

9. Huppertz B., Gauster M. Trophoblast fusion. Adv. Exp. Med. Biol, 2011; 713:81–95.
10. Haram K., Mortensena J. H., Myking O., et al. Early development of the human placenta and pregnancy complications. J Matern Fetal Neonatal Med. 2020; 33(20):3538–3545. DOI: <https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1578745>
11. Knöfler M., Haider S., Saleh L., Pollheimer J., et al. Human placenta and trophoblast development: key molecular mechanisms and model systems. Cellular and molecular life sciences. 2019; 76:3479–3496.
12. McNally L., Zhou Y., Robinson J. F., Fisher S. J. Up-regulated cytotrophoblast DOCK4 contributes to over-invasion in placenta accreta spectrum. Biological sciences, R. Michael Roberts, University of Missouri, Columbia. 2020; 117(27):15852–15861.
13. Burton G. J., Fowden A. L. The placenta: a multifaceted, transient organ. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci, 2015; 370(1663):20140066.

УДК 616-091

*Алексеева И. И., Соловьева Т. С., Зайчиков Д. А., Владимирова О. О., Венгерович Н. Г.*

## **ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАЦИИ СПИННОГО МОЗГА КРЫС НА ФОНЕ ОТРАВЛЕНИЯ ГАМК-ЛИТИКОМ**

*Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны РФ, Санкт-Петербург, Российская Федерация*

---

*Аннотация.* Целью работы является морфологическая оценка репарации вещества ткани спинного мозга крыс после отравления модельным ГАМК-литиком в эксперименте протяженностью 60 суток с учетом разных временных интервалов.

Методика работы заключается в проведении экспериментального исследования на половозрелых крысах, всего 8 групп, включая группу контроля, путем внутрижелудочного введения модельного ГАМК-литика. Животных выводили из опыта через 1, 3, 7, 14, 28, 45 и 60 суток после воздействия. Для микроскопического анализа отбирали образцы тканей спинного мозга на уровне грудного отдела.

Основные результаты работы показали, что воздействие родентицида (из группы ГАМК-литиков) оказало существенное влияние на состояние спинного мозга крыс с определенной динамикой изменений в зависимости от временного интервала и выявило качественные и количественные морфологические изменения, фазно протекающие в режиме автоколебаний со снижением, нормализацией и возобновлением активного реагирования нейронов и глиального компонента серого вещества и ацикличным прогрессированием изменений миелинового каркаса белого вещества, активацией процессов его де- и ремиелинизации к 60-м суткам эксперимента.

*Ключевые слова:* спинной мозг крыс, эксперимент, отравление ГАМК-литиком, морфология, особенности репарации.

*Alekseeva I. I., Solovieva T. S., Zaychikov D. A., Vladimirova O. O.,  
Vengerovich N. G.*

## **THE RAT SPINAL CORD REPAIR CHARACTERISTICS AFTER GABA-LYTIC IN AN POISONING**

*State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense  
of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation*

---

*Abstract.* This paper's purpose is morphological assessment of the rat spinal cord repair after GABA-lytic poisoning in a 60-days experiment with reference to different time intervals.

Working procedure is conducting of an experimental study in mature rats, overall 8 groups, including control, with intragastric administration of a GABA-lytic. Animals were sacrificed 1, 3, 7, 14, 28, 45 and 60 days post-exposure. Spinal cord tissue specimens of the thoracic spine were collected for microscopic analysis.

The main results of the work showed a significant effect of an rodenticide (from the group of GABA-lytics) on the rat spinal cord's state with a specific dynamic pattern according to time intervals, as well as qualitative and quantitative morphological changes occurring in phases in oscillations with a decrease, normalization and restoration of the neurons' and glial gray matter component's response activity, followed by an acyclic progression of changes in the white matter myelin scaffold, its de- and remyelination by the 60th day of the experiment.

*Keywords:* rat spinal cord, experiment, GABA-lytic poisoning, morphology, repair characteristics.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Механизмы повреждения клеток центральной нервной системы широко представлены отечественными и зарубежными авторами конца прошлого и начала нынешнего века. Известно, что применение некоторых веществ в качестве инсектицидов и родентицидов, входящих в группу антагонистов хлор-ионных каналов ГАМКА-рецепторов, блокирует тормозную нейромедиацию и может приводить к тяжелым отравлениям [1]. Особенностью отравления ГАМК-литиками является медленное развитие судорожного синдрома с постепенным нарастанием и развитием финального опистотонуса, гибелью животных, при этом терапия противосудорожными препаратами остается малоэффективной [2, 3]. В настоящее время ГАМК-литики относят к веществам, нарушающим энергетический баланс и метаболические процессы в ЦНС [4], описаны клинические случаи отравления тяжелой степени тяжести [5]. Наши исследования состояния нервной ткани спинного мозга на светооптическом уровне в течение 60 суток после отравления модельным ГАМК-литиком показывают цикличность взаимодействия между элементами нервных клеток и глиального компонента с интраорганный гемодинамикой, вероятно, под влиянием гуморальных факторов и сопровождаются прогрессирующим изменением состояния миелинизированного каркаса проводников в течение всего времени с активацией процесса деструкции на позднем сроке.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Патоморфологические исследования проводили на 40 (по 5 животных в каждой группе) половозрелых крысах линии Вистар массой 200–230 г. Животных выводили из опыта на 1, 3, 7, 10, 14, 45 и 60-е сутки после внутрижелудочного введения модельного родентицида ДСТА (дисульфатетраазаадамантан) в дозе LD50. Извлеченные органы фиксировались в 10%-ном нейтральном формалине. Образцы ткани спинного мозга на уровне грудного отдела обрабатывали в спиртах возрастающей концентрации, заключали в парафин и изготавливали срезы толщиной 3–4 мкм согласно общепринятым методикам. Парафиновые срезы ткани спинного мозга окрашивали толуидиновым синим с докраской гематоксилином и эозином.

Подготовленные микропрепараты изучали с помощью микроскопов Leica DM 2500 (Германия), Olimpus CX41. Фоторегистрация осуществлялась при помощи цифровой фотокамеры Leica DFC490 с базовым программным обеспечением Leica Image Manager и цифровой камеры VideoZavr Standard.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Через 1 сутки после воздействия в сосудистой оболочке и веществе мозга отмечали полнокровие с выраженным расширением сосудов венозного звена, нередко с неравномерным распределением в них плазменного и клеточного компонента крови, уменьшение внутреннего диаметра артериол и артериальных сосудов с выстраиванием ядер эндотелия частокломом. В большинстве мотонейронов увеличивалась четкость глыбчатой структуры тигроида на фоне незначительного просветления цитоплазмы, встречались нейроны с более выраженными проявлениями тигролиза (хромофобия) или с повышенной хромофильностью сомы, сопровождающейся деформацией тела.

Через трое суток, при сохранении венозного полнокровия с увеличенной долей плазменного компонента крови и некоторого усиления паравазального отека в состоянии части мотонейронов (хромофобные) наблюдали динамику в сторону снижения проявлений набухания клеток и их функциональной (синтетической) активности.

Через 7 суток расширенные венулы и венозные сосуды выглядели запустевшими или с неравномерным заполнением очень бледно окрашиваемой плазмы и извилисты контурами. К этому сроку вокруг тел нейронов визуализировались перичеслюлярные просветления, сохранялась или усиливалась базофилия и эозинофилия цитоплазмы и ядра клеток. У части нейронов хорошо просматривалось плотное ядро и яркое крупное ядрышко с развитием перинуклеарного просветления. У других клеток ядро оставалось замаскированным, но и у тех, и у этих хорошо прослеживалась радиальная направленность структур тигроидного вещества, хорошо прослеживались яркие и более расширенные отростки. Около отдельных нейронов наблюдали клетки-сателлиты (рис. 1, а). Были замечены пикнотизация ядер микроглии, набухание, кариорексис и кариолизис макроглиальных клеток. В белом веществе мозга в мягкотных проводниках констатировали выраженную неравномерность тинкториальных свойств нейритов, вызванную чередованием набухших и дегидратированных их участков в разных нейролеммальных сегментах. Зонально наблюдали увеличение количества фокусов макрофагии и наличие полей «клеточного оголения» (рис. 1, б). В ядрах миелинизирующих глиоцитов обнаруживали редукцию ядрышек у ядерной оболочки и ее разрушение.

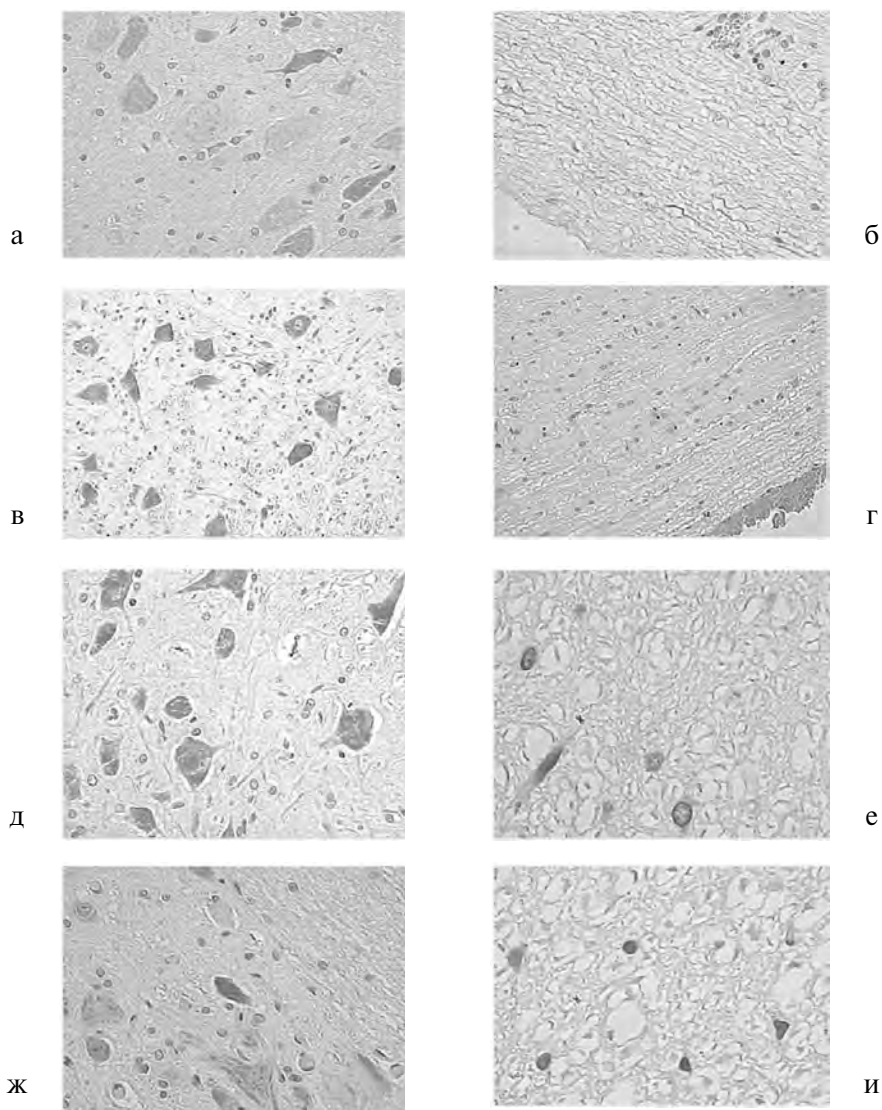
К 14-м суткам существенно улучшалось состояние вещества спинного мозга, исчезали паравазальные отеки. Мотонейроны из категории «светлых» клеток отмечали некоторое увеличение тела и размеров просветленных ядер с крупными яркими ядрышками, усиливалась хромофилия цитоплазмы за счет мелкодисперсного и мелкоглыбчатого тигроидного вещества, равномерно распределенного по телу клеток. В части нейронов наблюдали перинуклеарное скопление более крупных глыбок тигроида. Часть хромофильных клеток относили к категории нормальных, а встречавшиеся гиперхромные нейроны с перичеселлюлярными просветлениями можно было оценить как клетки со сниженной функциональной активностью. В нейропиле серого и белого вещества мозга несколько увеличивалось количество микроглии. Отмечали увеличение количества леммоцитов, в том числе с парным расположением ядер.

Через 28 суток в структурах спинного мозга усилилось кровенаполнение сосудов и повысилась плотность визуализируемых полнокровных капилляров. В передних рогах серого вещества к этому сроку доминировали нормохромные и умеренно хромофильные мотонейроны. В белом веществе значительно увеличилась «клеточность» леммоцитов, расположение их «дорожками» в участках, где терялась визуализация миелинового каркаса мякотного проводника (*рис. 1, в, з*). Вокруг ядер леммоцитов просматривалось слабо хромофильное прокрашивание цитоплазмы в формирующихся нейроглиальных комплексах.

При наблюдении на 45-е сутки отдельных профилей сосудов со стазом эритроцитов выявлены спавшиеся, расширенные запустевшие или малокровные расширенные сосуды с увеличенным плазменным компонентом, снизилась плотность капиллярной сети. Мотонейроны были гиперхромны, с перичеселлюлярными просветлениями. В нейропиле передних рогов отмечалась плотная исчерченность узкими окрашенными отростками нейронов, усилилась визуализация поперечных профилей мякотных волокон с просветленным миелиновым каркасом вокруг дегидратированных нейритов (*рис. 1, д, е*), в белом веществе было замечено более диффузное расположение леммоцитов.

На 60-е сутки эксперимента улучшилось кровенаполнение сосудов, в нервных клетках хорошо просматривался аксональный холмик и расширенный аксон. В меньшем количестве находили гиперхромные нейроны групповой локализации с перичеселлюлярным просветлением (*рис. 1, ж*). Разные стадии регенерационной перестройки, отмеченные в большинстве миелинизированных волокон, носили диффузный сегментарный характер. Эти процессы, хорошо визуализируемые ранее на продольных срезах мозга, стали заметны и на поперечных срезах (*рис. 1, и*).

При отравлении крыс модельным ГАМК-литиком в ранние сроки в спинном мозге обнаружены изменения в виде спазма артериол и артериальных сосудов, которые расцениваются как внутриорганный вазоспастический ответ, с последующим волнообразным расстройством гемодинамики в виде усиления на 7-е и 14-е сутки, нормализации на 28-е сутки и ослабления кровенаполнения на 45-е сутки эксперимента. Состояние основной части мотонейронов отражало изменения реактивности в разные сроки исследования и указывало на активно протекающие процессы биосинтеза белков в этих клетках и их выведение со снижением функциональной и синтетической активности, нередко на грани истощения и срыва адаптации в мотонейронах 2-го типа. Ухудшение состояния значительной части глиальных клеток нейропиля серого и белого вещества мозга, характеризуемое как постаktivацион-



*Рис. 1.* Фрагменты белого и серого веществ спинного мозга крыс через 7 суток (а, б), 28 суток (в, г), 45 суток (д, е) и 60 суток (ж, и) после воздействия: а — мотонейроны с выраженными проявлениями тигролиза. Исчезновение ядрышка и контурности ядра; б — зона клеточно-го запустения, проявления отека миелинового каркаса. Неравномерность тинкториальных свойств нейритов; в — категория мотонейронов 1-го типа с глыбчатым состоянием тигроидного вещества; г — увеличенное количество леммоцитов, расположенных «дорожками»; д — доминирование мотонейронов 2-го типа; е — поперечный срез спинного мозга. Увеличение площади, занимаемой демиелинизированными волокнами. Разнообразное состояние нейритов внутри каркаса миелинизированного волокна; ж — полнокровие сосудов. Доминирование умеренно хромофильных нейронов; и — поперечный срез. Измененные и нормального вида миелиновые волокна со смещением нейрита перемежаются с очагами тонких де- и ремиелинизированных волокон. Окраска: толуидиновый синий с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400 и 1000 соответственно

ное истощение со стабилизацией данных изменений, выявлялось к 14-м суткам, а возобновление синтетической с восстановлением нормальной физиологической активности большей части нейронов проявилось на 28-е сутки с существенными изменениями в миелинизированных проводниках белого вещества мозга, где констатировали активно протекающие сегментарные процессы репарации поврежденных миелиновых структур. Затем, на 45-е сутки после отравления, доминирующее большинство мотонейронов отреагировало на изменение микроциркуляции морфологическими проявлениями снижения физиологической активности клеток, однако к 60-м суткам мотонейроны спинного мозга, большей частью характеризовались как нормальные или умеренно хромофильные. По состоянию ядер макроглиоцитов их оценивали как активно синтезирующие клетки. В белом веществе мозга наблюдали картину еще более бурно протекающей макрофагии поврежденных структур мягкотных проводников и их де- и ремиелинизацию.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что особенностью репарации вещества спинного мозга крыс вследствие отравления модельным ГАМК-литиком является циклически протекающий процесс, сопряженный во времени с изменением органной гемодинамики — активного реагирования нейронов и глиального компонента серого вещества спинного мозга крыс со сменой фаз снижения, нормализации и восстановления поврежденных структур, ациклической динамикой изменений миелиновых волокон белого вещества с прогрессирующими изменениями миелинового каркаса, усилением активности процессов де- и ремиелинизации на позднем сроке (60 суток) эксперимента.

Отмеченные изменения позволяют предположить о развитии отдаленных последствий отравлений ГАМК-литиками, инвалидизации пораженных, органическом нарушении со стороны ЦНС, что актуализирует необходимость разработки новых и совершенствования имеющихся схем патогенетической терапии.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Бажин А. А.* Особенности патогенеза повреждений органов и тканей при отравлении клофлубицином: автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2010. 24 с.
2. *Головко А. И., Головко С. И., Зефиоров С. Ю., Софронов Г. А.* Токсикология ГАМК-литиков. СПб.: Нива, 1996. — 144 с.
3. *Korpi E. R., Gründer G., Lüddens H.* Drug interactions at GABA<sub>A</sub> receptors. *Progress in Neurobiology*. 2002; 67(2):113–159.
4. *Бонитенко Е. Ю., Башарин В. А., Бонитенко Ю. Ю., Головко А. И., Иванов М. Б.* Депримирующие агенты. Новые подходы к классификации (дискуссия) // *Токсикологический вестник*. 2012. № 3(114). С. 43–46.
5. *Антиконвульсанты в токсикологической практике / В. Д. Гладких и др. М., 2017. 240 с.*