

УДК 616.826.1/33:616.45

ЗАКОНОМЕРНОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МОЗГА КРЫС, ВЫЗВАННЫХ ПАТОГЕННЫМ ВЛИЯНИЕМ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

Е. В. Кудинова, кандидат медицинских наук
Новосибирский государственный аграрный университет
E-mail: kudinova_kleo@mail.ru

Ключевые слова: электромагнитное излучение, стресс-синдром, головной мозг, гиппокамп

Реферат. Показана общая закономерность структурно-функциональных изменений структур мозга при техногенном стрессе. К 14–21-м суткам эксперимента отмечается резкое снижение общей численной плотности нейронов, на 30–45-е сутки за счет компенсаторного механизма развивающегося адаптационного синдрома идет частичное восстановление численной плотности нейронов, с 45–60-х суток – повторное снижение общей численной плотности, переход адаптационного синдрома в стадию декомпенсации, острого стресса – в хронический на 60–90-е сутки и снижение общей численной плотности нейронов. Особенностью реорганизации является избирательность поражения гиппокампа, дегенеративным изменениям подвергаются все сектора с максимальной численной плотностью необратимо измененных гиперхромных сморщенных с очаговым выпадением нейронов в секторе СА3 и с формированием пейсмекерной, доминантной зоны генерализованного возбуждения в секторе поля СА1 гиппокампа экспериментальных животных. Использование комплексного методического подхода позволило получить полную количественную и качественную характеристику нейронов и межнейронных синапсов, изучаемых лимбических структур мозга и секторов гиппокампа.

Любая стрессовая реакция организма, в силу морфологических особенностей организации различных секторов гиппокампа, сопровождается структурно-функциональной реорганизацией и гиперфункцией гиппокампальных взаимоотношений, неизбежно проявляясь изменением интегративно-пусковой деятельности головного мозга [1–3].

Цель данного исследования – выявить закономерности структурно-функциональных изменений головного мозга при стрессе, выяснить, в каких структурах возможно формирование первичной генерализованной зоны и вторичных зон функциональных изменений, формирующихся при стресс-синдроме.

**ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЙ**

Для изучения механизмов формирования стресс-синдрома у белых крыс проведен сравнительный комплексный системный анализ закономерностей реализации деструктивных и компенсаторно-адаптационных изменений структур мозга под воздействием аудиогенного электрического и электромагнитного излучения сотового телефона.

Исследования выполнены в условиях хронического эксперимента на 127 половозрелых белых крысах-самцах линии Вистар массой 170–210 г.

Для моделирования стресс-синдрома использована модель рефлекторной эпилепсии при действии звукового раздражения интенсивностью 86 и 102 дБА в режиме киндлинга с интервалом между звуковыми раздражениями 48 ч [1–3].

Морфологическое исследование (световую и электронную микроскопию, морфометрию) мозга животных проводили через 7, 14, 21, 30, 45, 60 и 90 суток после формирования стресс-синдрома. Для светооптического исследования мозг крыс фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, заключали в парафин, готовили фронтальные срезы толщиной 5–7 мкм, окрашивали по Нисслю [4]. Проведено светооптическое гистологическое исследование различных отделов головного мозга (неокортекс, лимбические и стволовые структуры мозга). Верификацию секторов гиппокампа осуществляли с использованием стереотаксического атласа мозга взрослых крыс [5]. Для морфометрического анализа подсчитывали численную плотность нейронов и микрососудов относительно единицы площади (100 мкм^2) при увеличении $\times 600$. Для электронно-микроскопического исследования мозг фиксировали путем иммерсии в растворе 4%-го параформальдегида, 1%-го глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4), обрабатывали 1%-й четырехокисью осмия (2 ч), обезвоживали и заключали в смесь

эпона и аралдита. Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме Ultracut-E (фирма Reichert-Jung), помещали на сетки без подложки и контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Просмотр и фотографирование ультратонких срезов производили на электронном микроскопе Hitachi-600Н. На электронно-микроскопических препаратах оценивали общее состояние нейронов, синапсов, всех ультраструктурных компонентов сосудистой стенки. Полученные в работе количественные данные обработаны с помощью общепринятых в медико-биологических исследованиях методов системного анализа с использованием программ EXCEL и Statistica-5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Было выявлено, что влияние техногенного электромагнитного излучения (звук) провоцирует развитие общего адаптационного синдрома. Комплекс структурно-функциональных изменений цито-, дендро, синапто- и ангиоархитектоники структур мозга [6] сопровождается энергетическими состояниями, провоцирующими развитие стресс-синдрома у животных.

Центральной структурой мозга при формировании стресс-синдрома в ответ на воздействие

экзогенных факторов внешней среды является лимбическая структура мозга – гиппокамп [7].

Выявлена общая закономерность ультраструктурных изменений нейронов гиппокампа при многофакторном дисперсионном анализе у всех экспериментальных животных (таблица).

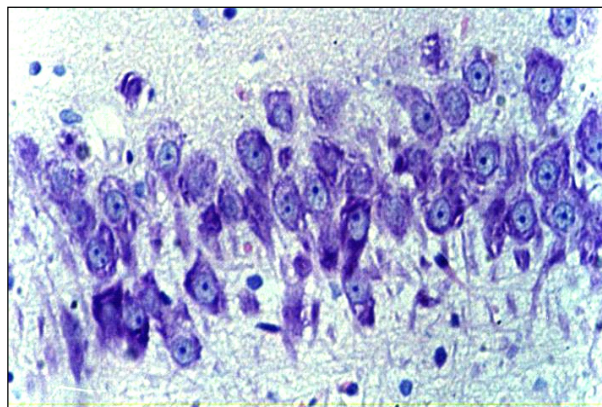
Первые признаки ультраструктурных изменений наблюдаются к 3–7-м суткам в виде гидропических нейрональных нарушений. К 14–21-м суткам эксперимента отмечается резкое снижение общей численной плотности нейронов до 45,96% ($P < 0,001$), на 30–45-е сутки за счет компенсаторного механизма развивающегося адаптационного синдрома идет частичное восстановление численной плотности нейронов до 31,32% ($P < 0,05$), с 45–60-х суток – повторное снижение общей численной плотности нейронов до 44,45% ($P < 0,05$), переход адаптационного синдрома в стадию декомпенсации, острого стресса – в хронический на 60–90-е сутки и снижение общей численной плотности нейронов до 55,56% ($P < 0,05$).

Компенсаторная и индуцированная аудиогенным раздражением реорганизация межнейронных синапсов сопровождалась изменениями митохондрий нейропиля и зоны синаптического контакта. Во всех полях гиппокампа животных обеих групп, прежде всего, изменялись площадь сечения и ко-

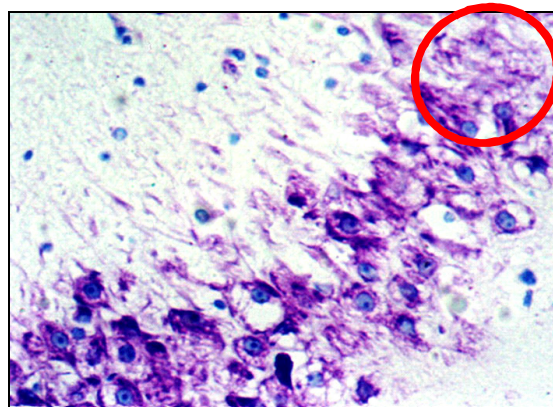
Результаты дисперсионного анализа (ANOVA Краскела-Уоллиса) динамики морфометрических показателей различных секторов полей гиппокампа

Показатель	Параметры оценки статистических различий (F-критерий, P)
<i>CA1 гиппокампа</i>	
Общая численная плотность нейронов	$F(6,82) = 6,34, P < 0,0001^*$
Численная плотность гипохромных нейронов	$F(6,82) = 9,76, P < 0,0001^*$
Численная плотность гиперхромных несморщенных нейронов	$F(6,82) = 5,78, P < 0,0001^*$
Численная плотность гиперхромных сморщенных нейронов	$F(6,82) = 13,16, P < 0,0001^*$
<i>CA2 гиппокампа</i>	
Общая численная плотность нейронов	$F(6,79) = 23,3, P < 0,0001^*$
Численная плотность гипохромных нейронов	$F(6,84) = 3,75, P = 0,002^*$
Численная плотность гиперхромных несморщенных нейронов	$F(6,84) = 12,56, P < 0,0001^*$
Численная плотность гиперхромных сморщенных нейронов	$F(6,84) = 18,37, P < 0,0001^*$
<i>CA3 гиппокампа</i>	
Общая численная плотность нейронов	$F(6,70) = 18,42, P < 0,0001^*$
Численная плотность гипохромных нейронов	$F(6,70) = 0,97, P = 0,454$
Численная плотность гиперхромных несморщенных нейронов	$F(6,70) = 29,23, P < 0,0001^*$
Численная плотность гиперхромных сморщенных нейронов	$F(6,70) = 10,26, P < 0,0001^*$
<i>CA4 гиппокампа</i>	
Общая численная плотность нейронов	$F(6,68) = 22,12, P < 0,0001^*$
Численная плотность гипохромных нейронов	$F(6,68) = 27,64, P < 0,0001^*$
Численная плотность гиперхромных несморщенных нейронов	$F(6,68) = 8,62, P < 0,0001^*$
Численная плотность гиперхромных сморщенных нейронов	$F(6,68) = 6,57, P < 0,0001^*$

* Статистически значимые различия динамики морфометрических показателей внутри группы при $P < 0,05$.



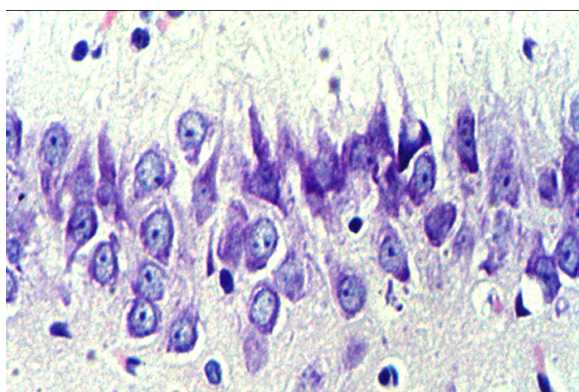
а



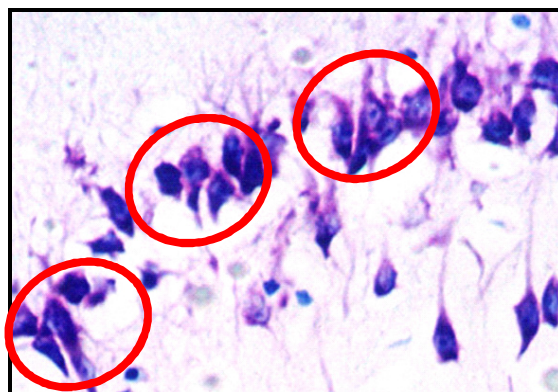
б

Рис. 1. Сектор СА3 гиппокампа белых крыс:

а – контроль, преобладают округлые нормохромные нейроны с четко верифицируемыми светлыми ядрами, ядрышками и базофильной структурированной цитоплазмой, нейропиле гомогенный без признаков отека-набухания; б – на 90-е сутки (30 ЗР) эксперимента, гипохромные и гидропически измененные нейроны, выраженные признаки отека-набухания нейропиля и очаги выпадения нейронов (обведены) (низкая плотность клеток). Ув. 600. Окраска толудиновым синим по Нисслю



а



б

Рис. 2. Сектор поля СА1 гиппокампа белых крыс:

а – контроль, преобладают нормохромные нейроны с четко верифицируемыми светлыми ядрами, ядрышками и базофильной структурированной цитоплазмой; б – гиперхромные несморщенные нейроны, признаки отека-набухания нейропиля, появление нейрональных ансамблей (выделены). Ув. 600. Окраска толудиновым синим по Нисслю

личество митохондрий на единицу площади нейропиля. Площадь митохондрий сектора поля СА1 снижалась в 4,2 раза ($P < 0,005$), сектора поля СА3 – в 5,83 ($P < 0,001$), сектора поля СА2 – в 2,9 ($P < 0,001$), сектора поля СА4 – в 4,5 ($P < 0,001$).

Особенностью реорганизации является избирательность поражения гиппокампа, дегенеративным изменениям подвергаются все сектора, но максимальная численная плотность необратимо измененных гиперхромных сморщенных, с очаговым выпадением нейронов отмечена в секторе СА3, что способствует реорганизации сектора СА1.

Выявлена реорганизация цитоархитектоники сектора СА1 вследствие образования групповых

нейрональных ансамблей с повышенной информативностью нейронов и формированием доминантной пейсмекерной зоны в нем, запускающей развитие стресс-синдрома, меняющего интегративно-пусковую деятельность структур мозга.

Мы предполагаем, что вследствие формирования в секторе СА1 групповых нейрональных ансамблей с повышенной информативностью нейронов и патологической реверберацией возбуждения в гиппокампе появляются доминантные пейсмекерные зоны, участвующие в образовании патологических систем мозга.

Нами установлено, что при стрессе гиппокамп одним из первых подвергается структурно-функ-

циональной реорганизации. Избирательность поражения секторов гиппокампа при аудиогенном стрессе с очаговым выпадением нейронов, максимальным в секторе СА3, и максимальной численной плотностью необратимо измененных гиперхромных сморщенных и гипергидратированных нейронов способствует реорганизации сектора СА1 у всех экспериментальных животных.

Особенностью реорганизации сектора СА1 является появление доминантной первичной зоны возбуждения вследствие формирования групповых нейрональных ансамблей с повышенной информативностью нейронов и патологической реверберацией возбуждения, провоцирующей активизацию вторичных очагов возбуждения в лимбических и стволовых структурах мозга, запускающих стресс-синдром с выходом на органы «мишени» [8, 9].

Таким образом, реорганизация носит волнообразный характер с выявлением общей закономерности, когда при воздействии аудиогенного раздражения отмечается резкое снижение численной плотности нейронов к 21-м суткам, но благодаря компенсаторно-адаптационным возможностям организма наблюдается повышение общей численной плотности нейронов во всех секторах гиппокампа до 60-х суток, когда начинается декомпенсация с еще большим снижением численной плотности нейронов.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что при экзогенном аудиогенном воздействии гиппокамп подвергается наибольшей структурно-функциональной реорганизации из всех лимбических структур мозга с формированием пейсмекерной доминантной зоны генерализованного возбуждения в секторе СА1 экспериментальных животных.
2. Показана общая закономерность структурно-функциональных изменений структур мозга при аудиогенном стрессе. Первые признаки наблюдаются к 3–7-м суткам в виде гидропических нейрональных нарушений, особенно в гиппокампе. К 14–21-м суткам эксперимента отмечается резкое снижение общей численной плотности нейронов, на 30–45-е сутки за счет компенсаторного механизма развивающегося адаптационного синдрома идет частичное восстановление численной плотности нейронов, с 45–60-х суток наблюдается повторное снижение общей численной плотности, переход адаптационного синдрома в стадию декомпенсации, острого стресса – в хронический на 60–90-е сутки и снижение общей численной плотности нейронов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Крушинский Л. В. Формирование поведения животных в норме и патологии. – М.: Изд-во МГУ, 1960. – С. 24, 40, 55, 239–264.
2. Николаева Е. И. Психофизиология. – Новосибирск: Наука, 2001. – С. 115, 124, 242, 261, 277.
3. Фокин В. Ф., Пономарева Н. В. Энергетическая физиология мозга. – М.: Антидор, 2003. – С. 164–166.
4. Боголепов Н. Н. Методы электронно-микроскопического исследования мозга. – М., 1976. – С. 71.
5. Paxinos G., Watson Ch. A. The rat brain in stereotaxic coordinates. – Toronto: Acad. Press, 1982. – P. 90.
6. Кудинова Е. В. Техногенное влияние электромагнитного излучения на цитоархитектонику мозга белых крыс // Вестн. НГАУ. – Новосибирск, 2013. – № 3 (28). – С. 84–88.
7. Kudinova E. V. Regularities in the Formation of Structural and Functional Changes in the Brain in Technogenic Stress // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – М., 2011. – Vol. 151, N 1. – P. 157–161.
8. Ультроструктурные изменения мозга крыс, перенесших острое эмоциональное перенапряжение / Н. Н. Боголепов, Л. Б. Вербицкая, Т. И. Белова, К. В. Судаков // Журн. невропатологии и психиатрии. – 1982. – Т. 82, вып. 5. – С. 691–695.
9. Крыжановский Г. Н. Генераторные и системные механизмы в патологии нервной системы // Первый рос. конгр. по патофизиологии: тез. докл. – М., 1996. – С. 120.

REGULATIONS OF STRUCTURAL-FUNCTIONAL CHANGES IN RAT BRAIN CAUSED BY PATHOGENIC EFFECTS OF ENVIRONMENT

E. V. Kudinova

Key words: electromagnetic radiation, stress-syndrome, brain, hippocamp

Summary. General regulation of structural-functional changes in brain structures is shown when exposed to anthropogenic stress. By the 14–21st experimental day the dramatic decrease in the total numerical density of

neurons is observed, on the 30–45th day of the experiment the numerical density of neurons partially recovers at the expense of the compensatory mechanism of developing adaptation syndrome, since the 45–60th day there is a repeated decrease in the total numerical density of neurons and the transition of adaptation syndrome to decompensation stage, on the 60th–90th day the acute process becomes chronic and the total numerical density of neurons decreases. Rearrangement characteristic is selectivity in damaging hippocamp. Degenerative changes take place in all the sectors, there being the maximal numerical density of irreversibly altered, shriveled, focally missed out, hyperchromatic neurons in CA3 sector and the developed pace-maker dominant zone of generalized excitation in CA1 sector of the experimental animals' hippocamp. The complex methodical approach employed allowed to obtain a complete quantitative and qualitative characteristic of neurons and interneuron synapses, that of brain limbic structures examined and hippocamp sectors.

УДК 619:616–006]:636.7

ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ ЛЕЙКОГРАММЫ ПРИ ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ У СОБАК

Д. А. Мешерякова, магистрант

М. А. Дерхо, доктор биологических наук, профессор

Т. И. Середа, кандидат биологических наук, доцент

Уральская государственная академия ветеринарной
медицины

E-mail: tvi_t@mail.ru

Ключевые слова: опухоль, кровь, лейкограмма, собаки, молочная железа

Реферат. Изучено влияния экологических условий обитания собак на наличие связи между количеством лейкоцитарных клеток в периферической крови и стадией опухоли при новообразованиях молочных желез. Установлено, что в организме собак с опухолями молочных желез (ОМЖ) в I стадии развития наблюдается лейкопения, в III стадии – лейкоцитоз, а в IV стадии уровень лейкоцитов колеблется в пределах нормы. Стадия развития ОМЖ влияла и на процентную долю клеток в лейкограмме. При I стадии развития опухоли показатели лейкоформулы колебались в пределах нормы, за исключением уровня эозинофилов, превышающего верхнюю границу на 49,3%; III стадия опухолевого процесса характеризовалась перераспределением лейкоцитарных клеток в лейкограмме в рамках нормы и только на IV стадии развития ОМЖ были отмечены нейтрофильный лейкоцитоз с дегенеративным сдвигом «влево», эозинофилия и лимфоцитопения. Сенсибилизирующее действие опухоли и опухолевых антигенов на организм сук отражала величина эозинофильного индекса (ЭИ) и индекса аллергизации (ИА). Прогрессирование опухолевого роста сопровождалось увеличением значения ЭИ и уменьшением ИА.

Морфологический состав крови отражает уровень здоровья в организме животных, характеризует сдвиги в функциональной активности органов и тканей, возникающие на фоне развития разнообразных патологических процессов. Новообразования также не являются исключением.

Однако, несмотря на многочисленные исследования, алгоритм изменений в клеточном составе крови в ходе развития опухолей до сих пор не установлен. Так в гуманной медицине считается, что морфологический состав крови не характеризует процесс опухолевого роста на ранних стадиях развития новообразований. Лишь при вовлечении в патологический процесс регионарных лимфоуз-

лов развивается лимфоцитопения, а при генерализации процесса – эозинофилия и моноцитоз [1].

При злокачественных новообразованиях домашних животных сдвиги в клеточном составе крови обычно связывают с локализацией опухоли (анатомическим метонахождением). Однако и в этом случае имеются противоречивые сведения. Например, Н. Б. Постоев [2] установил, что кожные опухоли у собак сопровождаются незначительным лейкоцитозом с сохранением параметров лейкограммы в пределах границ физиологической нормы. В то же время О. А. Куцина [3] отмечала, что изменениями клеточного состава крови не сопровождаются только локально инфильтрирующие опухоли кожи собак, а опухоли кожи с вы-