ЛитАр» в паренхиме легкого и висцеральной плевро. Таким образом, материал «ЛитАр» не вызывал в паренхиме легких выраженных воспалительных изменений и подвергался быстрой биодеградации. Он индуцировал развитие грануляционной ткани и микрососудистого русла.

217. Шарафутдинова Л.А., Калимуллина Л.Б., Минибаева З.Р.

Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия. E-mail: sharipoval@yandex.ru

### СВЕТЛЫЕ НЕЙРОНЫ ЦЕНТРАЛЬНОГО ЯДРА МИНДАЛЕВИДНОГО ТЕЛА МОЗГА: УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

Показано, что нейроны центрального ядра миндалевидного тела участвуют в половой дифференциации мозга [Акмаев И.Г. и Калимуллина Л.Б., 1993]. Результаты иммуногистохимических исследований свидетельствуют о том, что нейроны центрального ядра обладают ароматазной активностью [Shinoda et al., 1994], которая выявлена в ядерной оболочке и в эндоплазматической сети. Этот факт подсказал возможность существования в составе центрального ядра нейроэндокринных нейронов. Цель данного исследования — ультраструктурный анализ светлых нейронов центрального ядра, направленный на подтверждение высказанного предположения. Исследования проведены на половозрелых крысах линии Вистар. Материал для исследования брали под контролем бинокулярного микроскопа, фиксировали в охлажденном 2,5% глутаральдегиде на фосфатном буфере (рН 7,4) и дополнительно фиксировали в 2% растворе OsO<sub>4</sub>. После проводки кусочки мозга заливали в эпон-812. Ультратонкие срезы готовили на микро-томе LKB-III и просматривали в трансмиссионном микроскопе JEM-100S. Электронно-микроскопический анализ позволил выявить, что для светлых нейронов характерно наличие светлого крупного ядра и электронно-прозрачной цитоплазмы. Контур ядра в большей части клеток ровные с небольшими деформациями из-за незначительных выбуханий и инвагинаций. Около внутренней ядерной мембраны локализуется краевой хроматин. Перинуклеарное пространство представлено узкой щелью с небольшими участками расширений. Нуклеоплазма содержит немногочисленные интер- и перихроматиновые гранулы. В центре ядра определяется компактное ядрышко. В цитоплазме выявляются митохондрии, расположенные группами в различных зонах клетки. Комплекс Гольджи локализован в перинуклеарной зоне перикариона, и содержит небольшое количество цистерн и микропузырьков. В периферических зонах цитоплазмы определяются осмиофильные лизосомы, которые часто имеют причудливые очертания. В перикарионе светлых нейронов определяются эле-

ментарные нейросекреторные гранулы, диаметр которых находится в пределах от 70 до 110 нм.

*218. Швалев В.Н.*

Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ СР, Москва; Международный университет природы, общества и человека «Дубна», Россия

**НОВОЕ В ПРЕДСТАВЛЕНИЯХ О ГИСТОГЕНЕЗЕ НЕРВНОЙ ТКАНИ В СОСТАВЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ И ЕЕ ИНВОЛЮТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ**

Как известно, в процессе миграции нейробластов из нервной трубки, нейрогистохимические реакции еще не позволяют обнаружить в их составе основные медиаторы, в частности, ацетилхолин и норадреналин. Проникновение нервных терминалей во внутренние органы происходят как правило гетерохронно в краниокаудальном направлении. Рассмотрим процесс формирования нервных сплетений внутренних органов в основном на примере сердца и почек. Нами обнаружено, что вращение нервных волокон в сердце происходит уже на 5-й неделе пренатального развития, а в почки лишь на 9-й неделе. Ранее в работах школы Д.М.Голуба и других исследованиях было указано, что в эти сроки уже начинается влияние нервных сплетений на ткани, однако оказалось, что гистогенез нервной ткани может считаться полноценным, лишь только когда основные медиаторы начинают определяться в нервных сплетениях, и этот процесс происходит на 8–9-й неделях онтогенеза в сердце и 10–11-й неделях в почках, т. е. совпадает с началом плодного периода. При исследовании постнатального развития нервного аппарата сердца человека в норме нами впервые (труды 2-го Советско-Американского симпозиума по проблеме «Внезапная смерть», 1979) количественными нейрогистохимическими методами был выявлен феномен ранних постнатальных инволютивных изменений адренергических сплетений. Снижение плотности симпатических сплетений было установлено после наступления 35-летнего возраста в рабочей мускулатуре сердца и по ходу его проводящей системы [Швалев В.Н., 1980]. Это явление сопровождалось, как показали параллельно проведенные на миокарде человека электрофизиологические наблюдения Р.И.Абрайтиса и Р.А.Стропуся (1981), резким нарастанием адренореактивности десимпатизированных участков мышцы сердца, согласно закону Кеннона—Розенблюта о повышении чувствительности денервированных тканей к различным факторам. Описанные данные были получены на материале ранних вскрытий людей, погибших при несчастных случаях. Прошло два десятилетия и в 1998–2005 гг. В.Н.Швалевым и Н.А.Тарским были опубликованы результаты модифицированного время-частотного спектрального анализа вариабельности сердечного ритма у 42 людей разного возраста. Анализ последовательных кардиоинтервалов позволяет оценивать модуляции сердечного ритма, вызванные воздействием, как симпатических, так и парасимпатических нейротрансмиттеров. Для изучения симпатических управляющих воздействий используется низкочастотный (НЧ-) диапазон спектра, т. е. мощность в области частоты порядка 0,1 Гц. Суммарная мощность в этом диапазоне, в определенных пределах, нарастает при активации симпатических нейронов и увеличении темпа высвобождения норадреналина в синаптическую щель. Циклическое воздействие норадреналина на  $\beta$ -адренорецепторы сердечного пейсмекера приводит к увеличению спектральной мощности НЧ-диапазона спектра. При анализе полученных данных выяснилось, что суммарная мощность НЧ-диапазона снижается с возрастом, причем это снижение имеет нелинейный характер, что совпадает с упомянутыми выше полученными В.Н.Швалевым и соавт. (1980, 1992) количественными нейрогистохимическими данными. Электрофизиологические исследования показали, что до наступления четвертого десятилетия жизни первоначальное снижение незначительно, однако после

четвертой декады жизни начинается неуклонное падение НЧ-мощности, достигая к 70-летнему возрасту в норме крайне низких значений. Из литературных источников известно, что у пожилых людей увеличена импульсная активность периферических симпатических нейронов и трафик числа импульсов по соответствующим аксонам. Кроме того, в плазме крови, взятой из коронарного синуса, с возрастом обнаруживается более высокое содержание норадреналина, чем у молодых людей. Противоположная направленность результатов биохимических и электрофизиологических данных с одной стороны, и данных, получаемых методами спектрального анализа сердечного ритма с другой, требует своего объяснения. Упомянутые кажущиеся противоречия объясняются следующим образом. Снижение спектральной мощности сердечного ритма появляется закономерно в условиях избыточной концентрации норадреналина в синаптической щели, так как нарушается цикличность изменений этой концентрации, а также цикличность активации  $\beta$ -адренорецепторов. Десенситизация  $\beta$ -адренорецепторов и снижение их количества на постсинаптической мембране клетки-эффектора развивается как компенсаторная реакция. В результате снижается токсическое воздействие катехоламинов на клетку, но не прекращается угнетение НЧ-мощности. Избыточное содержание норадреналина предъявляет повышенные требования к системе его элиминации. Подавляющая часть высвобожденного норадреналина (около 85%) удаляется из синаптической щели за счет обратного захвата системой транспортеров, находящихся на пресинаптической мембране. В условиях дегенерации большинства адренергических сплетений сердца и снижения обратного захвата не происходит удаление норадреналина из тканей сердца и кровеносного русла. В результате сопоставления морфофизиологических данных был подтвержден феномен ранних инволютивных изменений симпатической иннервации сердца человека в норме. Анализ симпатической активности при гипертонической болезни позволил, однако, установить ее большое снижение по сравнению с нормой. Констатируемое при этом учащение импульсации, несомненно, не компенсирует снижение адаптационно-трофических симпатических влияний ВНС на сердечно-сосудистую систему.

*219. Швалев В. Н., Ким А.И., Маргарян Р.С.*

Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ СР; Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулева РАМН, Москва, Россия

**ОСОБЕННОСТИ ИННЕРВАЦИИ СЕРДЦА У НОВОРОЖДЕННЫХ И ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА**

В настоящее время распространены врожденные пороки сердца (ВПС), подлежащие хирургическому лечению. Отмечается тенденция к возрастанию частоты указанных пороков, помимо этого повысились вероятность и качество внутритрубной диагностики ВПС. Нами проведены исследования сердец новорожденных и детей с ВПС 1-го года жизни (операционного биопатного материала) посредством нейрхимических методов. Применяли методы импрегнции срезов солями серебра по Бильшовскому—Грос, а также выявление парасимпатических (холинергических) структур по методу Карновского—Рутс и симпатических (адренергических) нервных сплетений флюоресцентным методом в модификации В.Н.Швалева и Н.И.Жуковой (1979). Установлено, что нервный аппарат сердца изменяется при дефекте межжелудочковой перегородки (ДМЖП) и тетраде Фалло (ТФ), но нарушения безмиелиновых и миелиновых нервных волокон наблюдаются в меньшей степени, чем при более тяжелых пороках, таких как транспозиция магистральных артерий, двойное отхождение сосудов от правого желудочка, атрезия легочной артерии. Хирургическая практика показывает, что при ДМЖП и ТФ выжи-

ваемость оперированных детей выше, чем при других более тяжелых по течению ВПС. Это согласуется с наблюдениями А.Н.Миролюбова (2005), выполненными при консультации академика РАМН Л.А.Бокерия, и академика РАЕН В.Н.Швалева. При люминесцентной микроскопии адренергические волокна, обнаруживаемые при ВПС, имеют сниженную флюоресценцию; отдельные нервные терминалы дегенерируют.

220. Шмидт-Сидор Б., Шиманьска К., Виежба-Бобрович Т., Стемпиев Т.

*Schmidt-Sidor B., Szymańska K., Wierzba-Bobrowicz T., Stepień T.*

Department of Neuropathology, Institute of Psychiatry and Neurology; Neurological Clinic of Children, Institute of Mother and Child, Warszawa, Poland

#### **BRAIN MALFORMATIONS IN THE FETUS FROM ANIRIDIC PARENTS**

We report a case of malformed fetus whose parents were aniridic (both sporadic cases)-so most probably, it was homozygotic for mutations in PAX 6 genes. Ultrasonography of the fetus performed at 25th week of gestation revealed gross intracranial malformation described as «possible schizencephaly». The pregnancy was terminated at 24 week of gestation. It was a female fetus that weighted 458g, its length was 36 cm, head circumference was 23 cm. The general autopsy showed: palpebral fissures were fused and the eyes apparently absent, the nose was rudimentary with very narrow anterior nostrils. The palate was high arched. There were no malformations of the inner organs. Postmortem X-ray showed proportional shape of the skull, but the brain was very small filling only 1/3 of the cranial cavity. Macroscopically, the brain was very small. The surface of the brain hemispheres seemed to be constructed by loosely joined global structures of brain tissue. Olfactory bulbs, optic nerves, chiasm and tracts were absent. The brain stem and the cerebellum were small, the spinal cord was normal. The frontal sections of the brain showed irregular structure of the hemispheres, absence of corpus callosum, small, ill-shaped lateral ventricles. In the posterior part of the brain there were bilateral fissures connecting lateral ventricles with submeningeal space. Basal ganglia were indistinguishable within masses of germinal matrix. Thalamus was the only well recognizable basal structure. Microscopically, the most striking feature of the brain hemispheres was enormous amount of germinal matrix. Masses of germinal matrix were situated mainly in the inner part of the hemispheres, but there was also great amount of matrix cells on the surface of the hemispheres and in the submeningeal space. The structure of the cerebral cortex was irregular, with paucity of neural cells, in some regions abnormally large neurons could be seen in the superficial cortical layers. The white matter was difficult to discern with nests of germinal cells. On the surface of the cerebral hemispheres there were several small cysts lined with ependymal cells with small patches of choroid plexus. The cerebellum showed marked dysplastic changes: small convolutions, irregular structure of the cortex layers and many heterotopic focuses in the white matter. The structure of the brain stem and spinal cord was normal, except for the absence of the pyramidal tracts. The features of myelination of the spinal cord corresponded to the gestational age of the fetus. Conclusions: It can be concluded that the case described represents the micrencephaly with signs of disturbances of proliferation, migration and differentiation of brain tissue cells. The spinal cord was not affected, except for the absence of the pyramidal tracts what was the consequence of malformed brain hemispheres.

221. Шорников А.И., Меркулова Л.М., Ланцова Н.Н., Иванова З.И., Мочалова А.А.

Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия

#### **ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ АНОМАЛИЯХ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МАТКИ В РОДАХ**

Аномалия сократительной деятельности матки (СДМ) в родах и ее коррекция остаются по-прежнему актуальной и

до конца не решенной проблемой в современном акушерстве. Важная роль в развитии этой патологии принадлежит эндогенным биогенным аминам. Поэтому, целью нашего исследования явилось изучение изменений содержания биогенных аминов в периферической крови при патологии СДМ. Исследования крови у рожениц проведены в динамике: накануне родов (за 2–4 сут до родов), в начале 1-го периода родов (при раскрытии шейки матки на 3–4 см), во 2-м и в 3-м периодах и через 2 ч после родов. Роженицы ретроспективно были разделены на 3 группы в зависимости от характера течения родов: 1-я — 20 рожениц с физиологическим течением родов; 2-я — 22 роженицы с первичной слабостью родовой деятельности и 3-я — 18 рожениц с повышенной СДМ, проявившейся в стремительном течении родов. Мазки крови, взятые из пальца, обрабатывали следующими методами: Фалька—Хилларпа для выявления серотонина (С) и катехоламинов (К), Кросса — гистамина (Г). Определяли соотношения К/С и Г/С для каждой изученной структуры крови. Для выяснения преобладания того или иного биогенного амина в плазме крови, нами вычислены коэффициенты плазма/эритроциты (П/Э) для каждого биогенного амина как отношение интенсивности свечения плазмы к интенсивности свечения эритроцита. Исследования показали, что физиологические роды характеризуются плавным повышением содержания К и С в структурных элементах крови. Слабость родовой деятельности сопровождается снижением концентрации К в крови и ее структурах, а стремительные роды — их резко повышенным уровнем. В обоих случаях аномалий СДМ наблюдается дисбаланс между содержанием К и С в плазме и клеточных структурах, и даже проведение лечебных мероприятий не приводит к нормализации их баланса. Изучение содержания Г показало, что нормальное течение родового акта сопровождается его повышением во всех структурах крови, особенно в лейкоцитах, при сравнении с данными, полученными накануне родов. Слабость родовой деятельности сопровождается резким повышением содержания Г в клеточных структурах, особенно в период изгнания плода. В плазме крови при этом отмечается его высокое содержание в 1-м и 3-м периодах родов, а во 2-м периоде — значительно ниже, чем в аналогичном периоде физиологических родов. В этой группе обследованных накануне родов отмечено резко повышенное, по сравнению с физиологическими показателями, содержание Г во всех структурных элементах крови. При стремительных родах происходит резкое повышение содержания Г во всех составных элементах крови, особенно в плазме, где оно значительно превышает физиологические показатели. Таким образом, физиологические роды сопровождаются плавным подъемом содержания биогенных аминов в плазме и структурных элементах крови, возвратом к исходным (накануне родов) показателям уже через 2 ч после родов. Нарушения СДМ сопровождаются дисбалансом содержания биогенных аминов в плазме и клеточных структурах крови. Полученные нами данные дают дополнительную информацию для теоретического обоснования корректирующей терапии нарушений родовой деятельности путем воздействия на соответствующие рецепторы биогенных аминов.

222. Шуклин А.В.

Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗСР, Москва, Россия. E-mail: center65@list.ru

#### **NO-СИНТАЗА В МИОЦИТАХ И НЕРВНЫХ КЛЕТКАХ СЕРДЦА ЧЕЛОВЕКА**

В последние годы стало известно, что оксид азота (NO) синтезируется в мышечных клетках сердца. На выделенных кардиомиоцитах животных показано, что NO участвует в регуляции пейсмейкерных токов и сократимости миокарда. Кроме того, NO-синтаза (NOS) — фермент, вырабатываю-

ций NO, — экспрессируется в нервных клетках сердца человека [Шуклин А.В., 2006]. Изучены срезы миокарда предсердий 8 человек, погибших от травм (контроль,  $n=3$ ) и от различных видов ишемической болезни сердца (ИБС;  $n=5$ ). NOS выявляли при помощи гистохимической реакции на NADPH-диафорузу (NADPH-d). При ИБС наблюдалось повышение интенсивности маркирования кардиомиоцитов при реакции на NADPH-d по сравнению с контролем. Продукт гистохимической реакции контурировал поперечную исчерченность миоцитов как в контроле, так и при ИБС. В организме NO синтезируется различными изоформами NOS: нейрональной (NOS1), индуцибельной (NOS2), эндотелиальной (NOS3). По характеру регуляции экспрессии и активности NOS1 и NOS3 относят к конститутивным изоформам NOS. Увеличение активности NADPH-d может быть связано как с индукцией NOS2 под действием цитокинов, повышение содержания которых сопровождает ИБС, так и изменением экспрессии конститутивных NOS в кардиомиоците. Известно, что NOS3 располагается на внешней мембране кардиомиоцита, в то время как NOS1 связана с мембранами саркоплазматической сети (СС). Такое распределение изоформ NOS легло в основу современной концепции о пространственной компартментализации NO-ергической регуляции в клетке. Согласно концепции, NOS1 участвует в регуляции транспорта кальция через мембраны СС. NOS3 опосредует один из регуляторных путей М-холинорецепторов. При ИБС и гипертензии повышение содержания NOS3 может лежать в основе «акцентирующегося антагонизма», когда происходит сенсибилизация сердца к ацетилхолину на повышенном адренергическом фоне. Экспериментальные работы на животных показали, что сходные изменения происходят в кардиомиоцитах при гипертрофии миокарда, вызванной физическими нагрузками. Таким образом, установлено, что при ИБС в кардиомиоцитах изменяется экспрессия NOS. Это свидетельствует об адаптационно-физиологических изменениях NO-ергической регуляции в миоцитах.

223. Шумилова Е.Б., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю., Москвичев Е.В., Михайлова М.Н., Стоменская И.С., Иванова Н.Н., Лаврентьев С.В.

Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия

#### БИОГЕННЫЕ АМИНЫ КАК РЕГУЛЯТОРЫ АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ В ТИМУСЕ

Большой интерес вызывают механизмы, осуществляющие взаимодействие нервной, эндокринной, иммунной систем и позволяющие говорить о функциональном единстве организма [Сепиашвили Р.И., 2003]. Важную роль в этом ряду отводят биогенным аминам. Они выступают в качестве посредников между регуляторами высшего порядка — нервной и эндокринной системами — с одной стороны и клеточными элементами иммунной системы с другой [Соловьев Ю.К., 1964; Самохвалов Г.И., 1974]. Так, обнаружено, что, наряду с глюкокортикоидами, в ряде случаев, они могут выступать в качестве регуляторов апоптоза лимфоцитов в тимусе [Стручко Г.Ю. и др., 2002]. Однако, несмотря на кажущуюся изученность эффектов биогенных аминов в организме, их роль в реакциях иммунной адаптации исследована недостаточно [Девон Л.В., 2003]. В качестве экспериментальной модели нами выбрана спленэктомия с последующей аутолиено-трансплантацией для коррекции изменений в органах иммунной системы, возникающих после удаления селезенки. Исследование тимуса проводили при помощи люминесцентно-гистохимического метода Фалька—Хилларпа, позволяющего выявить содержание серотонина и катехоламинов в ткани, и метода Кросса, выявляющего содержание гистамина. Исследование крови для определения содержания кортизола проводили при помощи твердофазного иммуноферментного метода с использованием реактивов «Стероид-ИФА-кортизол». Выявлена значимая взаимосвязь между содержанием глюкокортикоидов в крови и био-

генных аминов в ткани тимуса исследуемых животных (крыс). Однако, до сих пор, остаются весьма противоречивыми теории, объясняющие механизмы реализации связи между глюкокортикоидными и биогенными аминами, что свидетельствует о недостаточной изученности этого вопроса.

224. Щудло М.М., Щудло Н.А., Борисова И.В.

Российский научный центр «Восстановительная ортопедия и травматология» им. акад. Г.А. Илизарова, г. Курган, Россия. E-mail: telemed@rncvto.kurgan.ru.

#### МЕХАНИЗМЫ УДЛИНЕНИЯ МИЕЛИНОВЫХ ВОЛОКОН ПРИ ДИСТРАКЦИОННОМ ОСТЕОСИНТЕЗЕ И НЕЙРОТЕНЗИИ

При удлинении берцовых нервов в процессе дистракционного остеосинтеза голени у собак получены данные о гипертрофии белок-синтезирующего аппарата шванновских клеток, увеличении средней длины интернодальных сегментов и появлении anomalно коротких вставочных сегментов миелина [Карымов Н.Р., 1995]. Цель данного исследования — дальнейшее изучение механизмов ремоделирования миелиновых волокон удлиняемого нерва. Эксперименты выполнены на 17 взрослых беспородных собаках. У 14 — проведено удлинение бедренного сегмента тазовой конечности на 15% исходной длины. Животных выводили из опыта в конце периода дистракции (28–30 сут), на этапе фиксации (30 и 60 сут) и через 3 мес после снятия аппарата. У 3 собак удлиняли седалищный нерв на 30% дробной дозированной тракцией в поперечном направлении — все собаки эвтаназированы через 28 сут трaкции и 18 сут фиксации. Контролем служил материал от 3 интактных собак. Методами световой микроскопии и компьютерной морфометрии исследованы продольные и поперечные криостатные и полутонкие эпоксидные срезы (окраски гематоксилином Вейгерта и по Уикли); часть материала изучена в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-100B. В результате исследований установлено, что в конце дистракции и раннем периоде фиксации у некоторых животных в отдельных пучках нерва обнаруживается демиелинизация, иногда — только в паранодальной области. В эти же сроки опыта встречаются единичные гипомиелинизированные волокна, но уменьшение средней толщины миелиновой оболочки во фракциях крупных миелиновых волокон статистически значимо только в конце дистракции. Признаки гипертрофии цитоплазмы шванновских клеток выявляются также, главным образом, в конце периода дистракции и в ранний период фиксации, причем у животных 1-й группы преимущественно в паранодальной зоне миелиновых волокон. Во 2-й группе отчетливо выражена гипертрофия перикарионов шванновских клеток. В 1-й группе в конце дистракции доля ядросодержащих профилей крупных миелиновых волокон (диаметром 7 мкм и более) в поперечных полутонких срезах составила в среднем  $1,70 \pm 0,20$  (у интактных собак  $3,1 \pm 0,3\%$ ), через 30 сут фиксации —  $5,20 \pm 0,20\%$ , в более поздние сроки фиксации и после снятия аппарата —  $3,3 \pm 0,4\%$ . Во 2-й группе животных этот параметр составил  $4,60 \pm 0,20\%$ . В ранний период фиксации (18 и 30 сут) в продольных срезах обнаружены единичные anomalно короткие («вставочные») сегменты миелина длиной от 10 до 20 мкм. При электронно-микроскопическом исследовании в конце периода дистракции и через 18 сут фиксации в эндоневрии изредка встречались не связанные с аксонами «свободные» шванновские клетки с признаками подвижности плазмолеммы. Кроме того, обнаружены картины вступления в митотическое деление дифференцированных миелинообразующих шванновских клеток в составе крупных миелиновых волокон при сохранении ультраструктуры миелиновой оболочки. Итак, при удлинении проксимального (бедренного) сегмента тазовой конечности ремоделирование миелиновых сегментов вначале происходит главным образом путем внутриклеточной гипертрофии шванновских клеток, затем — путем формирования вставочных сегментов миелина. Вставочные anomalно короткие сегменты миелина могут появляться не только в результате «оккупации» участков паранодальной демиелинизации мигрирующими шванновскими клетками, как предположили С.-Н. Berthold и И.Н. Remahl (2002) в ис-

следовании постнатального онтогенеза у кошек, но и в результате деления дифференцированных миелинообразующих шванновских клеток. Механизмы ремоделирования миелиновых сегментов при дистракционном остеосинтезе и нейротензии включают рекапитуляцию процессов раннего онтогенеза.

225. Юдин М.А., Быков В.Н., Чепур С.В., Василюк В.Б., Никифоров А.С., Стулов С.Е., Тряшкин С.В.

Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины МО РФ, Санкт-Петербург; Научно-технический центр Федерального Управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия, Москва, Россия

#### **ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ХОЛИНОПОЗИТИВНОМ СИНДРОМЕ**

Подострое отравление антихолинэстеразными агентами (АА) приводит к развитию холиноPOSITивного синдрома, к числу проявлений которого относят и нарушения регуляции тонуса сосудов гемомикроциркуляторного русла (СГМР). После 5-дневного внутримышечного введения фосфатидилтиохолина выявляли изменения СГМР на расщепленных препаратах стенки тонкой кишки и ее брыжейки, в том числе и при инъекции сосудов смесью туши с желатином. Плазматические и эритроцитосодержащие сосуды дифференцировали бензидиновой реакцией по Грехем—Кнолю, функциональное состояние тучных клеток и степень их дегрануляции оценивали при окрашивании толuidиновым синим. Изменения сосудов соотносили со степенью выраженности нарушений адренергических и холиносенситивных структур, выявляемых по Фальку—Хилларпу и Келле—Гомори, соответственно. Показано, что при подостром отравлении АА развивается стойкое угнетение активности холинэстеразы в интрамуральных ганглиях кишки и волокнах брыжейки. Снижение

интенсивности ферментативного гидролиза эфиров холина выявляли как при применении ацетилтиохолина, так и его пропионильного и бутирильного аналогов. Несмотря на снижение степени накопления продукта гистохимической реакции, нервные волокна выявлялись при обработке солями серебра. Активация холинергической передачи в синапсах клеток симпатических ганглиев приводила к усвоению свечения катехоламинов в нервных волокнах и формированию варикозностей по ходу нейритов, что позволило предполагать усиление аксонального транспорта. Густую сеть светящихся адренергических волокон наблюдали по ходу артериол и прекапилляров брыжейки и подслизистой основы кишки, причем в ряде случаев волокна следовали вдоль капилляров и переходили в паравенулярное сплетение. При оценке инъецированных СГМР выявлялись спазмы и извитость мелких артериол. На гистологических препаратах подслизистой основы кишки в стенке мелких интрамуральных артерий отмечалось повышение количества макрофагов, инфильтраты, пикноз ядер эндотелиоцитов и их сдувание, а также активация фибробластоподобных элементов, деформация эластического каркаса. На расщепленных препаратах обнаруживали неравномерное расширение капилляров и венул, которые приобретали извитость и варикозно деформировались. Количество функционирующих капилляров в брыжейке кишки увеличивалось, что способствовало депонированию и застою крови. При гистологическом исследовании структуры стенки микрососудов было выявлено набухание эндотелиоцитов и деформирование просвета капилляров и венул. Эндотелиальная выстилка приобретала повышенную фенестрированность. Таким образом, при подостром отравлении высокоселективным АА на фоне нарушений вегетативной регуляции развивались изменения микрососудов в виде очагового артериолосклероза и эндотелиальной дисфункции, не связанной с прямым повреждающим действием яда, поступающего в организм в минимальных количествах.