

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

«Сибирский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

Бахарева Юлия Олеговна

ВОЗРАСТНЫЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРВИЧНОЙ  
ЗРИТЕЛЬНОЙ ОБЛАСТИ КОРЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЯРКОГО СВЕТА, ИХ  
КОРРЕКЦИЯ

(экспериментальное исследование)

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук,  
доцент Е.Ю. Варакута

Томск – 2020

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
<i>Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</i> .....	12
1.1. Морфологические аспекты старения головного мозга.....	12
1.2. Анатомия и физиология зрительного анализатора. Основные механизмы антеро- и ретроградной дегенерации в системе сетчатка – первичная зрительная кора.....	18
1.3. Эффекты светового воздействия на сетчатку.....	21
1.4. Коррекция возрастных и дегенеративных изменений головного мозга. п-Тирозол.....	23
<i>Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</i> .....	26
2.1. Характеристика экспериментального исследования.....	26
2.2. Методы исследования .....	31
<i>Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</i> .....	32
3.1. Морфологические изменения нейронов во II, IV и V слоях первичной зрительной коры.....	32
3.1.1. Структурные изменения нейронов в группе 3-месячных крыс при высокоинтенсивном световом воздействии, их коррекция п-тирозолом .....	32
3.1.2. Морфологические изменения нейронов у 18-месячных крыс в первичной зрительной коре и их коррекция п-тирозолом.....	44
3.1.3. Морфологические изменения нейронов 18-месячных крыс в первичной зрительной коре при световом воздействии и их коррекция п-тирозолом.....	50

3.2. Морфологические изменения межнейрональных контактов IV слоя первичной зрительной коры .....	59
3.2.1. Ультраструктурные изменения синапсов у 3-месячных крыс в условиях высокоинтенсивного светового воздействия, их коррекция п-тирозолом.....	59
3.2.2. Ультраструктурные изменения синапсов у 18-месячных крыс в условиях высокоинтенсивного светового воздействия, их коррекция п-тирозолом.....	66
3.3. Морфологические изменения глии во II, IV и V слоях первичной зрительной коры .....	67
3.3.1. Структурные изменения глиоцитов у 3-месячных крыс в условиях высокоинтенсивного светового воздействия, их коррекция п-тирозолом.....	73
3.3.2. Морфологические изменения глии у 18-месячных крыс в первичной зрительной коре при световом воздействии, их коррекция п-тирозолом.....	82
3.3.3. Морфологические изменения глии у 18-месячных крыс при высокоинтенсивном световом воздействии, их коррекция п-тирозолом.....	87
3.4. Морфологические изменения микроциркуляторного русла и гематоэнцефалического барьера первичной зрительной коры.....	93
3.4.1. Структурные изменения сосудов в группе 3-месячных крыс при световом воздействии, их коррекция п-тирозолом.....	93
3.4.2. Морфологические изменения сосудов у 18-месячных крыс при высокоинтенсивном световом воздействии, их коррекция п-тирозолом.....	99
<i>Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ</i> .....	108
<b>ВЫВОДЫ</b> .....	120
<b>СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	121
<b>БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК</b> .....	122

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность исследования**

Средняя продолжительность жизни человека во всем мире резко возросла, что связано с улучшением качества жизни и медицинской помощи [Vaupel J.W. et al., 2010]. Пожилые люди в наше время представляют собой наиболее быстро растущий сегмент населения в большинстве развитых стран, в связи с этим существует растущая потребность в поиске путей предотвращения возрастных хронических заболеваний с целью улучшения качества жизни пожилых людей.

Старение – это зависящее от времени накопление клеточных повреждений, связанных с прогрессирующим снижением физиологических функций, что в конечном итоге приводит к развитию хронических заболеваний и смерти [Lopez-Otin C. et al., 2013; Tian X. et al., 2017]. Действительно, возраст является, безусловно, самым большим фактором риска для хронических заболеваний, включая онкологические, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные.

Зрение, наиболее доминирующее из наших чувств, играет решающую роль в каждой стадии нашей жизни. Согласно первому Всемирному докладу о проблемах зрения, опубликованному Всемирной организацией здравоохранения в 2019 году, более 1 миллиарда человек во всем мире живут с нарушениями зрения, что связано с увеличением продолжительности жизни и доли пожилого населения [World Health Organization, 2020].

Показано, что при заболеваниях, приводящих к нарушению зрения и слепоте, наряду с изменениями в периферическом отделе поражаются корковые центры зрительного анализатора [Ichhpujani P. et al., 2019; Levkovitch-Verbin H. et al., 2015; Mirzaei M. et al., 2017]. Согласно современным данным, гибель ганглионарных нейронов сетчатки, вне зависимости от причины, приводит к антероградной транссинаптической (транснейрональной) нейродегенерации подкорковых и корковых центров, что, возможно, является основным механизмом

развития и прогрессирования заболеваний, приводящих к нарушению зрения и слепоте.

С помощью современных методов нейровизуализации продемонстрировано, что данный феномен встречается при многих возраст-зависимых заболеваниях, таких как глаукома [Tribble J.R. at al., 2019; Wang Y. at al., 2020], нейродегенеративные заболевания головного мозга [Stam C.J. at al., 2014; Fornito A. at al., 2015], инсульты и инфаркты [Dang G. at al., 2016], показана патогенетическая значимость данного механизма при рассеянном склерозе [Gabilondo I. at al., 2014; Mancino R. at al., 2019] и травматических повреждениях зрительного нерва [You Y. at al., 2012].

На сегодняшний день нет единого понимания патогенеза транснейрональной дегенерации, его возрастных особенностей, и, соответственно, не разработаны эффективные методы коррекции и профилактики вторичного повреждения нервных структур. Антиоксиданты, зарекомендовавшие себя в качестве ретинопротекторов, эффективно предотвращали повреждения нейронов сетчатки при световом воздействии и могут оказаться полезными для коррекции повреждения подкорковых и корковых центров зрительного анализатора [Kumar V. at al., 2013; Wang D. at al., 2015; Жданкина А.А. и др., 2013]. С этой целью был выбран п-тирозол, обладающий антиоксидантными, гемореологическими эффектами, кардио- и нейропротективными свойствами [Плотников М.Б. и др., 2018; Ходанович М.Ю. и др., 2019; Крысин А.П. и др., 2019; Осипенко А.Н. и др., 2017; Плотников М.Б. и др., 2007]. Указанные свойства позволяют предположить о возможности его использования в качестве патогенетической коррекции повреждения коркового отдела зрительного анализатора при фотоповреждении сетчатки.

Зрительный анализатор— это уникальная иерархическая цепочка взаимосвязанных нейронов, благодаря чему он является удобной моделью для изучения механизмов транснейрональной дегенерации [You Y. at al., 2019]. В настоящем исследовании для изучения тканевых механизмов изменения

клеточной популяции первичной зрительной коры использовалась модель фотоповреждения сетчатки. Данная модель является легко воспроизводимой, закономерно вызывает гибель ганглионарных нейронов сетчатки и демиелинизацию зрительных нервов, что является ключевым фактором в реализации механизма транснейрональной дегенерации и повреждения корковых зрительных центров [You Y. at al., 2019]. Предметом планируемого исследования был поиск новых научных знаний о тканевых механизмах адаптации клеток первичной зрительной коры в ответ на повреждение сетчатки у крыс 3- и 18-месячного возраста. Объект исследования – нейроны, межнейрональные контакты, глиальные клетки, сосуды первичной зрительной коры и в условиях светового повреждения сетчатки и коррекции.

### **Степень разработанности проблемы**

Достаточно подробно изучены вопросы повреждения сетчатки при световом воздействии [Vicente-Tejedor J. at al., 2018; Фахрутдинова А.Ф. и др., 2019; Аникина Е.Ю. и др., 2009; Варакута Е.Ю. и др., 2012; Логвинов С.В. и др., 2006]. Изучены дегенеративные изменения вдоль зрительного пути при аксонотомии зрительного нерва [You Y. at al., 2012; Потапов А.В. и др., 2006]. Повреждение зрительной коры микроволновым и ионизирующим излучением [Логвинов С.В. 1994, Логвинов С.В. 1998]. Однако, в доступной литературе крайне мало данных о морфологических изменениях зрительной коры при фотоповреждении сетчатки, таким образом, степень разработанности темы – низкая.

### **Цель исследования**

Изучить морфофункциональные изменения нейро-глио-сосудистого комплекса первичной зрительной коры при воздействии света высокой интенсивности и их коррекции п-тирозолом у 3- и 18-месячных крыс линии Вистар.

**Задачи исследования:**

1. Изучить возраст-зависимые изменения клеточных элементов первичной зрительной коры у 18-месячных крыс и в условиях коррекции п-тирозолом.
2. Оценить морфофункциональные изменения нейронов первичной зрительной коры у 3- и 18-месячных крыс при световом воздействии и в условиях коррекции п-тирозолом.
3. Провести ультраструктурный морфометрический анализ межнейрональных синапсов первичной зрительной коры у 3- и 18-месячных крыс при световом воздействии и в условиях коррекции п-тирозолом.
4. Исследовать морфофункциональные изменения глиальных клеток первичной зрительной коры у 3- и 18-месячных крыс, при световом воздействии и в условиях коррекции п-тирозолом.
5. Провести анализ морфофункциональных изменений сосудов и элементов гематоэнцефалического барьера первичной зрительной коры у 3 и 18-месячных крыс при световом воздействии и в условиях коррекции п-тирозолом.

**Научная новизна**

Для достижения поставленных задач было проведено комплексное гистологическое, электронно-микроскопическое и морфометрическое исследование первичной зрительной коры 3- и 18-месячных крыс линии Вистар. Впервые, в сравнительном аспекте изучены морфологические изменения клеточных элементов первичной зрительной коры после 7 суток высокоинтенсивного светового воздействия и при коррекции п-тирозолом у 3- и 18-месячных крыс линии Вистар. Получены новые данные о реактивной, компенсаторной и репаративной реорганизации нейронов, межнейрональных синапсов, глиоцитов и клеточных элементов гематоэнцефалического барьера первичной зрительной коры головного мозга крыс при световом воздействии и в условиях коррекции п-тирозолом. Выявлено, что световое воздействие усугубляет имеющиеся возрастные

изменения нейронов и приводит к деструкции синаптических контактов первичной зрительной коры. Это сопровождается изменениями в глиальной популяции и компонентах гематоэнцефалического барьера. В настоящем исследовании впервые разработана и апробирована экспериментальная модель светового повреждения сетчатки для изучения тканевых механизмов транснейрональной дегенерации первичной зрительной коры у крыс разного возраста, показана возможность их коррекции п-тирозолом.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Анализ и обобщение результатов исследования морфологических изменений в первичной зрительной коре при повреждении сетчатки и на фоне коррекции п-тирозолом расширяют фундаментальные знания об адаптивных, деструктивных, компенсаторно-приспособительных процессах в клеточной популяции первичной зрительной коры у крыс разных возрастных групп. Проведенные количественные измерения позволили оценить особенности структурно-функциональных изменений нейронов первичной зрительной коры головного мозга при фотоповреждении сетчатки. Полученные данные могут стать основой для разработки патогенетических подходов воздействия на механизмы развития повреждения центрального отдела зрительного анализатора при заболеваниях, приводящих к гибели ганглионарных нейронов сетчатки и демиелинизации зрительных нервов (глаукома, рассеянный склероз). Полученные результаты о защитном эффекте п-тирозола на первичную зрительную кору при воздействии света могут быть использованы для разработки новых подходов профилактики и патогенетического лечения заболеваний, приводящих к слепоте. Полученные данные будут полезны специалистам в области гистологии, фармакологии, офтальмологии, нейробиологии и неврологии, а значит могут быть использованы в учебном процессе на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии, раздела «нервная система, нервная ткань».

### **Методология и методы исследования**



Методологической основой исследования является сравнительное изучение структурно-функциональной организации первичной зрительной коры крыс 3- и 18-месячного возраста на модели светового повреждения сетчатки и в условиях коррекции п-тирозолом. В работе использован комплекс гистологических, электронно-микроскопических и морфометрических методов исследования головного мозга экспериментальных животных, который позволил охарактеризовать тканевые механизмы адаптации и компенсаторно-восстановительной реорганизации клеток первичной зрительной коры у крыс разного возраста на модели светового повреждения сетчатки. Все процедуры с животными выполнялись в соответствии с директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.2010 «О защите животных, используемых для научных целей». Распределение объектов и групп исследования в соответствии с использованной методологией представлено в таблице.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Возрастные изменения первичной зрительной коры характеризуются деструкцией части нейронов, что сопровождается глиальной реакцией в виде пролиферации и/или миграции глиоцитов. п-Тирозол снижает процентное содержание деструктивных форм клеток и улучшает морфофункциональное состояние части нейронов.
2. После 7 суток светового воздействия часть нейронов подвергалась необратимым изменениям, более выраженным в IV слое первичной зрительной коры 18-месячных крыс, другая часть – компенсаторной реорганизации, сопровождающейся появлением новых синапсов. Использование п-тирозола снижает деструкцию нервных клеток и улучшает межнейронную коммуникацию.
3. После светового воздействия наблюдаются реактивные и деструктивные изменения глиоцитов. В отростках астроглии, окружающих капилляры, появляются слоистые мембранные структуры, а в эндотелии – множественные пиноцитозные пузырьки, что отражает дисфункцию

гематоэнцефалического барьера, более выраженную у 18-месячных крыс. Введение п-тирозола снижает процентное содержание измененных глиоцитов и улучшает микроваскуляризацию.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается выполнением работы на достаточном экспериментальном материале (60 экспериментальных животных) с использованием современных гистологических методов исследования. Полученные результаты статистически обработаны с помощью современных методов доказательной медицины. Основные научные данные, теоретические положения, разработанные на их основе, практические рекомендации настоящего исследования внедрены в процесс преподавания на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, при изучении разделов «нервная система, нервная ткань»

Результаты проведенного исследования докладывались и обсуждались на XIII Конгрессе Международной Ассоциации Морфологов 24-27 мая 2016 г. на базе Медицинского института Петрозаводского государственного университета, на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 120-летней годовщине со дня рождения профессора Б.М. Соколова, проходившей 3-4 июня 2016 г. на базе Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова, на XIV Конгрессе Международной Ассоциации морфологов, проходившей 19-22 сентября 2018 года на базе Астраханского государственного медицинского университета, на VIII Съезде Научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов России, проходившем 23–26 мая 2019 года на базе Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко, на Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной

105-летию со дня рождения чл.-кор. АМН СССР, профессора Алексея Георгиевича Кнорре, проходившей 19 декабря 2019 на базе Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 9 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 1 – Scopus.

### **Объем и структура диссертации.**

Диссертация представлена на 144 машинописных страницах, иллюстрирована 17 таблицами и 61 рисунком, состоит из введения, обзора литературы, результатов собственных исследований, их обсуждения, выводов и списка литературы. Список литературы содержит 205 источников, в том числе 35 на русском и 170 на английском языках.

## **Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

### **1.1. Морфологические аспекты старения головного мозга**

Нервная система представляет целостную морфологическую и функциональную совокупность взаимосвязанных нейронов глиоцитов и сосудов. Структура головного мозга непрерывно изменяется в течение всей жизни, данный процесс обозначается термином «нейропластичность». Он в себя мобильность всех систем жизнеобеспечения нейронов, нейроглии и систем регуляции кровообращения головного мозга как при физиологических изменениях (в том числе возрастных), так и при патологических [Семченко В.В., Степанов С.С., Боголепов Н.Н., 2014]. Известно, что возрастные изменения головного мозга при старении являются центральным механизмом в изменении когнитивных функций.

Основные процессы, способствующие старению мозга, развиваются как в органеллах нейронов, так и в нейропиле. Большой объем исследований посвящен возрастным изменениям числа нервных клеток в различных отделах головного мозга. Так, в экспериментах на 19- и 20-месячных крысах обнаружили, что возрастная потеря нейронов первичной зрительной коры находится в пределах 18-20%, встречается во всех слоях кроме IV и не зависит от пола животного [Yates M.A. at al., 2008]. В то же время, исследования нейрональной популяции зрительной коры у человека при старении демонстрируют ее сохранность [Leuba G. at al., 1994]. На сегодняшний день известно, что при физиологическом старении потеря нейронов ограничена отдельными областями головного мозга и

не коррелирует с развитием когнитивного дефицита [Peinado M.A. at al., 1997; Keuker J.I. at al., 2004; Pannese E. at al., 2011; Fjell A.M. at al., 2017].

Ультраструктурные изменения нейронов при старении включают накопление липофусциновых гранул – непереваренный материал внутри лизосом [Granier L.A. at al., 2000]. Р. Вирхов впервые в 1847 году описал их как пигментные тельца в неделящихся постмитотических клетках. Такие включения имеют размеры от 0,5 до 3 мкм в диаметре. Липофусцин состоит из фосфолипидов, холестерина, триглицеридов, продуктов окисления жирных кислот и, вероятно, является продуктом деградации митохондрий [König J. at al., 2017]. Современные исследования по накоплению липофусцина показали, что такие включения мало или совсем не влияют на функциональную активность нейронов при нормальном, физиологическом старении [Pannese E. at al., 2011].

Так как мозг – это орган, потребляющий много энергии, для работы которого требуется около 20% основного кислорода в организме, особый интерес при изучении возрастных изменений представляют митохондрии. Данные органеллы часто сравнивают с клеточными электростанциями. Они производят энергию, необходимую почти для всех метаболических процессов, от выживания и гибели клеток до регуляции внутриклеточного гомеостаза кальция, синаптической пластичности и синтеза нейротрансмиттеров [Mattson M.P. at al., 2008]. Численная плотность митохондрий снижается с возрастом из-за снижения митохондриогенеза, мутаций и/или делеций в митохондриальной ДНК. Прогрессирующая неэффективность комплексов транспортной цепи электронов в митохондриях возникает в результате дестабилизации мембран, чрезмерной продукции активных форм кислорода (АФК) и развития окислительного стресса. Уже более полувека существует свободнорадикальная теория старения [Harman D. at al., 2002]. АФК накапливаются с возрастом и вызывают необратимое повреждение клеток, что ускоряет возрастные дегенеративные процессы во многих органах и тканях [Hekimi S. at al., 2011].

Изменения в нейропиле характеризуются структурными изменениями отростков нейронов – дендритов и аксонов. С возрастом дендритное дерево подвергается прогрессивной регрессии, характеризующиеся уменьшением количества синапсов. Наблюдается уменьшение количества дендритных шипов и очаговая демиелинизация аксонов [Dickstein D.L. at al., 2013; Paltsyn A.A. at al., 2015; Pannese E. at al., 2011; Mavroudis I.A. at al., 2015]. В результате этих событий нарушается скорость образования и перестройки межнейрональных связей, снижается возможность регенерации нервной ткани. Структурные изменения в нейрональных отростках снижают активность функциональных синапсов. Данные изменения, вероятно, могут объяснить снижение познавательной способности и волевого контроля движений при старении. Многие ученые предполагают, что когнитивный дефицит, развивающийся при старении, в большей степени вызван изменениями именно в синапсах, а не в самих нейронах [Morrison J.H. at al., 1997; Nara Y. at al., 2012; Samu D. at al., 2017].

При старении наблюдаются также существенные изменения сосудистой сети, выражающиеся в снижении плотности гемокapилляров, утолщении сосудистой стенки, снижении экспрессии нейротрофических и ростовых факторов [Гомазков О.А., 2012]. Они обуславливают снижение функционально-приспособительных возможностей сосудов при изменении условий окружающей среды и стрессе. Меняется перфузионное давление, объем церебральной крови и мозговой кровотоков, которые вместе влияют на сосудистый резерв [Carroll M.A. at al., 2018]. Гемодинамическая недостаточность может способствовать когнитивным нарушениям, и эти сосудистые изменения могут оказывать глобальное влияние на сосудистую сеть и гематоэнцефалический барьер [Tomimoto H. at al., 2015].

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) обеспечивает гомеостаз межклеточной жидкости, препятствует проникновению из крови в мозг практически всех молекул, кроме мелких и липофильных. Постоянство состава межклеточной жидкости головного мозга обеспечивает защиту клеток головного мозга от

нейротоксичных соединений. Основными клеточными элементами ГЭБ являются: эндотелиоциты, перициты и отростки астроцитов [Черток В.М., Черток А.Г., 2016]. Все структурные элементы ГЭБ имеют специальные приспособления, обеспечивающие регуляцию проникновения ксенобиотиков в ткани мозга. Они тесно связаны с микроглией и нейронами, совместно образуя единую, функционально связанную систему. Помимо клеточных элементов, ГЭБ содержит внеклеточный матрикс и базальную мембрану. Проницаемость ГЭБ избирательная и зависит от состояния клеток его образующих, их микроокружения и внешних условий. Так, некоторые ксенобиотики могут проникать в головной мозг через специфические транспортеры, экспрессируемые в эндотелии мозга при физиологических или патологических условиях [Zlokovic B.V. et al., 1990].

Возрастные изменения затрагивают в той или иной степени все элементы ГЭБ. Эндотелиоциты капилляров головного мозга обладают высокой реактивностью, они служат как источником, так и мишенью для воспалительных цитокинов и АФК. На ультраструктурном уровне в эндотелиоцитах головного мозга при старении наблюдается увеличение количества пиноцитозных пузырьков и уменьшение плотности митохондрий, что ведет к накоплению АФК и повреждению клеток [Marques F. et al., 2013; Elahy M. et al., 2015]. Развивающаяся на этом фоне эндотелиальная дисфункция проявляется, главным образом, в повышенной проницаемости ГЭБ, что приводит к нейровоспалению и усугубляет окислительный стресс [Obermeier V. et al., 2013]. Эти два патофизиологических механизма тесно связаны не только с физиологическим старением, но и вовлечены в патогенез заболеваний нервной системы.

После того, как кислород и питательные вещества проникли через эндотелиоцит, они должны диффундировать через базальную мембрану, представленную однородными, тонкими листками внеклеточного матрикса. Показано, что с возрастом она становится толще и жестче, что связано с изменением концентрации и соотношения коллагенов и ламининов [Candiello J. et

al., 2010]. Ультраструктурные изменения базальной мембраны включают также очаговое утолщение, расщепление и ее дублирование [Farkas E. at al., 2001].

Отростки астроглии покрывают более 99% церебральных капилляров и имеют фундаментальное значение для гомеостаза, защиты и регенерации нервной ткани [Rodríguez-Arellano J.J. at al., 2016]. Эксперименты показывают, что с возрастом в нервной ткани происходит увеличение количества и размеров астроцитов, также возрастает экспрессия глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) у людей и грызунов, что может способствовать избыточной глиальной пролиферации в ответ на травму или другое повреждение головного мозга [Harris J.L. at al., 2015; Суфиева Д.А., Кирик О.В., Коржевский Д.Э., 2019; Сухаренко Е.В., 2015; Chisholm N.C. at al., 2016].

Ультраструктурные изменения перицитов при старении выражаются в появлении везикулярных и липофусциноподобных включений, увеличении объема митохондрий [Ceafalan L.C. at al., 2019; Tigges J., Herndon J.G., Rosene D.L., 1995]. В долгосрочной перспективе, вероятно, эти изменения дополнительно усиливают повреждение нейронов. Американские ученые доказали, что повреждение перицитов коррелирует с повышенной проницаемостью ГЭБ в гиппокампе- области, которая, как известно, страдает от потери перицитов и разрушения ГЭБ при болезни Альцгеймера [Montagne A. at al, 2015; Sengillo J.D. at al, 2013].

Микроглия – иммунные клетки мозга, которые активируются в ответ на системное воспаление, травму и некоторые патофизиологические процессы в центральной нервной системе [Sanchez-Covarrubias L. at al, 2014; Harry G.J. at al, 2013]. Микроглия не является структурной единицей ГЭБ, но влияет на его функцию и целостность. В «состоянии покоя» такие клетки имеют небольшое тело и мелкие клеточные отростки. Их активация в ответ на патофизиологические стрессоры сопровождается изменением морфологии клеток, они приобретают амeboидный внешний вид [Kettenmann H. at al, 2011]. Активированная микроглия



продуцирует нейротоксические и провоспалительные медиаторы, такие как оксид азота, пероксиды, фактор некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и протеазы, которые приводят к повреждению и гибели нервных клеток [Ronaldson P.T. at al, 2012]. Существует предположение, что активация микроглии может быть связана с повышенной проницаемостью ГЭБ [Huber J.D. at al, 2006]. С возрастом морфология микроглии меняется, что сопровождается снижением способности клеток к миграции и переходу в провоспалительное состояние [Ben-Menachem E. at al, 1982]. При ультраструктурном анализе в цитоплазме микроглии старых крыс и обезьян обнаружены гетерогенные, плотные включения, которые, вероятно, являются результатом фагоцитоза разрушенных аксонов, дендритных шипиков, пиноцитоза белков плазмы и других метаболических отходов [Peters A. at al, 2002; Reinado M.A. at al, 1998]. Покоящаяся микроглия в стареющем мозге характеризуется выраженной гипертрофией и фрагментацией цитоплазмы, утратой разветвленных отростков [Streit W.J. at al, 2005; Streit W.J. at al, 2004].

Таким образом, клеточное старение приводит к дисфункции ГЭБ, выражающейся в повышении его проницаемости, изменении гомеостаза межклеточной жидкости, развитию окислительного стресса и притоку провоспалительных цитокинов. Все эти факторы запускают и/или усугубляют процессы, приводящие к повреждению нейронов и глиоцитов.

## **1.2. Анатомия и физиология зрительного анализатора. Основные механизмы антеро- и ретроградной дегенерации в системе сетчатка – первичная зрительная кора**

Зрительный анализатор состоит из периферической части – сетчатки, проводящих путей и центрального отдела, к которому относят наружные коленчатые тела и зрительную область затылочной доли коры больших полушарий [Rowe F. at al, 2016].

Сетчатка представлена нейронами, расположенными в три основных слоя. Первый слой – это нейросенсорные клетки, воспринимающие световые импульсы [Levin L.A. at al, 2011]. Центральные отростки фоторецепторов взаимодействуют с соседними клетками и интернейронами (горизонтальными и биполярными клетками) и играют критическую физиологическую роль в передаче и ранней обработке зрительной информации [Hildebrand G.D. at al, 2011]. Интернейроны второго слоя образуют сложные нейроретинальные цепи во внутреннем и внешнем плексиформных слоях, они обрабатывают информацию, полученную от фоторецепторов и передают ее третьим нейронам – ганглионарным клеткам [Sharma R.K. at al, 2003]. Аксоны последних образуют зрительный нерв и передают визуальную информацию, закодированную в виде нервных импульсов в мозг [Masland R.H. at al, 2012]. Из-за анатомического расстояния между сетчаткой и следующими нейронами пути зрительного анализатора в ганглионарных нейронах сетчатки осуществляются уникальные механизмы регуляции транспорта метаболитов и органелл от (антероградно) и обратно (ретроградно) к ядру ганглионарных клеток. Вероятно, высокая плотность митохондрий в их аксонах позволяет эффективно обеспечивать своевременную доставку нейромедиаторов в синаптические контакты. Большая часть аксонов формирует ретиногеникулярные пути, которые заканчиваются синапсами на нейронах латеральных коленчатых тел [Rubin M. at al, 2016.]. Они состоят из нейронов, тела которых формируют 6 слоев. Слой I, IV и VI получают афференты от контрлатерального глаза, а II, III и V слои – от ипсилатерального. Далее, аксоны этих нейронов направляются в IV

слой первичной зрительной коры (17 поле по Бродману, по функциональной и анатомической номенклатуре Oc1, V1) [Yücel Y.N. at al, 2003].

Таким образом, зрительный анализатор представляет цепочку из 5 нейронов, первые 3 из которых локализуются в сетчатке, четвертые в латеральном колленчатом теле, пятые в IV слое первичной зрительной коры головного мозга и является удобной моделью для изучения вторичных дегенеративных изменений головного мозга.

Деструкция аксонов после повреждения тела нейрона называется антероградной или валлеровской дегенерацией, а апоптоз нейрона после повреждения его аксона – ретроградной дегенерацией. Также, известно, что гибель нейронов может быть следствием деафферентации. Такая транссинаптическая дегенерация давно изучена в двигательной системе и мозжечковых путях, но ее существование в зрительной системе человека в течение длительного времени вызывало сомнения. Обнаружено, что при глаукоме или повреждении зрительного нерва наблюдаются вторичные, дегенеративные изменения в зрительной коре [Vasalauskaite A., Morgan J.E., Sengpiel F., 2019; Dekeyster E. at al., 2015]. Механизм транссинаптической нейродегенерации рассматривается как важный фактор патогенеза повреждения головного мозга при глаукоме [Yücel Y. at al., 2008; Lawlor M., 2018], болезни Альцгеймера [De Calignon A., 2012], рассеянном склерозе [Balk L.J. at al., 2015; Klistorner A. at al., 2014], наследственных невритах зрительного нерва [Tur C., 2016], болезни Паркинсона [Goedert M. at al., 2015] и инсульте [Dang G. at al., 2016].

Транснейрональная дегенерация приводит к активации запрограммированной гибели клеток на фоне повышения воспалительных цитокинов и изменения функциональной активности глиальных клеток [You Y. at al., 2012; Puyang Z. at al., 2016]. Деафферентация, возникающая в результате гибели нейронов или повреждения аксонов вызывает компенсаторную реорганизацию зрительных путей [Nys J. at al., 2015]. Она выражается в развитии

апоптоза нейронов латеральных коленчатых тел, глиоза, снижении плотности аксонов в зрительной лучистости и атрофии серого вещества зрительной коры [Boucard C.C. at al., 2009; Barcella V. at al., 2010]. Причем повреждения первичной зрительной коры коррелируют с изменениями в зрительном нерве, таким образом, наблюдается транссинаптическая нейродегенерация через один нейрон [Boucard C.C. at al., 2009].

В экспериментах на модели частичного или полного разрушения зрительных нервов обнаружили, что первые ультраструктурные изменения нейронов латеральных коленчатых тел наблюдаются уже через 24 часа после повреждения [Eysel U.T. at al., 1974; Vasalauskaite A. at al., 2019]. Далее развивается демиелинизация в области латеральных коленчатых тел, происходит миграция микроглии и астроцитов. В цитоплазме микроглии встречаются миелиновые гранулы, проведенный иммуногистохимический анализ показал высокое содержание в этих гранулах миелинового протеолипидного белка и увеличение глиального кислого белка, как фактора активации астроглии [You Y. at al., 2019]. Наблюдается апоптоз нейронов латеральных коленчатых тел, что, вероятно, связано с избыточной глиальной активацией. Похожие морфологические изменения наблюдаются в первичной зрительной коре животных [You Y. at al., 2019].

За последние два десятилетия с помощью новых технологий, таких как оптическая когерентная томография, были представлены доказательства ретроградной транссинаптической дегенерации в зрительном анализаторе взрослого человека [Garaci F.G. at al., 2009]. Повреждение латеральных коленчатых тел и первичной зрительной коры ведет к гибели ганглионарных нейронов сетчатки [Xie X. at al., 2019].

Таким образом, зрительный анализатор является уникальной моделью для изучения механизмов транснейрональной дегенерации и поиска методов коррекции вторичных повреждений головного мозга.

### 1.3. Эффекты светового воздействия на сетчатку

Для изучения тканевых механизмов реализации феномена транснейрональной дегенерации необходимо создать условия, при которых *in vivo* развивалось бы повреждение ганглионарных нейронов сетчатки и их аксонов. Известно, что световое повреждение сетчатки вызывает закономерные, зависящие от длительности и интенсивности светового воздействия эффекты [Youssef P.N. at al., 2011]. Свет – видимая часть электромагнитного излучения. Кратковременное воздействие чрезвычайно яркого света приводит к немедленной термической травме. А воздействие света в течение длительного периода времени может привести к химическим изменениям в клетках сетчатки, что в конечном итоге приведет к их гибели. Последнее известно как фотохимическое повреждение.

Повреждающее действие на сетчатку было обнаружено, вероятно, еще в древние времена при наблюдении солнечного затмения. Фундаментальные исследования в этой области принадлежат W. T. Ham и W. K. Noell [Ham W.T., Mueller H.A., Sliney D.H., 1976; Noell W.K. at al., 1966] W. T. Ham впервые обнаружил УФ-синюю фототоксичность при воздействии монохроматическим светом различных длин волн на сетчатку обезьян. Было обнаружено быстрое увеличение степени повреждения сетчатки при уменьшении длины волны. Вторым видом токсичности открыл W. K. Noell в экспериментах на крысах – это сине-зеленая фототоксичность. В 1971 г. W. K. Noell и R. Albecht высказали гипотезу о том, что механизм повреждающего действия видимого света может быть связан с фотоповреждением молекулы родопсина и перекисным окислением липидов. В основе фотоповреждения лежит сенсibilизированное окисление молекулярных компонентов фоторецепторной мембраны. Таким образом, патологический процесс реализуется по механизму свободнорадикального окисления. В экспериментах на белых крысах продемонстрировано, что высокоинтенсивное световое воздействие приводит к деструктивным изменениям всех элементов сетчатки – пигментноэпителиоцитов и нейросенсорных клеток, дегенерации части

ассоциативных нейронов внутреннего ядерного слоя и мультиполярных нейронов ганглионарного слоя, изменению синаптоархитектоники. Кроме этого, эксперименты показали, что даже ганглионарные нейроны, имеющие высокую плотность митохондрий, подвержены световому воздействию [Osborne N.N. at al., 2008; Wood J.P. at al., 2008]. Механизм гибели ганглионарных нейронов отличен от механизмов запускающих апоптоз в фоторецепторах [Sang A. at al., 2011]. Морфологические изменения ганглионарных нейронов выражаются в частичном либо тотальном растворении глыбок хроматофильной субстанции, а также появлением гиперхромных сморщенных форм клеток [Жданкина А.А. и др., 2013; Потапов А.В. и др., 2006]. Морфологические изменения зрительного нерва характеризуются очаговой демиелинизацией, что запускает механизм транссинаптической нейродегенерации [Потапов А.В. и др., 2006; Tur C. at al., 2016; You Y. at al., 2019].

Светоиндуцированные повреждения сетчатки использовались в качестве модели изучения дегенерации сетчатки при возрастной макулярной дегенерации и глаукомы [Савко В.В., Вашак З.М., 2011; Савко В.В., Вашак З.М., 2012; Сердюк В.Н., Семенко В.В. 2011]. Основной особенностью светового повреждения, я позволяющей использовать ее как модель заболеваний является способность индуцировать гибель фоторецепторов путем апоптоза [Chen L. at al., 2004; Marc R.E. at al., 2008; Organisciak D.T. at al., 2010]. Таким образом, модель фотоповреждения сетчатки может быть использована для изучения тканевых механизмов транснейрональной дегенерации, так как световое воздействие приводит к гибели ганглионарных нейронов сетчатки и повреждению зрительного нерва.

#### **1.4. Коррекция возрастных и дегенеративных изменений головного мозга. п-Тирозол**

На сегодняшний день в связи с увеличением продолжительности жизни все более актуальным становится поиск лекарственных средств, способных активировать процессы нейропластичности и регенерации нервных клеток при старении, после черепно-мозговых травм, инсультов, инфарктов и возрастных нейродегенеративных заболеваниях. Известно, что с возрастом происходит снижение нейропластичности, что снижет потенциал нервной ткани к регенерации [Arvidsson A. at al., 2002; Hensch T.K. at al., 2004]. Окислительный стресс признан важным фактором прогрессирования и развития нейродегенеративных заболеваний и возрастных изменений головного мозга [Lin M.T. at al., 2006; Pora-Wagner A. at al., 2013]. Накопление свободных радикалов вызывает повреждение белков, липидов и ДНК клеток. Основываясь на этих предпосылках, идентификация новых соединений, которые могут противодействовать окислительному стрессу в качестве потенциальных терапевтических средств, является активной областью исследований [Linseman D.A. at al., 2009].

На гистологическом и физиологическом уровне старение проявляется увеличением дистрофических изменений органов и тканей, разрастанием соединительной ткани, снижением, соответственно, функциональных возможностей. Большим спектром лечебных эффектов обладают фитотерапевтические препараты и адаптогены. Последние представляют группу препаратов природного или искусственного происхождения, которые способны повышать неспецифическую сопротивляемость организма к широкому спектру воздействия вредных факторов физической, химической и биологической природы. Они сочетают в себе антиоксидантные, противовоспалительные и общетонизирующие эффекты. К наиболее известным адаптогенам растительного происхождения относят родиолу розовую, женьшень, элеутерококк, аралию, золототысячник, лимонник, облепиху, имбирь и др.

Родиола розовая в нашей стране известна как «золотой корень». Это многолетнее травянистое растение рода Родиола семейства Толстянковые (Crassulaceae), компоненты которого улучшают когнитивные функции [Spasov A.A. et al., 2000; Shevtsov V.A. et al., 2003], способствуют смягчению воздействия свободных радикалов, оказывая антиоксидантное [Wing S.L. et al., 2003] и нейропротективное [Chen X. et al., 2008] действие, повышают выносливость, а также улучшают память [De Vock K. et al., 2004]. Экстракты родиолы потенциально могут использоваться при заболеваниях, связанных со старением [Zhuang W. et al., 2019].

п-Тирозол (4-(гидроксиэтил)фенол) – синтетический аналог действующего вещества родиолы розовой, экстрагирован из корневищ родиолы розовой [Саратиков А.С., Краснов Е.А., 2004]. Обладает высокой биодоступностью после внутрижелудочного введения и накапливается в хорошо перфузируемых тканях [Lee D.H. et al., 2016; Guo N. et al., 2012].

Благодаря наличию в своем строении фенольного кольца п-тирозол является биоантиоксидантом. Механизм антиоксидантного действия связан со способностью взаимодействовать с радикалами гидроперекисных жирных кислот и ненасыщенных липидов, при этом образуется стабильное соединение, и цепочка окисления прерывается. Антиоксидантные и кардиопротективные свойства п-тирозола подтверждались в экспериментах на моделях ишемии с реперфузией у крыс [Плотников М.Б. и др., 2010]. В ходе серий экспериментов обнаружили достоверное снижение частоты возникновения аритмий во время ишемии и реперфузии [Chernyshova G. A. et al., 2007], значительное снижение апоптоза кардиомиоцитов, и, как следствие размеров инфаркта миокарда и последующего фиброза на фоне лечения [Samuel S.M. et al., 2008], снижение агрегации тромбоцитов и вязкости крови [Plotnikov M. B. et al., 2007].

В культуре нейронов он препятствовал некротической и апоптотической гибели клеток, достоверно снижал содержание свободных радикалов [Плотникова



Т. М. и др., 2017]. На модели тотальной ишемии введение п-тирозола вызывало повышение выживаемости нейронов гиппокампа у крыс и активацию нейроногенеза [Atochin D.N. et al., 2016; Khodanovich M.Y. et al., 2019]. На модели болезни Паркинсона он предотвращал гибель дофаминергических нейронов *in vitro* [Dewapriya P. et al., 2013].

п-Тирозол увеличивал продолжительность жизни и устойчивость к окислительному и термическому стрессу у нематод *Caenorhabditis elegans* [Canuelo A. et al., 2012]. Противовоспалительный эффект п-тирозола связан с высокой аффинностью к циклооксигеназе 2 типа, по сравнению с нестероидными противовоспалительными средствами [Yadav T.C. et al., 2019]. Противовоспалительный эффект, продемонстрированный на модели стрептозоцин-индуцированного диабета, выражался в снижении уровня С-реактивного белка и экспрессии белков ядерного фактора-каппа В р65, фактора некроза опухоли-альфа и интерлейкина-6 в печени и поджелудочной железе при введении п-тирозола в дозе 20 мг/кг массы [Chandramohan R., Pari L., 2016]. Также, в экспериментах показано, что п-тирозол регулирует углеводный обмен и снижает уровень гипергликемии, гликированного гемоглобина, восстанавливая активность ключевых ферментов углеводного обмена у крыс со стрептозотоциновым диабетом [Chandramohan R. et al., 2015].

Таким образом, п-тирозол представляет перспективное соединение, так как легко проникает через ГЭБ, обладает антиоксидантным, противовоспалительным и гемореологическим эффектом.

## **Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Характеристика экспериментального исследования**

Работа выполнена на базе ФГБОУ ВО СибГМУ Министерства здравоохранения Российской Федерации и одобрена этическим комитетом (протокол № 4972).

Эксперименты выполнены на 60 крысах самцах линии Вистар, двух возрастных групп 3 (n=30) и 18 (n=30) месяцев (таблица 1). Животных разделили на 2 группы и содержали на стандартном пищевом рационе с неограниченным доступом к воде. Крыс контрольной группы (n=30) содержали в стандартных условиях вивария, регламентированных требованиями Постановления Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 29.08.2014 № 51 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» с дневной освещенностью 25 лк, ночной 4 лк в течение 12 часов. Пять крыс 3- и 18-месячного возраста контрольной группы получали внутривенно п-тирозол в дозе 50 мг/кг массы, разведенный в дистиллированной воде в течение 7 суток. Пять животных 3- и 18-месячного возраста контрольной группы получали эквивалентное количество дистиллированной воды в те же сроки.

Таблица 1. Распределение животных по экспериментальным группам

Группы животных	Контрольная группа (n=30)						Экспериментальная группа (n=30) (световое воздействие)						ИТОГ О	
	3 месяца			18 месяцев			3 месяца			18 месяцев				
	Интактные	п-тирозол	Вода	Интактные	п-тирозол	Вода	Опыт	п-тирозол	Вода	Опыт	п-тирозол	Вода		
Количество животных	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	60

Крыс экспериментальной группы (n=30) помещали в специально сконструированную установку из пяти прямоугольных рефлекторов с смонтированными в них люминесцентными лампами, освещающими клетку со всех сторон, уровень освещенности составил 3500 лк круглосуточно в течение 7 суток. По пять крыс 3- и 18-месячного возраста получали внутрижелудочно п-тирозол в дозе 50 мг/кг массы в течение светового воздействия. Пяти крысам обеих возрастных групп вводили эквивалентное количество дистиллированной воды. На 8 сутки под легким эфирным наркозом животных выводили из эксперимента путем декапитации, в соответствии с директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.2010 «О защите животных, используемых для научных целей», извлекали головной мозг и выделяли затылочную долю в правом и левом полушарии. Таким образом, объектом исследования являлась затылочная доля коры головного мозга крыс.

## 2.2. Методы исследования

### Гистологические методы

Приготовление гистологических препаратов осуществляли по общепринятой методике: затылочную долю головного мозга крыс фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов, затем промывали под проточной водой в течение 1 суток, далее обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, перемещали препарат в смесь спирта и ксилола (1:1) на 2 часа, далее в чистый ксилол в 2 смены до просветления (в среднем по 1,5-2 часа в каждом). После обезвоживания препараты помещали в смесь ксилола и парафина (1:1) на 1,5 часа, затем в гомогенизированную парафиновую среду для заливки. Парафиновые срезы толщиной 4-5 мкм получали с помощью ротационного микротомы, фиксировали на предметные стекла влажным способом. На срезах находили область первичной зрительной коры (Oc1) согласно функциональной номенклатуре (рисунок 1).

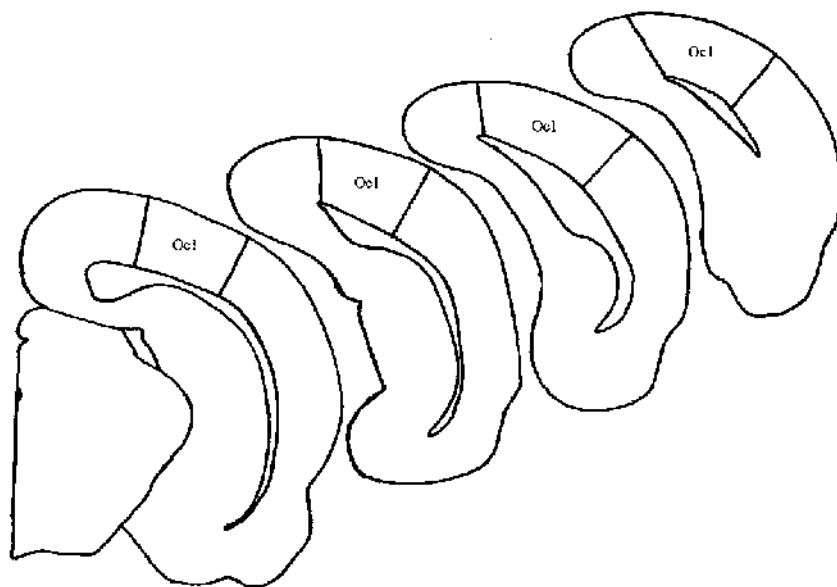


Рисунок 1. Схема расположения области первичной зрительной (Oc1) коры в затылочной у крыс [Yates M. A. et al. Regional variability in age-related loss of neurons from the primary visual cortex and medial prefrontal cortex of male and female rats //Brain research. – 2008. – Т. 1218. – С. 1-12.].

### **Световая микроскопия**

Просматривали препараты на световом микроскопе МИКМЕД-5 ЛОМО. Для этого окрашивали парафиновые препараты гематоксилином-эозином и крезильным фиолетовым по Нисслию, полутонкие Азуром II – по стандартным методикам.

### **Электронная микроскопия**

Полученный материал помещали в 2,5% раствор глутарового альдегида на 0,2 М какодилатном буфере (1:9) для фиксации, постфиксировали в 1% растворе OsO<sub>4</sub> в холодильнике в течение 4 часов и в 5% спиртовом растворе фосфорновольфрамовой кислоты (ФВК) для выявления синаптических связей (после дегидратации до 70% спирта). Производили дегидратацию в спиртах восходящей концентрации, в 70 % спирте оставляли на ночь, затем доводили до 96% спирта и выдерживали двукратно в ацетоне по 15 минут. После дегидратации препараты заливали в смесь эпона и аралдита М. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB-4 (Швеция). Полутонкие окрашивали азуром II и просматривали в световом микроскопе, ультратонкие контрастировали уранил ацетатом и цитратом свинца и изучали с помощью электронного микроскопа JEN-100 CX (Япония).

### **Морфометрический анализ**

В основе морфометрического анализа лежали классические методы стереометрии [Автандилов Г.Г., 1990]. На срезах толщиной 4-5 мкм, окрашенных крезил фиолетовым, подсчитывали численную плотность нейронов на 1 мм<sup>2</sup>, процентное содержание нейронов с очаговым и тотальным хроматолизом, а также гиперхромных нейронов со сморщиванием и без во II, IV и V слоях первичной зрительной коры (расчеты производили на 200 клеток). Также во II, IV и V слоях изучали численную плотность глии на 1 мм<sup>2</sup>, процентное содержание гиперхромной глии со сморщиванием и без, глиоцитов, измененных по светлomu типу (расчеты производили на 200 клеток). Рассчитывали глионейрональный

индекс (ГНИ) – как отношение среднего количества глиоцитов на среднее количество нейронов. Изучали численную плотность нейронов и глиоцитов. На срезах, окрашенных гематоксилином эозином, подсчитывали удельную площадь измененных и неизмененных сосудов, удельную площадь и численную плотность капилляров на  $0,06 \text{ мм}^2$ , используя программу обработки графических изображений (Axio Vision фирмы CarlZeiss, ImageJ).

На полутонких срезах, окрашенных Азуром II, рассчитывали среднее количество перинейрональной глии на 100 нейронов в IV слое первичной зрительной коры, соотношение нейрон: капилляр: глиоцит, используя программу обработки графических изображений (Axio Vision фирмы CarlZeiss, ImageJ).

На ультратонких срезах, контрастированных уранил ацетатом и цитратом свинца, изучали удельную площадь органелл в нейронах (митохондрий, гранулярной и агранулярной эндоплазматической сети, комплекса Гольджи, лизосом). На срезах, контрастированных фосфорновольфрамовой кислотой (ФВК), изучали численную плотность симметричных, ассиметричных (положительно искривленных, отрицательно искривленных и плоских) синапсов на  $100 \text{ мкм}^2$ . Анализировали также активную зону контракта и длину синапсов всех типов с помощью программы обработки графических изображений. Подразделяли синапсы по протяженности активной зоны контакта (АЗК) на мелкие (100 – 200 нм), малые (200 – 300 нм), средние (300 – 500 нм), крупные (500 – 700 нм) и очень крупные ( $> 700 \text{ нм}$ ). Использовали программы обработки графических изображений Axio Vision фирмы CarlZeiss, ImageJ.

### **Статистический анализ**

Статистическую обработку проводили в программе SPSS Statistics (IBM).. Проверку статистических гипотез на характер распределения признака проводили при помощи критерия Колмогорова-Смирнова. При обработке полученных результатов использовали методы описательной и непараметрической статистики. Исследуемые параметры описывали как медиану, и квартили,  $M (Q_1; Q_3)$ . Для

множественных сравнений использовали критерий Краскала-Уоллиса, для парного – Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

\*\*\*

Эксперимент, забор материала, приготовление препаратов, микрофотографирование, морфометрический анализ изображений и статистическая обработка полученных данных производились лично автором.

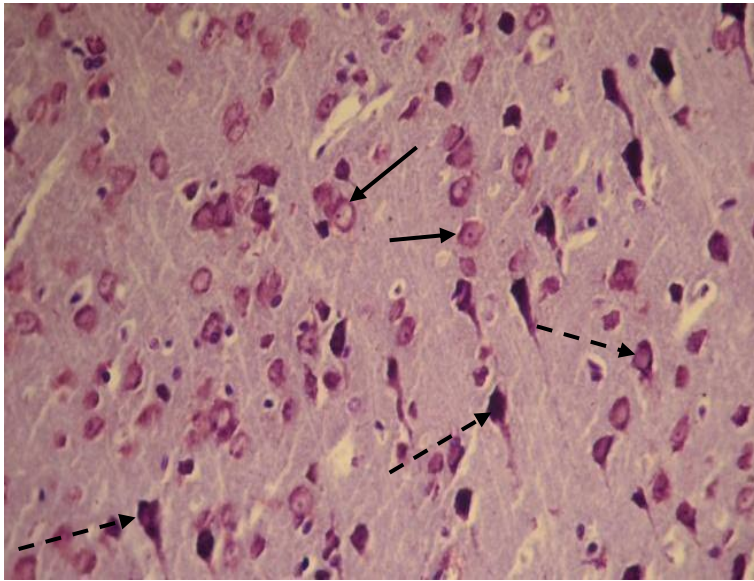
### **Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1 Морфологические изменения нейронов во II, IV и V слоях первичной зрительной коры**

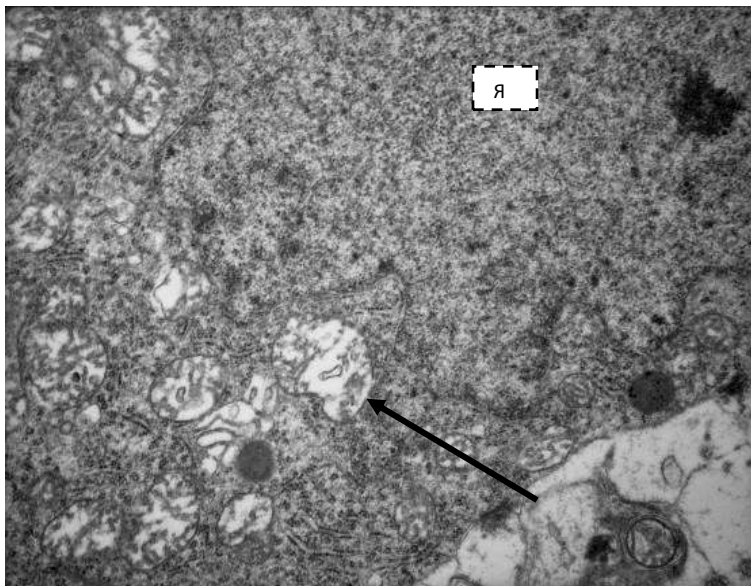
##### **3.1.1. Структурные изменения нейронов в группе 3-месячных крыс при высокоинтенсивном световом воздействии, их коррекция п-тирозолом**

У 3-мес. животных при световом воздействии морфологические изменения нейронов во всех исследуемых слоях были однотипными и выражались в снижении процентного содержания нормохромных нейронов. Обнаруживали нейроны с явлением гиперхромии (со сморщиванием клетки и без) и светлые клетки с хроматолизом (очаговым и тотальным). По тинкториальным свойствам клетки с хроматолизом относили к светлому типу, гиперхромные нейроны со сморщиванием и без – к темному (рисунок 1). Во II слое первичной зрительной коры у 3-мес. крыс при световом воздействии часто встречались нейроны, измененные по темному типу без признаков сморщивания. Гиперхромные нейроны характеризовались интенсивным окрашиванием ядра и цитоплазмы, контуры которых были четко различимы. На ультраструктурном уровне гранулярная эндоплазматическая сеть (ЭПС) занимала весь объем цитоплазмы, в ядре преобладал гетерохроматин. В цитоплазме таких нейронов часто обнаруживались набухшие митохондрии, некоторые с деструкцией крист (рисунок 2).





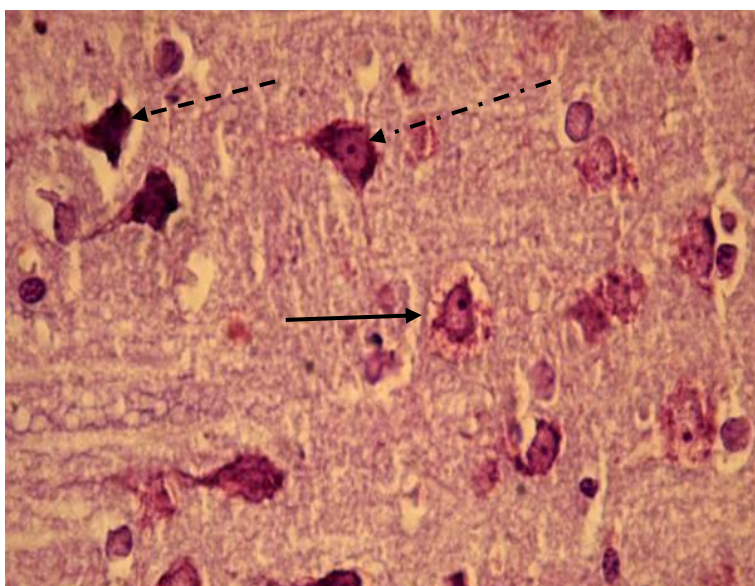
*Рисунок 1. Нейроны IV слоя первичной зрительной коры у 3-мес. интактной крысы: нормохромные нейроны (сплошные стрелки), гиперхромные нейроны без сморщивания (пунктирные стрелки). Окраска крезил фиолетовым по Нислю. Ув. 400.*



*Рисунок 2. Гиперхромный нейрон без сморщивания во II слое первичной зрительной коры у 3-мес. крысы при световом воздействии. В цитоплазме набухание митохондрий с частичным разрушением крист (стрелка), Я – ядро нейрона. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 4000.*

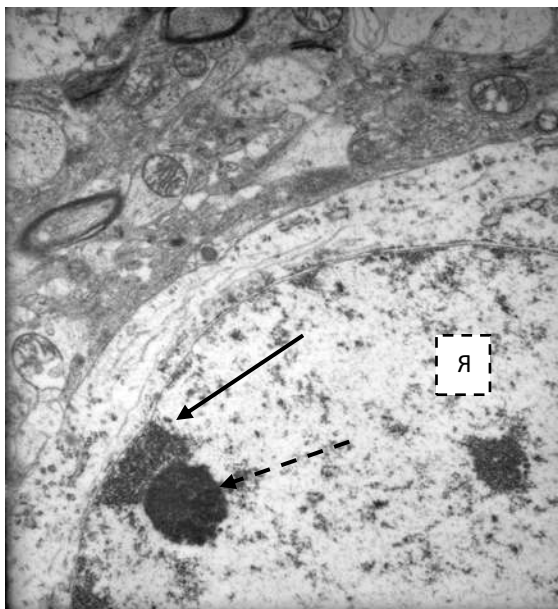
Морфометрический анализ показал достоверное увеличение процентного содержания гиперхромных нейронов без сморщивания до 26% (23;27,5) во II слое первичной зрительной коры у 3-мес. крыс при световом воздействии, что значимо выше значений в группе интактных 3 мес. крыс 18% (16;20), ( $p \leq 0,05$  по критерию Краскела-Уоллиса). Гиперхромное состояние нейрона, вероятно, отражало функциональную заторможенность нейрона и являлось обратимым.

В IV слое у крыс при высокоинтенсивном световом воздействии встречались нейроны, измененные как по темному, так и по светлому типу. Светлый тип характеризовался появлением нейронов с очаговым и тотальным хроматолизом. Нейроны с очаговым хроматолизом у 3-мес. крыс при световом воздействии характеризовались локальным растворением хроматофильного вещества в цитоплазме, нередко такие клетки были отечны (рисунок 3).



*Рисунок 3. Нейроны IV слоя коры 3-мес. крысы при световом воздействии: нейрон с очаговым хроматолизом (сплошная стрелка), гиперхромный нейрон со светлым ядром (стрелка – пунктир точка), гиперхромный нейрон с признаками сморщивания и перичеселлюлярным отеком (пунктирная стрелка). Окраска крезил фиолетовым по Нислю. Ув. 1000.*

На ультраструктурном уровне в ядре таких клеток выявлялось ядрышко с четко различимым фибриллярным и гранулярным компонентом, которое довольно часто смещалось к периферии ядра (рисунок 4).

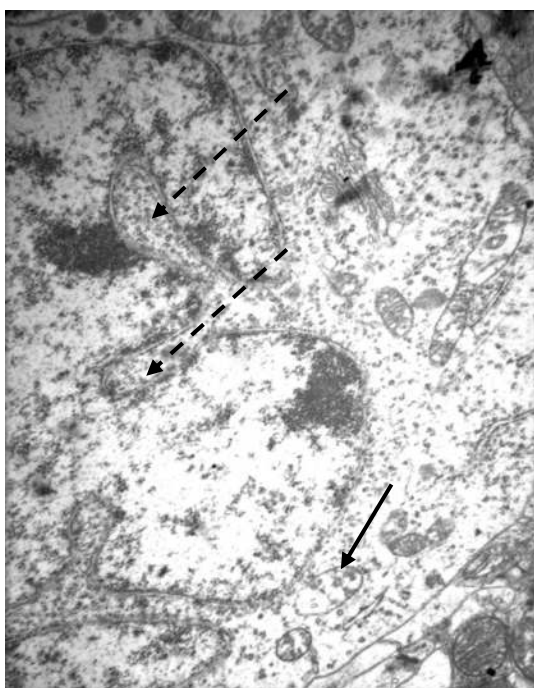


*Рисунок 4. Нейрон с очаговым хроматолизом в IV слое первичной зрительной коры у 3-мес. крысы при световом воздействии. Я – ядро, гранулярный компонент ядрышка (сплошная стрелка), фибриллярный (пунктирная стрелка). Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 5000.*

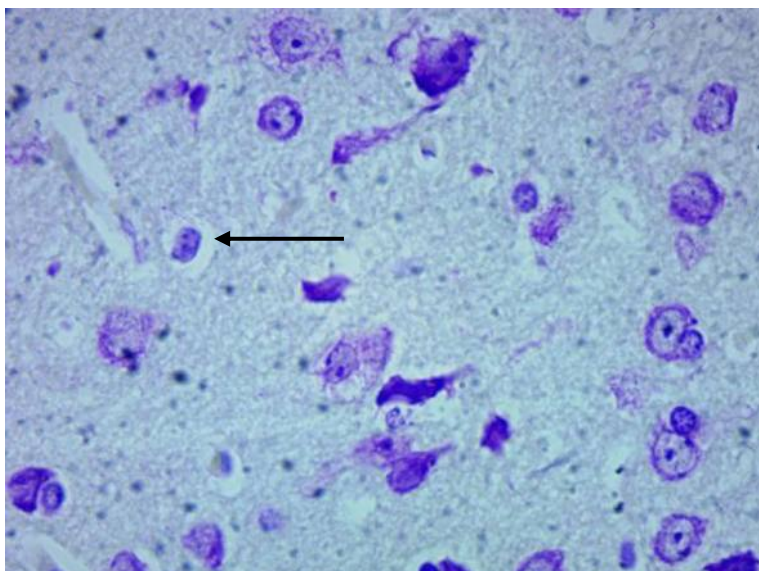
В цитоплазме нейронов с очаговым хроматолизом у 3-мес. крыс при световом воздействии часто встречались реактивные изменения органелл в виде набухания митохондрий и цистерн ЭПС (рисунок 5). Нейроны с очаговым хроматолизом, вероятно, находились в активном функциональном состоянии, что сопровождалось смещением ядра на периферию цитоплазмы, а ядрышка на периферию ядра. Нередко кариолемма таких нейронов образовывала инвагинации (рисунок 6). Среди гипохромных нейронов встречались клетки с полным, равномерным растворением хроматофильной субстанции (рисунок 7). На ультраструктурном уровне в нейронах с тотальным хроматолизом обнаруживали фрагменты деструктивно измененных органелл (рисунок 8).



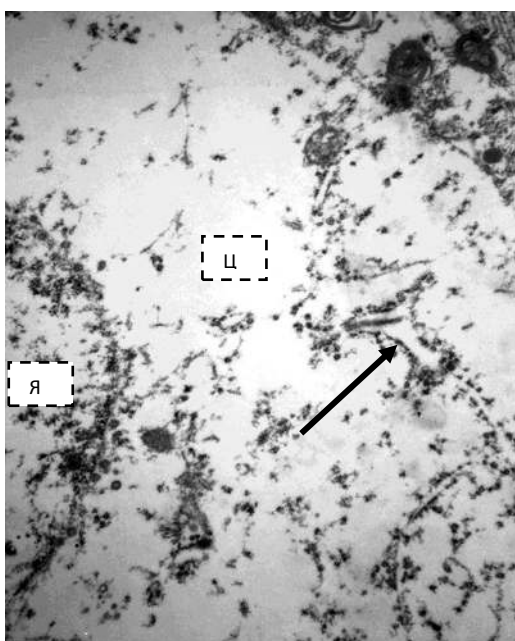
*Рисунок 5. Нейрон с очаговым хроматолизом в IV слое первичной зрительной коры у 3-мес. крысы при световом воздействии. В цитоплазме гранулярная ЭПС с расширенными цистернами (стрелка). Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 4000.*



*Рисунок 6. Нейрон с очаговым хроматолизом у 3-мес. крысы при световом воздействии, митохондрия с деструкцией крист (сплошная стрелка), инвагинации кариолеммы (пунктирная стрелка). Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 5000.*



*Рисунок 7. Нейрон с тотальным хроматолизом (стрелка) в IV слое первичной зрительной коры 3-мес. крысы при световом воздействии. Окраска крезил фиолетовым по Нислю. Ув. 1000.*



*Рисунок 8. Нейрон с тотальным хроматолизом 3-мес. крысы в IV слое первичной зрительной коры при световом воздействии. В цитоплазме нейрона (Ц) деструкция цистерн эндоплазматической сети (стрелка). Я - ядро. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 5000.*

Морфометрический анализ IV слоя первичной зрительной коры 3-мес. крыс со световым воздействием показал достоверное увеличение процентного

содержания нейронов с очаговым и тотальным хроматолизом в 14,7 раза и 15 раз соответственно, по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 1). Также, у 3-мес. крыс при световом воздействии обнаружено значимое снижение процентного содержания гиперхромных нейронов без сморщивания в 2,3 раза, по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 1).

Таблица 1. Процентное соотношение измененных нейронов в IV слое первичной зрительной коры у 3-месячных крыс при световом воздействии и коррекции п-тирозолом, % M (Q<sub>1</sub>;Q<sub>3</sub>)

Показатель	3-мес. интактные	3-мес.+ дист вода	3-мес.+ п-тирозол	3-мес. свет	3-мес. свет + п- тирозол	3-мес. свет + дист. вода
Нормохромные нейроны	80,5 (79,7;83,2)	81 (79,5;83,5)	82 (80;84,7)	61* (55;65,5)	73 <sup>@</sup> (70,5;75,5)	56,5* (48;63)
С очаговым хроматолизом	1,5 (1;2,5)	1,5 (1;2,5)	1,5 (1;2,5)	22* (19,5;29)	14 <sup>@</sup> (11;16,5)	22,5* (19,5;30,9)
С тотальным хроматолизом	0,5 (0;1,5)	0,5 (0;1)	0,5 (0;1)	7,5* (6;9,5)	5 <sup>@</sup> (4,5;6)	10,5* (6,9;14)
Гиперхромные сморщенные нейроны	1 (0,5;1,5)	1 (0,5;2)	1 (0;2)	1 (0,5;2)	0,5 (0;2)	1 (0,5;2)
Геперхромные нейроны без сморщивания	15 (14;17)	15 (13;16,7)	14,5 (12,5;16)	6,5* (5;9,5)	6 (5;8,5)	6,5* (4,5;10)

\* – статистически значимые различия по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

<sup>@</sup> – с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием.

При морфометрическом анализе органелл обнаружено значимое снижение удельной площади гранулярной ЭПС в 3,4 раза в IV слое у 3-мес. крыс при световом воздействии, по сравнению с показателями интактных животных ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 2).

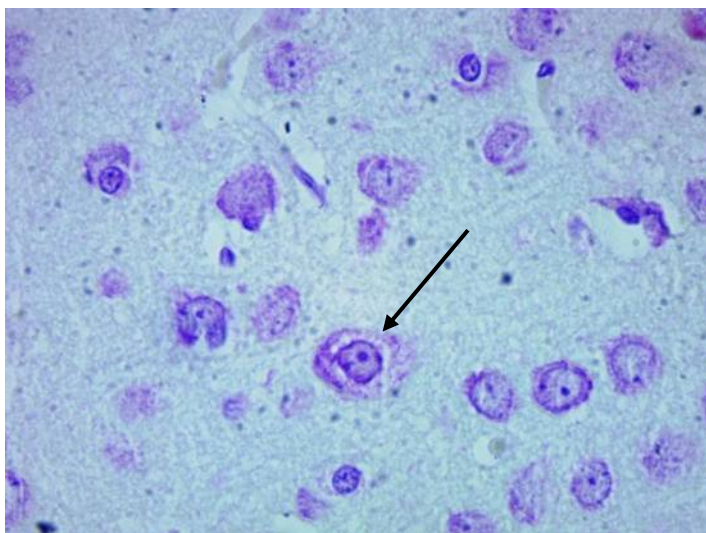
Таблица 2. Удельная площадь органелл в цитоплазме нейронов IV слоя первичной зрительной коры у 3-месячных крыс, % М (Q<sub>1</sub>;Q<sub>3</sub>)

Органеллы	3-мес. интактные	3-мес. п-тирозол	3-мес. дист. вода	3-мес. свет	3-мес. свет дист. вода	3-мес. свет п-тирозол
Митохондрии	9 (8;11)	9 (7;10)	10 (9;13)	8 (7;9)	8 (7;9)	16* <sup>#</sup> (13;17)
Аппарат Гольджи	0,3 (0;1)	0,4 (0;1)	0,4 (0;1)	0,4 (0;0,8)	0,5 (0;1)	0,5 (0,4;1)
Лизосомы	0,5 (0;1)	1 (0,2;1,2)	0,5 (0;1)	1 (0,5;1)	1 (0,5;1,6)	0,6 (0,3;1,4)
Гран. ЭПС	8,6 (6;9,7)	8,2 (5,6;9,5)	9 (6;9)	2,5* (2;4)	2 (1,4;3,5)	15,7 <sup>#</sup> (13;18)
Агран. ЭПС	0,5 (0;1)	0,5 (0;2)	0,5 (0,1;0,2)	0,6 (0;2)	1 (0,3;2)	1 (0,3;2)

\* – достоверные различия по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса  $p \leq 0,05$ .

<sup>#</sup> – с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием.

В V слое у 3-мес. крыс при световом воздействии обнаружено увеличение процентного содержания нейронов с очаговым хроматолизом до 13,5% (8,5;16) по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс 3,5% (2;4,5), ( $p \leq 0,05$  по критерию Краскела-Уоллиса). Нередко, в таких нейронах хроматин концентрировался по периферии ядра, а растворение хроматофильной субстанции имело центральный характер (ближе к ядру), (рисунок 9).

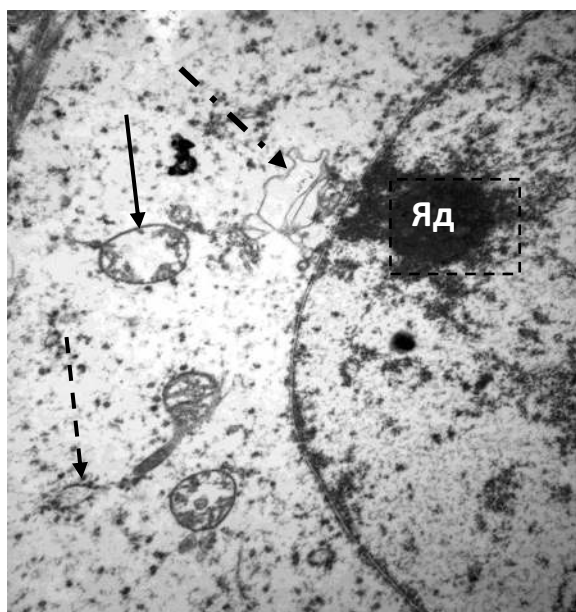


*Рисунок 9. Нейрон с очаговым хроматолизом по центральному типу (стрелка) в V слое первичной зрительной коры 3-мес. крысы при световом воздействии. Окраска крезил фиолетовым по Нисслю. Ув. 1000.*

При коррекции п-тирозолом выявлено достоверное снижение процентного содержания нейронов с тотальным хроматолизом в 1,6 раза, очаговым в 1,5 раз в IV слое первичной зрительной коры у крыс со световым воздействием по сравнению с показателями крыс со световым воздействием без коррекции ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 1). Такие результаты, вероятно, связаны с переходом в нормохромное состояние нейронов с очаговым хроматолизом и или предотвращением его развития.

При коррекции п-тирозолом у 3-мес. крыс при световом воздействии во всех исследуемых слоях обнаруживались как реактивные изменения органелл в виде набухания митохондрий и цистерн ЭПС, так и деструктивные, которые проявлялись разрушением крист митохондрий и цистерн ЭПС (рисунок 10).

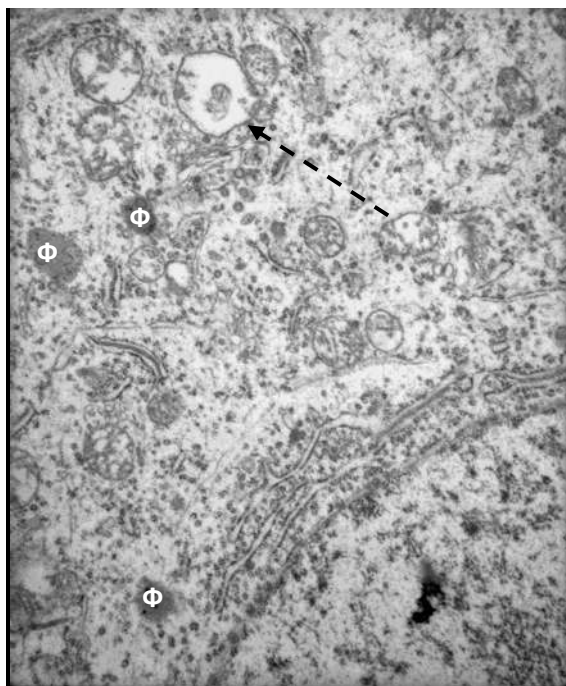




*Рисунок 10. Очаговый хроматолиз нейрона II слоя первичной зрительной коры 3-мес. крысы при световом воздействии и коррекции п-тирозолом. Ядрышко (яд) расположено на периферии ядра, в цитоплазме набухшая митохондрия с деструкцией крист (сплошная стрелка), расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети (пунктирная стрелка), деструкция цистерн эндоплазматической сети (стрелка – точка-штрих). Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув.5000.*

При ультраструктурном анализе органелл выявлено значимое увеличение удельной площади гранулярной ЭПС в 7,3 раза по сравнению с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием без коррекции, что, возможно, свидетельствовало об интенсификации синтетических процессов в нейронах IV слоя первичной зрительной коры у молодых крыс при световом воздействии и коррекции п-тирозолом ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 2).

Кроме того, при коррекции обнаружено значимое увеличение удельной площади митохондрий в 1,8 раза, что, вероятно, связано как с их набуханием, так и с увеличением количества ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 2). В цитоплазме нейронов встречались фаголизосомы, что свидетельствовало, вероятно, об интенсификации процессов утилизации разрушенных органелл (рисунок 11).



*Рисунок 11. Нормохромный нейрон в IV слое первичной зрительной коры 3-мес. крысы при световом воздействии и коррекции п-тирозолом, в цитоплазме набухание митохондрий с деструкцией крист (пунктирная стрелка), фаголизосомы (Φ). Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув.6000.*

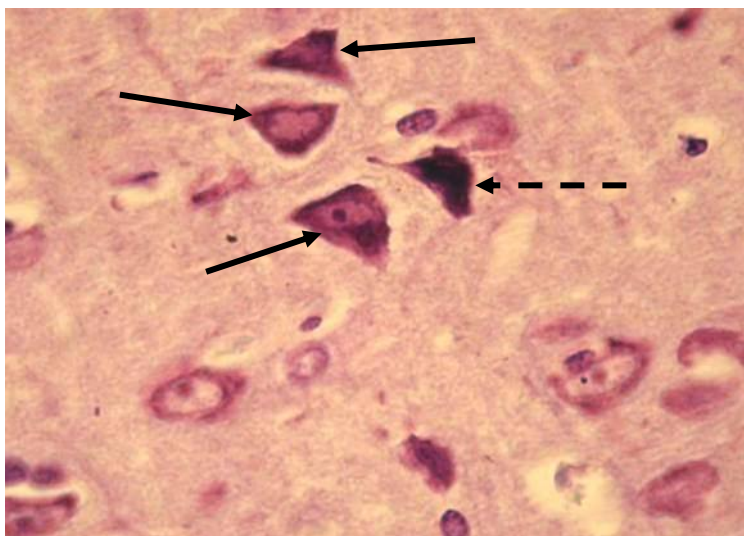
В V слое 3-мес. крыс при световом воздействии и коррекции п-тирозолом достоверно снижалось процентное содержание нейронов с очаговым хроматолизом в 2,2 раза по сравнению с показателями 3-мес. крыс при световом воздействии без коррекции, что вероятно, свидетельствовало о восстановлении их хроматофильной субстанции и переходе в нормохромное состояние ( $p \leq 0,05$  по критерию Краскела-Уоллиса).

Таким образом, морфологические изменения нейронов у молодых крыс при световом воздействии во II, IV и V слоях первичной зрительной коры носили преимущественно обратимый характер и проявлялись увеличением процентного содержания нейронов со светлым и темным типом изменений. Наиболее измененным при световом воздействии оказался IV слой первичной зрительной коры что, вероятно, связано с окончанием здесь афферентных стимулов с латеральных колленчатых тел. п-Тирозол предотвращал деструкцию нейронов, что

выражалось в снижении процентного содержания нейронов с тотальным хроматолизом в IV и V слое.

### 3.1.2. Морфологические изменения нейронов у 18-месячных крыс в первичной зрительной коре и их коррекция п-тирозолом

У 18-месячных крыс в первичной зрительной коре во II, IV и V слоях наблюдались морфологические изменения нейронов по темному типу, причем как обратимого, так и необратимого характера (рисунок 12).

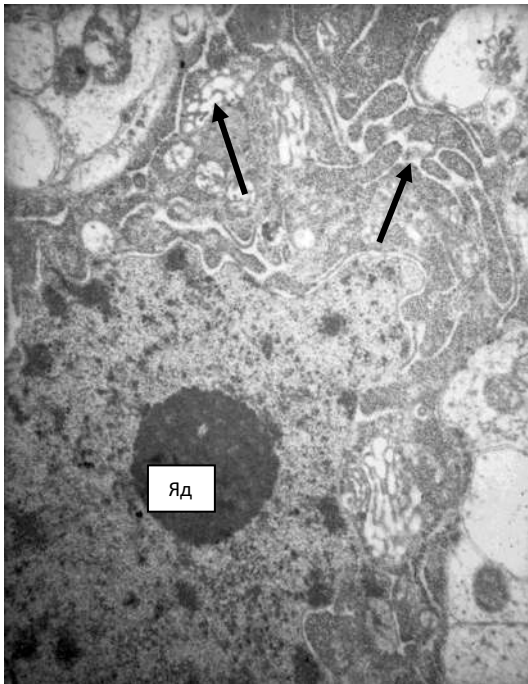


*Рисунок 12. Гиперхромные нейроны без сморщивания (сплошная стрелка), гиперхромный сморщенный нейрон (пунктирная стрелка) в IV слое коры 18-мес. крысы. Окраска крезил фиолетовым по Нислю. Ув.1000.*

К обратимым изменениям относили гиперхромиию без сморщивания ядра и цитоплазмы, нейроны с такими характеристиками имели нормальные размеры и четкие, ровные контуры кариолеммы и цитоплазматической мембраны. К необратимым – гиперхромные нейроны со сморщиванием ядра и цитоплазмы.

В группе интактных 18-мес. животных наблюдалось достоверное увеличение процентного содержания гиперхромных нейронов без сморщивания ядра во II слое до 35,5% (28;36,5) по сравнению с соответствующими показателями 3 мес. крыс 18% (16;20), ( $p \leq 0,05$  по критерию Манна-Уитни). Такие нейроны характеризовались гиперхромией цитоплазмы и ядра, нередко их кариолемма образовывала инвагинации, что свидетельствовало, вероятно, о функционально заторможенном состоянии таких клеток. В цитоплазме

гиперхромных нейронов без сморщивания обнаруживалось расширение цистерн эндоплазматической сети (рисунок 13).



*Рисунок 13. Гиперхромный нейрон без сморщивания во II слое первичной зрительной коры 18-мес. крысы, в цитоплазме расширение цистерн эндоплазматической сети (стрелки), в центре большое ядрышко (Яд). Окраска контраст уранил ацетат, цитрат свинца, ув. 5000.*

В IV и V слое у 18-мес. крыс процентное содержание гиперхромных сморщенных нейронов увеличивалось до 3,5% (2,5;4) в IV, и до 2,5% (2;3,5) в V по сравнению с показателями группы 3 мес. крыс в IV 1% (0,5;1,5), и в V 0,5% (0;1,5), ( $p \leq 0,05$  по критерию Манна-Уитни). Сморщенные нейроны имели неровные угловатые контуры, ядро и цитоплазма сливались в гомогенную массу (рисунок 14). В цитоплазме нормохромных и гиперхромных нейронов у интактных 18-мес. крыс во всех исследуемых слоях нередко обнаруживали осмиофильные включения в виде гранул и телец, которые, вероятно, представляли собой накопление липофусцина (рисунок 15).

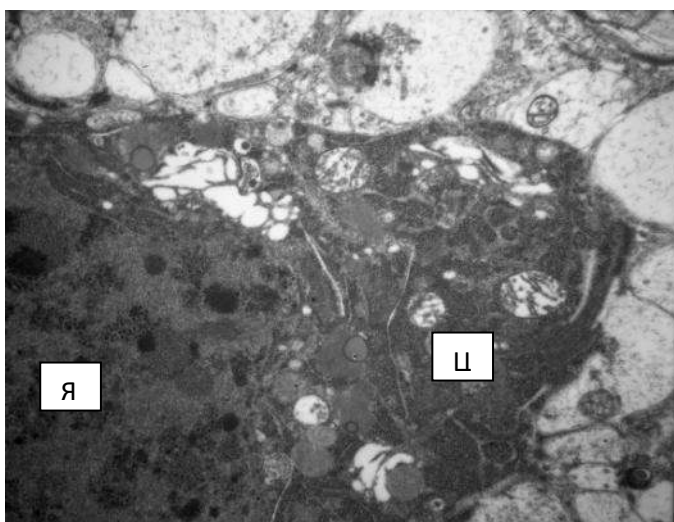


Рисунок 14. Гиперхромный сморщенный нейрон во II слое первичной зрительной коры 18-мес. крысы. Ядро (Я), цитоплазма (Ц). Окраска контраст уранил ацетат, цитрат свинца, ув.5000.

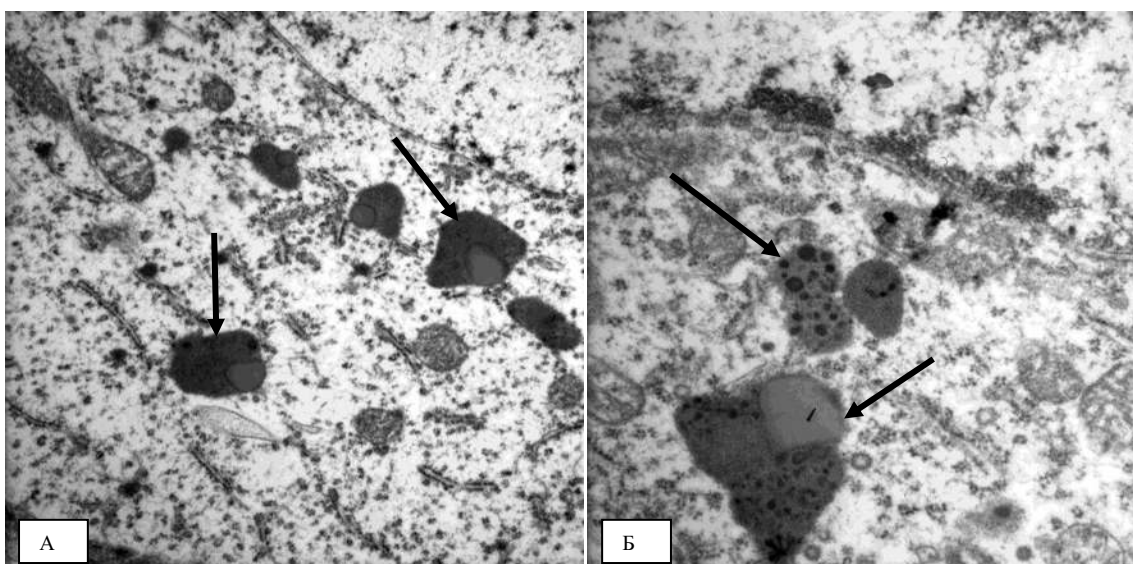


Рисунок 15. Нормохромные нейроны А – в IV слое первичной зрительной коры 18-мес. крысы, в цитоплазме осмиофильные тельца (стрелка), окраска контраст уранил ацетат цитрат свинца, ув. 8000. Б – во II слое первичной зрительной коры с осмиофильными тельцами в цитоплазме (стрелка), окраска контраст уранил ацетат, цитрат свинца, ув.10000.

При коррекции п-тирозолом у 18-мес. крыс отмечалось достоверное снижение гиперхромных нейронов без сморщивания во II слое до 22,5% (20;24) по сравнению с показателями крыс без коррекции ( $p \leq 0,05$  по критерию Краскела-Уоллиса). В IV слое наблюдалось увеличение процентного содержания нейронов

с очаговым хроматолизом в 4,3 раза по сравнению с группой того же возраста без коррекции, что, возможно, связано с их повышенной функциональной активностью ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 3).

Таблица 3. Процентное соотношение нейронов с морфологическими изменениями в IV слое первичной зрительной коры, % М (Q<sub>1</sub>;Q<sub>3</sub>)

Показатель	3-мес. инт.	18-мес. инт.	18-мес.+ дист. вода	18-мес.+ п- тирозол	18-мес. свет	18-мес. свет + п- тирозол	18-мес. свет + дист. вода
Нормохромные	80,5 (80;83)	79 (77;80,5)	79 (76;80,5)	74,5 (73;76,6)	53 <sup>#</sup> (50;55,5)	55,5 (52,6;59)	55 (51;57)
Очаговый хроматоли	1,5 (1;2,5)	1,5 (1;2,5)	1,5 (1;2,2)	6,5 <sup>#</sup> (4,5;8)	8,5 <sup>#</sup> (6,2;10)	9,7 (8;11,5)	9 <sup>#</sup> (7;10,5)
Тотальный хроматолиз	0,5 (0;1,5)	0,5 (0,5;1)	1 (0,5;1)	1 (0,5;1,5)	6,5 <sup>#</sup> (5,5;8,2)	4 <sup>»</sup> (3;4,5)	6,5 <sup>#</sup> (5,5;8,5)
Гиперхромные сморщенные	1 (0,5;1,5)	3,5* (2,5;4)	3,5 (2,5;4)	0,5 <sup>#</sup> (0;0,5)	6 <sup>#</sup> (5;6,5)	5,75 (4;7,5)	4,5 (3;6,5)
Гиперхромные без сморщивания	15 (14;17)	15,5 (14;16,7)	15,5 (14;16,5)	17 (15;19,5)	26,5 <sup>#</sup> (25;27,2)	25,5 (22,6;28)	26,5 (23;27,5)

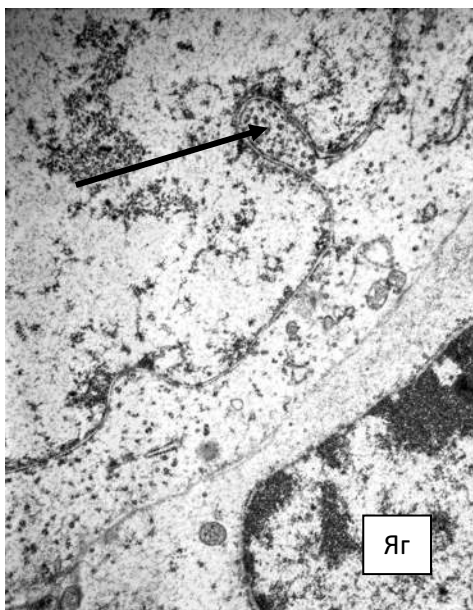
\* – достоверные отличия при сравнении с показателями интактных 3-мес. животных ( $p \leq 0,05$ ) по критерию Манна-Уитни.

<sup>#</sup> – с показателями интактных 18-мес. животных ( $p \leq 0,05$ ) по критерию Краскела-Уоллиса.

<sup>»</sup> – с показателями 18-мес. животных со световым воздействием ( $p \leq 0,05$ ) по критерию Краскела-Уоллиса.

Нейроны с очаговым хроматолизом характеризовались растворением глыбок хроматофильной субстанции, как на периферии цитоплазмы, так и возле ядра. На ультраструктурном уровне ядра таких нейронов обычно содержали крупное ядрышко, в ядре преобладал эухроматин, наблюдалось увеличение

площади кариолеммы за счет инвагинаций, таким образом, нейроны с очаговым хроматолизом были, вероятно, функционально активны (рисунок 16).



*Рисунок 16. Нейрон с очаговым хроматолизом в V слое первичной зрительной коры 18-мес. крысы с коррекцией п-тирозолом. Под стрелкой инвагинация кариолеммы. Яг – ядро глиоцита. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 6000.*

У 18-месячных крыс в условиях коррекции доля гиперхромных сморщенных нейронов в IV слое достоверно снижалось в 7 раз по сравнению с показателями интактных 18-мес. крыс, что, вероятно, связано с их утилизацией и/или предотвращением сморщивания ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 3). В V слое применение п-тирозола снижало процентное содержание гиперхромных сморщенных нейронов у 18-мес. крыс до 1,6% (0,8;1,6), что в 1,6 раза меньше по сравнению с аналогичными показателями 18-мес. животных без коррекции ( $p \leq 0,05$  по критерию Краскела-Уоллиса).

При анализе нейрональной популяции достоверных изменений численной плотности нейронов во II, IV и V слоях первичной зрительной коры 18-мес. крыс с коррекцией и без не обнаружено (таблица 4).



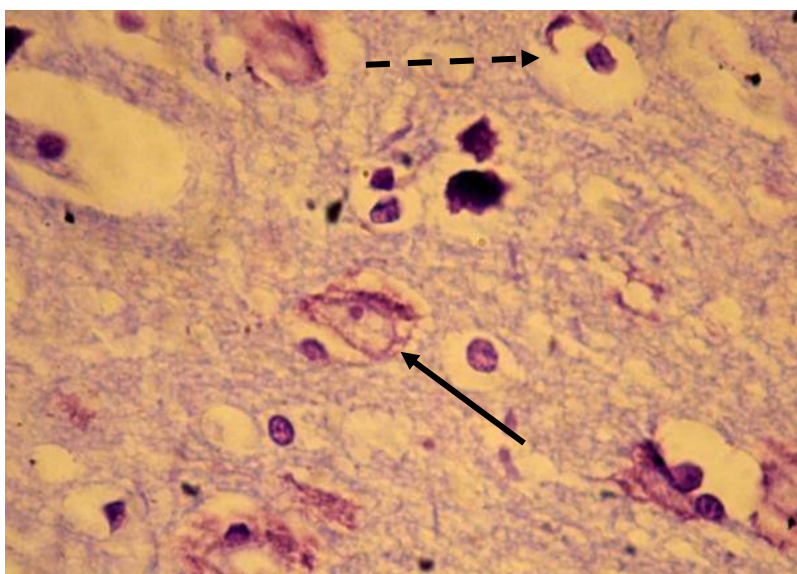
Таблица 4. Численная плотность нейронов в различных слоях первичной зрительной коры М ( $Q_1; Q_3$ ) на 1 мм<sup>2</sup>

Слой коры	Показатель	3 мес. интактные	3 мес. п-тирозол	3 мес. дист. вода	18-мес. интактные	18-мес. п-тирозол	18-мес. дист. вода
II	Численная плотность	240 (200;240)	260 (200;260)	220 (180;260)	200 (160;220)	190 (160;240)	200 (180;240)
IV	Численная плотность	320 (280;360)	280 (280;360)	300 (260;320)	280 (200;280)	300 (280;330)	310 (290;350)
V	Численная плотность	200 (160;240)	180 (120;200)	200 (180;220)	200 (140;240)	190 (160;210)	180 (140;200)

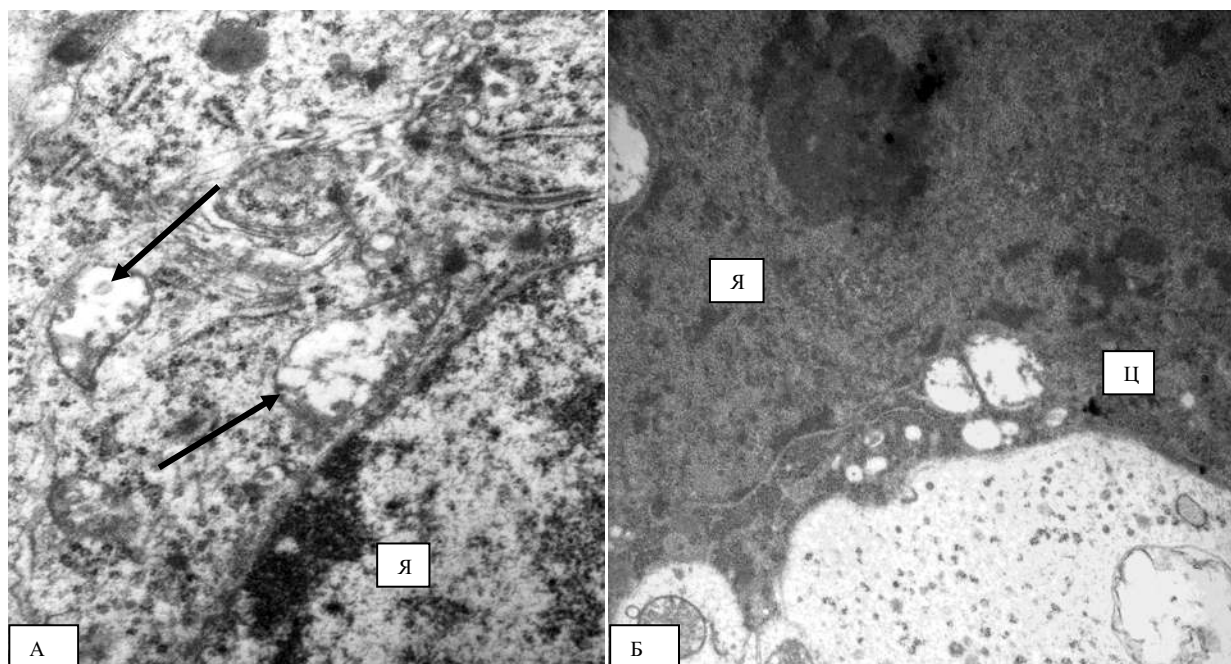
Таким образом, у 18-мес. крыс возрастные изменения нейронов в первичной зрительной коре характеризовались появлением гиперхромных нейронов со сморщиванием и без. На фоне коррекции выявлено достоверное снижение процентного содержания гиперхромных сморщенных нейронов, что, вероятно, связано с защитным эффектом п-тирозола. Кроме того, на фоне коррекции у 18-мес. крыс значительно увеличилось процентное содержание нейронов очаговым хроматолизом, что вероятно, связано с их переходом в функционально активное состояние.

### 3.1.3. Морфологические изменения нейронов 18-месячных крыс в первичной зрительной коре при световом воздействии и их коррекция п-тирозолом

При световом воздействии у 18-мес. животных наиболее измененным оказался IV слой первичной зрительной коры. При морфологическом анализе дифференцировались отечные нейроны с очаговым и тотальным хроматолизом (рисунок 17). Обнаруживались также гиперхромные нейроны со сморщиванием и без. При этом нейроны без сморщивания имели богатую органеллами цитоплазму, в которой нередко встречались набухшие митохондрии с деструкцией крист (рисунок 18.А). Ядерный хроматин концентрировался на периферии ядра, что вероятно, отражало сниженную активность таких клеток. Гиперхромные сморщенные нейроны уменьшались в размере, приобретали угловатые контуры, их границы ядра и цитоплазмы сливались в единую гомогенную массу (рисунок 18.Б).



*Рисунок 17. Отечный нейрон (сплошная стрелка) с очаговым хроматолизом, нейрон с тотальным хроматолизом (пунктирная стрелка) в V слое первичной зрительной коры 18-мес. крысы при световом воздействии. Окраска крезил фиолетовым по Нислю. Ув. 1000.*



*Рисунок 18. А - Гиперхромный нейрон без сморщивания в IV слое 18-мес. крысы при световом воздействии. Набухание митохондрий и деструкцией крист (стрелка), Я – ядро. Окраска контраст уранил ацетат, цитрат свинца. Ув. 8000. Б – Гиперхромный сморщенный нейрон в IV слое 18-мес. крысы при световом воздействии, границы между ядром (Я) и цитоплазмой (Ц) трудно различимы. Окраска контраст уранил ацетат, цитрат свинца. Ув. 6000.*

Морфометрический анализ показал достоверное увеличение процентного содержания нейронов с очаговым хроматолизом в 5,7 раза, с тотальным в 13 раз, гиперхромных нейронов без сморщивания в 1,7 раза, гиперхромных сморщенных нейронов в 1,7 раза в IV слое первичной зрительной коры 18-мес. крыс при световом воздействии по сравнению с показателями интактных 18-мес. животных ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 3). В V слое у 18-мес. крыс при световом воздействии значительно повышалось процентное содержание нейронов с очаговым до 4% (2;4,5) и тотальным хроматолизом до 2,5% (1;2,5) по сравнению с аналогичными показателями интактных 18-мес. крыс 2% (1;2,5); 0,5% (0;1) соответственно ( $p \leq 0,05$  по критерию Краскела-Уоллиса).

При морфометрическом анализе ультраструктуры нейронов IV слоя обнаружено достоверное снижение удельной площади митохондрий в 1,8 раза,

что, вероятно, свидетельствовало об их деструкции и, как следствие, снижении энергетического потенциала клетки ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 5).

Таблица 5. Удельная площадь органелл в нейронах IV слоя, %М ( $Q_1; Q_3$ )

Органеллы	18-мес. интактные	18-мес. п- тирозол	18-мес. дист. вода	18-мес. свет	18-мес. свет, дист. вода	18-мес. свет, п- тирозол
Митохондрии	13 (11;15,5)	12 (10,5;15)	12 (10;15)	7 <sup>^</sup> (5;9)	7 (5;8)	10 <sup>«</sup> (8,2;11)
Аппарат Гольджи	1 (0;2)	1 (0;2)	1 (0;1)	1 (0,5;2)	1 (0;2)	1 (0;2)
Лизосомы	0,4 (0;2)	0 (0;1)	0,5 (0;1)	0,5 (0;1)	0,5 (0;1)	0,5 (0;1)
Гран.ЭПС	8 (7;8,5)	7 (6;8)	8 (6;8)	8 (6,5;9)	9 (7;9)	12 <sup>«</sup> (10,2;14)
Агран. ЭПС	1 (0,3;2)	1 (0,4;2)	1 (0,1;2)	1 (0,7;2)	1 (0;2)	1 (0,25;2)

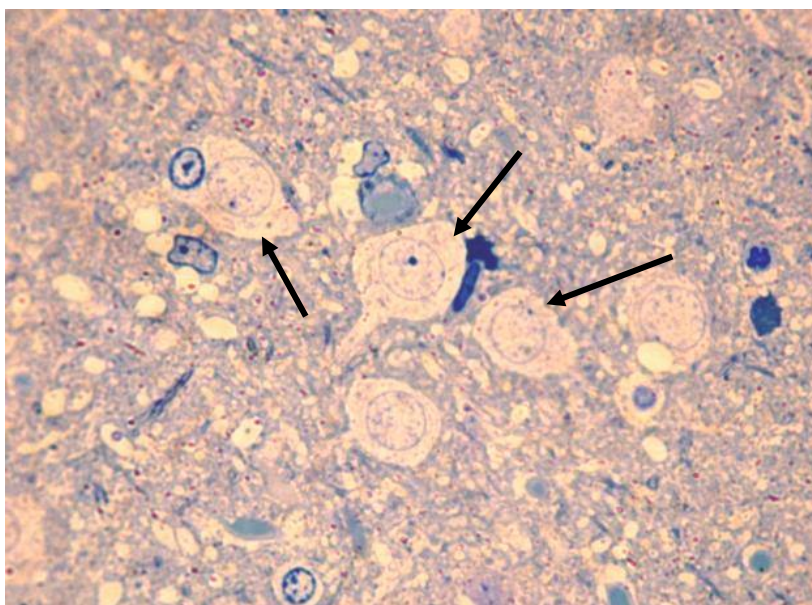
<sup>^</sup> – достоверные различия по сравнению с показателями интактных 18-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса  $p \leq 0,05$ .

<sup>«</sup> – с показателями 18-мес. крыс со световым воздействием.

При коррекции п-тирозолом у 18-мес. крыс при световом воздействии в IV слое достоверно снижался процент нейронов с тотальным хроматолизом в 2,2 раза по сравнению с показателями 18-мес. крыс со световым воздействием без коррекции, что, вероятно, связано с защитным эффектом п-тирозола ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 3). Ультраструктурный анализ показал, что в IV слое у 18-мес. крыс при световом воздействии на фоне коррекции повышалась удельная площадь гранулярной ЭПС в 1,5 раза и митохондрий в 1,4 раза по сравнению с показателями крыс со световым воздействием без коррекции, что, видимо, свидетельствовало об активации синтетических процессов (таблица 5), ( $p \leq 0,05$ ).

В V слое отмечалось повышение процентного содержания нейронов с очаговым хроматолизом в 2,5 раза по сравнению с показателями крыс со

световым воздействием без коррекции ( $p \leq 0,05$  по критерию Краскела-Уоллиса). Нейроны с очаговым хроматолизом характеризовались светлым окрашиванием цитоплазмы, центрально или периферически расположенным ядрышком (рисунок 19).

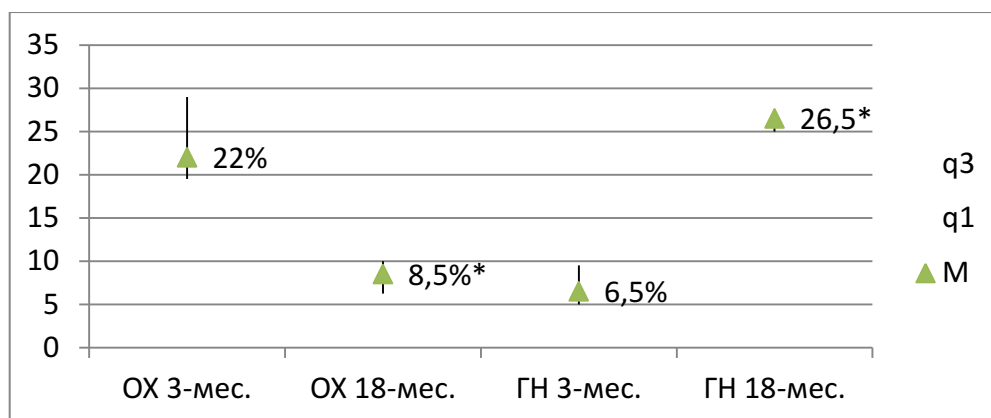


*Рисунок 19. Нейроны с очаговым хроматолизом (стрелки) IV слоя коры 18-мес. крысы при световом воздействии с коррекцией п-тирозолом. Полутонкий срез, окраска азур II. Ув.1000.*

Таким образом, у 18-мес. крыс при световом воздействии наиболее измененным оказался IV слой первичной зрительной коры. Обратимые изменения характеризовались набуханием митохондрий, расширением цистерн ЭПС, повышением процентного содержания нейронов с очаговым хроматолизом и гиперхромных нейронов без сморщивания. К необратимым относили тотальный хроматолиз и гиперхромную со сморщивание клетки. п-Тирозол оказывал нейропротективный эффект, что выразилось в снижении процентного содержания деструктивно измененных нейронов, вероятно, вследствие предотвращения деструкции.

При сравнении показателей между группами 3- и 18-мес. крыс со световым воздействием в IV слое обнаружено следующее: процентное содержание

нейронов с очаговым хроматолизом у 18-мес. крыс при световом воздействии достоверно ниже, чем у 3-мес. животных ( $p \leq 0,05$ ), (рисунок 20). Процентное содержание гиперхромных нейронов без сморщивания у 18-мес. крыс значительно выше показателя 3-мес. животных ( $p \leq 0,05$ ), (рисунок 20). Увеличение гиперхромных нейронов без сморщивания, возможно, также связано с накоплением в цитоплазме 18-мес. нейронов осмиофильных телец и многослойных мембранных структур



*Рисунок 20. Процентное содержание измененных нейронов с очаговым хроматолизом (ОХ) и гиперхромных нейронов без сморщивания (ГН) в IV слое первичной зрительной коры у 3- и 18-мес. крыс при световом воздействии. \* – достоверные различия при сравнении с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием  $p \leq 0,05$ .*

. Достоверных различий при сравнении процентного содержания нейронов с тотальным хроматолизом у 3- и 18-мес. крыс со световым воздействием не обнаружено. При сравнении процентного содержания гиперхромных сморщенных нейронов выявлено достоверное их увеличение в группе 18-мес. крыс в 6 раз, что свидетельствовало, о более выраженных деструктивных изменениях нейронов в этой группе по сравнению с 3-мес. крысами ( $p \leq 0,05$ ), (рисунок 21).

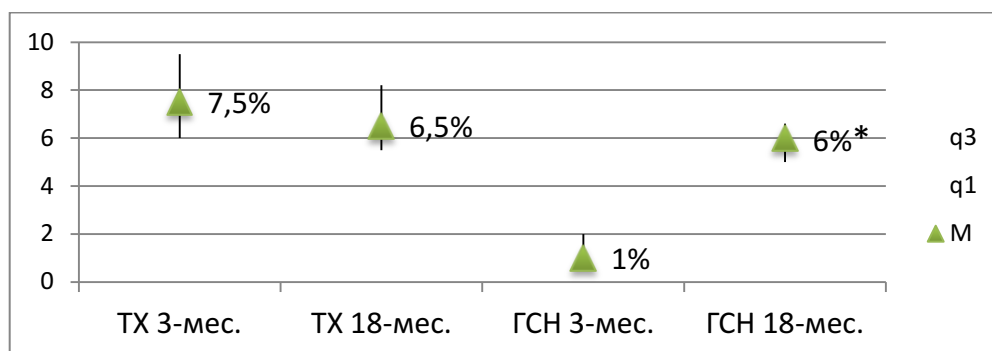


Рисунок 21. Процентное содержание измененных нейронов с тотальным хроматолизом (ТХ) и гиперхромных сморщенных нейронов (ГСН) в IV слое первичной зрительной коры у 3-х и 18-мес. крыс при световом воздействии. \* – достоверные различия при сравнении с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием  $p \leq 0,05$ .

При коррекции п-тирозолом у 18-мес. крыс со световым воздействием процентное содержание нейронов с очаговым хроматолизом оказалось в 1,4 раза ниже, а процентное содержание гиперхромных нейронов без сморщивания ядра в 4,25 раза выше при сравнении с соответствующими показателями 3-мес. крыс при световом воздействии с коррекцией п-тирозолом ( $p \leq 0,05$ ) (рисунок 22).

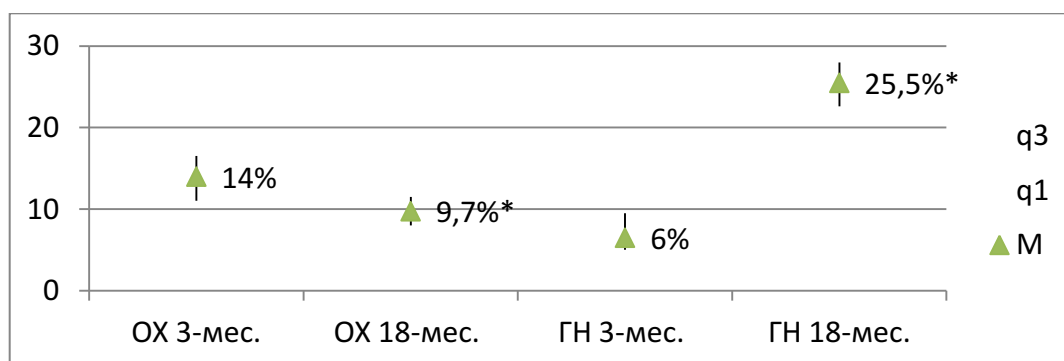


Рисунок 22. Процентное содержание измененных нейронов с очаговым хроматолизом (ОХ) и гиперхромных нейронов без сморщивания (ГН) в IV слое первичной зрительной коры у 3- и 18-мес. крыс при световом воздействии и коррекции п-тирозолом. \* – достоверные различия при сравнении с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием и коррекцией п-тирозолом  $p \leq 0,05$ .

Процентное содержание гиперхромных сморщенных нейронов у 18-мес. крыс со световым воздействием и коррекцией п-тирозолом в 11,5 раз выше, чем у 3-мес. со световым воздействием и коррекцией ( $p \leq 0,05$ ), (рисунок 23).

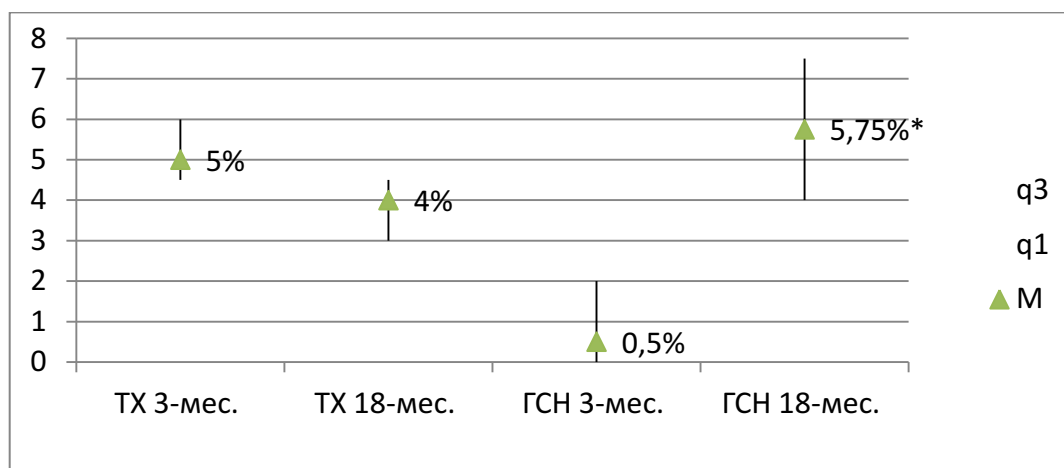


Рисунок 23. Нейроны с тотальным хроматолизом (ТХ) и гиперхромные сморщенные (ГЧН) в IV слое первичной зрительной коры у 3- и 18-мес. крыс при световом воздействии и коррекции п-тирозолом. \* – достоверные различия при сравнении с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием и коррекцией п-тирозолом  $p \leq 0,05$ .

При анализе ультраструктуры нейронов IV слоя первичной зрительной коры у 3-мес. крыс со световым воздействием и коррекцией п-тирозолом выявлено увеличение удельной площади митохондрий в 2 раза по сравнению с показателями 3-месячных крыс при световом воздействии без коррекции, (рисунок 24), ( $p \leq 0,05$ ). У 18-мес. при световом воздействии и коррекции в 1,4 раза, по сравнению с показателями 18-месячных крыс со световым воздействием без коррекции (рисунок 24), ( $p \leq 0,05$ ). Удельная площадь митохондрий в группе 3-мес. крыс при световом воздействии и коррекции п-тирозолом в 1,6 раза выше показателей 18-мес. крыс при световом воздействии и коррекции (рисунок 24), ( $p \leq 0,05$ ).



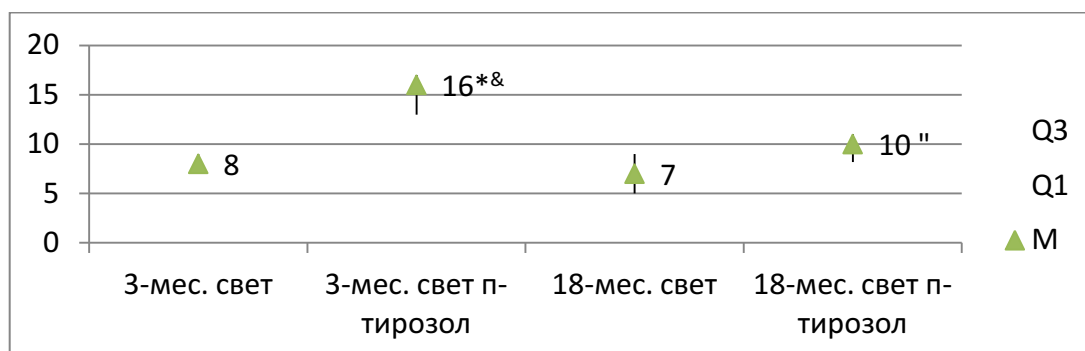


Рисунок 24. Удельная площадь митохондрий в IV слое первичной зрительной коры у 3- и 18-месячных крыс при световом воздействии и коррекции *p*-тирозолом. \* – достоверные различия при сравнении с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием  $p \leq 0,05$ . '' – с показателями 18-мес. крыс со световым воздействием. & – с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием и коррекцией *p*-тирозолом.

Анализ удельной площади гранулярной ЭПС показал, что в группе 18-месячных крыс со световым воздействием площадь в 3,2 раза выше показателей 3-месячных крыс при световом воздействии (рисунок 27), ( $p \leq 0,05$ ).

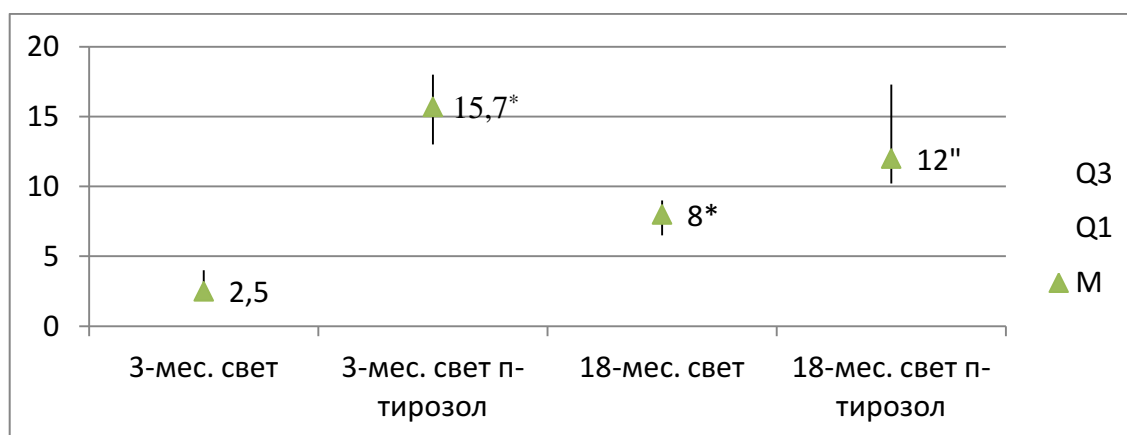


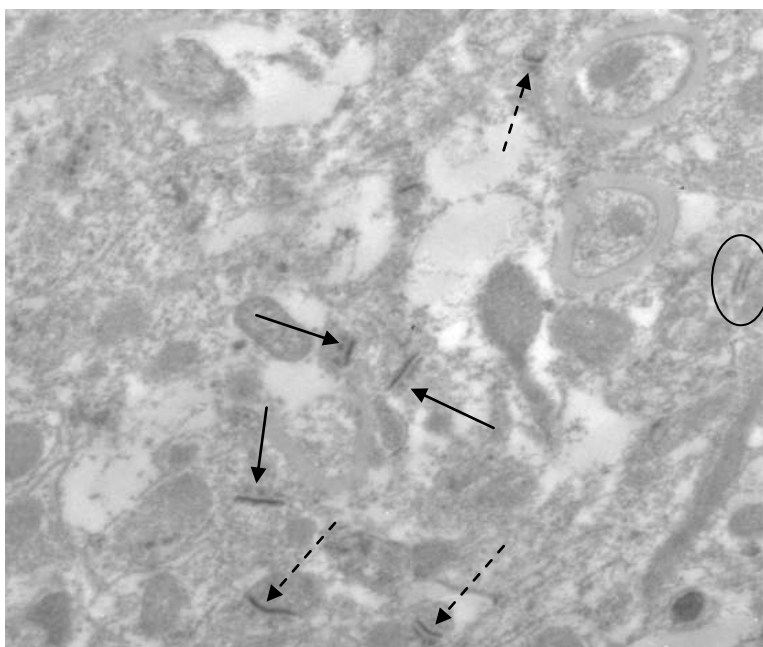
Рисунок 25. Удельная площадь гранулярной ЭПС в IV слое первичной зрительной коры у 3- и 18-месячных крыс. \* – достоверные различия при сравнении с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием  $p \leq 0,05$ . '' – достоверные различия при сравнении с показателями 18-мес. крыс со световым воздействием по критерию ( $p \leq 0,05$ ).

Таким образом, п-тирозол оказывал более выраженные нейропротективные эффекты у 3-мес. крыс, что, вероятно, связано с их меньшей деструкцией, большей пластичностью и способностью к адаптации в условиях высокоинтенсивного светового воздействия.

## 3.2. Морфологические изменения межнейронных контактов IV слоя первичной зрительной коры

### 3.2.1. Ультраструктурные изменения синапсов у 3-месячных крыс в условиях высокоинтенсивного светового воздействия, их коррекция п-тирозолом

Как известно, зрительный анализатор состоит из центральной (наружные колленчатые тела, первичная зрительная кора) и периферической части (сетчатка). Большая часть аксонов ганглионарных нейронов сетчатки заканчивается в наружных колленчатых телах промежуточного мозга как своей, так и противоположной стороны. Аксоны нейронов наружных колленчатых тел направляются в IV слой первичной зрительной коры. Синаптическое устройство IV слоя первичной зрительной коры 3-мес. крыс представлено симметричными незрелыми синапсами 21% (16;26), ассиметричными зрелыми 84% (66;95), среди которых 50% (44;59) составили положительно искривленные контакты, 25% (12,5;31) – отрицательно и 19% (12,5;31) – плоские (рисунок 26).



*Рисунок 26. Ассиметричные плоские (стрелка), положительно скривленные (пунктирная стрелка), симметричные (круг) контакты интактной 3-мес. крысы. Окраска контраст фосфорновольфрамовая кислота, ув. 18000.*

Морфометрический анализ не показал значимых различий между исследуемыми показателями интактных 3-мес. крыс, 3-мес. крыс с коррекцией п-тирозолом и 3-мес. крыс, получавших дистиллированную воду (таблица 6).

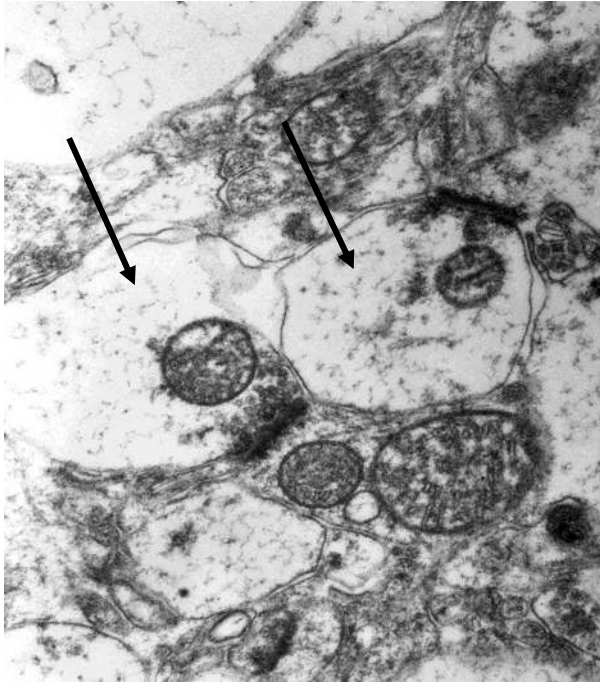
Таблица 6. Количественная характеристика ФВК-позитивных синапсов IV слоя первичной зрительной коры (на 100 мкм<sup>2</sup>), M (Q<sub>1</sub>;Q<sub>3</sub>).

Группа	Общая численная плотность	Симметричные	Асимметричные			
			Общее число	Плоские	«+» изогнутые	«-» изогнутые
3-мес.инт.	19 (17;22)	4 (3;5)	16 (12,5;18)	3 (2;5)	8 (7;9,5)	4 (2;5)
3-мес. дист. вода	19 (17;22)	4 (3;5,5)	16 (10;17)	2 (2;3)	9 (5;14)	2 (2;3)
3-мес.п-тирозол	19 (16;21)	5 (4;6)	14 (10;17)	2 (1;3)	10 (8;10)	2 (1;3)
3-мес. свет	19 (17;21)	7* (4;8)	10* (10;15)	4 (2;6)	4* (4;5)	3 (3;4)
3-мес. свет, дист. вода	19 (17;20)	7 (5;9)	12 (10;14)	5 (3,75;8)	4* (4;4)	3 (2;4)
3-мес. свет, п-тирозол	21 (20;22)	9* <sup>#</sup> (9;10)	12 (10,5;13)	4 (4;5)	4 (4;5)	4 (3;5)

\* – достоверность при сравнении со значениями интактных 3-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

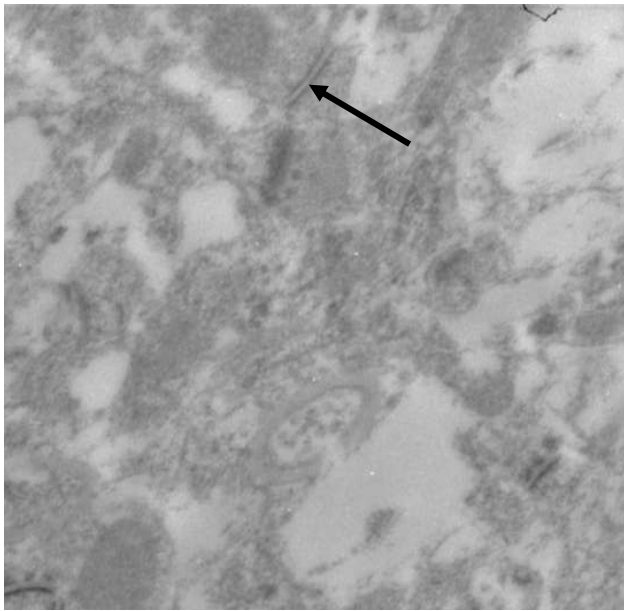
<sup>#</sup> – со значениями 3-мес. крыс со световым воздействием.

Световое воздействие у 3-мес. крыс вызывало изменение синаптических терминалей преимущественно по светлому типу, который характеризовался снижением электронной плотности и просветлением терминали, а также нередко ее набуханием (рисунок 27).



*Рисунок 27. Светлый тип деструкции терминали (стрелка) у 3-мес. крысы при световом воздействии. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 24000.*

Ультраструктурный анализ с использованием срезов окрашенных фосфорновольфрамовой кислотой (ФВК) показал достоверное снижение численной плотности ассиметричных (зрелых), положительно изогнутых (активных) синапсов у 3-мес. крыс при световом воздействии в 2 раза по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс, что, вероятно, связано с их деструкцией (таблица 6), ( $p \leq 0,05$ ). Общая численная плотность синаптических контактов в данной группе крыс достоверно не изменялась, вероятно, за счет активации неосинаптогенеза, о чем свидетельствовало значимое увеличение численной плотности симметричных контактов (рисунок 28), (таблица 6) и увеличение численной плотности синапсов с длиной АЗК 100-200 нм на  $100 \text{ мкм}^2$  (таблица 7), ( $p \leq 0,05$ ).



*Рисунок 28. Симметричный синапс (стрелка) у 3-мес. крысы при световом воздействии. Окраска контраст фосфорновольфрамовая кислота, ув. 22000.*

Встречались синаптические терминали, измененные по светлому типу деструкции (рисунок 29).



*Рисунок 29. Изменение терминали по светлому типу (стрелка) у 3-мес. крысы при световом воздействии на фоне коррекции *n*-тирозолом. Контраст уранил ацетат, цитрат свинца, ув. 22000.*

При коррекции п-тирозолом у крыс со световым воздействием отмечалось повышение численной плотности незрелых симметричных синапсов в 1,3 раза по сравнению со значениями группы со световым воздействием без коррекции ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 6). При коррекции п-тирозолом установлено достоверное увеличение длины ассиметричных положительно изогнутых контактов до 272 (220,1;385) нм по сравнению с показателями 3-мес крыс со световым воздействием без коррекции 200,6 (169,1;245,5), что свидетельствовало, вероятно, об их повышенной активности ( $p \leq 0,05$  по критерию Краскела-Уоллиса).

Таблица 7. Численная плотность синапсов IV слоя первичной зрительной коры 3-месячных крыс с различной длиной АЗК (на 100 мкм<sup>2</sup>), M (Q<sub>1</sub>;Q<sub>3</sub>)

Группа	100-200 нм	200-300 нм	300-500 нм	500-700 нм	>700 нм
3-мес. интактные	2 (1;3)	4 (3;5)	7 (7;9)	3 (2;4)	2 (1;2)
3-мес. п-тирозол	1 (1;3)	4 (4;5)	7 (6;8)	2 (2;5)	2 (0,5;3)
3-мес. дист. вода	1 (1;3)	4 (4;5)	7 (6;8)	3 (2;5)	2 (1;3)
3-мес. свет	6* (4;6)	4 (3;4)	6 (5;6)	2 (2;3)	2 (1;3)
3-мес. свет, дист. вода	6* (5;6)	4 (3;4)	6 (5;6)	3 (2;3)	2 (1;3)
3-мес. свет, п- тирозол	2# (2;2)	8# (7;8)	6 (5;6)	1 (1;2)	5# (4;5)

\*– статистически значимые различия по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

# –с показателями 3-мес. группы со световым воздействием.

У крыс со световым воздействием и коррекцией п-тирозолом обнаружено увеличение численной плотности синапсов с длиной АЗК 200-300 нм, а также гипертрофированных синапсов с длиной более 700 нм по сравнению с показателями крыс со световым воздействием (таблица 7), ( $p \leq 0,05$ ). Увеличение численной плотности мелких синапсов длиной 200-300 нм, вероятно, связано с активацией процессов неосинаптогенеза, а гипертрофия сохранившихся

контактов свидетельствовала об усложнении синаптической организации в первичной зрительной коре, что отражает процессы адаптации.

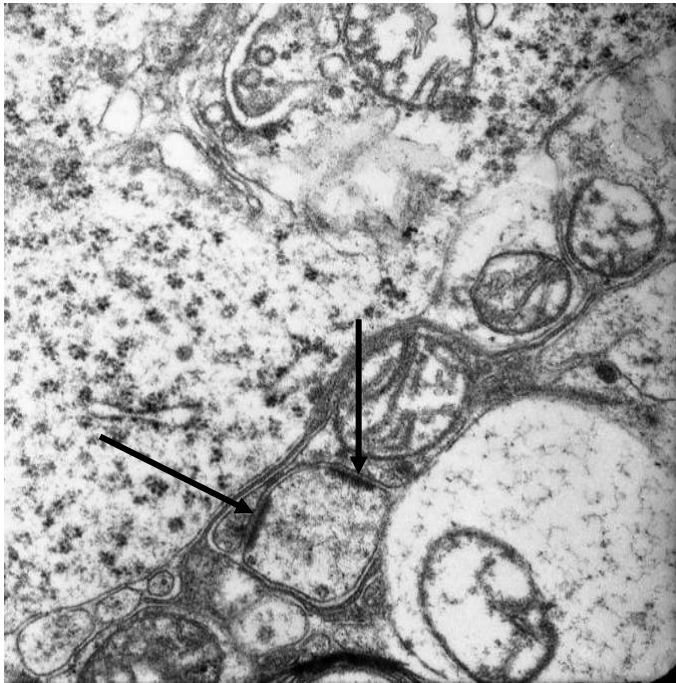
Таким образом, полученные данные свидетельствовали об активации процессов синаптической пластичности при световом воздействии и сохранении общей численной площади контактов в первичной зрительной коре 3-мес. крыс. п-Тирозол усиливал неосинаптогенез, о чем свидетельствовало увеличение численной плотности контактов с АЗК 100-300 нм и оказывал влияние на реорганизацию и усложнение уже существующих контактов, о чем свидетельствовало увеличение численной площади гипертрофированных синапсов  $>700$  нм.



### 3.2.2. Ультраструктурные изменения синапсов у 18-месячных крыс в условиях высокоинтенсивного светового воздействия, их коррекция п-тирозолом

В IV слое первичной зрительной коры процентное содержание симметричных синапсов составило 18% (18;23,5), ассиметричных – 76,5% (63;82), среди которых положительно искривленные контакты составили 46% (38,5;61,5), отрицательно изогнутые – 23% (19;31) и 15% (15;38,5) – плоские.

При анализе АЗК синапсов 18-мес. крыс обнаружено: значимое снижение численной плотности синапсов длиной 100-200 нм и увеличение численной плотности контактов 300-500 нм по сравнению с показателями 3-мес. крыс (таблица 8), ( $p \leq 0,05$ ). При коррекции п-тирозолом достоверно увеличилась только численная плотность ассиметричных плоских синапсов в 2,5 раза, что может быть связано с созреванием контактов (таблица 9), (рисунок 30), ( $p \leq 0,05$ ). Остальные показатели на фоне коррекции достоверно не изменялись.



*Рисунок 30. Два плоских ассиметричных синапса (стрелки) у 18-мес. крысы в условиях коррекции п-тирозолом. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца, ув. 20000.*

Таблица 8. Численная плотность синапсов IV слоя первичной зрительной коры у 3- и 18-месячных крыс с различной длиной АЗК (на 100 мкм<sup>2</sup>), М (Q<sub>1</sub>;Q<sub>3</sub>)

Группа	100-200 нм	200-300 нм	300-500 нм	500-700 нм	>700 нм
3-мес. инт.	2 (1;3)	4 (3;5)	7 (7;9)	3 (2;4)	2 (1;2)
3-мес. свет	6* (4;6)	4 (3;4)	6 (5;6)	2 (2;3)	2 (1;3)
3-мес. свет, п-тирозол	2# (2;2)	8# (7;8)	6 (5;6)	1 (1;2)	5# (4;5)
18-мес. инт.	1* (0;1)	2 (2;3)	10* (8;12)	2 (2;3)	1 (1;2)
18-мес. п-тирозол	1 (1;1)	2 (2;2,5)	12 (11;12)	2 (1;3)	2 (2;2)
18-мес. дист. вода	1* (0;1)	3 (2;3)	10* (8;12)	2 (2;3)	1 (1;2)
18-мес. свет	1# (0;1)	2 (1,5;2)	5 (3,5;9)	2 (1;2)	2@ (1;3)
18-мес. свет, п-тирозол	3& (2,25;4)	4&^ (4;5)	2&^ (1;2)	2 (1;2)	4 (3;4)
18-мес. свет, дист. вода	1 (1;4)	2 (0;2)	5 (4;8)	1 (1;2)	3@ (3;2)

\* – статистически значимые различия по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

# – с показателями 3-мес. группы со световым воздействием.

@ – с показателями интактных 18-мес. крыс.

& – с показателями 18-мес. группы со световым воздействием.

^ – с показателями 3-мес. группы со световым воздействием и коррекцией п-тирозолом.

Таблица 9. Количественная характеристика ФВК-позитивных синапсов IV слоя первичной зрительной коры (на 100 мкм<sup>2</sup>), M (Q<sub>1</sub>;Q<sub>3</sub>).

Группа	Общее кол-во	Симметричные	Асимметричные			
			Общее число	Плоские	«+» изогнутые	«-» изогнутые
3-мес. инт.	19 (17;22)	4 (3;5)	16 (12,5;18)	3 (2;5)	8 (7;9,5)	4 (2;5)
3-мес. свет	19 (17;21)	7* (4;8)	10* (10;15)	4 (2;6)	4* (4;5)	3 (3;4)
3-мес. свет, п-тирозол	21 (20;22)	9* <sup>#</sup> (9;10)	12 (10,5;13)	4 (4;5)	4 (4;5)	4 (3;5)
18-мес. инт.	17 (15;17,5)	3 (3;4)	13 (12;14)	2 (2;5)	6 (5;8)	3 (2,5;4)
18-мес. дист. вода	17 (15;18)	3 (3;4,5)	13 (11,5;14)	3 (2;5)	6 (5;8)	3 (2,5;4)
18-мес. п-тирозол	18 (18;20)	2 (2;3)	16 (15;17)	5 <sup>^</sup> (5;6)	8 (7;8)	3 (2;3)
18-мес. свет	12 <sup>^#</sup> (11;14)	2 <sup>#</sup> (2;6)	9 <sup>^</sup> (7,5;10)	2 (2;3)	4 <sup>^</sup> (3;5)	2 (2;3)
18-мес. свет, дист. вода	12 <sup>^</sup> (11;16)	2 (2;2)	10 (9;12)	2 (2;2)	6 <sup>^</sup> (5;7)	2 (2;3)
18-мес свет, п-тирозол.	15 <sup>&amp;»</sup> (13;17)	2 <sup>&amp;</sup> (2;4)	11 (10;14)	4,5 <sup>»</sup> (3;6)	5,5 (4;6)	2 (1;2)

\* – достоверность при сравнении со значениями интактных 3-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

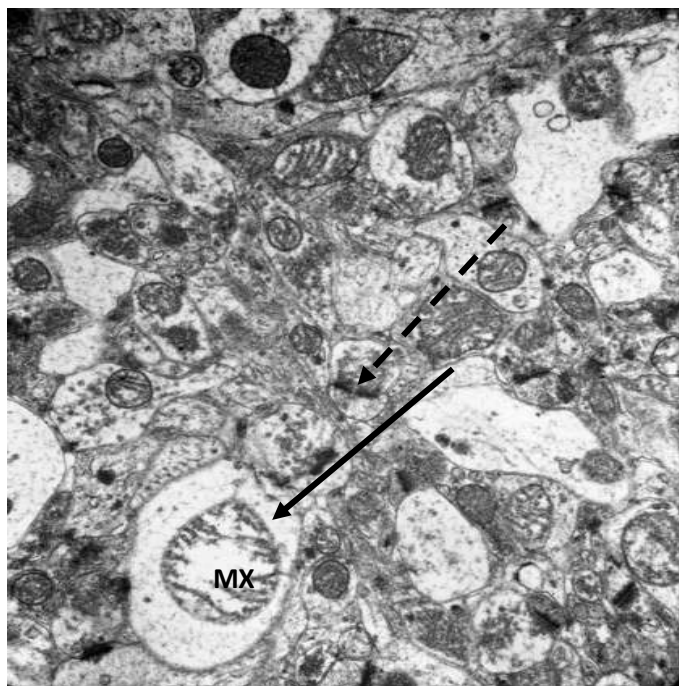
# – со значениями 3-мес. крыс со световым воздействием.

^ – со значениями интактных 18-мес. крыс.

» – со значениями 18-мес. крыс со световым воздействием.

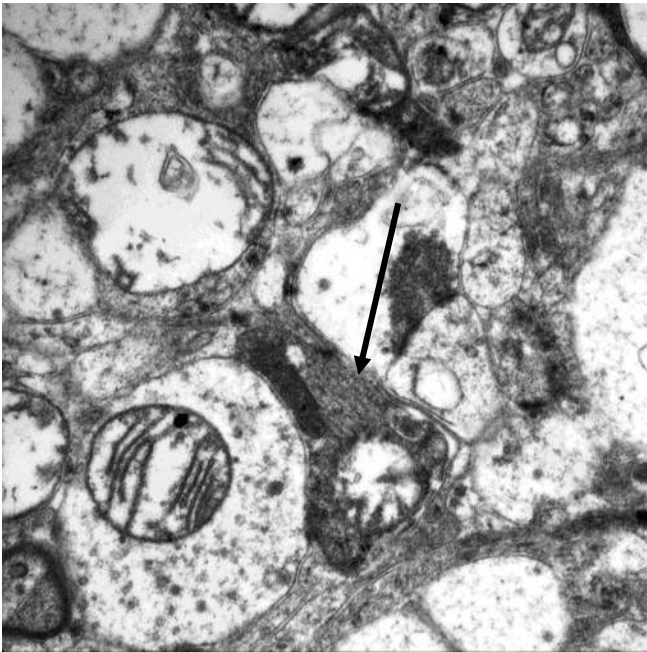
& – со значениями 3-мес. крыс со световым воздействием на фоне коррекции п-тирозолом.

При световом воздействии у 18-месячных крыс наблюдались синаптические контакты со светлым и темным типом деструкции. Светлый тип деструкции характеризовался набуханием и снижением электронной плотности пресинаптического отдела, снижением количества синаптических везикул, разрушением митохондрий и расширением синаптической щели (рисунок 31).

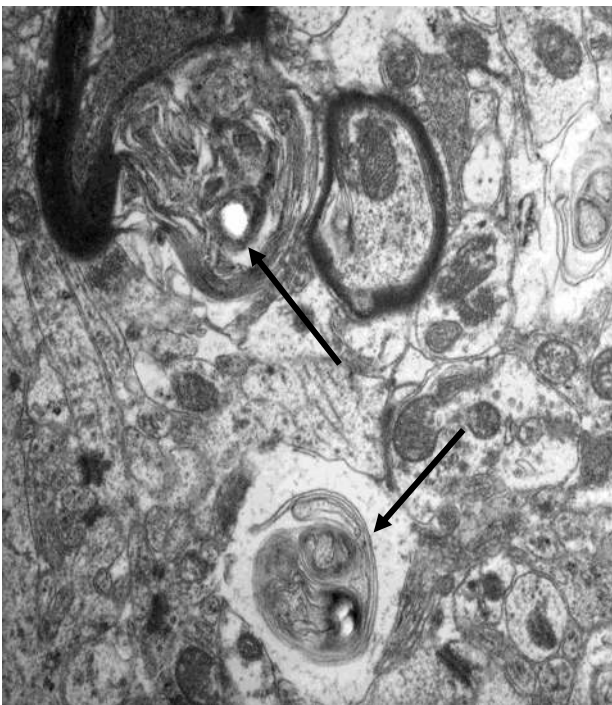


*Рисунок 31. Терминаль со светлым типом деструкции (сплошная стрелка), митохондрия (мх) с частичной деструкцией крист, простой перфорированный синапс (пунктирная стрелка) у 18-мес. крысы при световом воздействии. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца, ув. 18000.*

Межнейрональные контакты, измененные по темному типу, характеризовались увеличением осмиофилии пре- и постсинаптических отделов. При анализе таких терминалей отмечали деструкцию и набухание в них митохондрий (рисунок 32). При световом воздействии в отростках обнаруживали слоистые, миелиноподобные тельца, вероятно, образовавшиеся вследствие деструкции органелл (рисунок 33).

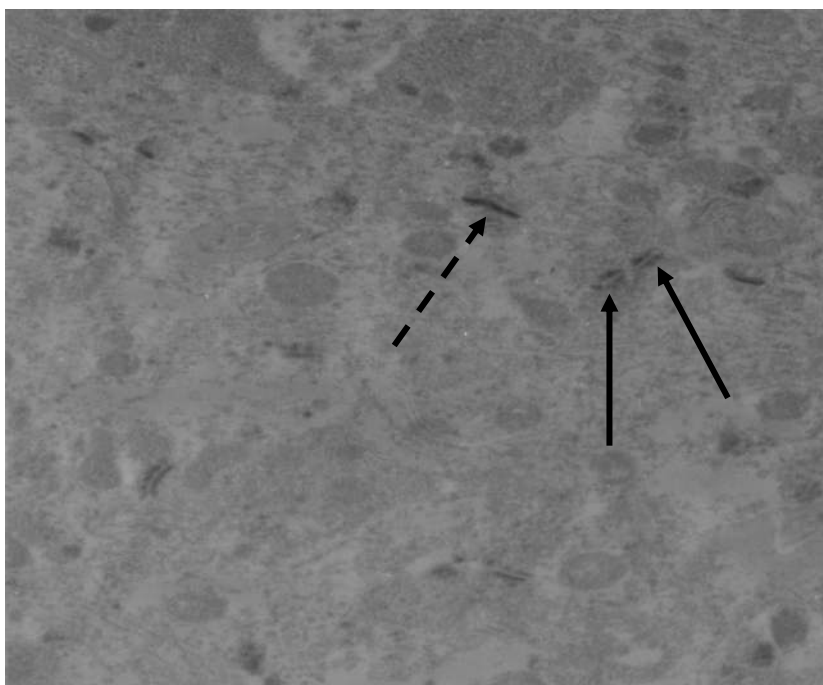


*Рисунок 32. Терминаль с деструкцией по темному типу (стрелка) у 18-мес. крысы при световом воздействии. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца, ув. 18000.*



*Рисунок 33. Слоистые мембранные структуры в отростках (стрелки) у 18-мес. крысы при световом воздействии. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца, ув. 18000.*

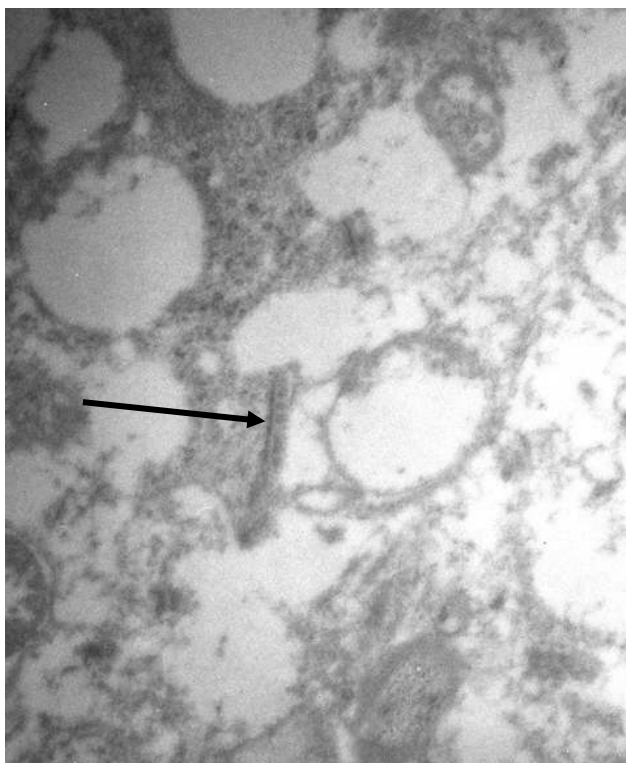
Морфометрический анализ показал достоверное снижение общей численной плотности синапсов у 18-мес. крыс при световом воздействии в 1,5 раза за счет деструкции ассиметричных положительно изогнутых контактов по сравнению с показателями интактных 18-мес. крыс (таблица 9), ( $p \leq 0,05$ ). Ассиметричные изогнутые синапсы являются зрелыми, активными контактами, наиболее уязвимыми при повреждении. При исследовании синапсов с разной длиной АЗК, обнаружено, что у 18-мес. крыс при световом воздействии значительно повышалась численная плотность гипертрофированных синапсов с длиной АЗК более 700 нм (таблица 8), (рисунок 34), ( $p \leq 0,05$ ).



*Рисунок 34. Гипертрофированный перфорированный синапс (сплошные стрелки), гипертрофированный неперфорированный синапс (пунктирная стрелка) у 18-мес. крысы при световом воздействии. Окраска контраст фосфорновольфрамовая кислота, ув. 8000.*

Применение п-тирозола при световом воздействии повышало численную плотность ассиметричных плоских синапсов в 2 раза по сравнению с показателями 18-мес. крыс со световым воздействием без коррекции, что вероятно связано с предотвращением деструкции (таблица 9), (рисунок 35), ( $p \leq 0,05$ ). Анализ активной зоны контакта показал увеличение численной

плотности синапсов с короткой длиной АЗК 100-200 нм и 200-300 нм по сравнению с показателями 18-мес. крыс со световым воздействием без коррекции, что, могло, свидетельствовать об активации неосинаптогенеза (таблица 8), ( $p \leq 0,05$ ). Численная плотность синапсов длиной 300-500 нм снижалась в 2 раза по сравнению с показателями 18-мес. крыс со световым воздействием без коррекции, возможно, вследствие их гипертрофии (таблица 8), ( $p \leq 0,05$ ).



*Рисунок 35. Простой гипертрофированный неперфорированный синапс (стрелка) 18-мес. крысы при световом воздействии и коррекции *n*-тирозолом. Окраска контраст фосфорновольфрамовая кислота, ув.10000.*

При сравнении показателей 3- и 18-мес. крыс со световым воздействием выявлено: общая численная плотность синапсов у 18-мес. достоверно не отличается от показателей 3-мес. животных, численная плотность контактов с длиной АЗК 100-200 нм в 2 раза ниже у 18-мес. крыс (таблица 8, 9), ( $p \leq 0,05$ ). При световом воздействии общая численная плотность синапсов у 3-мес. крыс в 1,6 раза больше таковой у 18-мес. Численная плотность синапсов с короткой длиной

АЗК 100-200 и 200-300 нм выше у 3-мес. крыс, тогда как численная плотность зрелых синапсов длиной 300-500 нм выше у 18-мес. животных.

При сравнении показателей 3- и 18-мес. крыс со световым воздействием и коррекцией п-тирозолом обнаружено: у 18-мес. крыс достоверное снижение общей численной плотности синапсов за счет симметричных контактов, численная плотность синапсов с длиной АЗК 200-300 и 300-500 нм у 18-мес. крыс значимо ниже таковой в группе 3-мес. крыс (таблица 8, 9), ( $p \leq 0,05$ ).

Таким образом, у крыс к 18-мес. возрасту в первичной зрительной коре численная плотность синапсов сохранялась на уровне 3-мес. животных, преобладали стабильные зрелые контакты с АЗК длиной 300-500 нм. При световом воздействии достоверно снижалась численная плотность синапсов, главным образом, за счет активных ассиметричных положительно искривленных контактов и происходило усложнение межсинаптических связей за счет гипертрофии сохранившихся синапсов. п-Тирозол предотвращал деструкцию синаптического пула у 18-мес. крыс при световом воздействии, что выражалось в увеличении численной плотности плоских ассиметричных синапсов, и увеличением численной плотности мелких синапсов длиной 100-200 и 200-300 нм при сравнении с таковыми без коррекции.



### 3.3. Морфологические изменения глии во II, IV и V слоях первичной зрительной коры

#### 3.3.1. Структурные изменения глиоцитов у 3-месячных крыс в условиях высокоинтенсивного светового воздействия, их коррекция п-тирозолом

Глиоциты с нейронами образуют функционально единую систему, при изменении одного звена которой неизбежно меняется и второе. В первичной зрительной коре различали сателлитную, перикапиллярную и глию, расположенную на некотором расстоянии от сосудов и нейронов. Перинейрональная глия была представлена, главным образом, астроцитами и олигодендроцитами. На некотором удалении от нейронов возле капилляров и отростков нервных клеток располагались астроциты, олигодендроциты и микроглия. Известно, что перинейрональная глия участвует в метаболическом обеспечении специфической деятельности нейрона. При применении п-тирозола у 3-мес. крыс в IV слое увеличивалось количество перинейрональной глии на 100 нейронов по сравнению с показателями интактных 3-мес. животных в 1,8 раза (таблица 10), ( $p \leq 0,05$ ).

Таблица 10. Среднее количество перинейрональной глии на 100 нейронов у 3-месячных крыс в IV слое первичной зрительной коры, M (Q1;Q3).

Показатель	3-мес. интактные	3-мес. дист. вода	3-мес. п-тирозол	3-мес. свет	3-мес. свет, дист. вода	3-мес. свет, п-тирозол
Глиоциты	13 (7,5;13,2)	12 (9;12,5)	23,5* (20;25)	12 (11;15)	13 (11;16)	16@ (15;20)

\* – статистически значимые различия по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

@ – с показателями 3-мес. группы со световым воздействием.

Увеличение сателлитных глиоцитов, вероятно, повышало устойчивость нейронов к различным неблагоприятным факторам. У 3-мес. крыс, получавших

только п-тирозол, наблюдалось значимое увеличение и глионейронального индекса (ГНИ) до 1,2 (0,9;1,5), что в 1,7 раза выше значений интактных 3-мес. крыс – 0,7 (0,5;1), (рисунок 36), ( $p \leq 0,05$ ).

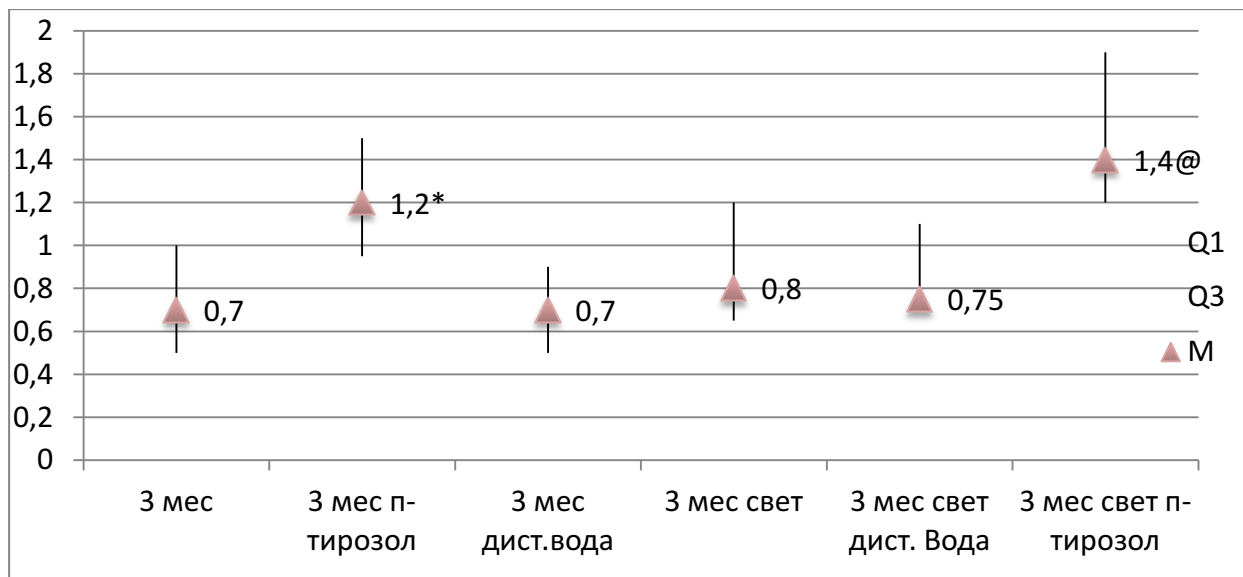


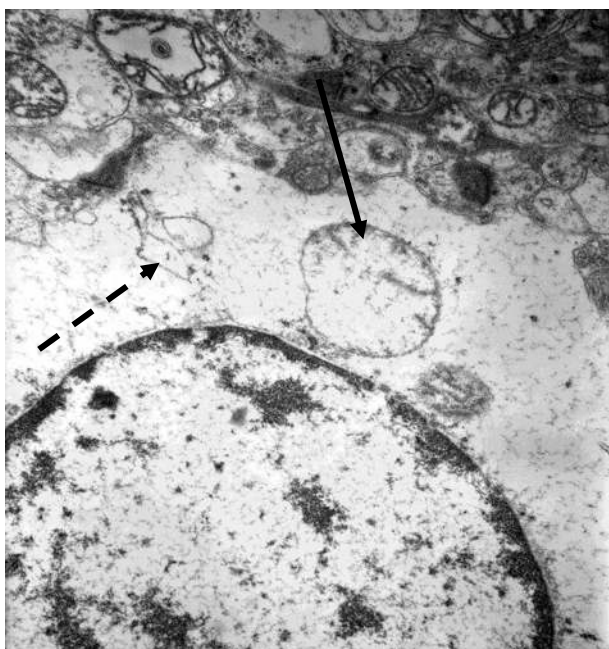
Рисунок 36. Глионейрональный индекс в IV слое первичной зрительной коры.

\* – статистически значимые различия по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ . @ – с показателями 3-мес. группы со световым воздействием.

При анализе глиальной популяции в группе 3-мес. крыс с введением п-тирозола обнаружено увеличение численной плотности глиоцитов до 100 (90;140) в IV слое, однако статистически значимых отличий от показателей интактных 3-мес. крыс не выявлено 80 (40;120). Таким образом, увеличение количества перинейрональной глии и ГНИ у 3-мес. крыс при коррекции п-тирозолом скорее связано с миграцией глиоцитов к нейронам, а не с их пролиферацией.

При световом воздействии у 3-мес. крыс на уровне световой микроскопии все глиоциты по тинкториальным свойствам были разделены на 2 группы: светлые и темные. Первые характеризовались более светлым окрашиванием цитоплазмы и ядра, а среди темных глиоцитов выделяли сморщенные клетки и гиперхромные глиоциты без сморщивания.

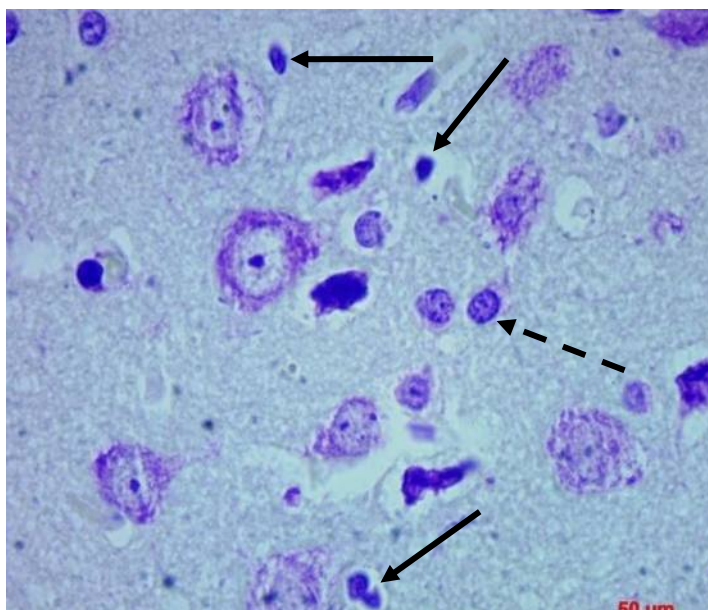
Светлые глиоциты обнаруживались на некотором удалении от нейронов и имели большой объем цитоплазмы в отличие от темных форм клеток. На ультраструктурном уровне такие глиоциты имели более светлые ядра с периферически расположенными ядрышками. От нейронов с очаговым и тотальным хроматолизом такие клетки отличались меньшими размерами и характером конденсации хроматина. В их цитоплазме наблюдали деструктивно измененные, набухшие митохондрии с частичным или полным разрушением крист, выраженное расширение цистерн гранулярной ЭПС, что, вероятно, свидетельствовало об их функционально напряженном состоянии (рисунок 37).



*Рисунок 37. Светлая форма глиоцита IV слоя первичной зрительной коры 3-мес. крысы при световом воздействии. В цитоплазме набухшая митохондрия с разрушенными кристами (сплошная стрелка), расширение цистерн ЭПС (пунктирная стрелка). Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 7000.*

Темные глиоциты без сморщивания при световой микроскопии имели более интенсивное окрашивание, меньший объем цитоплазмы (рисунок 38). Гетерохроматин таких клеток концентрировался как на периферии, так и в центре

ядра. В цитоплазме темных глиоцитов наблюдалось большее количество органелл, чем в светлых клетках.



*Рисунок 38. Гиперхромные глиоциты с признаками сморщивания и перицеллюлярного отека (сплошные стрелки), гиперхромный глиоцит без сморщивания (пунктирная стрелка) в IV слое первичной зрительной коры 3-мес. крысы при световом воздействии. Окраска крезил фиолетовым по Нислю. Ув. 1000.*

Гиперхромные сморщенные глиоциты характеризовались уменьшением объемов ядра и цитоплазмы, которая приобретала неправильные полигональные контуры. Их интенсивно и гомогенно прокрашенные ядра подвергались фрагментации, что свидетельствовало о гибели таких клеток (рисунок 39). Морфометрический анализ глиальной популяции у 3-мес. крыс при световом воздействии показал достоверное увеличение процентного содержания светлых форм глии (во II, IV и V слоях), и темных – гиперхромных глиоцитов со сморщиванием и без (в IV слое), (таблица 11), ( $p \leq 0,05$ ). Увеличение процентного содержания светлых форм глии, деструкция органелл с их цитоплазме в группе 3-мес. крыс при световом воздействии, вероятно, связаны с увеличением деструктивных форм нейронов и синаптических контактов в IV слое первичной зрительной коры.

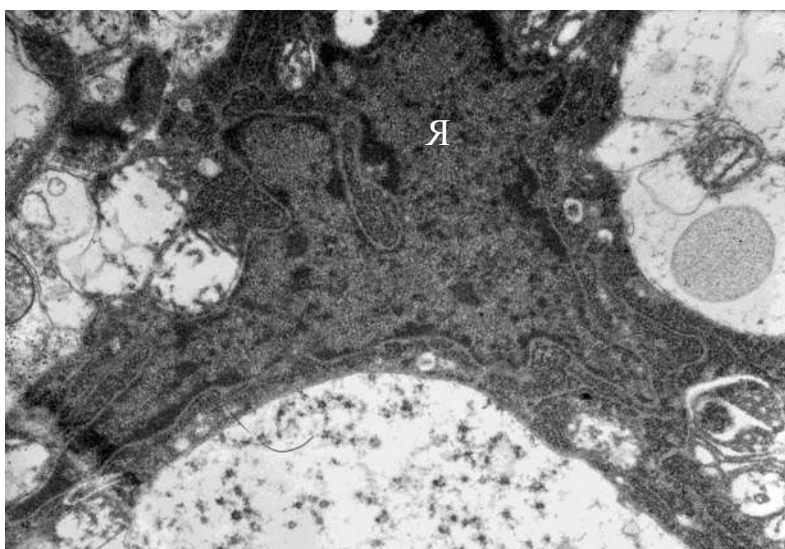


Рисунок 39. Гиперхромный глиоцит с признаками сморщивания в IV слое первичной зрительной коры у 3-мес. крысы. Я – ядро глиоцита. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 6000.

Таблица 11. Процентное содержание измененных глиоцитов у 3-месячных крыс, % М (Q1;Q3)

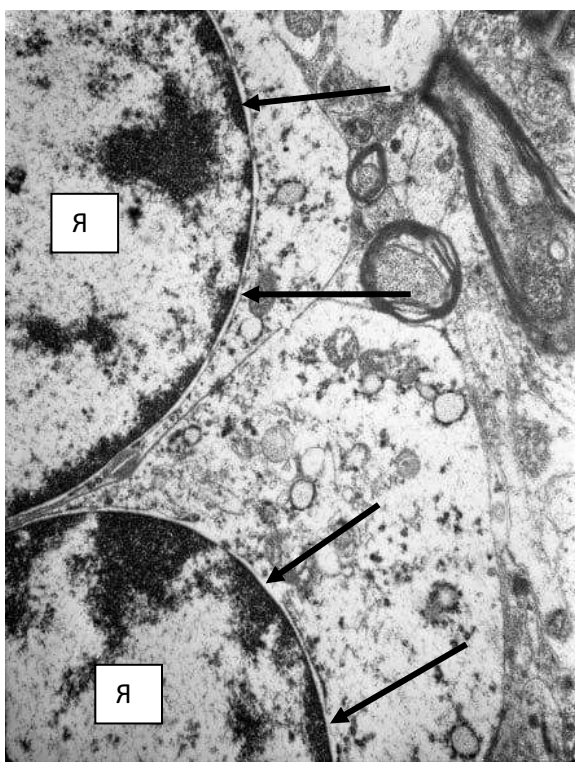
Слой коры	Показатель	3-мес. инт.	3-мес. дист. вода	3-мес. п-тирозол	3-мес. свет	3-мес. свет, п-тирозол	3-мес. свет, дист. вода
II	Неизмененные	73 (72;73)	73 (71,5;73,5)	73 (72;76)	68 (67;73)	68 (62;69)	68 (66;70)
	Гиперхромные сморщенные	2 (1;2)	2 (1;2,5)	2 (1;2)	3 (2;3)	3 (1,5;3)	3 (2;3)
	Светлые	1 (1;1,5)	1 (1;1)	1 (1;2)	10* (7;11)	7 (5;8)	10 (7,7;11)
	Гиперхромные без сморщивания	24 (21;25)	25 (23;25)	24 (21;24)	22 (19;24)	24 (22;32)	22 (21;26)
IV	Неизмененные	74,5 (73;78)	77 (73,5;79)	74,5 (73;78,5)	53 (52;57)	60 (57,5;62)	53 (52;57)
	Гиперхромные сморщенные	1,5 (1;2,5)	1,5 (1;2,5)	1,5 (1;2,5)	3* (3;5)	2 (1,5;3)	4 (3;5)

	Светлые глиоциты	2 (1,25;2)	2 (1;2)	2 (1,3;2)	10* (9;11)	5» (3;6,5)	10 (9;13)
	Гиперхромные без сморщивания	20,5 (18;22)	20 (17;22)	20 (18;22)	35» (30;35)	33 (31,5;34)	35 (29;35)
V	Неизмененные	70 (66;73)	72 (70;73)	72 (70;73)	53 (52;57)	62 (60;66)	53 (52;64)
	Гиперхромные сморщенные	1 (1;2)	1 (0;2)	1 (1;2)	3 (1;3)	2 (1;3)	3 (1;3)
	Светлые	1 (1;1,5)	1 (1;1)	1 (1;1)	10* (9;11)	5» (5;6)	10 (9;13)
	Гиперхромные без сморщивания	29 (25;31)	26 (25;29)	26 (25;29)	35 (29;35)	32 (25;33,5)	35 (22;35)

\* – статистически значимые различия по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

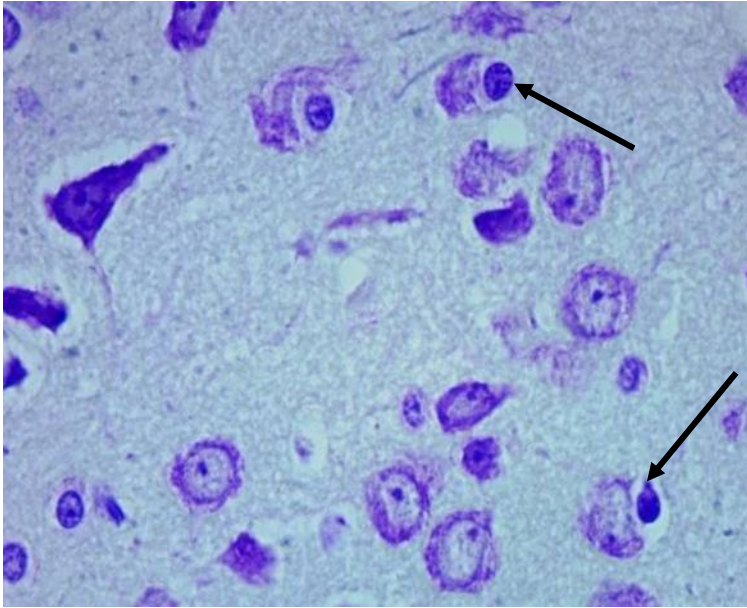
« – с показателями 3-мес. группы со световым воздействием.

У крыс при световом воздействии на фоне коррекции п-тирозолом процентное содержание глиоцитов, измененных по светлому типу, снижалось в IV и V слоях в 2 раза (таблица 11), ( $p \leq 0,05$ ). На ультраструктурном уровне наблюдалось увеличение числа ядерных пор и органелл в цитоплазме (рисунок 40). Частой находкой при коррекции п-тирозолом у 3-мес. крыс при световом воздействии были попарно расположенные глиоциты, что могло свидетельствовать об их пролиферации.



*Рисунок 40. Глиоциты в IV слое первичной зрительной коры молодой крысы при световом воздействии и коррекции п-тирозолом, Я – ядро глиоцита, ядерные поры (стрелка). Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 6000.*

У 3-мес. крыс при световом воздействии на фоне коррекции выявлено достоверное повышение количества перинейрональной глии в 1,3 раза на 100 нейронов по сравнению с показателями 3-мес. крыс при световом воздействии без коррекции, что, вероятно, отражало развитие компенсаторно-приспособительных механизмов, обеспечивающих сохранность нейрональной популяции (таблица 10). Перинейрональные глиоциты в группе 3-мес. крыс со световым воздействием при коррекции п-тирозолом нередко имели увеличенные ядра с конденсированным хроматином (рисунок 41).



*Рисунок 41. Гиперхромные сателлитные глиоциты в IV слое первичной зрительной коры при световом воздействии в условиях коррекции п-тирозолом. Окраска крезил фиолетовым по Нислю. Ув. 1000.*

У 3-мес. крыс со световым воздействием на фоне введения п-тирозола обнаружено увеличение ГНИ до 1,4 (1,2;1,9), что в 1,75 раз больше, чем в группе со световым воздействием без коррекции (рисунок 36). Увеличение ГНИ, с одной стороны, могло свидетельствовать об увеличении количества глиоцитов (путем миграции и/или пролиферации), с другой – о снижении количества нейронов. Так как анализ нейрональной популяции в IV слое первичной зрительной коры 3-мес. животных на фоне введения п-тирозола при световом воздействии не подтвердил значимый дефицит численной плотности нейронов, был проведен анализ популяции глиоцитов. Обнаружено значимое повышение численной плотности глии в группе 3-мес. крыс при световом воздействии на фоне введения п-тирозола на 1 мм<sup>2</sup> среза в IV слое до 130 (120;140) по сравнению с показателями 3-мес. крыс при световом воздействии без коррекции 80 (40;120), ( $p \leq 0,05$  по критерию Краскела-Уоллиса).

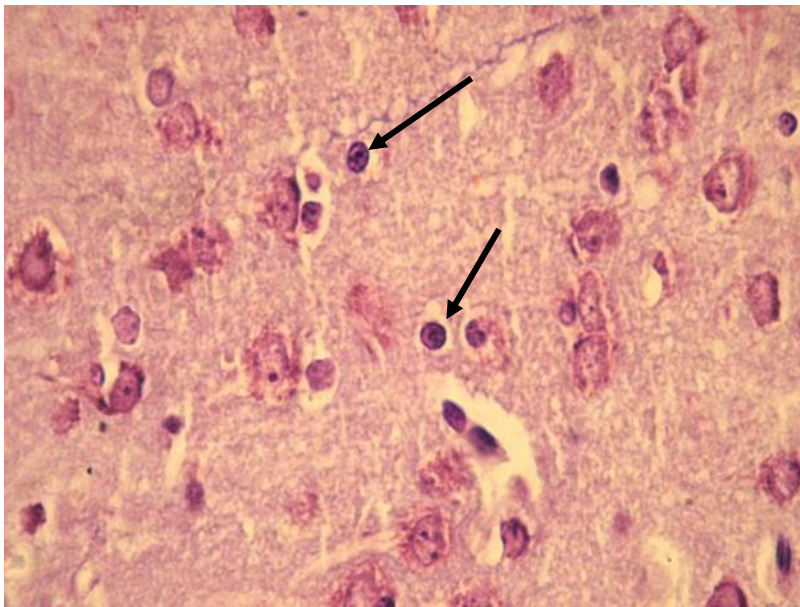
Таким образом, структурные изменения глиоцитов при световом воздействии у 3-мес. крыс в первичной зрительной коре более выражены в IV слое, что, вероятно, связано с большим повреждением нейронов и синаптических



контактов этого же слоя. Реактивные изменения глиии проявлялись их отеком и набуханием митохондрий, расширением цистерн ЭПС, деструктивные – увеличением процентного содержания гиперхромных сморщенных глиоцитов. Применение п-тирозола на фоне светового воздействия приводило к прогрессивно-пролиферативным изменениям, о чем свидетельствовало увеличение численной плотности глиальной популяции и ГНИ, вероятно, за счет миграции и/или пролиферации глиоцитов.

### 3.3.2. Морфологические изменения глиии у 18-месячных крыс в первичной зрительной коре, их коррекция п-тирозолом

При морфологическом анализе глиальной популяции у 18-мес. крыс во II, IV и V слоях первичной зрительной коры нередко встречались глиоциты с высокой степенью конденсации хроматина, с интенсивно прокрашенным, четко дифференцируемым ядром без признаков сморщивания (рисунок 42). Они характеризовались меньшим объемом ядра и цитоплазмы по сравнению с нормохромной глией. На ультраструктурном уровне в ядрах таких глиоцитов преобладал гетерохроматин.



*Рисунок 42. V слой первичной зрительной коры интактной 18-мес. крысы, гиперхромные глиоциты без признаков сморщивания (стрелки). Окраска крезил фиолетовым, ув. 1000.*

Процентное содержание гиперхромных глиоцитов без сморщивания увеличилось в 1,5 раза во II слое и в 1,6 раза в IV в группе 18-мес. крыс по сравнению с соответствующими показателями группы 3-мес. крыс (таблица 11, 12), ( $p \leq 0,05$  по критерию Манна-Уитни).

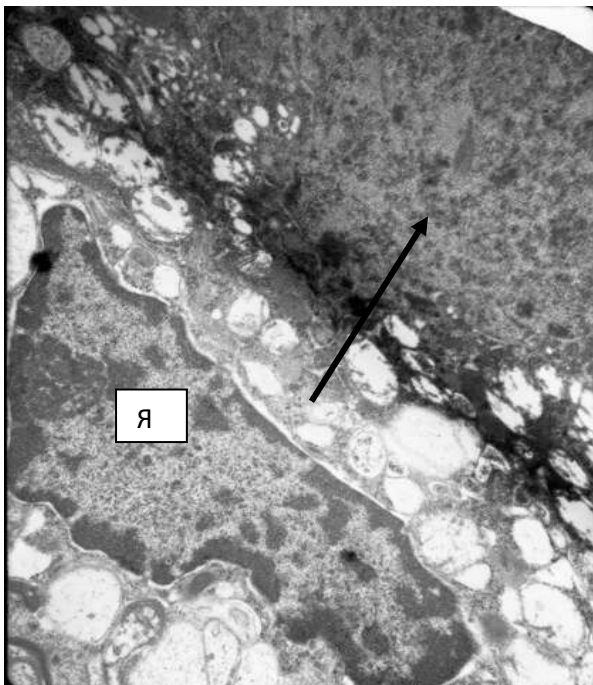
Таблица 12. Процентное содержание измененных глиоцитов у 18-месячных крыс, % М (Q1;Q3)

Слой коры	Показатель	18-мес. инт.	18-мес. п-тирозол	18-мес. дист. вода	18-мес. свет	18-мес. свет, дист. вода	18-мес. свет, п-тирозол
II	Неизмененные	59 (56;61)	60 (58;62,5)	59 (57;62)	47 (45,5;51)	47 (44;52)	58 (54;62,5)
	Гиперхромные сморщенные	3 (2,5;4)	3 (2;4)	3 (2;4)	2 (2;3)	2 (2;3)	2 (1;2)
	Светлые глиоциты	2 (1;3)	2 (1;3)	2 (1;2)	20# (20;24)	21 (19;22)	5# (3;5)
	Гиперхромные без сморщивания	36 (35;38)	35 (35;37)	36 (34;38)	30 (25;32)	30 (28;32)	37 (33;39)
IV	Неизмененные	60 (60;63)	64 (58,5;68)	60 (60;62,5)	48 (44;52)	49 (46;53)	58,5 (54;61)
	Гиперхромные сморщенные	5 (5;6,5)	2# (1;2)	5 (5;7)	8# (7;9,5)	8 (6;9)	7 (7;9)
	Светлые	3 (2;3)	2 (2;3)	3 (2;3)	20# (17;21)	18 (16;20)	12# (11;14)
	Гиперхромные без сморщивания	32 (30;33)	32 (29;38)	30 (27;33)	25 (22;28)	25 (22;28)	22 (21;24,5)
V	Неизмененные	61 (56,5;65)	63 (57;66)	61 (57;65)	59 (56;64)	61 (55;65)	62 (60;65,5)
	Гиперхромные сморщенные	3 (3;4)	3 (3;4)	3 (3;5)	5 (5;7)	5 (5;7)	5 (4;5)
	Светлые глиоциты	3 (2;4)	2 (2;3)	2 (2;3)	10# (8,5;12)	10 (9;12)	5# (5;7)
	Гиперхромные без сморщивания	34 (29;38)	30 (29;38)	33 (29;38)	25 (20;28)	25 (20;28)	27 (25;30)

# – статистически значимые различия по сравнению с показателями интактных 18-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

& – с показателями интактных 18-мес. крыс со световым воздействием.

Кроме этого, у 18-мес. крыс во всех исследованных слоях имелись глиоциты неправильной угловатой формы, гомогенно интенсивно прокрашенные с признаками сморщивания и маргинацией хроматина на ультраструктурном уровне. Гиперхромные сморщенные глиоциты часто встречались возле измененных нейронов (рисунок 43).



*Рисунок 43. Гиперхромный сморщенный глиоцит с пикноморфным нейроном (стрелка) в IV слое первичной зрительной коры 18-мес. крысы, Я – ядро глиоцита. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 6000.*

Морфометрический анализ показал, что процентное содержание пикноморфных (гиперхромных, сморщенных) глиоцитов значимо увеличилось в IV слое в 3,3 раза, в V – 3 раза по сравнению с соответствующими значениями 3-мес. крыс (таблица 10, 12), ( $p \leq 0,05$  по критерию Манна-Уитни).

При изучении срезов первичной зрительной коры 18-мес. крыс нередко встречались глиоциты, расположенные группами или парами (рисунок 44).

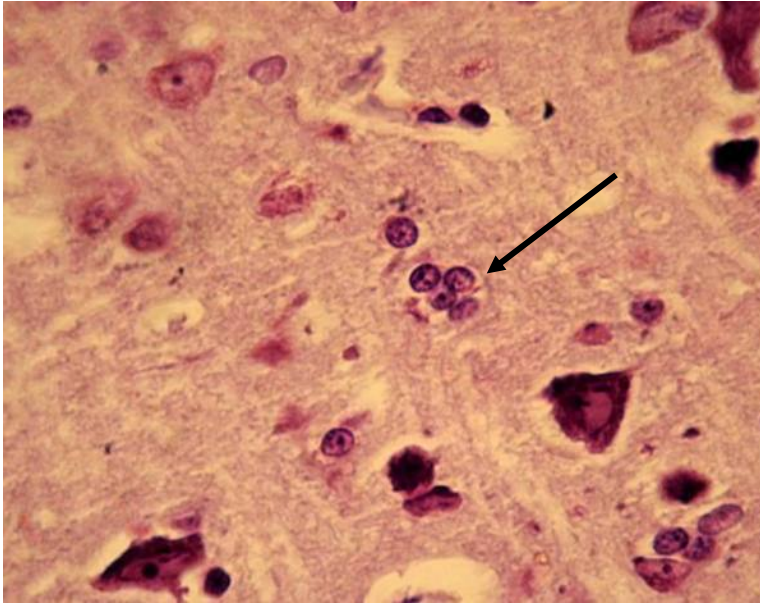


Рисунок 44. Глиоциты (стрелка) IV слоя первичной зрительной коры 18-мес. крысы. Окраска крезил фиолетовым по Нислю. Ув. 1100.

У 18-месячных интактных крыс выявлено достоверное увеличение численной плотности глии на 1 мм<sup>2</sup> среза во всех исследуемых слоях; до 120 (80-140) во II, до 160 (120-180) в IV и до 160 (120-200) в V, по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс во II слое – 40 (40-80), в IV – 80 (40-120), в V – 80 (40-120), ( $p \leq 0,05$ ). Среднее количество перинеурональной глии в группе интактных 18-мес. крыс на 100 нейронов не отличалось от показателей интактных 3-мес. крыс (таблица 13).

Таблица 13. Количество перинеурональной глии на 100 нейронов в IV слое первичной зрительной коры, M (Q1;Q3)

Показатель	3-мес. инт.	18-мес. инт.	18-мес. дист. вода	18-мес. п- тирозол	18-мес. свет	18-мес. свет, дист. вода	18-мес. свет, п- тирозол
Глиоциты	13 (7,5;13,2)	13 (9,5;13,5)	11 (9,5;13)	13 (10;14,5)	25» (22,5;28)	25 (22;28)	26,14 (23,9;29,7)

»- статистически значимые различия по сравнению с показателями интактных 18-мес. крыс по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

Изучение глионейронального индекса показало достоверные различия между показателями 3- и 18-мес. интактных крыс. Так, ГНИ у 18-мес. крыс увеличился в IV слое первичной зрительной коры до 1,5 (0,8;1,7) по сравнению с таковым у 3-мес. крыс – 0,7 (0,5;1), (рисунок 45), ( $p \leq 0,05$ ).

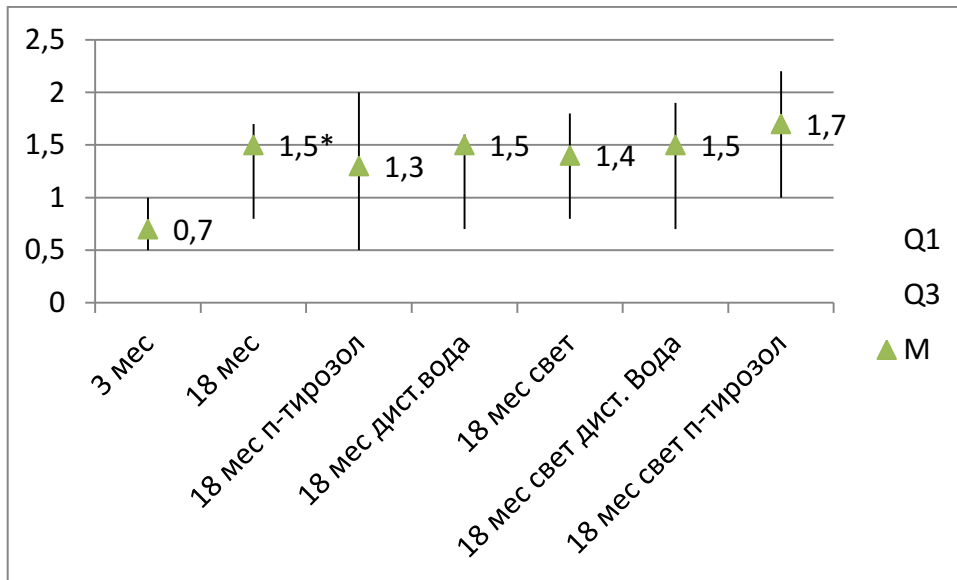


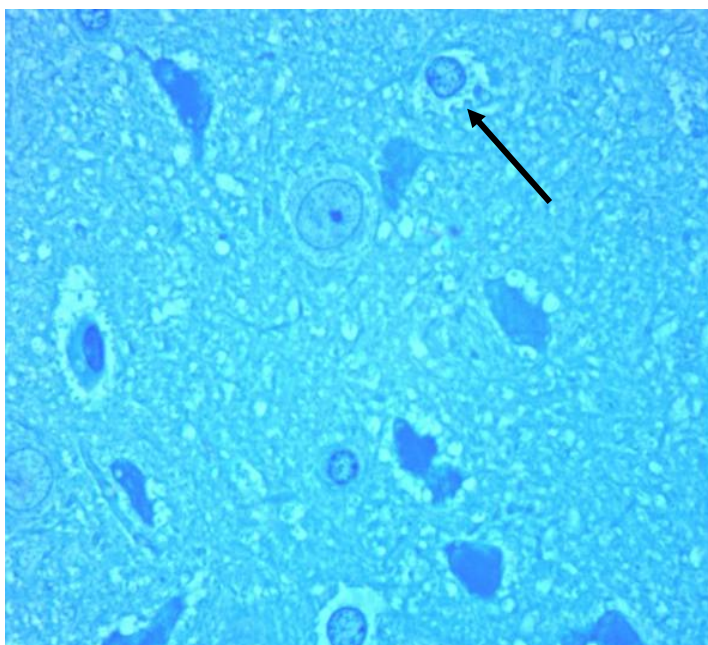
Рисунок 45. Глионейрональный индекс в IV слое первичной зрительной коры у 18-мес. животных. \* - статистически значимые различия по сравнению с показателями интактных 3-мес. крыс по критерию Манна-Уитни,  $p \leq 0,05$ .

При оценке влияния п-тирозола на глиальную популяцию 18-мес. крыс выявлено достоверное снижение процентного содержания гиперхромных сморщенных глиоцитов в IV слое в 2,5 раза, по сравнению с показателями 18-мес. крыс, что, вероятно, связано с их утилизацией либо большей сохранностью глиальной популяции (таблица 12), ( $p \leq 0,05$ ).

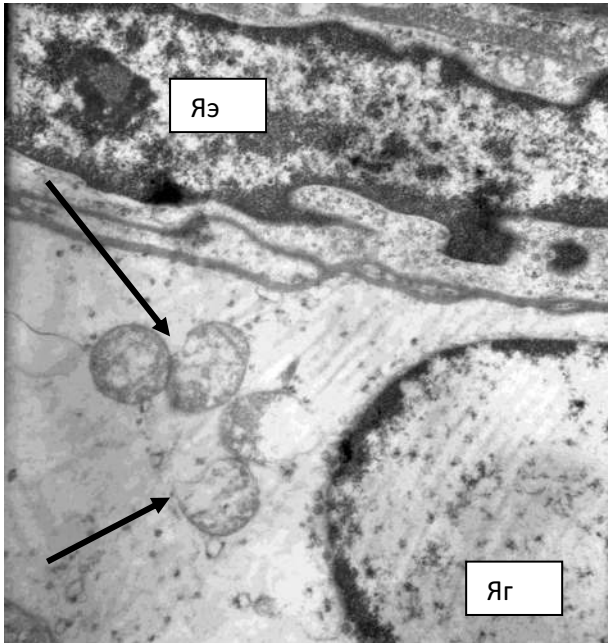
Таким образом, изменения глиоцитов у интактных 18-мес. крыс были более выражены в IV и V слоях и характеризовались увеличением гиперхромных сморщенных глиоцитов и общей численной плотности. п-Тирозол снижал процентное содержание гиперхромных глиоцитов со сморщиванием.

### 3.3.3. Морфологические изменения глии у 18-месячных крыс при высокоинтенсивном световом воздействии, их коррекция п-тирозолом

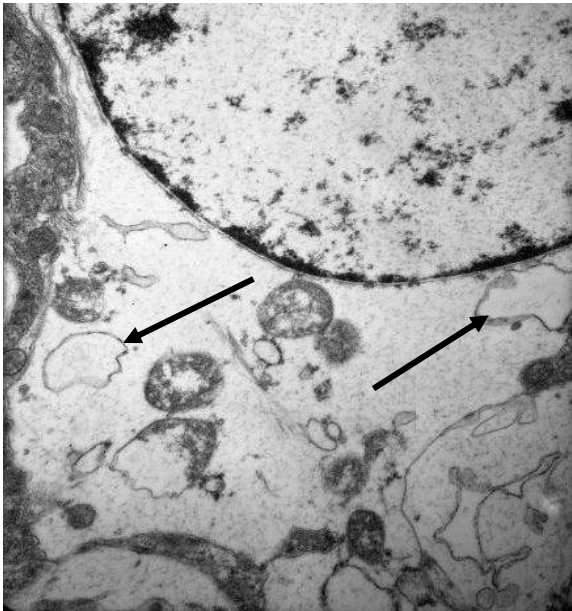
При световом воздействии у 18-мес. крыс наблюдалось появление светлых форм глии (46). Такие глиоциты встречались в непосредственной близости от измененных нейронов, на некотором отдалении от них и вблизи капилляров (рисунок 47). В цитоплазме светлых глиоцитов у 18-мес. крыс при световом воздействии обнаруживались деструкция крист митохондрий, набухание и деструкция цистерн гранулярной ЭПС. Деструкция органелл в цитоплазме глиоцитов 18-мес. крыс со световым воздействием была более выраженной по сравнению с 3-мес. животными, и, вероятно, свидетельствовала о более выраженных морфофункциональных изменениях в клетках (рисунок 48).



*Рисунок 46. Глиоцит, измененный по светлomu типу (стрелка), в V слое первичной зрительной коры 18-мес. крысы при световом воздействии. Полутонкий срез. Окраска азур II. Ув. 1000.*



*Рисунок 47. Глиоцит со светлым типом деструкции в IV слое первичной зрительной коры 18-мес. крысы при световом воздействии в контакте с гемокapилляром. Набухшие митохондрии с частичной деструкцией крист (стрелка), Яэ – ядро эндотелиоцита, Яг – ядро глиоцита. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 6000.*



*Рисунок 48. Светлый глиоцит в IV слое первичной зрительной коры 18-мес. крысы при световом воздействии, на фото деструкция органелл в цитоплазме (стрелка). Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 7000.*



При световом воздействии в IV слое наблюдались явления нейронофагии и внедрения глиоцитов в цитоплазму нейронов (рисунок 49.А). Внедрение сателлитных глиоцитов в цитоплазму может свидетельствовать о последующем восстановлении функциональной активности нервной клетки путем внутриклеточной регенерации. Встречались глиоциты расположенные парами или группами (49.Б,Г), что свидетельствовало о пролиферации и/или миграции глиоцитов. Рядом с морфологически измененными нейронами обнаруживали глиоциты с большим объемом светлой цитоплазмы (49.В).

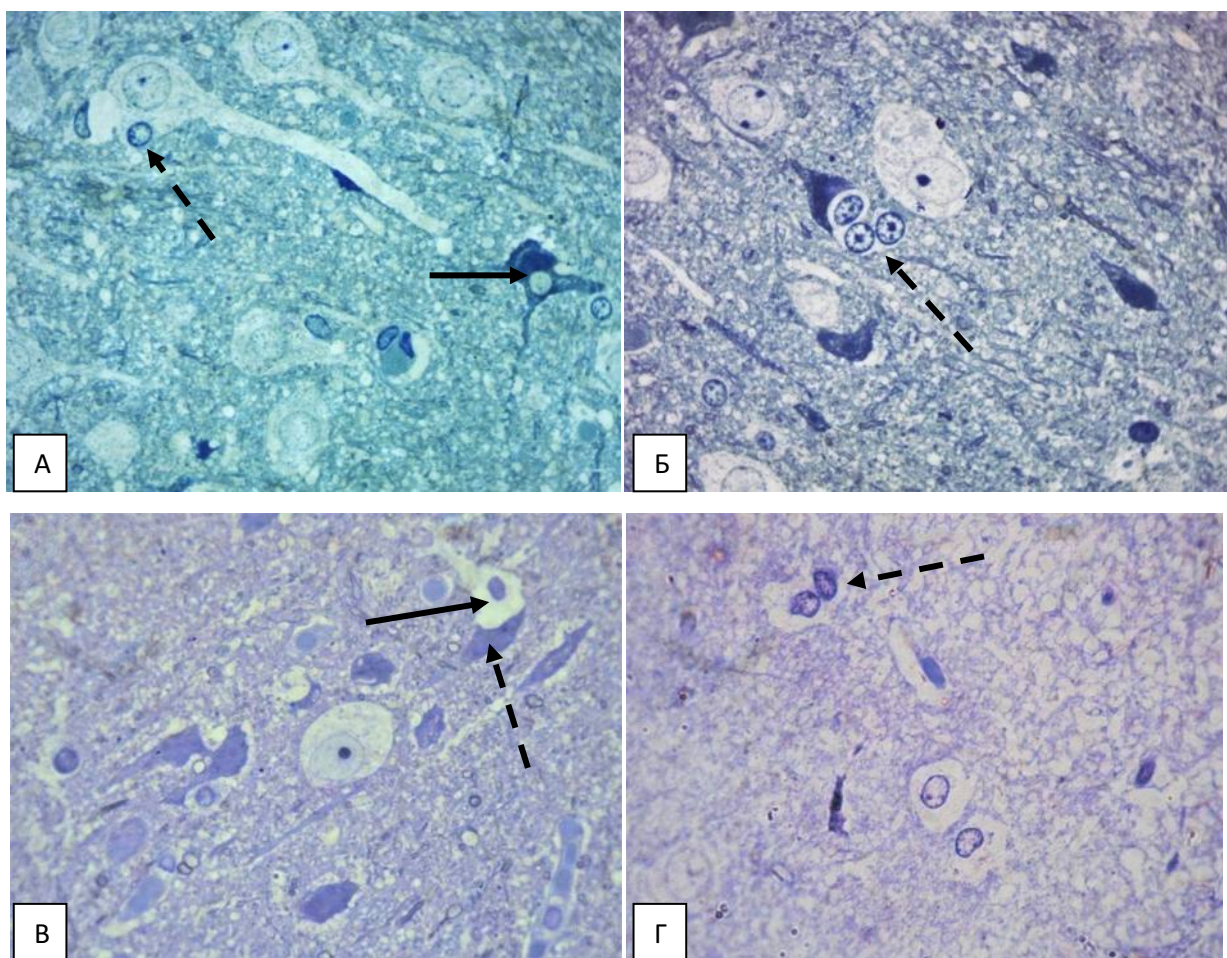
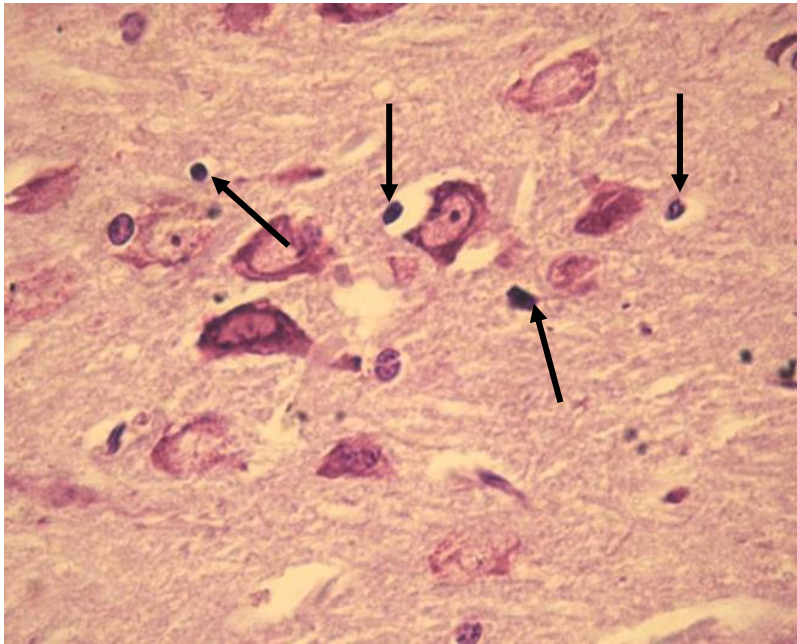


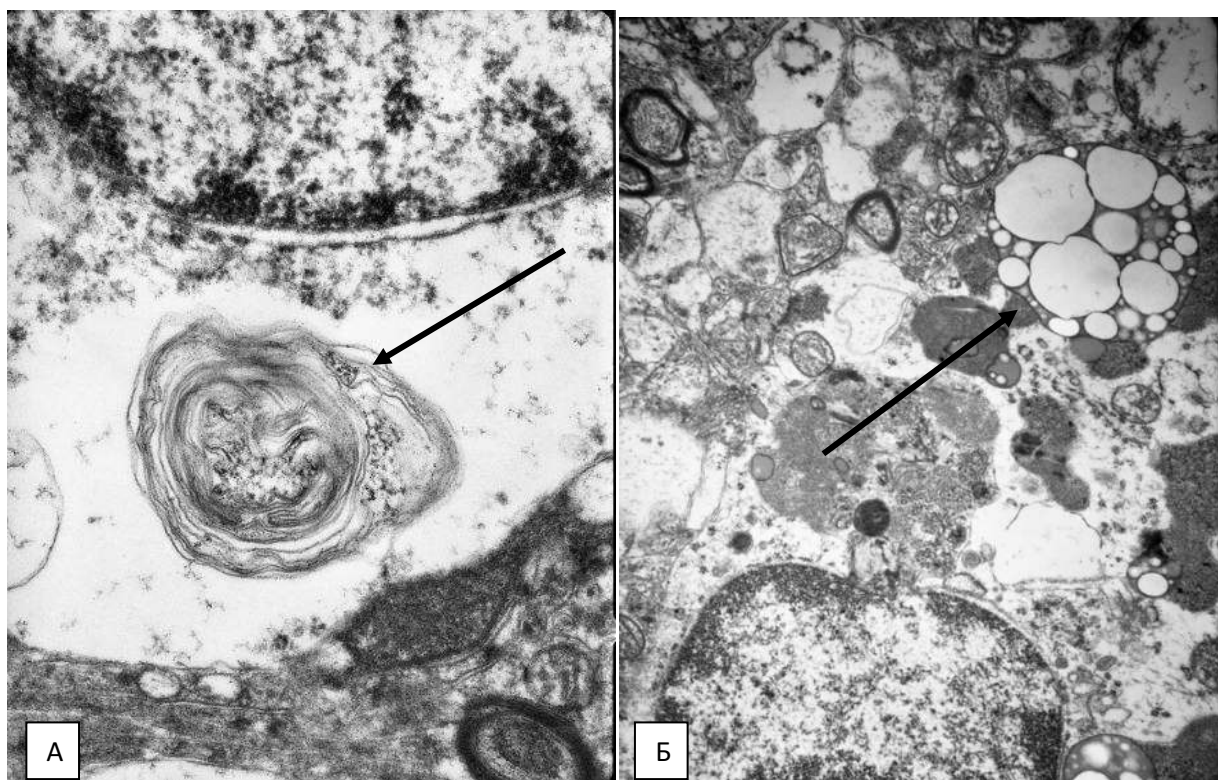
Рисунок 49. Глиальная реакция в IV слое первичной зрительной коры 18-мес. крыс в условиях светового воздействия. Полутонкие срезы, окраска азуром II. Ув. 1200. А – нейронофагия (сплошная стрелка), внедрение сателлитного олигодендроцита в нейрон (пунктирная стрелка); Б– группа глиоцитов (пунктирная стрелка); В – светлый глиоцит (сплошная стрелка) рядом с гиперхромным сморщенным нейроном (пунктирная стрелка); Г– глиоциты (пунктирная стрелка).

У 18-мес. крыс при световом воздействии также встречались гиперхромные глиоциты со сморщиванием, которые характеризовались уменьшением объемов цитоплазмы и ядра, а также равномерным, интенсивным окрашиванием клетки (рисунок 50).



*Рисунок 50. Гиперхромные сморщенные глиоциты (стрелка) в IV слое первичной зрительной коры 18-мес. крысы при световом воздействии. Окраска крезил фиолетовым по Нислю. Ув. 1100.*

В гиперхромных глиоцитах без сморщивания на ультраструктурном уровне нередко наблюдали скопление слоистых и мультивецикулярных телец, что связано разрушением мембранных органелл и нарушением их утилизации (рисунок 51).



*Рисунок 51. Глиоциты IV слоя первичной зрительной коры 18-мес. крысы при световом воздействии. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца, ув 6000. А – миелиноподобная структура (стрелка) в цитоплазме. Б – мультивезикулярное тельце (стрелка).*

Морфометрический анализ показал увеличение процентного содержания глиоцитов, измененных по светлому типу во всех исследуемых слоях у 18-мес. крыс при световом воздействии. Так, во II слое процентное содержание светлых форм глии увеличилось в 10 раз, в IV – в 6,7 раза и в V – в 3,3 раза по сравнению с показателями интактных 18-мес. крыс (таблица 12), ( $p \leq 0,05$ ). В IV слое 18-мес. крыс при световом воздействии выявлено значимое увеличение процентного содержания гиперхромных сморщенных глиоцитов в 1,6 раза по сравнению с показателями интактных 18-мес. крыс (таблица 11), ( $p \leq 0,05$ ). Численная плотность глии в группе со световым воздействием значимо не отличалась от показателей интактных 18-мес. крыс.

При коррекции п-тирозолом у 18-мес. крыс со световым воздействием выявлено достоверное снижение процентного содержания глиоцитов, измененных

по светлому типу в 4 раза во II слое, в 1,67 раза в IV и в 2 раза в V слое по сравнению с 18-мес. крысами со световым воздействием без коррекции (таблица 12), ( $p \leq 0,05$ ).

Таким образом, световое воздействие у 18-мес. крыс сопровождалось выраженным увеличением светлых форм глии во всех исследуемых слоях. Также в IV слое наблюдались деструктивные изменения в виде пикноза ядра и сморщивания клеток. IV слой оказался наиболее измененным при световом воздействии, что, вероятно, связано с окончанием здесь аксонов нейронов латеральных коленчатых тел. Применение п-тирозола приводило к подавлению избыточной глиальной активации, что выражалось в снижении процентного содержания глиоцитов, измененных по светлому типу.

### **3.4. Морфологические изменения микроциркуляторного русла и гематоэнцефалического барьера первичной зрительной коры**

#### **3.4.1. Структурные изменения сосудов в группе 3-месячных крыс при световом воздействии, их коррекция п-тирозолом**

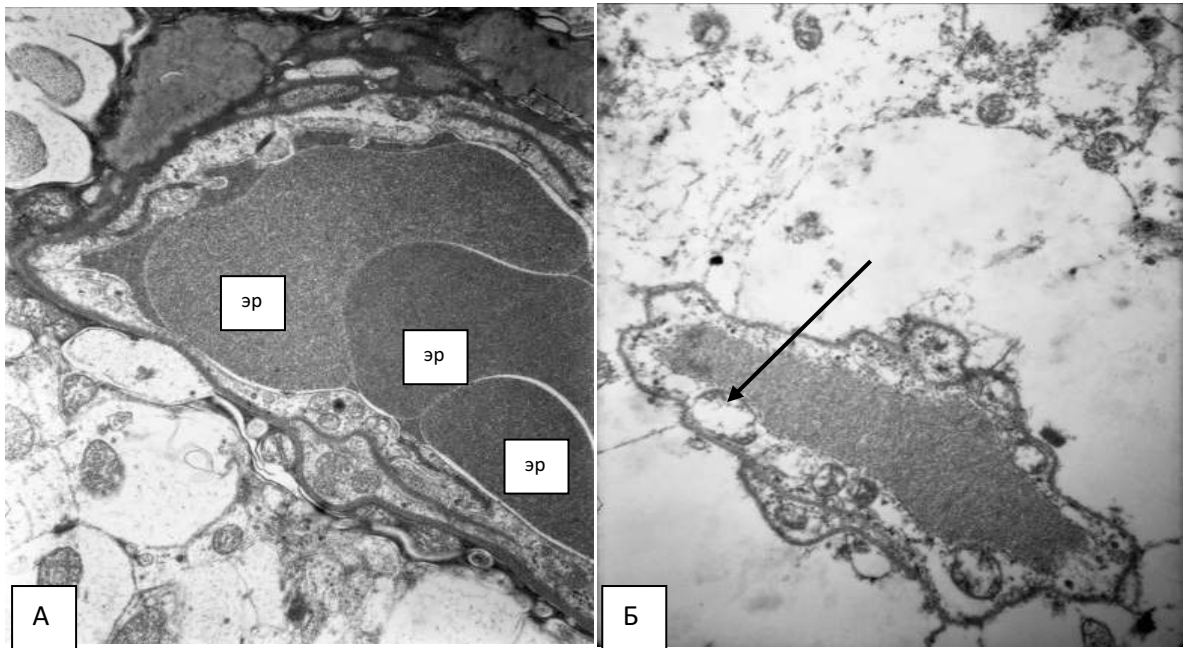
В группе интактных 3-мес. крыс не наблюдалось морфологических проявлений гемодинамических расстройств. Исследуемые показатели: удельная площадь капилляров, численная плотность капилляров, удельная площадь измененных и неизмененных сосудов у 3-мес. крыс, получавших п-тирозол, значимо не отличались от группы без коррекции и от показателей группы крыс, получавших эквивалентное количество дистиллированной воды (таблица 14).

При световом воздействии в просвете капилляров в первичной зрительной коре 3-мес. крыс встречались явления сладжа и стаза эритроцитов. При анализе ультраструктуры клеток, участвующих в формировании гематоэнцефалического барьера у 3-мес. крыс при световом воздействии обнаружено набухание митохондрий в цитоплазме эндотелиоцитов с частичной или полной деструкцией крист (рисунок 52). Как известно, набухание митохондрий является одним из важных проявлений приспособительной реакции клетки в условиях усиления ее функциональной активности, однако разрушение крист свидетельствует о дезадаптации и нарушении энергетического метаболизма клетки.

Таблица 14. Морфологические изменения сосудов у 3- и 18-месячных крыс в первичной зрительной коре, М (Q1;Q3)

Экспериментальные группы	Удельная площадь капилляров %	Численная плотность капилляров (на 0,06 мм <sup>2</sup> )	Удельная площадь неизмененных сосудов %	Удельная площадь измененных сосудов %
3-мес. инт.	1 (0,8;1,2)	29 (27;31)	1,6 (1,02;1,95)	0,2 (0;0,87)
3-мес. + п-тирозол	0,8 (0,7;1,6)	30 (28;34)	1,5 (1; 2)	0,14 (0;0,2)
3-мес. + дист. вода	0,8 (0,75;1,6)	29 (27;30)	1,4 (0,8; 1,6)	0,2 (0;0,2)
3-мес. свет	0,9 (0,75;0,9)	33* (29;35)	1,7 (1;2,16)	0,2 (0,17;0,3)
3-мес. свет + п-тирозол	4,8@ (3,6;4)	40@ (38;43)	1 (0,78;1,6)	0,1 (0,04;0,2)
3-мес. свет + дист. вода	0,7 (0,68;0,72)	32* (30; 34)	0,9 (0,75;1)	0,19 (0,09;0,2)
18-мес. инт.	0,9 (0,8;1,2)	30 (28;32,5)	1,14 (0,8;1,25)	0,2 (0;0,47)
18-мес. + п-тирозол	0,8 (0,7;0,8)	31 (29;33)	2,1 (1,8;2,9)	0,8 (0,1;0,3)
18-мес. + дист.вода	1,1 (0,8;1,5)	30 (28;35,5)	0,8 (0,75;0,92)	0,25 (0,2;0,5)
18-мес. свет	0,6» (0,5;0,7)	23» (20;26)	1,15 (0,9;1,3)	0,15 (0;0,2)
18-мес. свет + п-тирозол	0,8& (0,4;1)	27&» (26;29)	0,9 (0,8;1,17)	0,14 (0,03;0,39)
18-мес. свет + дист. вода	0,5 (0,4;0,7)	23» (20;27)	1,3 (1;1,5)	0,2 (0,1;0,34)

\* – статистически значимые различия по сравнению с показателями 3-мес. группы со световым воздействием по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .; » – с показателями интактных 18-мес. крыс; & – с показателями 18-мес. крыс со световым воздействием.

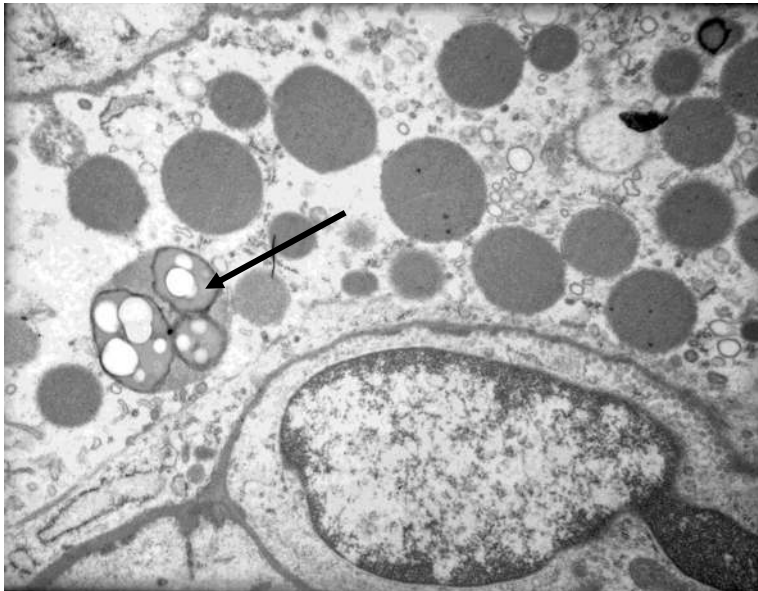


*Рисунок 52. Гемокапилляры первичной зрительной коры 3-мес. крыс при световом воздействии. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. А – сладж эритроцитов (эр). Ув. 5000. Б – Набухшие митохондрии с деструкцией крист в цитоплазме эндотелиоцита (стрелка). Ув. 4000.*

Другим важным клеточным компонентом гематоэнцефалического барьера являются перициты. На ультраструктурном уровне в цитоплазме перицитов 3-мес. крыс при световом воздействии, наблюдали реактивные изменения в виде набухания митохондрий и разрушения крист (рисунок 53). В отростках астроцитов, окружающих капилляры, обнаруживались осмиофильные включения и мультивезикулярные тельца, что свидетельствовало о деструкции органелл и их неполной утилизации (рисунок 54).



*Рисунок 53. Набухание митохондрии с деструкцией крист (стрелка) в цитоплазме перicyта 3-мес. крысы при световом воздействии. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца, ув. 5000.*



*Рисунок 54. Отростки астроцитов с осмиофильными гранулами и мультивезикулярным тельцем (стрелка) у 3-мес. крысы при световом воздействии. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 7000.*



Морфометрический анализ показал значимое увеличение численной плотности открытых капилляров у 3-мес. крыс со световым воздействием в 1,14 раз по сравнению с показателями интактных крыс того же возраста, что, вероятно, являлось адаптивной реакцией сосудов в ответ на высокоинтенсивное световое воздействие ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 14). Удельная площадь при этом достоверно не изменялась.

У 3-мес. крыс со световым воздействием и коррекцией п-тирозолом обнаружено значимое увеличение удельной площади капиллярного русла в 5,3 раза и численной плотности капилляров в 1,2 раза по сравнению с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием без коррекции ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 14). Данные изменения, вероятно, связаны с открытием ранее нефункционирующих капилляров и носят приспособительный характер ( $p \leq 0,05$ ).

Целесообразно исследовать микрососудистое русло во взаимоотношении с нейронами и глией как единую функциональную систему. Для этого изучали среднее количество глиоцитов и капилляров на 1 нейрон. Так, при коррекции п-тирозолом у 3-мес. крыс при световом воздействии повышалось количество глиоцитов на 1 нейрон до 1,29 (0,9;1,8), количество капилляров до 0,5 (0,4;0,88), что значимо отличалось от показателей группы 3-мес. крыс со световым воздействием без коррекции ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 15).

Таблица 15. Среднее количество глиоцитов и капилляров на 1 нейрон в IV слое первичной зрительной коры, M (Q1;Q3)

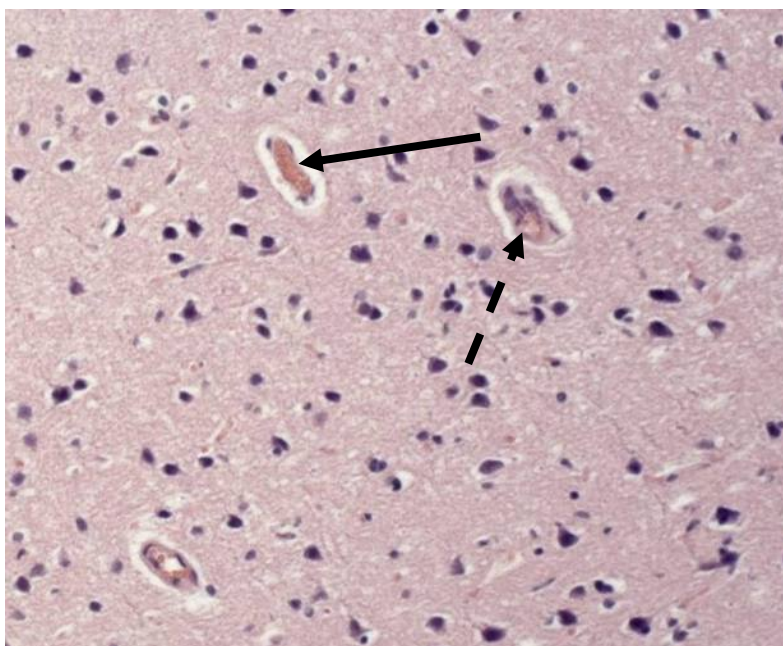
Экспериментальные группы	Количество глиоцитов на 1 нейрон	Количество капилляров на 1 нейрон
3-мес. инт.	0,85 (0,6;1,14)	0,29 (0,25;0,5)
3-мес. + п-тирозол	1 (0,8; 1,2)	0,3 (0,2;0,45)
3-мес. + дист. вода	0,78 (0,4; 1,3)	0,25 (0,2;0,5)
3-мес. свет	0,86 (0,7; 0,34)	0,29 (0,2;0,46)
3-мес. свет + п-тирозол	1,29 <sup>@</sup> (0,9;1,8)	0,5 <sup>@</sup> (0,4;0,88)
3-мес. свет + дист. вода	0,8 (0,75; 0,4)	0,25 (0,19;0,5)

<sup>@</sup> – статистически значимые различия по сравнению с показателями 3-мес. группы со световым воздействием по критерию Краскела-Уоллиса, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

Таким образом, у 3-мес. крыс в условиях светового воздействия обнаружены реактивные изменения структурных элементов гематоэнцефалического барьера в виде набухания митохондрий и цистерн ЭПС в цитоплазме эндотелиоцитов и перицитов, достоверно увеличивалась численная плотность капилляров, что, вероятно, связано с их открытием и переходом в активное функциональное состояние. п-Тирозол способствовал улучшению микроциркуляции при световом воздействии, что выражалось в увеличении удельной площади и численной плотности капилляров по сравнению с показателями 3-мес. крыс со световым воздействием без коррекции.

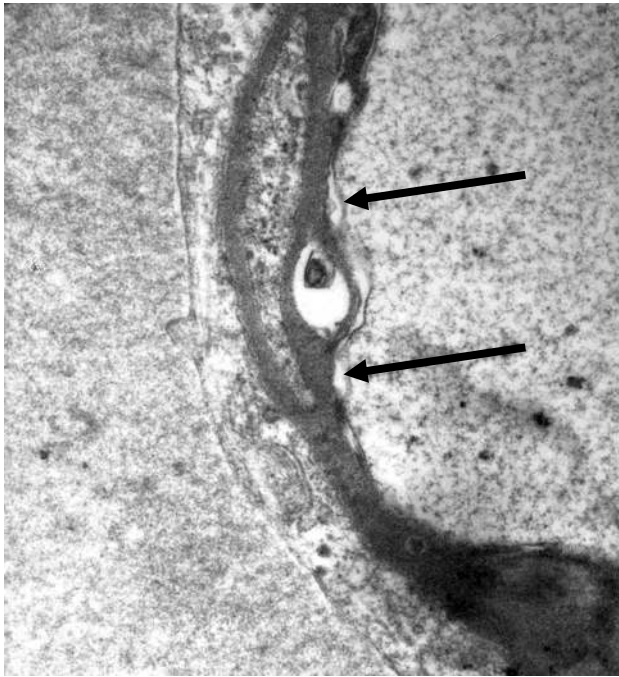
### 3.4.2. Морфологические изменения сосудов у 18-месячных крыс при высокоинтенсивном световом воздействии, их коррекция п-тирозолом

Морфологические изменения микроциркуляторного русла в группе 18-мес. крыс были более выраженными по сравнению с показателями 3-мес. животных. Стенки артериол в первичной зрительной коре 18-мес. крыс нередко были утолщены и извиты, вокруг венул часто наблюдался периваскулярный отек (рисунок 55).

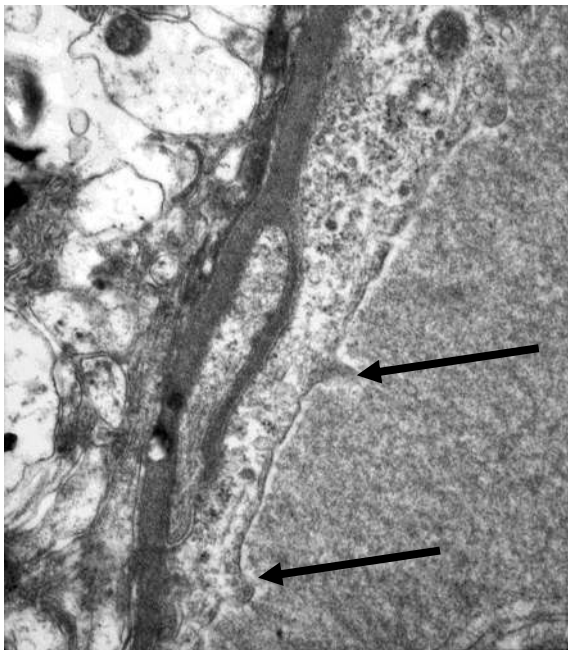


*Рисунок 55. Полнокровная венула (сплошная стрелка) с периваскулярным отеком, артериола (пунктирная стрелка) с утолщенными, извитыми стенками в первичной зрительной коре 18-мес. крысы. Окраска гематоксилин эозин. Ув. 400.*

На ультраструктурном уровне в части капилляров у интактных 18-мес. крыс наблюдалось очаговое расслоение базальной мембраны (рисунок 56). Среди структурных изменений элементов гематоэнцефалического барьера также обнаруживались микроворсинки на люминарной поверхности эндотелия капилляров, которые не встречались в группе 3-мес. крыс (рисунок 57).

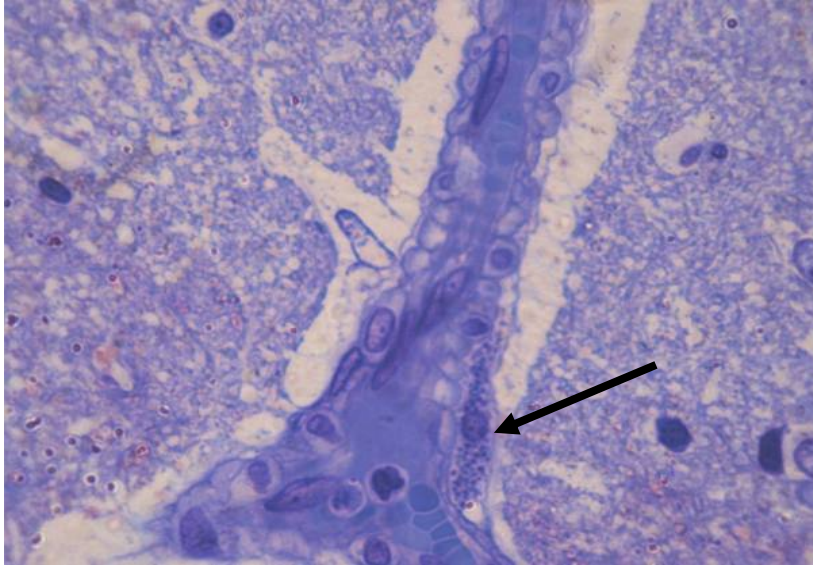


*Рисунок 56. Очаговое расслоение базальной мембраны (стрелки) капилляра первичной зрительной коры интактной 18-мес. крысы. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 6500.*

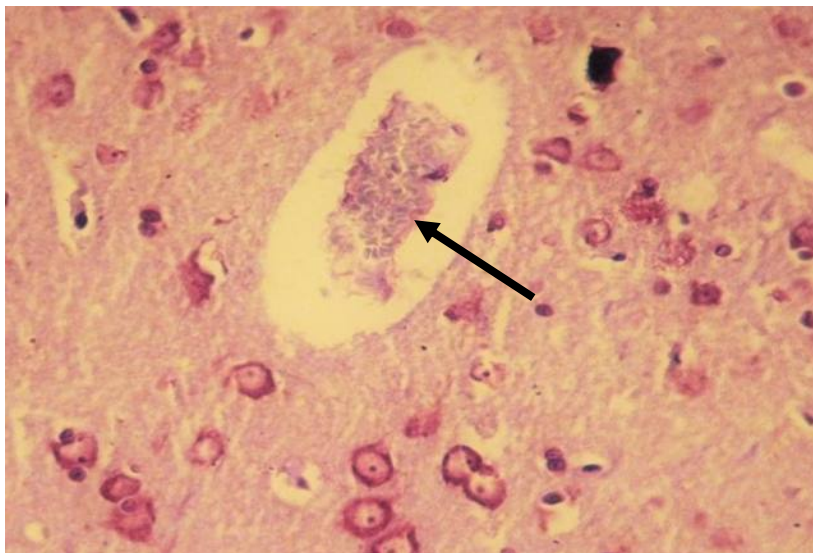


*Рисунок 57. Микроворсинки (стрелка) на люминарной поверхности эндотелия интактной 18-мес. крысы. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 7500*

При световом воздействии у 18-мес. крыс обнаружен периваскулярный отек венул, их полнокровие, явления сладжа и стаза форменных элементов в просвете (рисунок 58, 59).

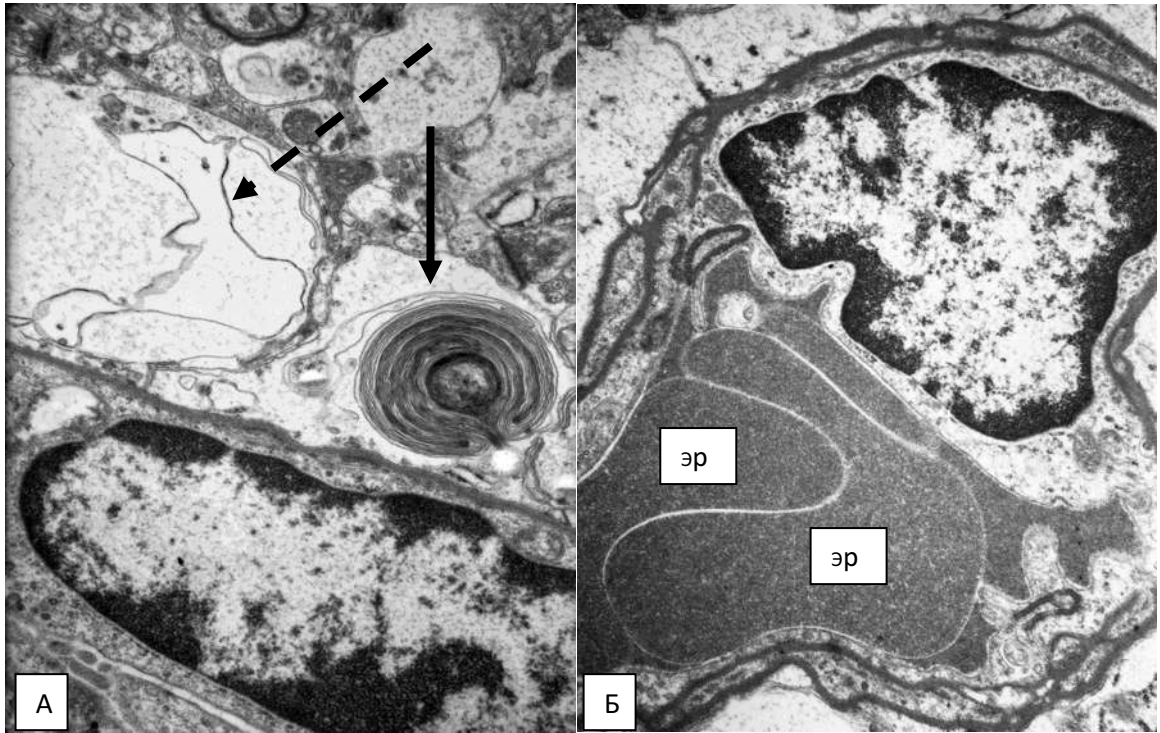


*Рисунок 52. Венола с периваскулярным отеком в первичной зрительной коре 18-мес. крысы при световом воздействии. Вдоль стенки тучная клетка (стрелка). Полутоновый срез. Окраска Азур II, Ув. 1000.*



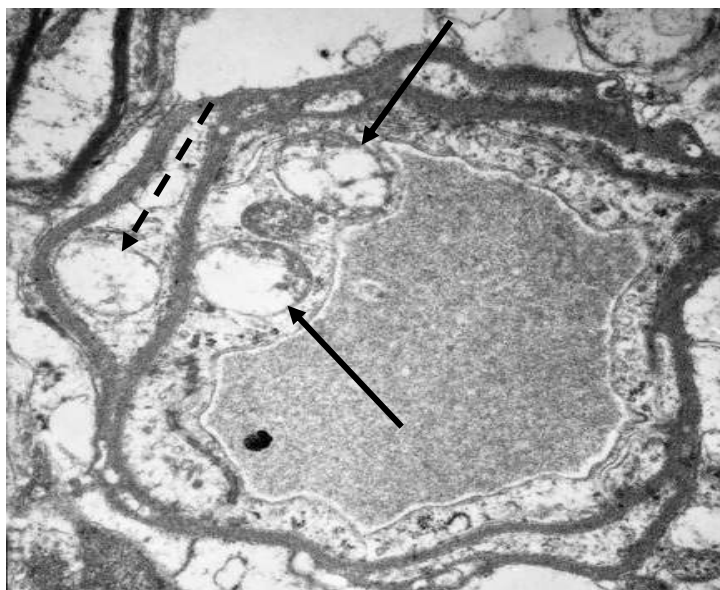
*Рисунок 53. Полнокровная венола (стрелка) с периваскулярным отеком в первичной зрительной коре 18-мес. крысы при световом воздействии. Окраска гематоксилин эозин, Ув. 1000.*

На ультраструктурном уровне у 18-мес. крыс при световом воздействии возле капилляров обнаруживались отростки астроглии с деградацией мембранных структур в виде миелиноподобных телец (рисунок 54).

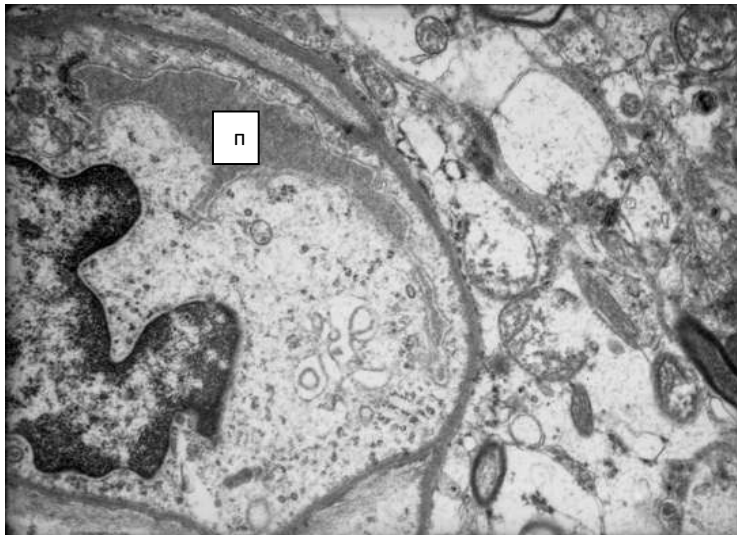


*Рисунок 54. Первичная зрительная кора 18-мес. крысы при высокоинтенсивном световом воздействии. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. А – многослойные мембранные структуры в отростках окружающих капилляр (сплошная стрелка) и разрушение органелл (пунктирная стрелка). Ув. 5000. Б – сладж эритроцитов в просвете капилляра (эр). Ув. 5000.*

В цитоплазме эндотелиоцитов и перицитов определялись набухшие митохондрии с деструкцией крист, что свидетельствует о дезадаптации и нарушении энергетического метаболизма клетки (рисунок 55). У 18-мес. крыс при световом воздействии нередко цитоплазма эндотелиоцитов выбухала в просвет сосуда, что, возможно, затрудняло микроциркуляцию (рисунок 56).



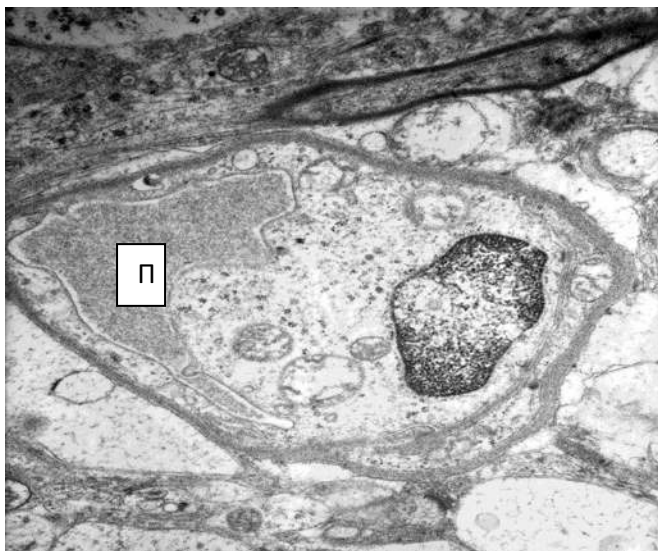
*Рисунок 55. Первичная зрительная область коры 18-мес. крысы с высокоинтенсивным световым воздействием. Набухшие митохондрии с детрукцией крист в цитоплазме эндотелиоцита (сплошная стрелка) и перицита (пунктирная стрелка). Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 5000.*



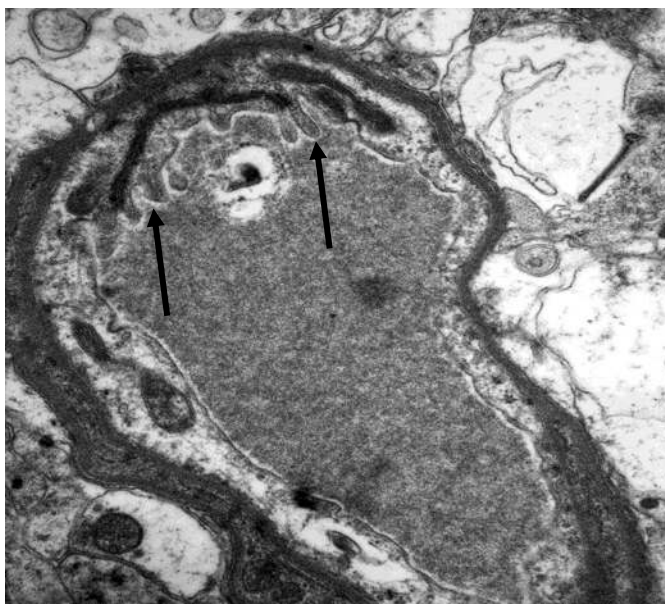
*Рисунок 56. Первичная зрительная кора 18-мес. крысы с высокоинтенсивным световым воздействием, П – просвет гемакапилляра. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 5000.*

При световом воздействии в группе 18-мес. крыс с коррекцией п-тирозолом также встречалось выбухание цитоплазмы в просвет капилляров (рисунок 57).

Люминарная поверхность некоторых капилляров у 18-мес. крыс со световым воздействием и коррекцией образовывала микроворсинки, которые увеличивали контактную поверхность эндотелиоцита (рисунок 58).



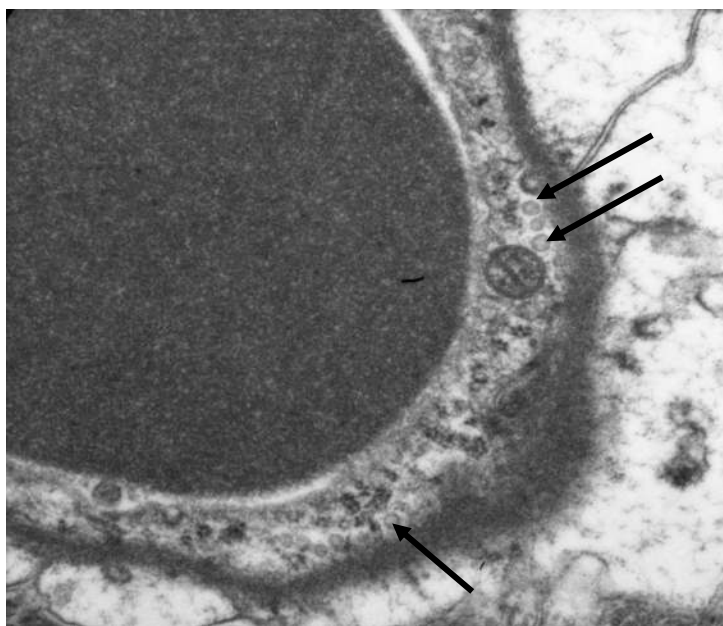
*Рисунок 57. Гемокапилляр в первичной зрительной коре 18-мес. крысы при световом воздействии и коррекции *n*-тирозолом, П– просвет гемокапилляра. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 5000.*



*Рисунок 58. Микроворсинки (стрелка) эндотелия гемокапилляра первичной зрительной коры 18-мес. крысы при высокоинтенсивным световым воздействием и коррекцией *n*-тирозолом. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 5000.*



Также, в группах 18-мес. крыс при световом воздействии с коррекцией п-тирозолом и без около клеточной мембраны наблюдалось большое количество пиноцитозных пузырьков, что нетипично для эндотелиоцитов коры головного мозга, и могло, свидетельствовать о дисфункции гематоэнцефалического барьера (рисунок 59).



*Рисунок 59. Скопление пиноцитозных пузырьков (стрелка) в эндотелии капилляра первичной зрительной коры 18-мес. крысы при высокоинтенсивном световом воздействии и коррекции п-тирозолом. Окраска контраст уранил ацетат и цитрат свинца. Ув. 10000.*

Морфометрический анализ показал значимое увеличение количества глиоцитов на 1 нейрон в 1,3 раза у 18-мес. крыс по сравнению с показателями 3-мес. животных ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 16). У 18-мес. крыс, получавших п-тирозол выявлено увеличение количества капилляров на 1 нейрон в 1,7 раза по сравнению с интактными 18-мес. крысами, что свидетельствует, вероятно, об открытии ранее нефункционирующих сосудов ( $p \leq 0,05$ ). Световое воздействие приводило к ухудшению микроциркуляции у 18-мес. крыс, что выражалось в снижении численной плотности капилляров в 1,3 раза и их удельной площади в 1,5 раза, что

могло быть связано с перикапиллярным отеком отростков астроцитов и сдавлением ими сосудов, а также со спазмом капилляров ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 16).

Таблица 16. Среднее количество глиоцитов и капилляров на 1 нейрон в первичной зрительной коре, М (Q1;Q3)

Экспериментальные группы	Количество глиоцитов на 1 нейрон	Количество капилляров на 1 нейрон
3-мес. инт.	0,85 (0,6;1,14)	0,29 (0,25;0,5)
18-мес. инт.	1,08* (0,78; 1,67)	0,3 (0,29;0,3)
18-мес. + п-тирозол	1,29 (0,9;1,83)	0,5» (0,4;0,88)
18-мес. + дист, вода	1 (0,68; 1,67)	0,33 (0,25;0,35)
18-мес. свет	1 (0,5;1)	0,3 (0,2;0,5)
18-мес. свет + п-тирозол	1,17 (1;1,3)	0,3 (0,29;0,33)
18-мес. свет + дист, вода	1,2 (0,9;1,5)	0,3 (0,2;0,5)

\* – статистически значимые различия по сравнению с показателями 3-мес. группы крыс по критерию Манна-Уитни, уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

» – с показателями интактных 18-мес. крыс.

При коррекции наблюдалось достоверное увеличение численной плотности капилляров в 1,2 раза, и удельной площади в 1,3 раза у 18-мес. крыс со световым воздействием по сравнению с показателями 18-мес. крыс со световым воздействием без коррекции, что, вероятно, свидетельствовало об улучшении кровоснабжения головного мозга ( $p \leq 0,05$ ), (таблица 16).

Таким образом, у 18-мес крыс обнаружена отличная от показателей 3-мес. крыс реакция капилляров на световое воздействие в виде снижения удельной площади и численной плотности капилляров. Изменения эндотелиоцитов и перицитов проявлялись набуханием и деструкцией крист митохондрий. Изменение люминарной поверхности эндотелия капилляров отражало дисфункцию гематоэнцефалического барьера, что приводило к нарушению

микроциркуляции. п-Тирозол способствовал улучшению гемодинамики у 18-мес. крыс как при световом воздействии, что выражалось в увеличении удельной площади и численной плотности капилляров.

#### **Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ**

При повреждении сетчатки и зрительного нерва наблюдаются структурные изменения нейронов латеральных коленчатых тел и первичной зрительной коры, проявляющиеся в виде запрограммированной гибели клеток на фоне повышения провоспалительных цитокинов и активации глии [Shou T.D. at al., 2006; Smith N. at al., 2018]. Таким образом, повреждения нервных клеток реализуются транссинаптически или транснейронально. Показано повреждение первичной зрительной коры при глаукоме и рассеянном склерозе [Lawlor M. at al., 2018; Tur C. at al., 2016; Puthenparampil M. at al., 2017; You Y. at al., 2015]. Имеются данные, что транснейрональная дегенерация лежит в основе развития и прогрессирования нейродегенеративных заболеваний головного мозга [Sanchez-Dalmau V.F. at al., 2020; Bergeron D. at al., 2016; Su J.H. at al., 1997].

В настоящем исследовании на модели светового повреждения сетчатки изучали морфологические изменения первичной зрительной коры во II, IV и V слоях у крыс разного возраста и в условиях коррекции п-тирозолом. Ранее эксперименты с использованием этой модели показали, что световое воздействие вызывает закономерные, зависящие от интенсивности, продолжительности воздействия и времени, изменения всех компонентов сетчатки и зрительного нерва [Варакута Е.Ю. и др., 2015; Логвинов С.В. и др., 2006; Жданкина А.А. и др., 2010; Варакута Е.Ю. и др., 2012]. Установлено, что световое воздействие интенсивностью 3500 лк в течение 48 часов приводит к очаговой демиелинизации

зрительного нерва [Потапов А.В., 2006], что наряду с гибелью ганглионарных нейронов сетчатки запускает повреждение центральных отделов зрительного анализатора.

Модель светового повреждения сетчатки является простой в воспроизведении и может использоваться для изучения процессов транснейрональной дегенерации головного мозга, а также поиска фармакологических и нефармакологических методов коррекции вторичных изменений нервных клеток коры. Подробный и методичный анализ ультраструктуры клеток наряду со световой микроскопией позволяет оценить функциональное состояние клеточной популяции [Zille M. et al., 2012].

При световом воздействии у 3- и 18-месячных крыс структурные изменения клеток первичной зрительной коры более выражены в IV слое, что, вероятно, связано с окончанием здесь афферентных импульсов с латеральных колленчатых тел [Paxinos G., Ashwell K.W.S., 2018]. В группах 3- и 18-месячных крыс выявлено достоверное увеличение процентного содержания нейронов с очаговым, тотальным хроматолизом, гиперхромных нейронов без сморщивания. Как известно, хроматолиз является неспецифической реакцией, которая встречается при дефиците ниацина (витамин В3) [Fu L. et al., 2014], нарушении целостности и перерезке аксона [Spejo A.V. et al., 2015], боковом амиотрофическом склерозе [Riancho J. et al., 2014]. Гипохромия нейронов первичной зрительной коры 3- и 18-месячных крыс по типу очагового хроматолиза отражает прижизненное состояние клеток и характеризуется усилением активности белоксинтетической системы, о чем свидетельствует преобладание эухроматина в ядре и смещение ядрышка на периферию ядра [Коломеец Н.С., Клещинов В.Н., 1990].

У 18-месячных крыс при световом воздействии повышалось процентное содержание гиперхромных нейронов со сморщиванием и без. Гиперхромные нейроны без сморщивания характеризовались темными ядрами и преобладанием гетерохроматина в ядре. Такие нейроны, вероятно, могли переходить в сморщенное состояние, крайнюю степень гиперхромии. Вокруг гиперхромных

сморщенных нейронов наблюдалась глиальная реакция, часто встречались глиоциты с пикнозом ядра.

Существует гипотеза, что гиперхромные сморщенные нейроны являются артефактом, получившимся при фиксации или механическом повреждении нервной ткани [Cammermeyer J. at al., 1961; Jortner B.S. at al., 2006]. Наиболее распространенная точка зрения гласит, что темные нейроны оказываются в сжатом состоянии в ответ на механическую травму при заборе материала, что, вероятно, может быть результатом сокращения цитоскелетных белков – актинов [Garman R.H. at al., 2011]. В 1963 году было выдвинуто предположение, что в основе сморщивания может лежать утечка из цитоплазмы нейронов калия и сморщивание нейрона может развиваться как прижизненно, так и посмертно. В 2008 году ученые обнаружили, что образование тёмных нейронов может быть предотвращено (в биопсиях коры головного мозга) путем блокирования глутаматных рецепторов, активация которых приводит к выходу калия из клетки [Kherani Z.S. at al., 2008]. Однако, такие нейроны можно идентифицировать по их мономорфности, отсутствию переходных форм и глиальной реакции [Garman R.H. at al., 2011]. В первичной зрительной коре 3- и 18-месячных крыс при световом воздействии встречались гиперхромные нейроны на разной стадии деградации цитоплазмы и ядра, вокруг таких нейронов наблюдалась глиальная реакция, что свидетельствовало о прижизненности данных изменений.

п-Тирозол, являющийся активным компонентом лекарственного растения родиолы розовой, снижал процентное содержание нейронов с очаговым и тотальным хроматолизом в IV слое у 3-месячных животных со световым воздействием, а также достоверно уменьшал процентное содержание нейронов с тотальным хроматолизом у 18-месячных крыс в тех же условиях. Ранее п-тирозол показал нейропротективный эффект на модели ишемии-реперфузии головного мозга у крыс [Bu Y. at al., 2007; De La Cruz J.P. at al., 2015; Осипенко А.Н. и др., 2017; Atochin D.N. at al., 2016]. Защитные свойства п-тирозола наблюдались на фоне довольно слабой антиоксидантной активности и, вероятно, обусловлены

каким-то другим механизмом, например, гемореологическим, противовоспалительным и др. [Plotnikov M.V. at al., 2020]. При исследовании клеточных популяций костного мозга, печени, почек и прямой кишки обнаружили способность п-тирозола снижать спонтанные повреждения ДНК клеток [Borovskaya T.G. at al., 2020].

Известно, что мозг особенно уязвим для окислительного стресса и повреждений из-за высокого потребления кислорода, низкой антиоксидантной защиты и высокого содержания полиненасыщенных жиров [Cenini G. at al., 2019]. Окислительный стресс – один из наиболее значимых механизмов повреждения нервной ткани, который запускает патологические реакции, необратимо повреждающие клетку и приводящие к запуску генетически запрограммированной гибели нейронов. Клеточная энергия в основном производится посредством окислительного фосфорилирования в митохондриях, которые являются важнейшими органеллами для многочисленных клеточных процессов, таких как энергетический обмен, гомеостаз кальция, биосинтез липидов и апоптоз [Smith E.F. at al., 2019]. При световом воздействии у 18-месячных крыс выявлено снижение удельной площади митохондрий по сравнению с показателями интактных 18-месячных крыс. Известно, что при старении головного мозга развивается митохондриальная дисфункция [Lopez-Otin C. at al., 2013]. С возрастом изменяется мембранная проницаемость митохондрий, снижается потенциал и выработка молекул АТФ [Sastre J. at al., 1996; Greco M. at al., 2003]. Вероятно, снижение удельной площади митохондрий у 18-месячных крыс со световым воздействием и ее отсутствие у 3-месячных животных связаны с исходной митохондриальной дисфункцией при старении. У 3-месячных крыс в условиях высокоинтенсивного светового воздействия митохондрии набухали, в них также наблюдались процессы разрушения крист, но удельная площадь при этом не снижалась.

При световом воздействии у 3-месячных крыс наблюдалась деструкция гранулярной ЭПС, что приводило к увеличению нейронов с очаговым

хроматолизом на светооптическом уровне. При коррекции п-тирозолом выявлено увеличение удельной площади митохондрий у 3-месячных крыс. Обнаружено увеличение удельной площади гранулярной ЭПС у 3- и 18-месячных крыс при световом воздействии, что свидетельствовало о защитном эффекте п-тирозола.

Синаптическая пластичность является составляющей нейропластичности и рассматривается как свойство синапсов реагировать на физиологические и патологические воздействия [Семченко В.В. и др., 2014]. Первоначальная реакция синапсов на любое экстремальное воздействие неспецифична и проявляется в виде набухания отростков, дезагрегации синаптических везикул, отека митохондрий, изменения контактов по светлому типу деструкции [Пашенко П.С. и др., 2015; Логвинов С.В. и др., 2008; Semchenko V.V. at al., 2006]. После высокоинтенсивного светового воздействия часть синапсов изменялась по светлому типу у 3- и 18-месячных крыс. У 18-месячных крыс при световом воздействии степень дегенеративных изменений синапсов была более выраженной, чаще встречались контакты, измененные по темному типу, что свидетельствовало о деафферентации, повреждении пресинаптического нейрона [Семченко В.В. и др., 2014]. Похожие изменения синаптических терминалей по темному типу уже описаны – в гиппокампе при моделировании эпилептического статуса [Zhvania M.G. at al., 2015] и отеке при травме головного мозга [Castejon O.J. at al., 2018]. Выраженная деструкция синапсов является своеобразной защитной реакцией, обеспечивающей в некоторой степени сохранность нейронов и их способность к структурно-функциональному обновлению [Боголепов Н.Н., 1979].

Количественное исследование активных зон синапсов с помощью контрастирования фосфорновольфрамовой кислотой (ФВК) после высокоинтенсивного светового воздействия у 3- и 18-месячных крыс показало достоверное снижение численной плотности зрелых, ассиметричных, положительно искривленных контактов. Ассиметричные синапсы представляли активные аксо-дендритические контакты, в их числе и наиболее пластичные аксо-



шипиковые [Holtmaat A. at al., 2006]. Шипики— это небольшие тонкие специализированные выпячивания, которые образуют возбуждающие синапсы. В условиях изменения внешней среды их количество и форма претерпевают радикальные перестройки. Структурные изменения шипиков непосредственно влияют на межнейрональную коммуникацию, которая имеет решающее значение для работы мозга – обработки и хранения информации [Raven F. at al., 2018]. Снижение плотности аксо-дендритических синапсов показано в экспериментах с воздействием протонной радиации интенсивностью 0,1 и 1 Гр в гиппокампе и зубчатой извилине [Parihar V.K. at al., 2015].

Разрушение существующих синаптических контактов является мощным стимулом для синаптогенеза и образования новых связей между нейронами [Sailor K.A. at al., 2017]. Реорганизация синаптической популяции возможна путем восстановления структуры и функции отдельных контактов, их новообразованием, а также усложнением организации [Семченко В.В., 2014]. В группах с коррекцией после высокоинтенсивного воздействия увеличивается численная плотность синапсов с короткой длиной АЗК 100-200 и 200-300 нм за счет образования новых межнейрональных контактов, что, вероятно, являлось компенсаторно-приспособительной реакцией в ответ на повреждение. При коррекции у 3-месячных крыс со световым воздействием достоверно увеличивалась численная плотность незрелых, симметричных синапсов. При коррекции п-тирозолом в группе 3-месячных крыс при световом воздействии выявлено достоверное увеличение длины ассиметричных положительно изогнутых контактов до 272 (220,1;385) нм по сравнению с показателями 3-месячных крыс со световым воздействием без коррекции 200,6 (169,1;245,5), что свидетельствует, вероятно, об их повышенной активности.

У крыс со световым воздействием и коррекцией п-тирозолом также обнаружено увеличение численной плотности гипертрофированных синапсов с длиной более 700 нм по сравнению с показателями крыс со световым воздействием, что свидетельствует об усложнении синаптической организации в

первичной зрительной коре. Изменение синаптической организации головного мозга при его повреждении является субстратом для последующего восстановления функций [Семченко В.В. и др., 2016]. Применение п-тирозола при световом воздействии у 18-месячных крыс повышало численную плотность ассиметричных плоских синапсов в 2 раза по сравнению с показателями 18-месячных крыс со световым воздействием без коррекции, что, вероятно, связано с созреванием контактов. Анализ активной зоны контакта показал увеличение численной плотности синапсов с короткой длиной АЗК 100-200 нм и 200-300 нм при коррекции по сравнению с показателями 18-месячных крыс со световым воздействием без коррекции, что, вероятно, свидетельствовало об активации неосинаптогенеза. Таким образом, п-тирозол способствовал сохранению синаптического пула у 3- и 18-месячных крыс при световом воздействии, что выражалось в увеличении численной плотности плоских ассиметричных синапсов и численной плотности мелких синапсов длиной 100-200 и 200-300 нм, что вероятно, связано с активацией неосинаптогенеза.

Важную роль в сохранении синаптического пула играли глиоциты, дисфункция которых могла усугублять повреждение нейронов и межнейрональных контактов [Balez R. et al., 2016]. При световом воздействии вокруг поврежденных нейронов имела место глиальная реакция в виде пролиферации сателлитной глии, нейронофагии, а также внедрения глиоцитов в цитоплазму нейронов. Считается, что проникновение глиоцитов в цитоплазму нейронов – это проявление внутриклеточной регенерации. Ядро такого глиоцита подвергается нейрон-специфическому репрограммированию, ускоряются процессы транскрипции и начинается синтез нейрон-специфических белков, в итоге повышается репаративная функция клетки, и она может вернуться в нормальное функциональное состояние [Кубатиев А.А., 2012; Пальцын А.А., 2008].

В группе интактных 18-месячных крыс выявлено достоверное увеличение глионейронального индекса (ГНИ) по сравнению с показателем 3-месячных крыс, что свидетельствовало, вероятно, о глиальной пролиферации и/или миграции глии

к нейронам. Также ГНИ увеличивался у 3-месячных крыс, получавших п-тирозол и находящихся в стандартных условиях вивария, по сравнению с показателями интактных 3-месячных животных. В этих же группах выявлено увеличение количества перинейрональной глиии на 100 нейронов. Считается, что сателлитные глиоциты поддерживают энергетический метаболизм нейронов [Barros L.F. at al., 2018; Saab A.S. at al., 2016]. Изменение числа глиоцитов и ГНИ отражается на тонких процессах метаболического обеспечения нейронов и пластичности нервной системы в целом [Fields R.D. at al., 2015]. Наиболее выраженные изменения глиии наблюдались в IV слое у 18-месячных крыс при световом воздействии.

В нашем исследовании при световом воздействии у крыс 3- и 18-месячного возраста выявлено увеличение процентного содержания светлых форм глиии, имеющих большой объем цитоплазмы и светлые ядра. На ультраструктурном уровне в цитоплазме таких глиоцитов обнаруживались набухшие митохондрии с разрушенными кристами, расширенными цистернами ЭПС. В ядре преобладал эухроматин, ядрышки концентрировались преимущественно на периферии ядра. По ультраструктуре данные клетки, вероятно, соответствовали астроглиии, являющейся наиболее распространенной глиией в коре больших полушарий. Набухание астроглиии встречается в ряде физиологических [Kofuji P. at al., 2004; Bellot-Saez A. at al., 2017] и патологических состояний [Sobaniec-Lotowska M.E. at al., 2003; Mongin A.A. at al., 2016].

Астроциты являются важным компонентом гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), поглощают избыток глутамата, участвуют в рециркуляции гамма-аминомасляной кислоты, поддерживают ионное постоянство внеклеточной среды, оказывают мощную метаболическую поддержку нейронов [Zuchero J.V. at al., 2015; Bonsack B. at al., 2019; Quillinan N. at al., 2016]. В группах крыс со световым воздействием процентное содержание глиоцитов измененных по светлому типу значительно увеличивалось, по сравнению с показателями крыс, находившихся в стандартных условиях вивария. При этом у 18-месячных животных процентное

содержание светлых глиоцитов было в 2 раза выше по сравнению с аналогичными показателями 3-месячных крыс, что свидетельствовало об их чрезмерной активации. Ультраструктурный анализ показал выраженную деструкцию органелл в цитоплазме таких глиоцитов в группе 18-месячных животных при световом воздействии. Значительное повреждение ультраструктуры астроцитов у 18-месячных крыс, наблюдаемое в настоящей модели, указывает на возможную потерю их защитных свойств.

Общепризнано, что важную роль во вторичном повреждении структур головного мозга, помимо окислительного стресса, играет воспаление [David S. at al., 2011]. Старение также характеризуется сдвигом в профилях экспрессии цитокинов, с увеличением провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) и IL-6, и снижением противовоспалительных, таких как IL-10 и 4 [Norden D.M. at al., 2013]. Факторы, способствующие усилению исходной активации воспалительных процессов в головном мозге, включают активные формы кислорода, высвобождаемые при повреждении мембранных структур из поврежденных или умирающих клеток [Fulop G.A. at al., 2018; Wilhelm I. at al., 2017; Perry V.H. at al., 2013]. В нашем исследовании показано, что световое воздействие у 18-месячных крыс вызывало более выраженные, деструктивные изменения клеток первичной зрительной коры по сравнению с показателями 3-месячных животных. Таким образом, можно предполагать о наличии связи в патофизиологических процессах, как старение и транснейрональная дегенерация.

При световом воздействии в просвете капилляров 3- и 18-месячных крыс встречались явления сладжа и стаза эритроцитов, вокруг гемокапилляров обнаруживались отечные отростки астроцитов. На ультраструктурном уровне в цитоплазме эндотелиоцитов и перицитов встречались набухшие митохондрии с частичной или полной деструкцией крист. Нередко цитоплазма эндотелиоцитов выбухала в просвет сосуда, сужая его. Морфометрический анализ показал увеличение численной плотности капилляров у 3-месячных крыс со световым

воздействием по сравнению с показателями интактных 3-месячных крыс, что, вероятно, связано с их открытием, переходом в функционально активное состояние.

Коррекция на фоне светового воздействия также улучшала состояние микровазуляризации первичной зрительной коры молодых крыс за счет увеличения численной плотности и удельной площади капилляров. Похожие результаты обнаружены в экспериментах на спонтанно гипертензивных крысах, где п-тирозол также показал достоверное увеличение численной плотности капилляров [Plotnikov M.V. at al., 2018]. При световом воздействии у 18-месячных крыс гемодинамические изменения были более выражены и, наряду с явлением сладжа и стаза форменных элементов в капиллярах, характеризовались появлением периваскулярного отека венул, стазом форменных элементов в их просвете. Морфометрический анализ показал снижение удельной и численной площади капилляров, что отражало, скорее, неадекватный ответ сосудистого русла, связанный с перикапиллярным отеком отростков астроцитов и/или механической компрессией сосудов извне, а также со спазмом капилляров. В экспериментах показано, что на фоне старения снижалась способность сосудов головного мозга адекватно реагировать на изменение метаболической потребности нейронов, что в итоге приводило к гипоксии [Riddle D.R. at al., 2003]. При коррекции у 18-месячных крыс со световым воздействием выявлено достоверное увеличение численной плотности капилляров по сравнению с 18-месячными крысами без коррекции что, вероятно, улучшало микроциркуляцию.

Важную роль в поддержании гомеостаза межклеточной среды играет гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). В нашем исследовании обнаружены изменения ультраструктуры эндотелиоцитов и перицитов в группе интактных 18-месячных крыс и в группах 3- и 18-месячных крыс при световом воздействии. Уникальные особенности эндотелиальных клеток капилляров головного мозга обеспечивают избирательную проницаемость ГЭБ за счет специализированных плотных контактов, которые предотвращают параклеточное проникновение

водорастворимых молекул из кровеносной системы в паренхиму головного мозга. Современные исследования демонстрируют ключевую роль низкого уровня трансклеточного транспорта (транцитоза) для поддержания постоянства межклеточной среды головного мозга [Armulik A. at al., 2010; Knowland D. at al., 2014; Ben-Zvi A. at al., 2014]. При световом воздействии в обеих возрастных группах пиноцитозные пузырьки в цитоплазме эндотелиоцитов встречались довольно часто. В экспериментах показано, что транцитоз активируется при травмах мозга и мигрени [Lossinsky A.S. at al., 2004; Sadeghian H. at al., 2018].

На основании вышеизложенных данных, нам представляется следующая схема патоморфогенеза первичной зрительной коры в ответ на фотоповреждение сетчатки. Согласно литературным данным, световое воздействие вызывало тотальную гибель нейросенсорных клеток и очаговую – ганглионарных нейронов сетчатки (рисунок 1) [Варакута Е.Ю. и др., 2015; Жданкина А.А. и др., 2010; Логвинов С.В. и др., 2006]. Последнее событие вместе с демиелинизацией зрительного нерва прерывало поток афферентных импульсов в подкорковые и корковые зрительные центры, что запускало механизм трансинаптической нейродегенерации [You Y. at al., 2019]. Логично предположить, что первые изменения возникали в межнейрональных контактах. На 8 сутки после светового воздействия наблюдались деструктивные изменения, что выражалось в снижении численной плотности активных ассиметричных синапсов. Вместе с этим мы наблюдали повышение численной плотности мелких симметричных контактов, что свидетельствовало об активации неосинаптогенеза. По нашим данным, более выраженные изменения наблюдались в IV слое первичной зрительной коры 18-месячных крыс, что наводило на мысль о наличии общих патофизиологических механизмов возрастных изменений и транснейрональной дегенерации. Предположительно, это развитие окислительного стресса и увеличение уровня провоспалительных цитокинов, что, вероятно, усугубляло дисфункцию гематоэнцефалического барьера. В нашем исследовании показано, что световое воздействие в течение 7 суток вызывает необратимые повреждения части

нейронов и межнейрональных контактов. Реактивные и деструктивные изменения глии, вероятно, происходили одновременно с изменением межнейрональных контактов, так как глия относится к высокомобильной клеточной популяции. Известно, что глия и нейроны составляли единую функциональную единицу и изменение одного звена этой системы приводит к трансформации второго. п-Тирозол достоверно снижал деструкцию нейронов, положительно влияя на состояние микроциркуляции в первичной зрительной коре головного мозга 3- и 18-месячных крыс благодаря сочетанию антиоксидантных, гемореологических и противовоспалительных свойств.



*Рисунок 1. Схема патоморфогенеза первичной зрительной коры при фотоповреждении сетчатки.*

## Выводы

1. Возрастные изменения клеточной популяции первичной зрительной коры характеризовались гиперхромией со сморщиванием части клеток, увеличением глионейронального индекса за счет пролиферации и/или миграции глиоцитов, ультраструктурными изменениями элементов гематоэнцефалического барьера. п-Тирозол снижал содержание деструктивных форм нейронов и глиоцитов.

2. При световом воздействии в первичной зрительной коре наблюдалось увеличение процентного содержания деструктивных форм нейронов, наиболее измененным оказался IV слой у 18-месячных крыс. п-Тирозол улучшал морфофункциональное состояние нейронов за счет увеличения удельной площади митохондрий и гранулярной эндоплазматической сети, что сопровождалось снижением деструкции нервных клеток.

3. Изменения синаптического пула при световом воздействии были более выражены у 18-месячных крыс и характеризовались снижением численной плотности функционально активных, асимметричных контактов. Деструкция синапсов сопровождалась активацией неосинаптогенеза у 3-месячных крыс и частично компенсировалась гипертрофией сохранившихся контактов у 18-месячных животных. п-Тирозол способствовал поддержанию синаптического пула за счет активации неосинаптогенеза.

4. При световом воздействии изменения глиии носили как реактивный, так и деструктивный характер. Реактивный выражался в увеличении процентного содержания светлых форм глиии, деструктивный – гиперхромией и сморщиванием клеток. п-Тирозол стимулировал прогрессивно-пролиферативные изменения глиии за счет увеличения миграции и/или пролиферации у 3-месячных животных.

5. Изменения структурных элементов гематоэнцефалического барьера при световом воздействии характеризовались деструкцией органелл в отростках астроглиии и цитоплазме перицитов, морфологическими признаками



активации процессов транскитоza в эндотелии сосудов. п-Тирозол улучшал микроваскуляризацию первичной зрительной коры, что проявлялось в увеличении численной плотности открытых, функционирующих капилляров.

### **Список условных сокращений**

АТФ – аденозинтрифосфат

ЭПС – эндоплазматическая сеть

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

ГНИ – глионейрональный индекс

ФВК – фосфорновольфрамовая кислота

АЗК – активная зона контакта

АФК – активные формы кислорода

**Библиографический список**

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: Руководство / Г. Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Аникина Е.Ю. Морфологические изменения сетчатки при воздействии лазерным излучением пороговых интенсивностей длиной волны 450 нм и их коррекция синтетическим дипептидом / Е. Ю. Аникина, А. В. Потапов, Е. Ю. Варакута Е. и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – №2. – С. 5-9.
3. Боголепов Н. Н. Ультраструктура мозга при гипоксии / Н. Н. Боголепов // Медицина, 1979. – 168 с.
4. Варакута Е. Ю. Морфологические изменения нейронов внутреннего ядерного слоя при фотоиндуцированном повреждении сетчатки / Е. Ю. Варакута, С. В. Логвинов, А. А. Жданкина и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №. 3. – С. 244-244.
5. Варакута Е. Ю. Динамика изменения глионейронального комплекса сетчатки при фотоповреждении с использованием методов математического моделирования [Электронный ресурс] / Е. Ю. Варакута, А. В. Потапов, А. А. Жданкина и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – №3. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/dinamika-izmeneniya-glioneyronalnogo-kompleksa-setchatki-pri-fotopovrezhdenii-s-ispolzovaniem-metodov-matematicheskogo>.
6. Гомазков О. А. Клеточные и молекулярные принципы старения мозга / О. А. Гомазков // Успехи современной биологии. – 2012. – Т. 132. – №. 2. – С. 141-154.
7. Жданкина А. А. Эффективность применения антиоксидантов группы пространственно затрудненных фенолов при фотодегенерации сетчатки [Электронный ресурс] / А. А. Жданкина, М. Б. Плотников, Г. А. Кон и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – Т. 9. – №. 5. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/effektivnost-primeneniya-antioksidantov-gruppy-prostranstvenno-zatrudnennyh-fenolov-pri-fotodegeneratsii-setchatki>.

8. Жданкина А. А. Исследование нейроретинопротекторной активности тиофана при инволюционной хориоретинальной дегенерации крыс линии ОХУС / А. А. Жданкина, Г. А. Кон, М. Б. Плотников и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2013. – №3. – С. 24-31.
9. Коломеец Н. С. Пластический обмен в нейронах при их изменениях по гипохромному типу / Н. С. Коломеец, В. Н. Клещинов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1990. – №. 6. – С. 30-38.
10. Крысин А. П. Кардиопротекторное действие п-тирозола в острый период сердечно-сосудистой и церебральной ишемии / А. П. Крысин, И. В. Сорокина, Э. Э. Шульц // Химия в интересах устойчивого развития. – 2019. – Т. 27. – №. 4. – С. 365-372.
11. Кубатиев А. А. Внутриклеточная регенерация мозга: новый взгляд / А. А. Кубатиев, А. А. Пальцев // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – Т. 67. – №. 8. – С. 21-25.
12. Логвинов С. В. Изменения синаптоархитектоники сетчатки при фотоповреждении и их коррекция антиоксидантами растительного происхождения / С. В. Логвинов, Е. Ю. Варакута, А. А. Жданкина и др. // Морфология. – 2008. – Т. 133. – №. 1. – С. 46-50.
13. Логвинов С. В. Морфологические изменения клеточных элементов сетчатки глаза при длительном низкоинтенсивном световом воздействии / С. В. Логвинов, А. В. Потапов, Е. П. Михуля и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – Т. 5. – №. 3. – С. 31-36.
14. Логвинов С. В. Радиация и зрительный анализатор: нейроморфологические аспекты / С. В. Логвинов // Томск: Изд-во НТЛ, 1998. – 138 с.
15. Логвинов С. В. Очерки неионизирующей радионейробиологии: структурно-функциональный анализ / С. В. Логвинов, В. Г. Зуев, И. Б. Ушаков, И. И. Тютрин – Томск : Изд-во Томского университета, 1994. – 208 с.
16. Осипенко А. Н. Механизмы нейропротективного действия п-тирозола в условиях тотальной транзиторной ишемии-реперфузии головного мозга / А. Н.

Осипенко, Т. М. Плотникова, Г.А. Чернышева и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16. – №. 1. – С. 65-72.

17. Пальцын А. А. Образование гетерокарионов как способ регенерации нейронов при постишемическом повреждении коры мозга у крыс / А. А. Пальцын, Е. Г. Колокольчикова, Н. Б. Константинова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 146. – №. 10. – С. 467-470.

18. Пащенко П. С. Морфологические аспекты изменения серого вещества спинного мозга при воздействии перегрузок в эксперименте / П. С. Пащенко, Б. В. Рисман // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2015. – Т. 49. – №. 3. – С. 51-55.

19. Плотников М. Б. Влияние п-тирозола на вязкость крови и агрегацию тромбоцитов / М. Б. Плотников, Г. А. Чернышева, В. И. Смольякова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 143. – №. 1. – С. 67-69.

20. Плотников М. Б. Противоишемическая активность п-тирозола в условиях многократной транзиторной ишемии миокарда у крыс / М. Б. Плотников, Г. А. Чернышева, В. И. Смольякова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 165. – №. 5. – С. 566-570.

21. Плотников М. Б. Антиоксидантные и кардиопротекторные свойства п-тирозола при ишемии миокарда с реперфузией у крыс / М. Б. Плотников, Г. А. Чернышева, В. И. Смольякова и др. // Кардиология. – 2010. – № 11. – С. 47–49.

22. Плотникова Т. М. Синтез и биологическая активность п-тирозола / Т. М. Плотникова, С. В. Сысолятин, Ю. А. Крюков и др. // Третий Междисциплинарный Симпозиум по Медицинской, Органической и Биологической Химии и Фармацевтике. – 2017. – С. 111-111.

23. Потапов А. В. Реакция зрительного нерва на комбинированное воздействие ионизирующей радиации и яркого света / А. В. Потапов // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – Т. 5. – №. 2. – С. 133-136.

24. Потапов А. В. Реакция нейронов внутренних слоев сетчатки глаза на комбинированное воздействие ионизирующей радиации и света / А. В. Потапов, М. В. Светлик // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – Т. 5. – №. 2.
25. Савко В. В. Влияние воспалительного процесса в увеальном тракте на развитие патологических изменений в сетчатке кроликов при световом воздействии / В. В. Савко, З. М. Ваших // Офтальмологический журнал. – 2011. – №. 1. – С. 61-65.
26. Савко В. В. Влияние липоевой кислоты на состояние сетчатки и процессы перекисного окисления липидов при моделировании ретиальной дистрофии в условиях увеита / В. В. Савко, З. М. Ваших // Проблемы клеточной медицины, генетики и клинической иммунологии. – 2012. – №. 5. – С. 359-372.
27. Саратиков А. С. Родиола розовая (золотой корень) / А. С. Саратиков, Е. А. Краснов // 4-е изд., перераб. И доп. – Томск : Изд-во Том. Ун-та, 2004. – 292 с.
28. Семченко В. В., Степанов С. С., Боголепов Н. Н. Синаптическая пластичность головного мозга (фундаментальные и прикладные аспекты). – Directmedia, 2014. – 408 с.
29. Семченко В. В. Структурно-функциональное восстановление нервной ткани головного мозга в постшемическом периоде с позиций представления о провизорности в репаративном гистогенезе / В. В. Семченко, С. С. Степанов, С. И. Ерников // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2016. – №. 2 (64). – С. 98-102.
30. Сердюк В. Н. Влияние светового облучения на состояние процессов перекисного окисления липидов в тканях глаза при моделировании первичной глаукомы / В. Н. Сердюк, В. В. Семенко // Офтальмологический журнал. – 2011. – №. 1. – С. 65-68.
31. Суфиева Д. А. Астроцитарные маркеры в таницитах третьего желудочка головного мозга крысы в постнатальном онтогенезе и при старении / Д. А. Суфиева, О. В. Кирик, Д. Э. Коржевский // Онтогенез. – 2019. – Т. 50. – №. 3. – С. 205-214.

32. Сухаренко Е. В. Возрастные изменения экспрессии глиального фибриллярного кислого белка в мозге крыс при хроническом воздействии кадмия / Е. В. Сухаренко, В. С. Недзвецкий, В. И. Максимов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – №. 2 (30). – С. 85-93.
33. Ходанович М. Ю. Усиление продукции новых нейронов в поле СА1 гиппокампа крыс под воздействием п-тирозола на модели тотальной транзиторной ишемии головного мозга / М. Ю. Ходанович, А. А. Кисель, Г. А. Чернышева и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 168. – №. 8. – С. 176-180.
34. Фахрутдинова А. Ф. Изменения сетчатки после лазерных вмешательств на структурах переднего отдела глаза / А. Ф. Фахрутдинова, В. И. Сипливый, Н. А. Федорук и др. // Вестник офтальмологии. – 2019. – Т. 135 (2). – С. 122-129.
35. Черток В. М. Регуляторный потенциал капилляров мозга / В. М. Черток, А. Г. Черток // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2016. – №. 2 (64) . – С. 72-80.
36. Armulik A. Pericytes regulate the blood–brain barrier / A. Armulik, G. Genove, M. Mae at al. // Nature. – 2010. – Vol. 468, N 7323. – P. 557-561.
37. Arvidsson A. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke / A. Arvidsson, T. Collin, D. Kirik at al. // Nature medicine. – 2002. – Vol. 8, N 9. – P. 963-970.
38. Atochin D. N. Neuroprotective effects of p-tyrosol after the global cerebral ischemia in rats / D. N. Atochin, G. A. Chernysheva, V. I. Smolyakova // Phytomedicine. – 2016. – Vol. 23, N 7. – P. 784-792.
39. Balez, R. Neuroprotective effects of apigenin against inflammation, neuronal excitability and apoptosis in an induced pluripotent stem cell model of Alzheimer’s disease / R. Balez, N. Steiner, M. Engel et al. // *Sci Rep*– 2016. – N 6. – P. 200-216.

40. Balk L. J. Bidirectional trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis / L. J. Balk, M. D. Steenwijk, P. Tewarie et al. // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. – 2015. – Vol. 86, N 4. – P. 419-424.
41. Barcella V. et al. Evidence for retrochiasmatic tissue loss in Leber's hereditary optic neuropathy / V. Barcella, M. A. Rocca, S. Bianchi-Marzoli // *Human brain mapping*. – 2010. – Vol. 31, N 12. – P. 1900-1906.
42. Barros L. F. Glia in brain energy metabolism: A perspective / L. F. Barros, A. Brown, R. A. Swanson // *Glia*. – 2018. – Vol. 66, N 6. – P. 1134-1137.
43. Bellot-Saez A. et al. Astrocytic modulation of neuronal excitability through K<sup>+</sup> spatial buffering / A. Bellot-Saez, O. Kekesi, J. W. Morley et al. // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 2017. – Vol. 77. – P. 87-97.
44. Ben-Menachem E. Increased vulnerability of the blood-brain barrier to acute hypertension following depletion of brain noradrenaline / E. Ben-Menachem, B. B. Johansson, T. H. Svensson // *Journal of neural transmission*. – 1982. – Vol. 53, N 2-3. – P. 159-167.
45. Ben-Zvi A. Mfsd2a is critical for the formation and function of the blood–brain barrier / A. Ben-Zvi, B. Lacoste, E. Kur et al. // *Nature*. – 2014. – Vol. 509, N 7501. – P. 507-511.
46. Bergeron D. Untangling Alzheimer's disease clinicoanatomical heterogeneity through selective network vulnerability—an effort to understand a complex disease / D. Bergeron, R. Bensaidane, R. Laforce // *Current Alzheimer Research*. – 2016. – Vol. 13, N 5. – P. 589-596.
47. Bonsack B. Brief overview: Protective roles of astrocyte-derived pentraxin-3 in blood-brain barrier integrity / B. Bonsack, M. C. Borlongar, H. L. Eng et al. // *Brain Circulation*. – 2019. – Vol. 5, N 3. – P. 1094-1100.
48. Borovskaya T. G. Evaluation of the Effect of p-Tyrosol on the Level of DNA Damage in the DNA Comet Assay In Vivo / T. G. Borovskaya, A. V. Vychuzhania, V. A. Grigoreva et al. // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2020. – N. 2 – P. 233-236.

49. Boucard C. C. Changes in cortical grey matter density associated with long-standing retinal visual field defects / CC Boucard, AT Hernowo, RP Maguire at al. // *Brain*. – 2009. – Vol. 132, N 7. – P. 1898-1906.

50. Bu Y. Neuroprotective effect of tyrosol on transient focal cerebral ischemia in rats / Y. Bu, S. Rho, J. Kim at al. // *Neuroscience letters*. – 2007. – Vol. 414, N 3. – P. 218-221.

51. Cammermeyer J. The importance of avoiding “dark” neurons in experimental neuropathology / J. Cammermeyer // *Acta neuropathologica*. – 1961. – Vol. 1, N 3. – P. 245-270.

52. Candiello J. Age-dependent changes in the structure, composition and biophysical properties of a human basement membrane / J. Candiello, G. J. Cole, W. Halfter // *Matrix biology*. – 2010. – Vol. 29, N 5. – P. 402-410.

53. Canuelo A. Tyrosol, a main phenol present in extra virgin olive oil, increases lifespan and stress resistance in *Caenorhabditis elegans* / A. Canuelo, B. Gilbert-Lopez, P. Pacheco-Linan at al. // *Mechanisms of ageing and development*. – 2012. – Vol. 133, N 8. – P. 563-574.

54. Carroll M. A. Cognitive Aging and Changes in Brain Morphology // *Topics in Geriatric Rehabilitation*. – 2018. – Vol. 34, N 1. – P. 110-119.

55. Castejon O. J. Electron Microscopic Study of Synaptic Degeneration in Human Central Nervous System: A Review / O. J. Castejon // *Journal of Advanced Microscopy Research*. – 2018. – Vol. 13, N 4. – P. 389-399.

56. Ceafalan L. C. Age-related ultrastructural changes of the basement membrane in the mouse blood-brain barrier / L. C. Ceafalan, T. E. Fertig, T. C. Gheorghe // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2019. – Vol. 23, N 2. – P. 819-827.

57. Cenini G. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from a mitochondrial point of view [Электронный ресурс] / G. Cenini, A. Lloret, R. Cascella // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2019. – Vol. 1. – P 1-18. – Режим доступа: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/2105607>.



58. Chandramohan R. Tyrosol, a phenolic compound, ameliorates hyperglycemia by regulating key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin induced diabetic rats / R. Chandramohan, L. Pari, A. Rathinam // *Chemico-biological interactions*. – 2015. – Vol. 229. – P. 44-54.

59. Chandramohan R. Anti-inflammatory effects of tyrosol in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats / R. Chandramohan, L. Pari // *Journal of Functional Foods*. – 2016. – Vol. 27. – P. 17-28.

60. Chen L. Increased metallothionein in light damaged mouse retinas / L. Chen, W. Wu, T. Dentchev et al. // *Experimental eye research*. – 2004. – Vol. 79, N 2. – P. 287-293.

61. Chen X. et al. Salidroside attenuates glutamate-induced apoptotic cell death in primary cultured hippocampal neurons of rats / X. Chen, J. Liu, X. Gu et al. // *Brain Research*. – 2008. – Vol. 1238. – P. 189-198.

62. Chernyshova G. A. Antiarrhythmic activity of n-tyrosol during acute myocardial ischemia and reperfusion / GA Chernyshova, MB Plotnikov, VI Smolyakova et al. // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2007. – Vol. 143, N 6. – P. 689-691.

63. Chisholm N. C. Astrocytic response to cerebral ischemia is influenced by sex differences and impaired by aging / N. C. Chisholm, F. Sohrabji // *Neurobiology of disease*. – 2016. – Vol. 85. – P. 245-253.

64. Dang G. Dynamic secondary degeneration in the spinal cord and ventral root after a focal cerebral infarction among hypertensive rats / G. Dang, X. Chen, Y. Chen // *Scientific reports*. – 2016. – Vol. 6. – P. 226-235.

65. David S. Repertoire of microglial and macrophage responses after spinal cord injury / S. David, A. Kroner // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2011. – Vol. 12, N 7. – P. 388-399.

66. De Bock K. Acute *Rhodiola rosea* intake can improve endurance exercise performance / K. De Bock, B. O. Eijnde, M. Ramaekers et al. // *International journal of sport nutrition & exercise metabolism*. – 2004. – Vol. 14, N 3. – P. 298-307.

67. De Calignon A. Propagation of tau pathology in a model of early Alzheimer's disease / A. De Calignon, M. Polydoro, M. Suarez-Calvet at al. // *Neuron*. – 2012. – Vol. 73, N 4. – P. 685-697.
68. De La Cruz J. P. Differences in the neuroprotective effect of orally administered virgin olive oil (*Olea europaea*) polyphenols tyrosol and hydroxytyrosol in rats / J. P. De La Cruz, M. I. Ruiz-Moreno, A. Guerrero at al. // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2015. – Vol. 63, N 25. – P. 5957-5963.
69. Dekeyster E. Ocular hypertension results in retinotopic alterations in the visual cortex of adult mice / E. Dekeyster, J. Aerts, F. J. Valiente-Soriano at al. // *Current Eye Research*. – 2015. – Vol. 40, N 12. – P. 1269-1283.
70. Dewapriya P. Tyrosol exerts a protective effect against dopaminergic neuronal cell death in in vitro model of Parkinson's disease / P. Dewapriya, S. W. A. Himaya, Y. X. Li at al. // *Food chemistry*. – 2013. – Vol. 141, N 2. – P. 1147-1157.
71. Dickstein D. L. Dendritic spine changes associated with normal aging / D. L. Dickstein, C. M. Weaver, P. R. Hof // *Neuroscience*. – 2013. – Vol. 251. – P. 21-32.
72. Elahy M. Blood–brain barrier dysfunction developed during normal aging is associated with inflammation and loss of tight junctions but not with leukocyte recruitment / M. Elahy, C. Jackaman, J. C. L. Mamo // *Immunity & Ageing*. – 2015. – Vol. 12. – P. 12-23.
73. Eysel U. T. Signal transmission through degenerating synapses in the lateral geniculate body of the cat / U. T. Eysel, O. J. Gru, J. P. Saavedra // *Brain Research*. – 1974. – Vol. 76, N 1. – P. 49-70.
74. Farkas E. Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease / E. Farkas, P. G. M. Luiten // *Progress in neurobiology*. – 2001. – Vol. 64, N 6. – P. 575-611.
75. Fields R. D. Glial regulation of the neuronal connectome through local and long-distant communication / R. D. Fields, D. H. Woo, P. J. Basser at al. // *Neuron*. – 2015. – Vol. 86, N 2. – P. 374-386.

76. Fjell A. M. The disconnected brain and executive function decline in aging / A. M. Fjell, M. H. Sneve, H. Grydeland // *Cerebral cortex*. – 2017. – Vol. 27, N 3. – P. 2303-2317.
77. Fornito A. The connectomics of brain disorders / A. Fornito, A. Zalesky, M. Breakspear // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2015. – Vol. 16, N 3. – P. 159-172.
78. Fu L. The biochemical pathways of central nervous system neural degeneration in niacin deficiency / L. Fu, V. Doreswamy, R. Prakash // *Neural regeneration research*. – 2014. – Vol. 9, N 16. – P. 1509-1513.
79. Fulop G. A. Nrf2 deficiency in aged mice exacerbates cellular senescence promoting cerebrovascular inflammation / G. A. Fulop, T. Kiss, S. Tarantini, P. Balasubramanian // *Geroscience*. – 2018. – Vol. 40, N 5-6. – P. 513-521.
80. Gabilondo I. Trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis / I. Gabilondo, E. H. Martinez-Lapiscina, E. Martinez-Heras et al. // *Annals of neurology*. – 2014. – Vol. 75, N 1. – P. 98-107.
81. Garaci F. G. Optic nerve and optic radiation neurodegeneration in patients with glaucoma: in vivo analysis with 3-T diffusion-tensor MR imaging / F. G. Garaci, F. Bolacchi, A. Cerulli // *Radiology*. – 2009. – Vol. 252, N 2. – P. 496-501.
82. Garman R. H. *Histology of the Central Nervous System // Toxicologic Psychology*. – 2011. – Vol. 39. – P. 22-35.
83. Goedert M. Alzheimer's and Parkinson's diseases: The prion concept in relation to assembled A $\beta$ , tau, and  $\alpha$ -synuclein // *Science*. – 2015. – Vol. 349. – P. 221-240.
84. Granier L. A. Phospholipid composition in late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis / L. A. Granier, K. Langley, C. Leray // *European journal of clinical investigation*. – 2000. – Vol. 30, N 11. – P. 1011-1017.
85. Greco M. Marked aging-related decline in efficiency of oxidative phosphorylation in human skin fibroblasts / M. Greco, G. Villani, F. Mazzucchelli et al. // *The FASEB Journal*. – 2003. – Vol. 17, N 12. – P. 1706-1708.

86. Guo N. Simultaneous determination of salidroside and its aglycone metabolite p-tyrosol in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / N. Guo, Z. Hu, X. Fan // *Molecules*. – 2012. – Vol. 17, N 4. – P. 4733-4754.
87. Ham W. T. Retinal sensitivity to damage from short wavelength light / W. T. Ham, H. A. Mueller, D. H. Sliney // *Nature*. – 1976. – Vol. 260, N 5547. – P. 153-155.
88. Hara Y. Synaptic correlates of memory and menopause in the hippocampal dentate gyrus in rhesus monkeys / Y. Hara, C. S. Park, W. G. M. Janssen // *Neurobiology of aging*. – 2012. – Vol. 33, N 2. – P. 421-438
89. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry / D. Harman // *Science's SAGE KE*. – 2002, N 37. – P. 298-300.
90. Harris J. L. Probing astrocyte metabolism in vivo: proton magnetic resonance spectroscopy in the injured and aging brain / J. L. Harris, I. Y. Choi, W. M. Brooks // *Frontiers in aging neuroscience*. – 2015. – Vol. 7. – P. 202-221.
91. Harry G. J. Microglia during development and aging / G. J. Harry // *Pharmacology & therapeutics*. – 2013. – Vol. 139, N 3. – P. 313-326.
92. Hekimi S. Taking a “good” look at free radicals in the aging process / S. Hekimi, J. Lapointe, Y. Wen // *Trends in cell biology*. – 2011. – Vol. 21, N 10. – P. 569-576.
93. Hensch T. K. Critical period regulation / T. K. Hensch // *Annu. Rev. Neurosci.* – 2004. – Vol. 27. – P. 549-579.
94. Hildebrand G. D. Anatomy and physiology of the retina / G. D. Hildebrand, A. R. Fielder // *Pediatric retina*. – Springer, Berlin, Heidelberg – 2011. – P. 39-65.
95. Holtmaat A. Experience-dependent and cell-type-specific spine growth in the neocortex / A. Holtmaat, L. Wilbrecht, G. W. Knott et al. // *Nature*. – 2006. – Vol. 441. – P. 979-983.
96. Huber J. D. Alterations in blood-brain barrier ICAM-1 expression and brain microglial activation after  $\lambda$ -carrageenan-induced inflammatory pain / J. D. Huber, C. R. Campos, K. S. Mark et al. // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2006. – Vol. 290, N 2. – P. 732-740.

97. Ichhpujani P. What's New in Pathogenesis of Glaucoma [Электронный ресурс] / P. Ichhpujani, S. Kumar // *Glaucoma*. – Springer, Singapore. – 2019. – Режим доступа: [https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-981-13-8457-8\\_1](https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-981-13-8457-8_1).
98. Jortner B. S. The return of the dark neuron. A histological artifact complicating contemporary neurotoxicologic evaluation / B. S. Jortner // *Neurotoxicology*. – 2006. – Vol. 27, N 4. – P. 628-634.
99. Kettenmann H. Physiology of microglia / H. Kettenmann, U. K. Hanisch, M. Noda // *Physiological reviews*. – 2011. – Vol. 91, N 2. – P. 461-553.
100. Keuker J. I. H. Preservation of hippocampal neuron numbers and hippocampal subfield volumes in behaviorally characterized aged tree shrews / J. I. H. Keuker, G. de Biurrun, P. G. M. Luiten et al. // *Journal of Comparative Neurology*. – 2004. – Vol. 468, N 4. – P. 509-517.
101. Kherani Z. S. Pharmacologic analysis of the mechanism of dark neuron production in cerebral cortex / Z. S. Kherani, R. N. Auer // *Acta neuropathologica*. – 2008. – Vol. 116. – №. 4. – P. 447-459.
102. Khodanovich M. Y. p-Tyrosol Enhances the Production of New Neurons in the Hippocampal CA1 Field after Transient Global Cerebral Ischemia in Rats / M. Y. Khodanovich, A. A. Kisel, G. A. Chernysheva et al. // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2019. – Vol. 168, N 2. – P. 224-228.
103. Klistorner A. Axonal loss of retinal neurons in multiple sclerosis associated with optic radiation lesions / A. Klistorner, P. Sriram, N. Vootakuru et al. // *Neurology*. – 2014. – Vol. 82, N 24. – P. 2165-2172.
104. Knowland D. Stepwise recruitment of transcellular and paracellular pathways underlies blood-brain barrier breakdown in stroke / D. Knowland, A. Arac, K. J. Sekiguchi // *Neuron*. – 2014. – Vol. 82, N 3. – P. 603-617.
105. Kofuji P. Potassium buffering in the central nervous system / P. Kofuji, E. A. Newman // *Neuroscience*. – 2004. – Vol. 129, N 4. – P. 1043-1054.
106. König J. Mitochondrial contribution to lipofuscin formation / J. König, C. Ott, M. Hugo et al. // *Redox biology*. – 2017. – Vol. 11. – P. 673-681.

107. Kumar B. Hesperetin rescues retinal oxidative stress, neuroinflammation and apoptosis in diabetic rats / B. Kumar, S. K. Gupta, B. P. Srinivasan // *Microvascular Research*. – 2013. – Vol. 87. – P. 65-74.
108. Lawlor M. Glaucoma and the brain: trans-synaptic degeneration, structural change, and implications for neuroprotection / M. Lawlor, H. Danesh-Meyer, L. A. Levin // *Survey of ophthalmology*. – 2018. – Vol. 63, N 3. – P. 296-306.
109. Lee D. H. Pharmacokinetics of tyrosol metabolites in rats [Электронный ресурс] / D. H. Lee, Y. J. Kim, M. J. Kim et al. // *Molecules*. – 2016. – Vol. 21, N 1. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/molecules21010128>.
110. Leuba G. Changes in volume, surface estimate, three-dimensional shape and total number of neurons of the human primary visual cortex from midgestation until old age / G. Leuba, R. Kraftsik // *Anatomy and embryology*. – 1994. – Vol. 190, N 4. – P. 351-366.
111. Levin L. A. *Adler's Physiology of the Eye* / L. A. Levin, S. F. E. Nilsson, J. V. Hovee et al. – Elsevier Health Sciences, 2011. – 820 p.
112. Levkovitch-Verbin H. Retinal ganglion cell apoptotic pathway in glaucoma: initiating and downstream mechanisms / H. Levkovitch-Verbin // *Progress in brain research*. – Elsevier, 2015. – Vol. 220. – P. 37-57.
113. Lin M. T. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases / M. T. Lin, M. F. Beal // *Nature*. – 2006. – Vol. 443, N 7113. – P. 787-795.
114. Linseman D. A. Targeting oxidative stress for neuroprotection / D. A. Linseman // *Antioxidants & redox signaling*. – 2009. – Vol. 11, N 3. – P. 421-424.
115. Lopez-Otin C. et al. The hallmarks of aging / C. Lopez-Otin, M. A. Blasco, L. Partridge et al. // *Cell*. – 2013. – Vol. 153, N 6. – P. 1194-1217.
116. Lossinsky A. S., Shivers R.R. Structural pathways for macromolecular and cellular transport across the blood-brain barrier during inflammatory conditions / A. S. Lossinsky, R. R. Shivers // *Histol. Histopathol.* – 2004. – Vol 19, N 2. – P. 535–564.

117. Mancino R. Neurodegenerative process linking the eye and the brain / R. Mancino, M. Cesareo, A. Martucci et al. // *Current medicinal chemistry*. – 2019. – Vol. 26, N 20. – P. 3754-3763.
118. Marc R. E. Extreme retinal remodeling triggered by light damage: implications for age related macular degeneration / R. E. Marc, B. W. Jones, C. B. Watt // *Molecular vision*. – 2008. – Vol. 14. – P. 782-805.
119. Marques F. Blood–brain-barriers in aging and in Alzheimer’s disease [Электронный ресурс] / F. Marques, J. C. Sousa, N. Sousa et al. // *Molecular neurodegeneration*. – 2013. – Vol. 8. – 38 p. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-38>.
120. Masland R. H. The neuronal organization of the retina / R. H. Masland // *Neuron*. – 2012. – Vol. 76, N 2. – P. 266-280.
121. Mattson M. P. Mitochondria in neuroplasticity and neurological disorders / M. P. Mattson, M. Gleichmann, A. Cheng // *Neuron*. – 2008. – Vol. 60, N 5. – P. 748-766.
122. Mavroudis I. A. Age-related dendritic and spinal alterations of pyramidal cells of the human visual cortex / I. A. Mavroudis, M. G. Manani, F. Petrides et al. // *Folia neuropathologica*. – 2015. – Vol. 53, N 2. – P. 100-110.
123. Mirzaei M. Age-related neurodegenerative disease associated pathways identified in retinal and vitreous proteome from human glaucoma eyes [Электронный ресурс] / M. Mirzaei, V. B. Gupta, J. M. Chick et al. // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12858-7>.
124. Mongin A. A. Volume-regulated anion channel—a frenemy within the brain / A. A. Mongin // *Pflugers Archiv-European Journal of Physiology*. – 2016. – Vol. 468, N 3. – P. 421-441.
125. Montagne A. Blood-brain barrier breakdown in the aging human hippocampus / A. Montagne, S. R. Barnes, M. D. Sweeney et al. // *Neuron*. – 2015. – Vol. 85, N 2. – P. 296-302.
126. Morrison J. H. Life and death of neurons in the aging brain / J. H. Morrison, P. R. Hof // *Science*. – 1997. – Vol. 278, N 5337. – P. 412-419.

127. Noell W. K. Retinal damage by light in rats / W. K. Noell, V. S. Walker, B. S. Kang et al. // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 1966. – Vol. 5, N 5. – P. 450-473.
128. Norden D. M. Microglia of the aged brain: primed to be activated and resistant to regulation / D. M. Norden, J. P. Godbout // *Neuropathology and applied neurobiology*. – 2013. – Vol. 39, N 1. – P. 19-34.
129. Nys J. Visual system plasticity in mammals: the story of monocular enucleation-induced vision loss [Электронный ресурс] / J. Nys, I. Scheyltjens, L. Arckens // *Frontiers in systems neuroscience*. – 2015. – Vol. 9. – 60 p. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00060>.
130. Obermeier B. Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier / B. Obermeier, R. Daneman, R. M. Ransohoff // *Nature medicine*. – 2013. – Vol. 19, N 12. – P. 1584-1596.
131. Organisciak D. T. Retinal light damage: mechanisms and protection / D. T. Organisciak, D. K. Vaughan // *Progress in retinal and eye research*. – 2010. – Vol. 29, N 2. – P. 113-134.
132. Osborne N. N. Light affects mitochondria to cause apoptosis to cultured cells: possible relevance to ganglion cell death in certain optic neuropathies / N. N. Osborne, G. Y. Li, D. Ji et al. // *Journal of neurochemistry*. – 2008. – Vol. 105, N 5. – P. 2013-2028.
133. Paltsyn A. A. Age-related changes of the brain / A. A. Paltsyn, S. V. Komissarova // *Patologicheskaiia fiziologiia i eksperimental'naia terapiia*. – 2015. – Vol. 59, N 4. – P. 108-116.
134. Pannese E. Morphological changes in nerve cells during normal aging / E. Pannese // *Brain Structure and Function*. – 2011. – Vol. 216, N 2. – P. 85-89.
135. Parihar V. K. Persistent changes in neuronal structure and synaptic plasticity caused by proton irradiation / V. K. Parihar, J. Pasha, K. K. Tran et al. // *Brain Structure and Function*. – 2015. – Vol. 220, N 2. – P. 1161-1171.
136. Paxinos G. Atlas of the developing rat nervous system / G. Paxinos, K. W. S. Ashwell. – Academic Press. – 4<sup>th</sup> edition. – 2018. – 538 p.



137. Peinado M. A. Light microscopic quantification of morphological changes during aging in neurons and glia of the rat parietal cortex / M. A. Peinado, A. Quesada, J. A. Pedrosa et al. // *The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists*. – 1997. – Vol. 247, N 3. – P. 420-425.

138. Peinado M. A. et al. Quantitative and ultrastructural changes in glia and pericytes in the parietal cortex of the aging rat / M. A. Peinado, A. Quesada, J. A. Pedrosa et al. // *Microscopy research and technique*. – 1998. – Vol. 43, N 1. – P. 34-42.

139. Perry V. H. Microglia and macrophages of the central nervous system: the contribution of microglia priming and systemic inflammation to chronic neurodegeneration / V. H. Perry, J. Teeling // *Seminars in immunopathology*. – Springer Berlin Heidelberg, 2013. – Vol. 35, N 5. – P. 601-612.

140. Peters A. The effects of age on the cells in layer 1 of primate cerebral cortex / A. Peters, C. Sethares // *Cerebral Cortex*. – 2002. – Vol. 12, N 1. – P. 27-36.

141. Plotnikov M. B. Effect of n-tyrosol on blood viscosity and platelet aggregation / M. B. Plotnikov, G. A. Chernysheva, V. I. Smolyakova // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2007. – Vol. 143, N 1. – P. 61-63.

142. Plotnikov M. B. Effect of p-tyrosol on hemorheological parameters and cerebral capillary network in young spontaneously hypertensive rats / M. B. Plotnikov, O. I. Aliev, A. V. Sidekhmenova et al. // *Microvascular research*. – 2018. – Vol. 119. – P. 91-97.

143. Plotnikov M. B. Tyrosol as a neuroprotector: strong effects of a “weak” antioxidant [Электронный ресурс] / M. B. Plotnikov, T. M. Plotnikova // *Current neuropharmacology*. – 2020. – Vol. 18. – Режим доступа: <https://www.eurekaselect.com/181735/article>.

144. Popa-Wagner A. ROS and brain diseases: the good, the bad, and the ugly [Электронный ресурс] / A. Popa-Wagner, S. Mitran, S. Sivanesan et al. // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2013. – Vol. 2013. – Режим доступа: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2013/963520>.

145. Puthenparampil M. Trans-synaptic degeneration in the optic pathway. A study in clinically isolated syndrome and early relapsing-remitting multiple sclerosis

with or without optic neuritis [Электронный ресурс] / M. Puthenparampil, L. Federle, D. Poggiali et al. // Plos one. – 2017. – Vol. 12, N 8. – Режим доступа: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0183957>.

146. Puyang Z. Retinal ganglion cell loss is delayed following optic nerve crush in NLRP3 knockout mice [Электронный ресурс] / Z. Puyang, L. Feng, Ню Chen et al. // Scientific reports. – 2016. – Vol. 6. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/srep20998>.

147. Quillinan N. Neuropathophysiology of brain injury / N. Quillinan, P. S. Herson, R. J. Traystman // Anesthesiology clinics. – 2016. – Vol. 34, N 3. – P. 453-464.

148. Raven F. The role of sleep in regulating structural plasticity and synaptic strength: Implications for memory and cognitive function / F. Raven, E. A. Van der Zee, P. Meerlo // Sleep Medicine Reviews. – 2018. – Vol. 39. – P. 3-11.

149. Riancho J. Compensatory Motor Neuron Response to Chromatolysis in the Murine hSOD1G93A Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis / J. Riancho, M. Ruiz-Soto, N. T. Villagra et al. // Frontiers in cellular neuroscience. – 2014. – Vol. 8. – P. 346-359.

150. Riddle D. R. Microvascular plasticity in aging / D. R. Riddle, W. E. Sonntag, R. J. Lichtenwalner // Ageing research reviews. – 2003. – №. 2. – P. 149-168.

151. Rodriguez-Arellano J. J. Astrocytes in physiological aging and Alzheimer's disease / J. J. Rodriguez-Arellano, V. Parpura, R. Zorec et al. // Neuroscience. – 2016. – Vol. 323. – P. 170-182.

152. Ronaldson P.T. Blood-brain barrier integrity and glial support: mechanisms that can be targeted for novel therapeutic approaches in stroke / P.T. Ronaldson, T. P. Davis // Current pharmaceutical design. – 2012. – Vol.18, N 25. – P. 3624-3644.

153. Rowe F. Visual fields via the visual pathway / F. Rowe. – Crc Press, 2016. – 365 p.

154. Rubin M. Netter's Concise Neuroanatomy / M. Rubin, J. E. Safdieh. – Elsevier Health Sciences, 2016. – 393 p.

155. Saab A. S. Oligodendroglial NMDA receptors regulate glucose import and axonal energy metabolism / A. S. Saab, I. D. Tzvetavona, A. Trevisiol et al. // *Neuron*. – 2016. – Vol. 91, N 1. – P. 119-132.
156. Sadeghian H. Spreading depolarizations trigger caveolin-1–dependent endothelial transcytosis / H. Sadeghian, B. Lacoste, T. Qin // *Annals of neurology*. – 2018. – Vol. 84, N 3. – P. 409-423.
157. Sailor K. A. Adult neurogenesis beyond the niche: its potential for driving brain plasticity / K. A. Sailor, A. F. Schinder, P. M. Lledo // *Current opinion in neurobiology*. – 2017. – Vol. 42. – P. 111-117.
158. Samu D. Preserved cognitive functions with age are determined by domain-dependent shifts in network responsivity [Электронный ресурс] / D. Samu, K. L. Campbell, K.A. Tsvetanov et al. // *Nature communications*. – 2017. – Vol. 8. – P. 1-14. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/ncomms14743>.
159. Samuel S. M. Akt/FOXO3a/SIRT1-mediated cardioprotection by n-tyrosol against ischemic stress in rat in vivo model of myocardial infarction: switching gears toward survival and longevity / M. S. Samuel, M. Thirunavukkarasu, S. V. Penumathsa et al. // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2008. – Vol. 56, N 20. – P. 9692-9698.
160. Sanchez-Covarrubias L. Transporters at CNS barrier sites: obstacles or opportunities for drug delivery? / L. Sanchez-Covarrubias, L. M. Slosky, B. J. Thompson et al. // *Current pharmaceutical design*. – 2014. – Vol. 20, N 10. – P. 1422-1449.
161. Sanchez-Dalmau B. F. Trans Neuronal Retrograde Degeneration to OCT in Central Nervous System Diseases / BF Sanchez-Dalmau, A Camos-Carreras, R. Torres-Torres et al. // *OCT and Imaging in Central Nervous System Diseases*. – Springer, Cham, 2020. Vol. 202. – P. 365-374.
162. Sang A. Light-induced retinal ganglion cell damage in vivo involves Dexas1 / A. Sang, Y. Cheng, H. Lu et al. // *Molecular vision*. – 2011. – Vol.17. – P. 134-143.

163. Sastre J. Aging of the liver: age-associated mitochondrial damage in intact hepatocytes / J. Sastre, F. V. Pallardo, R. Pla et al. // *Hepatology*. – 1996. – Vol. 24, N 5. – P. 1199-1205.

164. Semchenko V. V. Synaptic plasticity of the neocortex of white rats with diffuse-focal brain injuries / V. V. Semchenko, N. N. Bogolepov, S. S. Stepanov et al. // *Neuroscience and behavioral physiology*. – 2006. – Vol.36, N 6. – P. 613-618.

165. Sengillo J. D. Deficiency in Mural Vascular Cells Coincides with Blood–Brain Barrier Disruption in Alzheimer's Disease / J. D. Sengillo, E. A. Winkler, C. T. Walker et al. // *Brain pathology*. – 2013. – Vol. 23, N 3. – P. 303-310.

166. Sharma R. K. Development and structure of the retina / R. K. Sharma, B. E. J. Ehinger // *Adler's Physiology of the Eye: Clinical Applications*. – 2003. – Vol.10. – P. 319-347.

167. Shevtsov V. A. A randomized trial of two different doses of a SHR-5 *Rhodiola rosea* extract versus placebo and control of capacity for mental work / V. A. Shevtsov, B. I. Zholus, V. I. Shervarly et al. // *Phytomedicine*. – 2003. – Vol.10, N 2-3. – P. 95-105.

168. Smith E. F. The role of mitochondria in amyotrophic lateral sclerosis [Электронный ресурс] / E. F. Smith, P. J. Shaw, K. J. De Vos // *Neuroscience letters*. – 2017. – Vol. 710. – P. 59. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030439401730544X?via%3Dihub>.

169. Smith N. M. Inflammation and blood-brain barrier breach remote from the primary injury following neurotrauma [Электронный ресурс] / N. M. Smith, M. K. Giacci, A. Gough et al. // *Journal of Neuroinflammation*. – 2018. – Vol. 15. – Режим доступа: <https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12974-018-1227-0>.

170. Sobaniec-Lotowska M. E. Ultrastructure of astrocytes in the cortex of the hippocampal gyrus and in the neocortex of the temporal lobe in experimental valproate encephalopathy and after valproate withdrawal / M. E. Sobaniec-Lotowska // *International journal of experimental pathology*. – 2003. – Vol. 84, N 3. – P. 115-126.

171. Spasov A. A. A double-blind, placebo-controlled pilot study of the stimulating and adaptogenic effect of *Rhodiola rosea* SHR-5 extract on the fatigue of students caused by stress during an examination period with a repeated low-dose regimen / A. A. Spasov, G. K. Wikman, V. B. Mandrikov et al. // *Phytomedicine*. – 2000. – Vol. 7, N 2. – P. 85-89.

172. Spejo A. B. Synaptic rearrangement following axonal injury: Old and new players / A. B. Spejo, A. L. R. Oliveira // *Neuropharmacology*. – 2015. – Vol. 96. – P. 113-123.

173. Stam C. J. Modern network science of neurological disorders / C. J. Stam // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2014. – Vol. 15, N 10. – P. 683-695.

174. Streit W. J. Dystrophic microglia in the aging human brain / W. J. Streit, N. W. Sammons, A. J. Kuhns et al. // *Glia*. – 2004. – Vol. 45, N 2. – P. 208-212.

175. Streit W. J. Role of microglia in the central nervous system's immune response / W. J. Streit, J. R. Conde, S. E. Fendrick et al. // *Neurological research*. – 2005. – Vol. 27, N 7. – P. 685-691.

176. Su J. H. Transneuronal degeneration in the spread of Alzheimer's disease pathology: immunohistochemical evidence for the transmission of tau hyperphosphorylation / J. H. Su, G. Deng, C. W. Cotman // *Neurobiology of disease*. – 1997. – Vol. 4, N 5. – P. 365-375.

177. Shou T. D. Visual functional changes during acute elevation of intraocular pressure / T. D. Shou // *Neuroscience bulletin*. – 2006. – Vol. 22, N 4. – P. 235-238.

178. Tian X. Molecular mechanisms determining lifespan in short-and long-lived species / X. Tian, A. Seluanov, V. Gorbunova // *Trends in Endocrinology & Metabolism*. – 2017. – Vol. 28, N 10. – P. 722-734.

179. Tigges J. Mild age-related changes in the dentate gyrus of adult rhesus monkeys / J. Tigges, J. G. Herndon, D. L. Rosene // *Cells Tissues Organs*. – 1995. – Vol. 153, N 1. – P. 39-48.

180. Tomimoto H. White matter integrity and cognitive dysfunction: Radiological and neuropsychological correlations [Электронный ресурс] / H.

Tomimoto // *Geriatrics & gerontology international*. – 2015. – Vol. 15. – P. 3-9. –  
Режим доступа: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ggi.12661>

181. Tribble J. R. et al. Midget retinal ganglion cell dendritic and mitochondrial degeneration is an early feature of human glaucoma [Электронный ресурс] / Tribble J.R., Vasalauskaite A., Redmond T. et al // *Brain Communications*. – 2019. – P. 1-15.  
Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31894207>.

182. Tur C. Longitudinal evidence for anterograde trans-synaptic degeneration after optic neuritis / C. Tur, O. Goodkin, D. R. Altmann et al. // *Brain*. – 2016. – Vol. 139, N 3. – P. 816-828.

183. Vasalauskaite A. Plasticity in adult mouse visual cortex following optic nerve injury / A. Vasalauskaite, J. E. Morgan, F. Sengpiel // *Cerebral Cortex*. – 2019. – Vol. 29, N 4. – P. 1767-1777.

184. Vaupel J. W. Biodemography of human ageing / J. W. Vaupel // *Nature*. – 2010. – Vol. 464. – P. 536-542.

185. Vicente-Tejedor J. Removal of the blue component of light significantly decreases retinal damage after high intensity exposure / J. Vicente-Tejedor, M. Marchena, L. Ramirez et al. // *PloS one*. – 2018. – Vol. 13, N 3. – P. 218-223.

186. Wang D. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate triggered hepatotoxicity in mice: responses of major antioxidant enzymes and the Nrf2 rescue pathway / D. Wang, Y. Wang, X. Wan // *Toxicology and applied pharmacology*. – 2015. – Vol. 283, N 1. – P. 65-74.

187. Wang Y. Brain morphological alterations of cerebral cortex and subcortical nuclei in high-tension glaucoma brain and its associations with intraocular pressure / Y. Wang, X. Wang, J. Zhou et al. // *Neuroradiology*. – 2020. – Vol. 62, N. 4. – P. 495-502.

188. Wilhelm I. Role of pattern recognition receptors of the neurovascular unit in inflamm-aging / I. Wilhelm, A. Nyul-Toth, M. Kozma et al. // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2017. – Vol. 313, N 5. – P. 1000-1012.

189. Wing S. L. Lack of effect of Rhodiola or oxygenated water supplementation on hypoxemia and oxidative stress / S. L. Wing, E. W. Askew, M. J.

Luetkemeier et al. // *Wilderness & environmental medicine*. – 2003. – Vol. 14, N 1. – P. 9-16.

190. Wood J. P. M. The influence of visible light exposure on cultured RGC-5 cells / J. P. M. Wood, G. Lascaratos, A. J. Bron et al. // *Molecular vision*. – 2008. – Vol. 14. – P. 334-344.

191. World Health Organization. A toolkit for organizing events on the World report on vision [Электронный ресурс] / World Health Organization – 2020. – Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331424>.

192. Xie X. Retrograde Transneuronal Injury: From the Posterior Optic Pathway to Retinal Ganglion Cells / X. Xie, N. Fan, N. Wang et al. // *Optic Disorders and Visual Field*. – Springer, Singapore, 2019. – P. 559-572.

193. Yadav T. C. Exploration of interaction mechanism of tyrosol as a potent anti-inflammatory agent / T. C. Yadav, N. Kumar, U. Raj et al. // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. – 2019. – Vol. 38. – P. 382-397.

194. Yates M. A. Regional variability in age-related loss of neurons from the primary visual cortex and medial prefrontal cortex of male and female rats / M. A. Yates, J. A. Markham, S. E. Anderson et al. // *Brain research*. – 2008. – Vol. 1218. – P. 10-22.

195. You Y. Anterograde degeneration along the visual pathway after optic nerve injury / Y. You, V. K. Gupta, S. L. Graham et al. // *PLoS One*. – 2012. – N 12. – P. 52-61.

196. You Y. Demyelination precedes axonal loss in the transneuronal spread of human neurodegenerative disease / Y. You, C Joseph, C Wang et al. // *Brain*. – 2019. – Vol. 142, N 2. – P. 426-442.

197. You Y. Visual evoked potential recording in a rat model of experimental optic nerve demyelination / Y. You, V. K. Gupta, N. Chitranshi et al. // *Journal of Visualized Experiments*. – 2015. – N. 101. – P. 34-50.

198. Youssef P. N. Retinal light toxicity / P. N. Youssef, N. Sheibani, D. M. Albert // *Eye*. – 2011. – Vol. 25. – P. 344-359.

199. Yucel Y. Glaucoma of the brain: a disease model for the study of transsynaptic neural degeneration / Y. Yucel, N. Gupta // *Progress in brain research*. – 2008. – Vol. 173. – P. 465-478.
200. Yucel Y. H. Effects of retinal ganglion cell loss on midget-, parvo-, koniocellular pathway in the lateral geniculate nucleus and visual cortex in glaucoma / Y. H. Yucel, Q. Zhang, R. N. Weinreb et al. // *Prog. Retin. Eye Res.* – 2003. – Vol. 22, N 4. – P. 465-481.
201. Zhuang W. Rosenroot (Rhodiola): potential applications in aging-related diseases / W. Zhuang, L. Yue, X. Dang // *Aging and disease*. – 2019. – Vol. 10, N 1. – P. 134-145.
202. Zhvania M. G. et al. Ultrastructural changes to rat hippocampus in pentylentetrazol- and kainic acid-induced status epilepticus: A study using electron microscopy // *Micron*. – 2015. – Vol. 74. – P. 22-29.
203. Zille M. Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: promises, problems, and perspectives // M. Zille, T. D. Farr, I. Przedzinski // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2012. – Vol. 32. – P. 213–231.
204. Zlokovic B. V. et al. Kinetics of arginine-vasopressin uptake at the blood-brain barrier / B. V. Zlokovic, S. Hyman, J. G. McComb et al. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. – 1990. – Vol. 1025, N 2. – P. 191-198.
205. Zuchero J. B. Glia in mammalian development and disease / J. B. Zuchero, B. A. Barres // *Development*. – 2015. – Vol. 142, N 22. – P. 3805-3809.