

14. Oh J-H., Chung A-S., Steinbrenner H., Sies H., Brenneisen P. Thioredoxin secreted upon ultraviolet A irradiation modulates activities of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in human dermal fibroblasts. Arch. Biochem. Biophys. 2004; 423:218–226. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2003.12.026>
15. Arner E. S. J. Effects of mammalian thioredoxin reductase inhibitors. Handb. exp. Pharmacol. 2021; 264:289–309. DOI: https://doi.org/10.1007/164_2020_393
16. Qian J., Xu Z., Zhu P., et al. A Derivative of piperlongumine and ligustrazine as a potential thioredoxin reductase inhibitor in drug-resistant hepatocellular carcinoma. J. Nat. Prod. 2021; 84:3161–3168. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.1c00618>
17. Sun S., Zhang Y., Xu W., et al. Chlorophyllin inhibits mammalian thioredoxin reductase 1 and triggers cancer cell death. Antioxidants (Basel). 2021; 10:1733. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10111733>

УДК 576.08, 576.7, 57.086.3

Файрушина А. И., Хисматуллина З. Р.

РЕАКЦИЯ АСТРОЦИТОВ ПЕРЕДНЕГО КОРТИКАЛЬНОГО МИНДАЛЕВИДНОГО ЯДРА НА ГОНАДЭКТОМИЮ У КРЫС С АБСАНС-ЭПИЛЕПСИЕЙ (ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ И УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Российская Федерация

Аннотация. Цель исследования: анализ различий в экспрессии GFAP и ультраструктурных характеристик астроцитов переднего кортикального ядра амигдалы при абсансной эпилепсии в ответ на гонадэктомию.

Методика работы заключалась в иммуногистохимической реакции с антителами к GFAP и анализ электронограмм клеток глии.

Материал исследования — срезы головного мозга, полученные от крыс линии WAG/Rij.

Основные результаты работы показали, что вследствие стресса, вызванного дефицитом половых стероидов, в исследуемой области мозга отмечается возникновение процессов репарации с участием глиальных клеток. При резком снижении уровня андрогенов, вызванного гонадэктомией, увеличивается количество клеток, экспрессирующих GFAP, появляются признаки реактивного астроглиоза и значительные ультраструктурные изменения. Мы предполагаем, что все эти альтерации являются признаком адаптационных процессов.

Ключевые слова: абсансная эпилепсия, гонадэктомия, GFAP, амигдала, крысы линии WAG/Rij, астроциты.

Fairushina A. I., Khismatullina Z. R.

RESPONSE OF ASTROCYTES OF THE AMYGDALA'S ANTERIOR CORTICAL NUCLEUS TO GONADECTOMY IN RATS WITH ABSENCE EPILEPSY (IMMUNOHISTOCHEMICAL AND ULTRAMICROSCOPIC STUDY)

Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russian Federation

Abstract. Purpose of the study: to analyze differences in GFAP expression and ultrastructural characteristics of astrocytes of the anterior cortical nucleus of the amygdala in absence epilepsy in response to gonadectomy.

The method of work consists of an immunohistochemical reaction with antibodies to GFAP and analysis of electron diffraction patterns of glial cells. The subject of the study is brain sections obtained from WAG/Rij rats.

The main results of the work showed that due to stress caused by a deficiency of sex steroids, the occurrence of repair processes involving glial cells is noted in the studied area of the brain. At a sudden decrease of androgen levels caused by gonadectomy, the number of cells expressing GFAP increases, signs of reactive astrogliosis and significant ultrastructural changes appear. We assume that all these alterations are a sign of adaptation processes.

Keywords: absence epilepsy, gonadectomy, GFAP, amygdala, WAG/Rij rats, astrocytes.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одной из первостепенных целей в медицине и биологии становится исследование нейродегенеративных заболеваний, в том числе и разных форм эпилепсии. Поиск причин возникновения и разработка новых методов коррекции и лечения — важнейшие задачи современной науки. Абсансный тип эпилепсии (далее АЭ) — генерализованные бессудорожные формы эпилептических припадков [1]. Хотя считается, что абсансы преобладают в раннем возрасте (детская и юношеская АЭ), они могут возникать в любом возрасте, и клиническая картина их варьирует в широких пределах. Несмотря на то, что они считаются доброкачественным типом припадков, у некоторых пациентов с абсансами возможно их хроническое развитие [2]. Кроме того, абсансный статус является полиморфным состоянием, которое может осложнять многие эпилептические синдромы [3].

Миндалевидный комплекс (МК, или амигдала) мозга обладает низким порогом чувствительности к судорожной активности. Он является ключевым элементом в регуляции широкого спектра физиологических процессов, в особенности нейроэндокринных и поведенческих. Как нейроэндокринный центр, регулируя секрецию гонадотропинов и половое поведение, МК контролирует половое созревание организма и взаимодействует с соседними областями мозга, в частности, с гипоталамусом. На ростральном полюсе миндалины находится переднее кортикальное миндалевидное ядро (СОа, также в некоторых источниках АСо) — область, признанная важным нейроэндокринным центром и «зоной полового диморфизма» [4]. Тем не менее, в полной мере роль этой структуры мозга неизвестна из-за недостатка знаний обо всех ее связях.

Исследования последних лет в большей степени посвящены изучению механизмов апоптоза и регенерации нервных клеток, в то время как эти же вопро-

сы, касающиеся глиальных клеток, остаются малоизученными. Однако именно взаимодействие нейронов и глиии модулирует физиологические функции мозга и лежит в основе многих неврологических заболеваний, что указывает на важность комплексного изучения морфофункционального состояния этих клеток глиии при эпилепсии. В процессах нейровоспаления и нейропротекции большую роль играет астроцитарная глиия [5]. Астроциты, которые являются иммунокомпетентными клетками, в случае повреждения нервной ткани приобретают реактивный фенотип. Изменение или потеря астроцитами своей морфологической структуры считается признаком астроглиоза и является общей патологической особенностью для многих неврологических расстройств [6], в том числе эпилепсии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на двух группах половозрелых самцов крыс линии WAG/Rij, являющихся валидной моделью абсансной эпилепсии. Первую группу составили интактные животные ($n = 8$). Вторая группа, опытная ($n = 8$), подверглась гонадэктомии по общепринятой методике [7]. Животные были выращены в стандартных условиях вивария кафедры физиологии и общей биологии Уфимского университета науки и технологий. В течение всего эксперимента контрольных и опытных животных содержали без стрессовых и медикаментозных воздействий. Работа с экспериментальными животными, а также выведение их из эксперимента проводились в соответствии с Европейской конвенцией (Страсбург, 1986).

Спустя месяц эксперимента животные обеих групп были декапитированы. Головной мозг фиксировали в 10%-ном формалине, далее проводили стандартную гистологическую проводку с последующим окрашиванием срезов по Нислю (контрольные срезы).

Для иммуногистохимического исследования проводили реакцию на глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), являющийся белком цитоскелета астроцитов, по протоколу производителя с использованием мышинных моноклональных антител (Santa Cruz Biotechnology). Для контраста ядра клеток докрасивали гематоксилином.

Морфологический анализ клеток проводился на светооптическом микроскопе Микмед-5 (ЛОМО, Россия) при увеличении в 400 раз (окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$).

Ультратонкие гистологические срезы для электронной микроскопии готовили по стандартной схеме. Контрастирование проводили 2%-ным водным раствором уранилацетата и раствором цитрата свинца по Рейнольдсу. Электронно-микроскопические снимки получили при помощи трансмиссионного электронного микроскопа JEM-1011CX II при увеличениях от $\times 5000$ до $\times 10\ 000$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе иммуногистохимического исследования СОа МК мозга нами были обнаружены астроциты, экспрессирующие GFAP во всех исследуемых нами группах, однако эта экспрессия имела неоднородный характер.

У самцов контрольной группы большинство астроцитов имели пирамидную, веретенообразную или округлую форму, звездчатые формы клеток встречались

единично. Контуры тел и основных отростков были четкими, определялось незначительное количество основных стволовых отростков, в среднем от 1 до 3 в зависимости от формы клетки. Также в небольшом объеме определялись очень тонкие периферические отростки, астроцитарная сеть выражена слабо. Насыщенность окраски, отражающую уровень экспрессии белка, мы характеризовали как умеренную. Внутри астроцитов в виде светлых участков определялись немаркированные антителами ядра, расположенные в центральной части тел.

На срезах после гонадэктомии большая часть популяции астроцитов СОа МК имела пирамидную или звездчатую формы: количество стволовых отростков в среднем варьировало от 3 до 5. Вероятно, данное увеличение указывает на повышение функциональной активности астроцитов и их активный контакт с соседними глиоцитами и нейронами. Отчетливо наблюдалось изменение и в морфологии периферических отростков астроцитов, которые образовали тончайшие ответвления. Яркая маркировка антителами к GFAP наблюдалась по всей длине отростков и особенно в области тел. Клеточные ядра в опытной группе визуализировались редко, маркировка перекрывала окрашивание гематоксилином. Вероятно, это связано с усиленной экспрессией цитоскелетного белка. Кроме того, количество астроцитов, экспрессирующих GFAP у крыс в опытной группе было визуально выше по сравнению с контрольной группой крыс.

Следующим этапом нашего исследования стало изучение морфологии астроцитов на ультраструктурном уровне до и после гонадэктомии. В обеих группах нами были обнаружены несколько функциональных типов астроцитов. Первый тип — сателлитный, находящийся в непосредственном контакте с нейроном или на небольшом расстоянии от него. Второй тип мы классифицировали как околосинаптический, находящиеся в зоне скопления синапсов. Третий тип, барьерный — образующий гематоэнцефалический барьер и расположенный рядом с кровеносным сосудом.

В образцах опытной группы мы обнаружили значительное количество астроцитов с признаками повышенной функциональной активности. Были выявлены неровности наружной ядерной мембраны из-за отечных расширений перинуклеарного пространства. Хроматин ядра равномерный, плотный. Ядрышко смещено на периферию ядра (эктопия). Рибосомальные гранулы локализуются вокруг кариолеммы. На периферии клетки под плазмолеммой в большом количестве выявлены везикулы, заполненные однородным коллоидом. В цитоплазме представлены мелкие округлые и крупные вытянутые митохондрии. Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) представлен единичными, сильно расширенными цистернами, на наружной поверхности которых имеются связанные рибосомы.

Среди сателлитных и околосинаптических астроцитов были обнаружены клетки с признаками деструктивных изменений: маргинацией хроматина, внутриклеточным отеком, малочисленными органеллами в цитоплазме [8]. Подобные клетки у самцов контрольной группы не выявлены. Мы предполагаем, что эти изменения связаны с нейропротекторной функцией астроглии, которая является первой линией защиты нейронов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате экспериментально вызванного дефицита андрогенов нами получены данные об иммунореактивности астроцитов СОа МК и выявлены морфо-

логические различия на ультраструктурном уровне. Гонадэктомия является травматическим фактором для всей нервной системы [9], в нашем случае изменяет морфофункциональное состояние астроцитов, что проявляется видимой реактивностью на GFAP, гипертрофией и гиперплазией клеток. На ультрамикроскопическом уровне выявлены вакуолизация перинуклеарного пространства, перестройка внутренней и наружной мембран ядра, расширение цистерн ЭПР. Все это свидетельствует о выраженных синтетических клеточных процессах.

Таким образом, полученные данные дополняют сведения о роли астроглиальных клеток в работе мозга в норме и при патологиях. Дальнейшие исследования астроцитов в патогенезе абсансной эпилепсии помогут углубить понимание болезни и могут иметь важные последствия для разработки новых методов коррекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Segan S.* Absence Seizures [Электронный ресурс]. Medscape. 2018. URL: <https://reference.medscape.com/article/1183858-overview>
2. *Guilhoto L. M.* Absence epilepsy: Continuum of clinical presentation and epigenetics? *Seizure*. 2017; 44:53–57. DOI: 10.1016/j.seizure.2016.11.031.
3. *Thomas P.* Absence status epilepsy/ *Rev Neurol (Paris)*. 1999; 155(12):1023–1038.
4. *Хисматуллина З. Р.* Роль зон полового диморфизма миндалевидного комплекса мозга в регуляции репродуктивных процессов организма // Ученые записки СПбГМУ им. И.П. Павлова. 2011. № 2. С. 156–158.
5. *Sofroniew M. V., Vinters H. V.* Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol*. 2010; 119(1):7–35.
6. *Zhou B., Zuo Y. X., Jiang R. T.* Astrocyte morphology: diversity, plasticity, and role in neurological diseases. *CNS Neurosci Ther*. 2019; 25(6):665–673. DOI: 10.1111/cns.13123
7. *Кабак Я. М.* Практикум по эндокринологии. М.: Наука, 1968. 275 с.
8. *Файрушина А. И.* Влияние дефицита тестостерона на ультраструктуру астроцитов амигдалы у крыс с абсанс-эпилепсией // *Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье*. 2022. С. 82–83. EDN DCGQWP.
9. *Денисова В. В., Файрушина А. И., Хисматуллина З. Р., Садртдинова И. И.* Влияние дефицита тестостерона на морфологию и количество астроцитов миндалевидного комплекса мозга крыс с абсанс-эпилепсией // *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2019. № 3(43). С. 79–82. DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10042