

6. Булякова Н. В., Азарова В. С. Регенерационная способность мышечной ткани и состояние тимуса у облученных крыс в условиях пролонгированного воздействия излучения гелий-неонового лазера // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. — 2004. — № 3. — С. 280–293.
7. Тулаева О. Н., Бовтунова С. С. Репаративная регенерация поперечнополосатой скелетной мышечной ткани при воздействии некоторых физических факторов // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ: реабилитация, врач и здоровье». — 2014. — № 1(13). — С. 13–15.
8. Морозов В. И., Сакута Г. А., Калинин М. И. Морфологические и биохимические аспекты повреждения и регенерации скелетных мышц при физических нагрузках и гиподинамии // Морфология. — 2006. — № 3. — С. 88–96.
9. Стадников А. А., Шевлюк Н. Н. Стволовые клетки и репаративная регенерация в постнатальном онтогенезе млекопитающих // Морфология. — 2006. — Т. 130. — № 6. — С. 84–88.
10. Бахмейер М., Смоленский А. В., Митюшкина О. А. Профессиональные риски в спорте высших достижений // Вестник новых медицинских технологий. Электронный журнал. — 2015. — № 3. — DOI: <https://doi.org/10.12737/12131>
11. Верба О. Ю. Особенности механизмов саногенетического влияния иловых сульфидных пелоидов при вертеброгенных дорсопатиях: автореф. дис. ... д. мед. наук: 14.00.16 / Науч. центр клин. и эксперим. медицины СО РАН. — Новосибирск, 2005. — 29 с.
12. Убашев И. О. Природные лекарственные средства при повреждении органов и тканей: автореф. дис. ... д. биол. наук / Бурят, гос. с.-х. акад. — Улан-Удэ, 1997. — 47 с.

УДК 57.044: 611.018.8

*Разенкова В. А., Кирик О. В., Никитина И. А., Коржевский Д. Э.*

## **ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ВНУТРИБРЮШИННОГО ВВЕДЕНИЯ ХЛОРИДА ГАДОЛИНИЯ (III) НА СОСТОЯНИЕ МИКРОГЛИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И КЛЕТОК КОЛМЕРА**

*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург,  
Российская Федерация*

---

*Аннотация.* Целью работы является изучение влияния предполагаемого ингибитора макрофагов — хлористого гадолиния, на микроглию и макрофаги барьерных областей головного мозга (включая субфорникальный орган) у спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR.

Методика работы: животным вводили треххлористый гадолиний в концентрации 7 мг/кг дважды с интервалом 24 часа. Взятие материала для исследования производили через 48 часов после первого введения. Выявление микроглии/макрофагов ЦНС проводили с использованием иммуногистохимической реакции на Iba-1.

Основные результаты работы показали, что введение хлористого гадолиния не приводит к действенному падению артериального давления у крыс SHR. Микроглия и резидентные макрофаги исследуемых областей у животных экспериментальной группы находятся в состоянии активации, а также могут подвергаться дегенеративным изменениям. Негативное действие гадолиния на состояние фагоцитирующих клеток ЦНС предположительно обусловлено повышением интенсивности фагоцитоза, приводящим к дальнейшей фенотипической трансформации и гибели клеток.

*Ключевые слова:* микроглия, макрофаги, хлорид гадолиния, иммуногистохимия.

*Razenkova V. A., Kirik O. V., Nikitina I. A., Korzhevskii D. E.*

## **MICROGLIA AND EPIPLEXUS CELLS REACTION TO THE INTRAPERITONEAL INJECTION OF GADOLINIUM (III) CHLORIDE**

*Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation*

---

*Abstract.* The aim of the work is to estimate the effect of a putative macrophage inhibitor, gadolinium trichloride, on microglia and macrophages in the brain barrier structures (including subfornical organ) in spontaneously hypertensive rats (SHR).

The methodology of the work: animals were injected with gadolinium trichloride at a dose of 7 mg/kg twice with 24 hours interval. Animals were sacrificed 48 hours after the first injection. Visualisation of microglia/macrophages of the brain was performed using an Iba-1 immunohistochemistry.

The main results of the work revealed that the administration of gadolinium trichloride does not lead to an accentuated decrease in blood pressure in SHR rats. It has been demonstrated that microglia and resident macrophages of the studied areas in experimental group were activated, and, moreover, can undergo degenerative changes. The suppressive effect of gadolinium on phagocytic CNS cells is presumably resides in an increase of phagocytosis intensity, which leads to further phenotypic transformation and cell death.

*Keywords:* microglia, macrophages, gadolinium trichloride, immunohistochemistry.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В 1980-х годах гадолиний начали использовать как внутривенно вводимое контрастирующее вещество при проведении клинических исследований с использованием ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Это потребовало протестировать возможные токсические свойства гадолиния. Уже тогда появились первые работы, свидетельствующие о негативном действии гадолиния на макрофаги. Е. Husztki и соавт. в 1980 году, а позднее М. J. Hardonk и соавт. в 1992 году с помощью электронной микроскопии продемонстрировали подавление фагоцитарной активности печеночных макрофагов — клеток Купфера, под действием хлорида гадолиния (III). Было показано, что под действием хлористого гадолиния происходит блокировка фагоцитоза и избирательная элиминация крупных

макрофагов печени [1, 2]. Дальнейшие исследования показали успешное применение гадолиния для подавления активности макрофагов в различных органах и тканях. В соответствии с этим представляется актуальным исследовать действие гадолиния на макрофаги/микроглию в ЦНС и оценить возможность его применения для терапии заболеваний, связанных с воспалительным процессом и нейродегенерацией.

Спонтанно-гипертензивные крысы (Spontaneously Hypertensive Rats, SHR) получили широкое распространение в качестве экспериментальной модели изучения артериальной гипертензии. Стойкое повышение артериального давления у крыс SHR приводит к постоянной вазоконстрикции сосудов головного мозга и способствует их дальнейшим дегенеративным изменениям, таким как склероз и гиалиноз, а также гипертрофии гладкомышечных клеток. Кроме того, у крыс SHR также наблюдаются изменения секреторной активности и синтезируемых структурных белков в спинномозговой жидкости, сосудистом сплетении, некоторых циркумвентрикулярных органах (в том числе, субфорникальном органе) [3]. Известно, что региональные макрофаги и микроглия субфорникального органа (СФО) и эпиплексусные макрофаги сосудистого сплетения находятся в постоянном контакте с циркулирующими в крови и ликворе молекулами, что делает их удобными объектами для изучения нейровоспаления.

В соответствии с этим целью настоящего исследования являлось изучение влияния хлористого гадолиния на микроглию и макрофаги барьерных областей головного мозга (субфорникального органа и сосудистого сплетения) крыс с генетически детерминированной артериальной гипертензией.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент был выполнен на половозрелых крысах-самцах спонтанно-гипертензивной линии SHR ( $n = 6$ ). Животные были получены из биоколлекции Института физиологии РАН им. И. П. Павлова. При содержании, экспериментальных манипуляциях и эвтаназии животных соблюдали принципы Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.) и Правила надлежащей лабораторной практики (приказ № 199н от 01.04.2016 Минздрава России). Исследование было одобрено локальным этическим комитетом при ФГБНУ «ИЭМ» (протокол № 1/22 от 18.02.2022).

Для верификации артериальной гипертонии у крыс линии SHR проводили измерение артериального давления с использованием системы неинвазивного измерения давления «Систола» («Нейроботикс», Российская Федерация). В исследование отбирали животных с систолическим давлением, в среднем соответствующим или превышающим 200 мм рт. ст. Введение хлорида гадолиния экспериментальной группе проводилось дважды с интервалом 24 часа. Препарат вводили внутрибрюшинно в дозе 7 мг/кг массы тела на 0,5 мл физраствора. Контрольной группой служили крысы-самцы SHR, которым вместо препарата вводили физраствор. Взятие материала производили через 48 часов после первого введения. Перед взятием материала проводили контрольное измерение артериального давления. Головной мозг извлекали и фиксировали погружением в цинк-этанол-формальдегид. Заливку в парафин проводили по общепринятой методике. Фронтальные срезы головного мозга толщиной 5 мкм изготавливали при

помощи ротационного микротомы (Leica, Германия) на уровне субфорникального органа (от  $-0,60$  мм до  $-1,60$  мм относительно брегмы). Выявление микроглии и клеток Колмера проводили с использованием кроличьих моноклональных антител к Iba-1 в разведении 1:900 (Huabio, Китай). В качестве вторичных реагентов использовали набор UltraVision Quanto HRP DAB Detection System (TL-060-QHL, Thermo Fisher Scientific, США). Для визуализации продукта реакции использовали хромоген 3'3'-диаминобензидин из набора DAB+ (Agilent, США). После постановки иммуногистохимических реакций часть срезов докрашивали гематоксилином. Микроскопическое исследование препаратов в проходящем свете и фотосъемку выполняли, используя микроскоп Leica DM750 и цифровую фотокамеру Leica ICC50 (Leica, Германия).

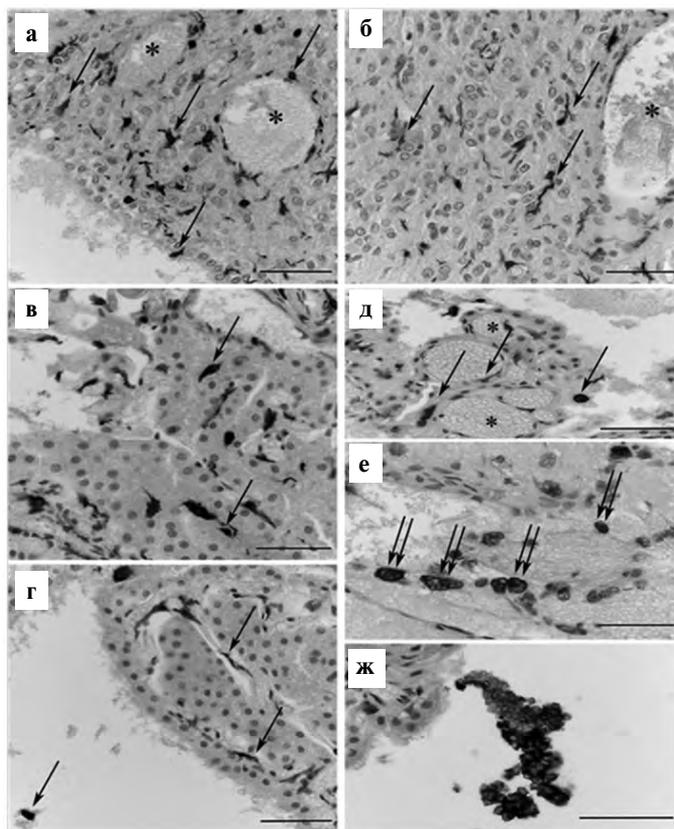
### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты измерения давления показали, что введение хлорида гадолиния (III) не приводит к действенному падению артериального давления у крыс SHR.

Иммуногистохимическая реакция на Iba-1 позволила выявить в субфорникальном органе и близлежащем сосудистом сплетении морфологически гетерогенную популяцию отростчатых клеток (*рис. 1*), которые соответствуют микроглиоцитам и клеткам Колмера.

Iba-1-иммунопозитивные клетки субфорникального органа крыс контрольной группы крупные, имеют сложную архитектуру отростков. В паренхиме СФО встречаются как неактивные (рамнифицированные) микроглиоциты с многочисленными тонкими, сложно ветвящимися отростками, так и активированные клетки с единичными крупными неветвящимися отростками (*рис. 1, а*). Периваскулярные микроглиоциты СФО не крупные, малоотростчатые, имеют веретеновидную или круглую форму и распластаны по периметру расширенных тонкостенных сосудов. Выделяли отдельную популяцию субэпендимных микроглиоцитов, ориентированных вдоль базальных частей клеток, покрывающих орган со стороны желудка. В сосудистом сплетении у крыс контрольной группы отмечали присутствие веретеновидных Iba-1-позитивных клеток, расположенных на поверхности эпителиоцитов, и крупных клеток круглой или овальной формы с малым количеством отростков, которые располагались в строме и рядом с сосудами (*рис. 1, в*). В просвете III желудка на различном расстоянии от сосудистого сплетения (*рис. 1, г*) можно заметить отдельные клетки, морфологически идентичные активированным эпиплексусным макрофагам (безотростчатым крупным клеткам). Эти наблюдения указывают на то, что клетки субфорникального органа и сосудистого сплетения у крыс SHR находятся в активированном состоянии, которое может быть связано с их локализацией в областях, обеспечивающих поддержание гематоэнцефалического и гематоликворного барьеров, а также состоянием артериальной гипертензии.

Тела микроглиоцитов субфорникального органа после введения хлорида гадолиния имеют малые размеры (*рис. 1, б*). Ядро этих клеток вытянутое, от тела отходит один крупный неразветвленный или малоразветвленный, обычно вертикально ориентированный отросток. Рамнифицированная микроглия в паренхиме СФО у экспериментальных животных практически отсутствует. Единичные микроглиоциты подобного морфотипа располагаются на периферии органа, вблизи прилежащего белого вещества. Большинство клеток Колмера у животных



*Рис. 1.* Реакция микроглии и макрофагов на воздействие хлорида гадолиния (III). Иммуногистохимическая реакция на Iba-1 с подкраской ядер гематоксилином: а — участок субфорникального органа животного контрольной группы; б — участок субфорникального органа животного экспериментальной группы; в, г — сосудистое сплетение крысы контрольной группы; д — сосудистое сплетение животного экспериментальной группы, общий вид; е — клетки с пенистой цитоплазмой в тканях головного мозга животного экспериментальной группы; ж — скопление Iba-1-содержащих клеток в просвете желудка крыс экспериментальной группы. Стрелки указывают на Iba-1-иммунопозитивные клетки, двойные стрелки — пенистые клетки. Звездочка обозначает просвет сосудов. Масштабный отрезок — 50 мкм

экспериментальной группы приобретало округлую форму. Часть клеток содержит многочисленные включения в виде тесно расположенных пузырьков, которые придают цитоплазме пенистый вид (*рис. 1, е*). В просвете третьего и боковых желудочков обнаружены эритроциты и ядросодержащие клетки. В ликворе помимо крупных клеток Колмера располагались также скопления большого количества иммунопозитивных структур, которые в основном не имели ядра (*рис. 1, ж*). Таким образом, при введении препарата у спонтанно-гипертензивных крыс повышается риск развития кровоизлияний в желудочках головного мозга.

Если принять во внимание полученные результаты, остается неясным, можно ли считать хлорид гадолиния (III) блокатором микроглии и тканевых макро-

фагов. Наша более ранняя работа [4] позволила высказать предположение, что активация микроглии на фоне развития артериальной гипертензии не связана с усилением фагоцитарной активности клеток. Это наблюдение следует рассматривать в совокупности с обнаруженными в настоящем исследовании Iba-1-позитивными клетками с пенистой цитоплазмой. Известно, что подобная морфология характерна для пенистых клеток — трансформированных M2 макрофагов. Трансформация макрофагов в пенистые клетки традиционно рассматривается как маркер атеросклеротического повреждения, так как предполагается, что накопление липидов происходит в результате опосредованного рецепторами захвата окисленных липопротеинов низкой плотности [5]. Образование пенистых клеток связывают с последующим снижением фагоцитарной активности и увеличением продукции провоспалительных цитокинов M1 макрофагами, что приводит к прогрессии заболевания [6]. Еще один интересный факт связан с выявлением в настоящей работе скоплений патологически измененных макрофагов в просвете желудочка. Индукция гибели макрофагов также является одним из характерных следствий трансформации макрофаг/пенистая клетка [7]. Все это указывает на то, что подавление активности микроглии/макрофагов треххлористым гадолинием в ЦНС основано на активации фагоцитирующих клеток в ответ на воздействие, что приводит к насыщению фагосом, фенотипической трансформации и гибели клеток.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 22-25-00105, <https://rscf.ru/project/22-25-00105>*

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Husztik E., Lázár G., Párducz A.* Electron microscopic study of Kupffer-cell phagocytosis blockade induced by gadolinium chloride. *Br J Exp Pathol.* 1980; 61(6):624–630.
2. *Hardonk M. J., Dijkhuis F. W., Hulstaert C. E., Koudstaal J.* Heterogeneity of rat liver and spleen macrophages in gadolinium chloride-induced elimination and repopulation. *J Leukoc Biol.* 1992; 52(3):296–302. DOI: <http://doi.org/10.1002/jlb.52.3.296>
3. *Gonzalez-Marrero I., Hernández-Abad L. G., Castañeyra-Ruiz L., et al.* Changes in the choroid plexuses and brain barriers associated with high blood pressure and ageing. *Neurología.* 2022; 37:371–382. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.nrl.2018.06.001>
4. *Гусельникова В. В., Разенкова В. А., Суфиева Д. А.* и др. Активация микроглии в головном мозге спонтанно гипертензивных крыс // Вестник РГМУ. — 2023. — № 3. — С. 53–60. — DOI: <http://doi.org/10.24075/vrgmu.2023.024>
5. *Huff M. W., Daugherty A., Lu H.* Atherosclerosis. In *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes* (6th ed.). Ridgway N.D. and McLeod R.S., eds. 2016. P. 519–548. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63438-2.00018-3>
6. *Mushenkova N. V., Nikiforov N. G., Melnichenko A. A., et al.* Functional phenotypes of intraplaque macrophages and their distinct roles in atherosclerosis development and atheroinflammation // *Biomedicines.* 2022; 10(2):452. DOI: <http://doi.org/10.3390/biomedicines10020452>

7. *Gui Y., Zheng H., Cao R.Y.* Foam Cells in Atherosclerosis: Novel Insights Into Its Origins, Consequences, and Molecular Mechanisms. *Front Cardiovasc Med.* 2022; 9:845942. DOI: <http://doi.org/10.3389/fcvm.2022.845942>

УДК [611.65/.67+611.63/.64].013-092.9:572.1/.4

*Рыскулов М. Ф., Шевлюк Н. Н., Блинова Е. В.*

## **МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ОРГАНОВ МУЖСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ**

*Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург,  
Российская Федерация*

---

*Аннотация.* Целью работы является определение морфологической картины органов мужской репродуктивной системы мелких млекопитающих в условиях антропогенной нагрузки.

Материалом исследования служили семенники с придатками у половозрелых животных — представителей отряда Грызуны класса Млекопитающие, обитающих в антропогенно трансформированных и контрольных территориях Оренбургской области. При обработке полученного материала использовали обзорные гистологические, иммуноцитохимические и морфометрические методы.

Основные результаты работы показали, что в условиях влияния антропогенных факторов в структурах семенников с придатками наблюдается возрастание деструктивных явлений. Негативные морфологические изменения устанавливают напряженный режим функционирования репродуктивной системы, который может служить причиной нарушения репродуктивного потенциала популяций, приводящей к уменьшению численности населения видов и к снижению биологического разнообразия в условиях антропогенной нагрузки.

*Ключевые слова:* антропогенная нагрузка, мелкие млекопитающие, семенник, придаток семенника, деструктивные изменения.

*Ryskulov M. F., Shevlyuk N. N., Blinova E. V.*

## **MORPHOLOGICAL PICTURE OF THE ORGANS OF THE MALE REPRODUCTIVE SYSTEM OF SMALL MAMMALS IN CONDITIONS OF ANTHROPOGENIC LOAD**

*Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation*

---

*Abstract.* The aim of the work is to determine the morphological picture of the organs of the male reproductive system of small mammals in conditions of anthropogenic load. The testes with appendages of mature animals — representatives of the order rodents of