

© Коллектив авторов, 2024

УДК 616-092.9

Лебедева А.И., Гареев Е.М., Дусалимова А.М., Кадыров Р.З., Мусина Л.А., Галаутдинов М.Ф., Терегулов И.И.

## Морфофункциональные изменения нервной ткани коры головного мозга в условиях вынужденной анаэробной физической нагрузки и после акупунктурного введения аллогенного биоматериала (экспериментальное исследование)

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 450000, Уфа, Республика Башкортостан, Россия, ул. Ленина, д. 3

**Введение.** Вынужденная физическая нагрузка часто нарушает слаженность взаимодействий между корой головного мозга и внутренними органами. Аллогенный биоматериал (БМА) применяется в качестве стимулятора регенерации при его местном применении. Механизм фармакупунктурной коррекции патологических изменений посредством БМА в неокортексе изучен недостаточно.

**Цель исследования** – изучение структуры нервной ткани коры головного мозга в условиях акупунктурного воздействия на биологически активные точки и фармакупунктурной коррекции с БМА.

**Методика.** Моделью анаэробной физической нагрузки явилось принудительное плавание крыс самцов с грузом 10% от массы тела. После проведения плавательного теста в опытной группе ( $n=20$ ) вводили суспензию БМА акупунктурно, в контрольной ( $n=20$ ) вводили физиологический раствор. Материал для морфофункционального исследования брали через 5 и 21 сут после принудительной анаэробной физической нагрузки.

**Результаты.** В контрольной группе обнаруживался реактивный глиоз, отек нейропиля, перинуклеарных и периваскулярных пространств, редукция синаптического аппарата, усиление хроматолиза нейроцитов, снижение уровня ингибитора апоптоза Bcl-2<sup>+</sup> в клетках. В опытной группе наблюдались признаки восстановления архитектоники слоев нервных клеток неокортекса, увеличения численности синапсов, микроглиальных клеток (CD-68<sup>+</sup>), Bcl-2<sup>+</sup> клеток, снижение количества клеток теней и GFAP<sup>+</sup> клеток, восстановление нейроваскулярной единицы, обеспечивающей работу гематоэнцефалического барьера.

**Заключение.** В контрольной группе происходили деструктивные изменения необратимого характера. Акупунктурное воздействие БМА стимулировало нейропротекторные свойства.

**Ключевые слова:** аллогенный биоматериал; фармакупунктура; нервная ткань коры головного мозга; нейропротекция

**Для цитирования:** Лебедева А.И., Гареев Е.М., Дусалимова А.М., Кадыров Р.З., Мусина Л.А., Галаутдинов М.Ф., Терегулов И.И. Морфофункциональные изменения нервной ткани коры головного мозга в условиях вынужденной анаэробной физической нагрузки и после акупунктурного введения аллогенного биоматериала (экспериментальное исследование).

*Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2024; 68(1): 37-47.

DOI: 10.25557/0031-2991.2024.01.37-47

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Дусалимова А.М., Кадыров Р.З.; сбор и обработка материала – Лебедева А.И., Галаутдинов М.Ф.; подготовка иллюстративного материала – Мусина Л.А., Терегулов И.И.; статистическая обработка материала – Гареев Е.М.; написание текста – Лебедева А.И.; редактирование – Мусина Л.А. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

**Для корреспонденции:** Лебедева Анна Ивановна, e-mail: Jeol02@mail.ru

**Финансирование.** Работа выполнена за счет средств программы стратегического академического лидерства Башкирского государственного медицинского университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.04.2023

Принята к печати 25.01.2024

Опубликована 28.03.2024

Lebedeva A.I., Gareev E.M., Dusalimova A.M., Kadyrov R.Z., Musina L.A., Galautdinov M.F., Teregulov I.I.

## Morphological and functional changes in the nervous tissue of the cerebral cortex in forced anaerobic exercise and after acupuncture injection of allogeneic biomaterial (experimental study)

Bashkir State Medical University, 3 Lenina St., Ufa, 450000, Republic of Bashkortostan, Russian Federation

**Introduction.** Forced physical activity often disrupts the interactions between the cerebral cortex and internal organs. Allogeneic biomaterial (BMA) is used as a regeneration stimulator when applied topically. The mechanism of pharmacopuncture correction of pathological changes in the neocortex with BMA is not well understood.

**Aim.** To study the structure of nervous tissue in the cerebral cortex after acupuncture of biologically active points and pharmacopuncture administration of BMA.

**Methods.** Anaerobic physical activity was modeled by forced swimming of male rats with a load of 10% of body weight. After the swimming test, in the experimental group ( $n=20$ ), a BMA suspension was administered by acupuncture. In the control group ( $n=20$ ), saline was administered. Five and 21 days following the forced anaerobic exercise, tissue was sampled, and morpho-functional studies were performed.

**Results.** In the control group, reactive gliosis, edema of the neuropil, perinuclear and perivascular spaces, reduction of the synaptic apparatus, increased chromatolysis of neurocytes, and a decrease in the apoptosis inhibitor Bcl-2+ in cells were found. In the experimental group, there were signs of restoration of the architectonics of the layers of neocortical nerve cells, an increase in the number of synapses, microglial cells (CD-68<sup>+</sup>), cell Bcl-2+, a decrease in the number of shadow cells and cell GFAP+, and restoration of the neurovascular unit that ensures the blood-brain barrier functioning.

**Conclusion.** In the brain of control rats, irreversible destructive changes prevailed. Acupuncture of BMA stimulated neuroprotection.

**Keywords:** allogeneic biomaterial; pharmacopuncture; nervous tissue of the cerebral cortex; neuroprotection

**For citation:** Lebedeva A.I., Gareev E.M., Dusalimova A.M., Kadyrov R.Z., Musina L.A., Galautdinov M.F., Teregulov I.I. Morphological and functional changes in the nervous tissue of the cerebral cortex in forced anaerobic exercise and after acupuncture injection of allogeneic biomaterial (experimental study). *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2024; 68(1): 37-47. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2024.01.37-47

**Author's contribution:** concept and design of the study – Dusalimova A.M., Kadyrov R.Z.; collection and processing of material – Lebedeva A.I.; Galautdinov M.F.; preparation of illustrative material – Musina L.A., Teregulov I.I.; statistical processing – Gareev E.M.; writing the text – Lebedeva A.I.; editing the text – Musina L.A. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

**For correspondence:** *Anna I. Lebedeva*, Dr. Sci. Biol., Leading Researcher, Project Manager of the Scientific and Morphological Laboratory of the Institute of Fundamental Medicine, Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of Russia, e-mail: Jeol02@mail.ru

### Information about the authors:

Lebedeva A.I., <https://orcid.org/0000-0002-9170-2600>

Gareev E.M., <https://orcid.org/0000-0002-6561-0892>

Dusalimova A.M., <https://orcid.org/0009-0006-3329-8845>

Kadyrov R.Z., <https://orcid.org/0000-0002-6353-9084>

Musina L.A., <https://orcid.org/0000-0003-1237-9284>

Galautdinov M.F., <https://orcid.org/0000-0003-4284-5696>

Teregulov I.I., <https://orcid.org/0009-0005-0062-3763>

**Financing.** This work was supported by the Bashkir State Medical University Strategic Academic Leadership Program (PRIORITY-2030).

**Conflict of interests.** The authors have no conflict of interest to declare.

Received 20.04.2023

Accepted 25.01.2024

Published 28.03.2024

Физическая нагрузка, оказываемая на профессиональных спортсменов, часто сопряжена не только с экстремальным физическим, но и с эмоциональным перенапряжением. В большинстве случаев переутомление и перетренированность наслаиваются друг на друга, давая симптомокомплекс нарушений деятельности организма, включая центральную нервную систему (ЦНС). Переутомление нарушает слаженность

взаимодействий между корой головного мозга, ниже лежащими отделами нервной системы и внутренними органами [1].

Интерес многих исследователей обращен к акупунктуре, как к методу, улучшающему работу иммунной системы и увеличивающему резервные возможности организма [2]. Реализуется данный эффект через изменение активности центральных и перифериче-

ских иммунных органов и систем [3]. Нейромедиаторы и нейропептиды, высвобождающиеся из нервных окончаний, могут модулировать секрецию гормонов и функциональную активность клеток [4].

Аллогенный биоматериал применяется в качестве стимулятора регенерации при его локальном введении в различных органах и тканях [5]. Также, появляются данные о его рефлексогенном использовании, т.к. одним из компонентов реакции организма на акупунктуру является её иммуностимулирующее действие [6–8]. Анализ данных литературы показывает отсутствие данных о влиянии аллогенного биоматериала при его акупунктурном применении на структуру нервной ткани коры головного мозга после вынужденной анаэробной физической нагрузки, что явилось целью настоящего исследования.

### Методика

В эксперименте использовались половозрелые крысы – самцы Wistar массой 200–250 г 40 животных. Моделью анаэробной физической нагрузки была выбрана методика принудительного плавания крыс до полного утомления с грузом – тест Порсолта или тест отчаяния [9], который представляет собой комбинированный жесткий вид стресса, сочетающий физический и эмоциональный компоненты [10]. Все манипуляции с животным были проведены в соответствии с этическими принципами, утвержденными этическим комитетом при ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, протокол № 63 от 22.08.2022 г. (Уфа, Россия) и установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей. Плавательный тест проводился ежедневно в течение 30 сут подряд для всех животных в одно и то же время суток. Вес груза подбирался в соответствии с весом животного и составлял 10% от массы тела [11]. По истечении 30 сут плавания было сформировано 2 группы животных, в каждой группе находилось по 10 крыс. В опытной группе ( $n=20$ ) вводили суспензию БМА акупунктурно, придерживаясь схемы 1. Для этого 1 флакон (10 мг) разводили в 5 мл физиологического раствора и получали 0,2% раствор и вводили по 0,2 мл в каждую точку. Способ введения – подкожно. Таких точек было 16. Суммарный объем введенной суспензии составил 3,2 мл (6,4 мг). Предварительно все биологически активные точки тестировали с помощью аппарата-ручки «Поиск-02» (ООО Магнитон, Россия). После нахождения усиленного сигнала вводили суспензию БМА. В контрольной группе ( $n=20$ ) вводили физиологический раствор в аналогичном количестве по 0,2 мл (рис. 1). Все инъекции проводили од-

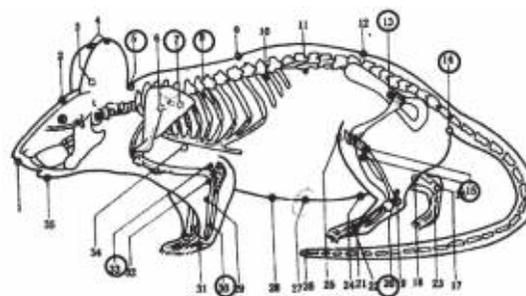
нократно. Доза БМА для крысы была выбрана исходя из клинической эффективности в ранее проведенных исследованиях [12].

Через 5 и 21 сут после инъекций из каждой экспериментальной группы было отобрано по 10 особей и проведено: гистологическое исследование нервной ткани заданного локуса префронтальной коры.

Для проведения гистологического исследования из опыта животных выводили путем инсуффляции летальной дозы паров хлороформа. Кусочки ткани фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, обезжовивали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори.

Для иммуногистохимических исследований парафиновые срезы толщиной 4 мкм окрашивали с помощью иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond™ (Германия). В качестве первичного антитела применяли: CD 68 в разведении 1:300 (клон ED1), Gfap в разведении 1:300 (клон 2E1), Vcl-2, (Santa Cruz Biotechnology, США). Для окрашивания использовали непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND (Novocastra™, Германия).

Для электронномикроскопического исследования кусочки тканей того же локуса фиксировали в 2,5%-м растворе глутаральдегида, приготовленного на какодилатном буфере (pH 7,2–7,4) с дофиксацией в 1%-м растворе OsO<sub>4</sub> на том же буфере. Материал обезжовивали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон-812 по общепринятой методике. С целью выбора необходимого участка для исследования предва-



**Рис. 1.** Биологически активные точки. 5- Да-чжуй, 7 – Синь-шу, 8- Ге-шу, 13- Хуань-тяо, 14- Чан-цянь, 15- Ян-лин-цюань, 20- Шэнь-май, 30- Вай-гуань, 33- Чжоу-ляо [13].

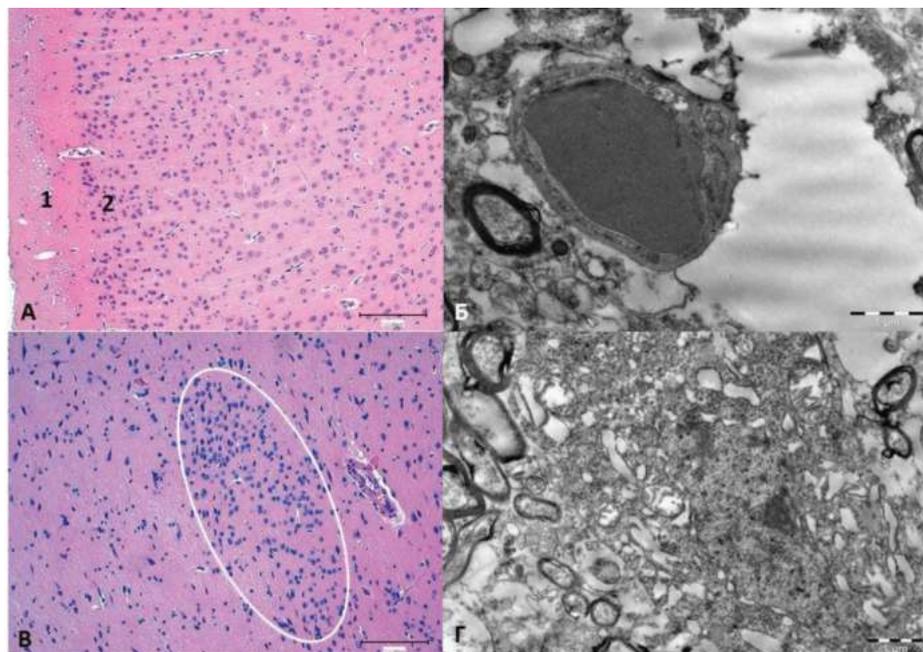
**Fig. 1.** Biologically active points. 5- Da-zhui, 7 – Hsin-shu, 8- Ge-shu, 13- Huan-tiao, 14- Chang-ch'ien, 15- Yang-ling-quan, 20- Shen-may, 30- Wai-guan, 33- Zhou-liao [13].

рительно готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм и окрашивали их толуидиновым синим на 2,5%-м растворе безводной соды. Использовали ультратом EM UC 7 (Leica, Германия), трансмиссионный микроскоп JEM-1011 (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Подсчет клеток производили в 20-и полях зрения каждого образца ( $n=3$ ). Исследование и визуализацию препаратов проводили с использованием микроскопа Leica DMD 108 (Германия). С целью определения синапсов на ультраструктурном уровне при увеличении  $\times 10\,000$  проводили их подсчет на 30-40 полях зрения. Использовали непараметрические методы – ранговый дисперсионный анализ по Краскелу–Уоллесу для общей оценки изменчивости числа клеток: медиана (Me) и квартили (Q1–25 %; Q3–75 %) и критерий Манна–Уитни для сравнения результатов отдельных сроков наблюдения внутри одной серии опытов или между ними [14]. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Использовали статистический пакет программ Statistica 10,0.

## Результаты

Через 5 сут после акупунктурного введения физ. раствора в неокортексе прослеживались только I и II слои. III, IV, V и VI четко между собой не дифференцировались (рис. 2, А). Отмечалось снижение количества пирамидальных клеток в III и V слоях коры головного мозга. В клетках наружного зернистого слоя отмечался пикноз ядер и сморщивание нейроцитов, а также периваскулярный и перичеселлюлярный отек. Возле гемокapилляров наблюдалось резкое расширение концевых ножек астроцитов. Сама базальная мембрана была без явных нарушений: гомогенная, плотная, четко очерченная (рис. 2, Б). В нервной ткани выявлялись зоны концентраций глиальных клеток – глиальные рубцы, характеризующиеся скоплениями астроцитов. Выявлялись клетки – тени, активация микроглиоцитов, которые часто контактировали с нейроцитами, среди которых часто определялись гиперхромные клетки (рис. 2, В). Ядра были с изрезанными краями, определялось ядрышко, локализованное эксцентрично.



**Рис. 2.** Структура нервной ткани коры головного мозга предцентральной извилины после вынужденного плавания и акупунктурного введения физ. раствора через 5 сут. А – дезорганизация слоев нервных клеток; 1 – молекулярный слой; 2 – наружный зернистый слой. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$ . Б – отек перикапиллярного пространства. Электроннограмма.  $\times 8000$ . В – глиальные рубцы. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$ . Г – гиперхромная нервная клетка.  $\times 10\,000$ . Электроннограмма.

**Fig. 2.** The structure of the nervous tissue of the cerebral cortex of the precentral gyrus after forced swimming and acupuncture injection of physical solution after 5 days. А – disorganization of layers of nerve cells 1 – molecular layer; 2 – outer granular layer.  $\times 200$ . Stained with hematoxylin and eosin. В – edema of the pericapillary space.  $\times 8000$  Electronogram. С – glial scars Stained with hematoxylin and eosin.  $\times 200$  D – hyperchromic nerve cell.  $\times 10\,000$ . Electronogram.

Хроматин в виде глыбок распределялся в кариоплазме. В цитозоле обнаруживались признаки перенапряжения и деструкции пластинчатых органелл: гипертрофия и вакуолизация комплекса Гольджи, резкое расширение каналов гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР), мультивезикулярные тельца, многочисленные везикулы и вакуоли, лизосомы. Митохондрии были округлые, увеличены в размерах, кристы разрушены, митохондриальный матрикс просветлен. Рибосомы в виде полисом определялись мозаично наряду с участками хроматолиза. В нейропиле наблюдались вакуоли, профили миелинизированных нервных волокон были разволокнены (рис. 2, Г).

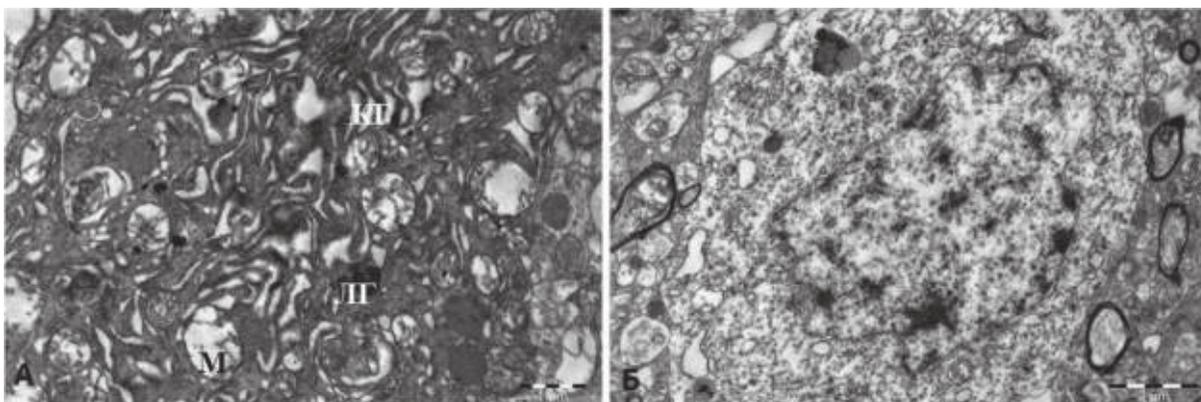
Спустя 21 сут в нервной ткани коры головного мозга по-прежнему определялись признаки дезорганизации архитектоники слоев нервных клеток. Они характеризовались пикнотически измененными нейронами во внутреннем пирамидальном слое. В гемокapиллярах обнаруживались признаки стаза эритроцитов. Периваскулярные пространства были умеренно расширены. Микроглиоциты находились в тесном контакте с лизированными клетками Беца и возле кровеносных сосудов. Нейропил определялся со сниженной численностью синапсов. Гиперхромные нейроны находились в состоянии декомпенсации. Цистерны комплекса Гольджи были удлиненные, гиперплазированы. Митохондрии набухшие, кристы тотально разрушены, митохондриальный матрикс просветлен. Каналы ГЭР резко расширены. Гладкий эндоплазматический ретикулум гипертрофирован, определялся в виде удлиненных расширенных каналов.

В цитозоле рибосомы распылены, розетки отсутствовали. Выявлялись многочисленные фагосомы, остаточные тельца, липофусциновые включения (рис. 3, А).

Гипохромные нейроны характеризовались просветленной цитоплазмой, в которой определялись полисомы и свободные рибосомы, липофусциновые гранулы, мультивезикулярные тельца. Митохондрии определялись набухшие, с частичным лизисом крист. Короткие каналы ГЭР расширены. Ядра имели изрезанные границы, содержали эухроматин, гетерохроматин конденсировался глыбками (рис. 3, Б).

Через 5 сут после акупунктурного введения БМА в коре головного мозга крыс четко прослеживались все 6 слоев нейроцитов. Все клетки имели типичное строение. Клетки Беца содержали удлиненные отростки, радиально направленные к эпендиму, имели крупную пирамидальную форму (рис. 4, А). Нейропил был плотный, гемокapилляры без особенностей. Гемокapилляры определялись с признаками умеренного периваскулярного отека за счет расширения концевых ножек астроцитов. Базальная мембрана также была с размытыми контурами, набухшая. Миелинизированные оболочки профилей нервных клеток были плотные, осмиофильные (рис. 4, Б).

Выявлялись нормохромные нейроны, имеющие типичную структуру с признаками функциональной активации. В цитоплазме выявлялись полиморфные митохондрии от крупных вытянутых до мелких округлых. Кристы ламеллярные, параллельно ориентированы. Комплекс Гольджи гипертрофирован, развит везикулярный аппарат, каналы ГЭР укорочены, рас-



**Рис. 3.** Нейроны в коре головного мозга предцентральной извилины крысы после вынужденного плавания и акупунктурного введения физ. раствора через 21 сут. А – гиперхромные нейроны в состоянии декомпенсации КГ – комплекс Гольджи, М – митохондрии, ЛГ – липофусциновые гранулы. × 8000. Б – гипохромный пирамидальный нейронит. × 10 000. Электронограммы.

**Fig. 3.** Neurocytes in the cerebral cortex of the precentral gyrus of the rat after forced swimming and acupuncture administration of physical solution after 21 days. А – hyperchromic neurocytes in a state of decompensation CG – Golgi complex, M – mitochondria, LH – lipofuscin granules. × 8000. В – hypochromic pyramidal neurocyte. × 10 000. Electronograms.

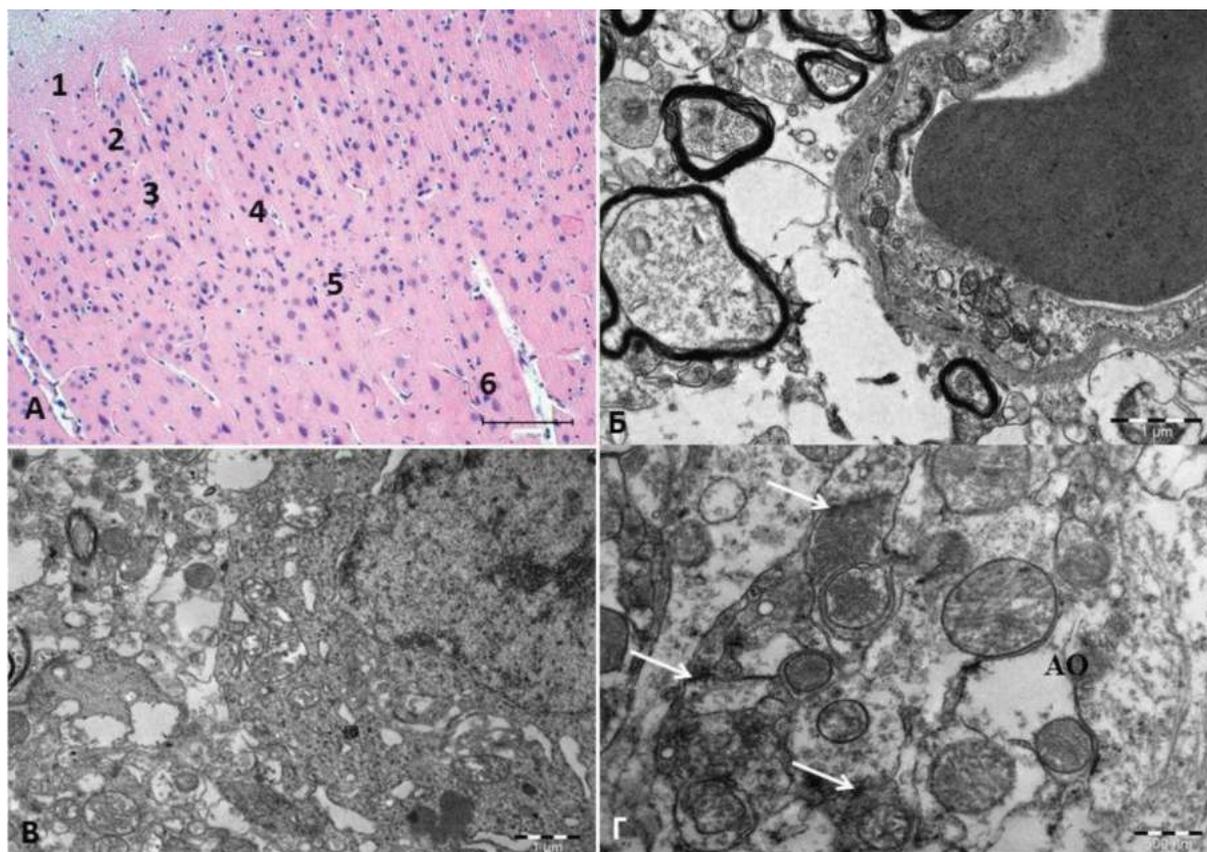
ширены. Цитозоль заполнен полирибосомами, встречались липофусциновые гранулы. Крупное ядро содержало эухроматин и ядрышко (рис. 4, В).

В нейропиле наблюдалось большое количество синапсов, окончания аксонов содержали значительное количество синаптических пузырьков [15] (рис. 4, Г).

Спустя 21 сут определялись все 6 слоев нейроцитов. Крупные пирамидальные клетки Беца имели длинные отростки. Цитоплазма содержала базофильные рибосомальные гранулы. Выявлялись единичные клетки – тени (рис. 5, А). Нейропил плотный. В нем были хорошо выражены многочисленные синапсы с большим количеством четко контурированных синаптических пузырьков. Компактные осмиофильные миелиновые оболочки охватывали аксоны нервных клеток. В ге-

мокапиллярах головного мозга периваскулярное пространство было без особенностей. Выявлялись олигодендроциты в непосредственном плотном контакте с базальной мембраной гемокapилляров. Структура макроглиальных клеток была с признаками морфо-функциональной активации (рис. 5, Б).

При иммуногистохимическом исследовании на пятый день наблюдения в основной и контрольной группах количество GFAP<sup>+</sup> клеток оказалось незначимо ( $Z=0,58, p>0,56$ ). На 21-е сут в основной группе уровень численности GFAP-клеток, оказался значительно ниже, чем в контрольной группе  $Z=4,52 (p<0,0001)$ . В основной группе на 5- и 21-е сут наблюдения численность Vcl-2<sup>+</sup> клеток оказалась значительно выше, чем в контрольной группе ( $Z=3,5 \div Z=4,25, p<0,0005 \div$



**Рис. 4.** Строение коры головного мозга предцентральной извилины крысы после вынужденного плавания и акупунктурного введения БМА через 5 сут. А – слои коры: 1 – молекулярный слой; 2 – наружный зернистый слой; 3 – наружный пирамидный слой; 4 – внутренний зернистый слой; 5 – внутренний пирамидный слой; 6) полиморфный слой. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$ . Б – умеренный периваскулярный отек.  $\times 12\ 000$ . В – нормохромный нейроцит.  $\times 8000$ . Г – синапсы аксонных окончаний (АО), уплотнение синаптической мембраны (↑).  $\times 8000$ . Электронограмма.

**Fig. 4.** The structure of the cerebral cortex of the precentral gyrus of a rat after forced swimming and acupuncture administration of BMA after 5 days. А – layers of the cortex: 1 – molecular layer; 2 – outer granular layer; 3 – outer pyramidal layer; 4 – inner granular layer; 5 – inner pyramidal layer; 6 – polymorphic layer. stained with hematoxylin and eosin.  $\times 200$ . б – moderate perivascular edema.  $\times 12\ 000$ . с – normochromic neurocyte.  $\times 8000$ . д – synapses ao – axon ending, (↑) – compaction of the synaptic membrane.  $\times 8000$ . electronogram.

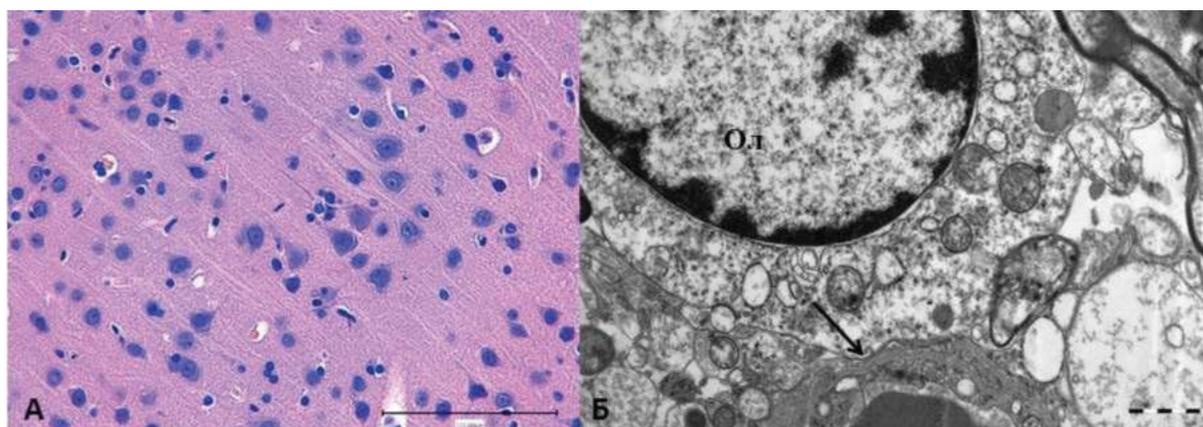
$p < 0,0001$ ). На 21-е сут внутригрупповые изменения численности Vcl-2<sup>+</sup> клеток в основной группе были незначительными ( $Z=0,28$ ,  $p > 0,79$ ). На пятый день в основной группе численность CD-68<sup>+</sup> клеток оказалась значимо ( $p < 0,004$  и менее) выше, чем в контрольной группе, на 21-й день в основной группе численность CD-68<sup>+</sup> клеток значимо возросла ( $Z=5$ ,  $p < 0,0001$ ), а в контрольной группе существенных и значимых изменений не произошло, следовательно, превышение численности CD 68 клеток основной группы над контрольной стало еще более контрастным и значимым ( $Z=5,49 \div Z=5,83$ ,  $p < 0,0001$ ).

Численность клеток-теней в основной и контрольной группах на пятый день значимо не различалась ( $Z=0,6$ ,  $p > 0,54$ ). Через 21 сут численность клеток-теней в основной группе существенно и значимо снизилась ( $Z=5,4$ ;  $p < 0,0001$ ) и оказалась кратно и значимо

( $Z=5,56 \div Z=5,68$ ,  $p < 0,0001$ ) ниже, чем в контрольной группе. Количество синапсов в нейропиле в основных группах как через 5, так и через 21 сут было достоверно выше, чем в контрольных группах ( $Z=5,51 \div Z=5,73$ ,  $p < 0,001$ ). Причем, со временем численность синапсов в полях зрения в контрольных группах снижалась на два порядка ( $Z=5,3$ ;  $p < 0,02$ ) (см. табл.).

### Обсуждение

Природой аллогенного биоматериала служит волокнистая соединительная ткань, лишенная клеточных элементов и состоящая преимущественно из зрелых коллагеновых волокон I типа и связанных с ним протеогликанов, гликопротеинов, гликозаминогликанов: гиалуроновой кислоты, гепаран-, дерматан- и кератансульфата. Их дозированная экстракция, которая в начальные сроки происходит при биодеградации транс-



**Рис. 5.** Нейропил в коре головного мозга предцентральной извилины крысы после вынужденного плавания и акупунктурного введения БМА через 21 сут. А – клетки Беца. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 400$ . Б – олигодендроцит (Ол) в контакте с гемокapилляром.  $\times 8000$ . Электронограмма.

**Fig. 5.** Neuropile in the cerebral cortex of the precentral gyrus of a rat after forced swimming and acupuncture administration of BMA after 21 days. А – betz cells. Stained with hematoxylin and eosin.  $\times 400$ . В – oligodendrocyte (Ol) in contact with the hemocapillary.  $\times 8000$ . Electronogram.

#### Уровень численности GFAP<sup>+</sup>, Vcl-2<sup>+</sup>, CD-68<sup>+</sup> клеток, клеток теней и синапсов на 5-й и 21-й дни наблюдения. (Me= Q1–25%; Q3–75%)

#### The number of GFAP<sup>+</sup>, Vcl-2<sup>+</sup>, CD-68<sup>+</sup> cells, shadow cells and synapses on the 5<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> days of observation. (Me= Q1–25%; Q3–75%)

Численность клеток Number of cells	GFAP <sup>+</sup> GFAP+	Vcl-2 <sup>+</sup> Vcl-2+	CD-68 <sup>+</sup> CD-68+	клетки тени shadow cells	количество синапсов number of synapses
Основная группа (5-й дней) Main group (5th days)	Me=17 (15; 18)	Me=32 (29; 33)	Me=1,5 (1; 3)	Me=13 (11; 17)	Me=8,2 (5; 15)
Основная группа (21-й день) Main group (21st days)	Me=8 (6; 10)	Me=33 (29; 35)	Me=4 (3; 5)	Me=6 (4; 6)	Me=6,6 (4; 9)
Контрольная группа (5-й день) Control group (5th day)	Me=19 (15; 28)	Me=14,5 (12; 25)	Me=0,5 (0; 2)	Me=14 (12; 14)	Me=6,7 (3; 12)
Контрольная группа (21-й день) Control group (21st day)	Me=16 (14; 17)	Me=4 (4; 5)	Me=1 (0; 2)	Me=13,5 (13; 15)	Me=3,3 (1; 7)

плантата, осуществляется за счет макрофагов. В последующем сами макрофаги начинают секретировать гликозаминогликаны, привлекая фибробласты и регулируя их активность [16, 17]. Для выбора биологически активных точек учитывалось влияние на общее укрепление организма, активизации скелетной мускулатуры конечностей и сердца.

Известно, что выбранный тест принудительного плавания оказывает воздействие на неокортекс, избирательно изменяя морфологию дендритных нейронов и ухудшая их связность, уменьшая количество и объём постсинаптической плотности. В нейронах снижается количество митохондрий, нарушается их целостность, эндоплазматический ретикулум становится менее обильным, редуцируется [18]. Кроме того, подобный длительный стресс вызывает ряд морфологических изменений в клетках микроглии, экспрессирующих CD68, что свидетельствует о функциональной и морфологической активации этой клеточной популяции и рассматривается как развитие воспаления [19]. Гипоксия головного мозга, вызванная анаэробными условиями данного теста, может способствовать гипергидратации нейропиля, разрушению аксональных терминалей, редукции синапсов, реактивному глиозу [20].

В нашем исследовании патоморфологические изменения нервной ткани головного мозга в контрольной группе в ранние сроки характеризовались дезорганизацией слоев нервных клеток в коре, активацией астроглии взамен утраченных нейроцитов. Отмечались признаки отека клеток и периваскулярных пространств, нейропиля. Вакуолизация органелл, декомпенсация и как следствие – хроматолиз, редукция синаптического аппарата накопление липофусциновых гранул – пигмента старения. Данные признаки, включая дезорганизацию клеток, сохранялись на протяжении 21 сут.

Астроциты имеют высокий уровень экспрессии GFAP, который стал одним из наиболее часто используемых для них маркеров. Они способны генерировать распространяющиеся кальциевые сигналы и высвобождать глиотрансмиттеры, обладают функциональной и морфологической пластичностью [21]. Если в начальные сроки численность GFAP<sup>+</sup> клеток в обеих экспериментальных группах радикально не отличалась друг от друга, то через 21 сут количество астроцитов коррелировало и находилось в прямой зависимости с численностью клеток-теней. Это позволяет судить о компенсаторном разрастании отростков глии и увеличении численности самих перикарионов в связи с утратой нейроцитов, которое нарастало со временем. Роль астроглиоза противоречива. С одной стороны,

известно, что гиперэкспрессия GFAP обнаруживается при большинстве патологических состояний ЦНС, таких как ишемическом и травматическом повреждении мозга, воспалительных процессах, эпилепсии, нейродегенерации. Считается, что ответ астроцитов на действие патологических факторов является неспецифическим и интенсивность экспрессии GFAP зависит от силы и длительности воздействия повреждающих факторов, а не от их природы [22]. С другой стороны, активированные астроциты, образуя подобие защитного вала и формируя глиальный рубец, отграничивают жизнеспособную мозговую ткань от зоны повреждения и препятствуют распространению патологического процесса. Образование астроцитарного рубца, которое наблюдается в контрольной группе, может происходить как за счет миграции клеток к очагу поражения из пролиферативных зон, так и за счет пролиферации имеющихся астроцитов. Известна их токсическая роль на олигодендроциты за счет продуцирования провоспалительных цитокинов (IL-1, IL6, TNF- $\alpha$ ), что может способствовать процессам демиелинизации [23]. В данном исследовании наличие глиальных рубцов, скоплений астроцитов коррелирует с разволокнением миелиновых оболочек аксонов в контрольной группе. В организации дренажных систем мозга глиальные клетки принимают непосредственное участие [24]. Периваскулярные отеки за счет расширения концевых ножек астроцитов в контрольной группе свидетельствуют о декомпенсации и истощении резервных возможностей организма, вызванных изнуряющей физической нагрузкой.

Vcl-2 является тормозным регулятором апоптоза в головном мозге после ишемического и травматического повреждения и является промотором выживания нервных клеток [25–27]. В опытной группе в условиях применения БМА количество Vcl-2<sup>+</sup> клеток в коре головного мозгакратно превышало численность данных клеток контрольной, как в начальные сроки, так и в отдаленный период.

Микроглия является одним из основных морфологических маркеров состояния мозговых формаций при различных патологиях и экспериментальных воздействиях. Также, микроглиальные клетки принимают участие в регуляции процессов образования новых нейронов, изменения их физиологической активности, синаптической пластичности и апоптоза [28, 29]. В условиях применения БМА микроглиальные клетки CD68<sup>+</sup> несколько превышали их численность в контрольных группах во весь срок наблюдения. Возможно, паттерн изменений согласуется с динамикой местного регионального воздействия в периферических зо-

нах — тканях и органах, где уровень макрофагальной активности превышает значения контрольных групп [30]. Известно, что в области инъекции БМА в субдермальном слое выявляется длительная паравазальная инфильтрация, где доминируют макрофаги. Также определен пролонгированный характер сосудистых реакций, где процессы ангиогенеза в биоматериале коррелируют с динамикой клеточных реакций, резорбцией его волокнистого матрикса. Следовательно, можно судить о пролонгированных морфогенетических процессах в биологически активной точке [6].

Фармакопунктура с применением различных биологически активных веществ — активно используемый метод рефлексотерапии. При активации биологически активных точек клетки инфильтрата (тканевые базофилы, макрофаги, эозинофилы и др.), выделяя комплекс медиаторов боли и воспаления, воздействуют на локальный рецепторный аппарат, включая рецепторы кровеносных сосудов. Затем включается многозвеньевая передача информации при участии нервной, эндокринной и иммунной систем. Очевидно, что данные процессы соподчинены согласно принципу саморегуляции в соответствии с теорией функциональных систем [31]. Описанная динамика клеточных и сосудистых реакций при введении биоматериалов в акупунктурные точки вписывается в современную концепцию фармакотерапии [32].

### Заключение

В целом, изменения клеток после изнуряющей физической нагрузки в нервной ткани коры головного мозга на ультраструктурном уровне можно условно разделить на деструктивные, отражающие функциональные нарушения, и адаптационные, направленные на поддержание специфической морфофункциональной активности нервной системы.

Данные морфофункциональные изменения в контрольной группе можно расценивать по совокупности факторов как деструктивные изменения необратимого характера, о чем свидетельствует реактивный глиоз, отек нейропиля, перинуклеарных и периваскулярных пространств, редукция синаптического аппарата, усиление хроматолиза нейроцитов, снижение уровня ингибитора апоптоза Bcl-2<sup>+</sup> в клетках.

Наши исследования показали, что акупунктурное воздействие с применением аллогенного биоматериала тесно связано с регуляцией нейрогенеза, синаптической пластичностью и выживаемостью нейронов. Нейропротекторные свойства при однократном воздействии БМА выражаются в восстановлении архитектоники слоев нервных клеток неокортекса, увели-

чении численности синапсов, микроглиальных клеток (CD-68<sup>+</sup>), Bcl-2<sup>+</sup> клеток, снижении количества клеток теней и GFAP<sup>+</sup> клеток, восстановлении нейроваскулярной единицы, обеспечивающего работу гематоэнцефалического барьера.

### Литература

#### (п.п. 2; 4; 9; 12; 18; 19; 21; 23–27 см. References)

1. Гордон Н.Ф. *Хроническое утомление и двигательная активность*. Киев: Олимпийская литература; 1999.
3. Кроткова О.С. Люминесцентно-морфологическая характеристика селезенки крыс в разные сроки после иголукалывания. *Современные наукоемкие технологии*. 2009; 11: 128-36.
5. Мулдашев Э.Р., Муслимов С.А., Галимова В.У., Нигматуллин Р.Ф., Захваткина К.А., Мусина Л.А. и др. *Биологические основы применения биоматериалов Аллоплант в регенеративной хирургии в кн. Alloplant® Регенеративная медицина*. Под ред. Э.Р. Мулдашева. Уфа: ГУП Государственное республиканское издательство «Башкортостан»; 2014: 30-42.
6. Мулдашев Э.Р., Галимова В.У., Галиахметов Р.Ф., Кирилличев А.И., Апрельев А.Е., Нигматуллин Р.Т. Морфологические аспекты фармакопунктуры с использованием биоматериалов. *Морфологические ведомости*. 2007; 3-4: 128-30.
7. Апрельев А.Е. Эффективность применения фармакопунктуры биоматериалом «Аллоплант» в комплексном лечении пациентов с миопией в отдаленном периоде. *Современная оптометрия*. 2011; 2(42): 12-4.
8. Мирхайдаров Р.Ш. Опыт применения биоматериала аллоплант при хроническом вирусном гепатите на поликлиническом этапе реабилитации. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2021; 98(3-2): 126-7.
10. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. *Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма*. Челябинск: Изд-во ЧГПУ; 2000.
11. Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Деньгина С.Е., Станкова Н.В. Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов. *Биомедицина*. 2011; 1: 72-4.
13. Белоусов П.В. *Акупунктурные точки китайской чжэньцзю-терапии*. Алматы: 2004. ISBN 9965-9452-5-X
14. Реброва О.Ю. *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA*. М.: Медиа Сфера; 2002.
15. Питерс А., Палей С., Уэбстер Г. *Ультраструктура нервной системы*. М.: Мир. 1972.
16. Лебедева А.И. Регуляция паренхиматозно-стромальных взаимоотношений при коррекции дефектов скелетной мышцы аллогенным биоматериалом. *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология*. 2014; 1: 51-6.
17. Шангина О.Р., Хасанов Р.А., Кадыров Р.З., Родионов О.В., Мусина Л.А. Биоматериал для хирургии и способ его получения. *Патент на изобретение 2780831 С1, 04.10.2022*. Заявка № 2021113799 от 17.05.2021

20. Степанов С.С., Макарьева Л.М., Акулинин В.А., Коржук М.С., Шоронова А.Ю., Авдеев Д.Б. и др. Сопоставление иммуногистохимического и ультраструктурного изучения реакции аксональных терминалей сенсорной коры белых крыс на перевязку общих сонных артерий. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2022; 11(3): 65–74. doi.org/10.18499/2225-7357-2022-11-3-65-74
22. Горбачёва Л.Р., Помыткин И.А., Сурин А.М., Абрамов Е.А., Пинелис В.Г. Астроциты и их роль в патологии центральной нервной системы. *Российский педиатрический журнал*. 2018; 21(1): 46–53. https://doi.org/10.18821/1560-9561-2018-21-1-46-53
28. Синякин И.А., Баталова Т.А. Микроглия как ключевой компонент регуляции синаптической активности. *Научное обозрение. Биологические науки*. 2020; 4: 53–8. URL: https://science-biology.ru/ru/article/view?id=1215 (дата обращения: 13.02.2023).
29. Алексеева О.С., Кирик О.В., Гилерович Е.Г., Коржевский Д.Э. Микроглия головного мозга: происхождение, структура и функции. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2019; 55(4): 231–41.
30. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С. Роль макрофагов в регенерации мышечных тканей, индуцированных аллогенным биоматериалом. *Российский иммунологический журнал*. 2019; 13(22): 849–51.
31. Судаков К.В. *Общая теория функциональных систем*. М.: Медицина; 1984.
32. Зилов В.Г., Судаков К.В., Эпштейн О.И. *Элементы информационной биологии и медицины*. М.: МГУЛ; 2000.
1. Gordon N.F. *Chronic fatigue and physical activity. [Hronicheskoe utomlenie i dvigatel'naya aktivnost']*. Kiev: Olimpiyskaya literatura 1999. (in Russian)
2. Cabýoglu M.T., Ergene N., Tan U. The mechanism of acupuncture and clinical applications. *International Journal of Neuroscience*. 2006; 116(2): 115–25. doi: 10.1080/00207450500341472
3. Krotkova O.S. Luminescent-morphological characteristics of the spleen of rats in different rats at different time periods after acupuncture. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2009; 11: 128–36. (in Russian)
4. Han J.S. Acupuncture and endorphins. *Neuroscience Letters*. 2004; 361(1-3): 258–61. doi: 10.1016/j.neulet.2003.12.019
5. Muldashev E.R., Muslimov S.A., Galimova V.U., Nigmatullin R.F., Zahvatkina K.A., Musina L.A., et al. *Biological bases for the use of Alloplant biomaterials in regenerative surgery in the book. Alloplant® Regenerative medicine. [Biologicheskie osnovy primeneniya biomaterialov Alloplant v regenerativnoy khirurgii v kn. Alloplant® Regenerativnaya meditsina]*. Ed. E.R. Muldashev. Ufa: GUP Gosudarstvennoe respublikanskoe izdatel'stvo «Bashkortostan» 2014: 30–42. (in Russian)
6. Muldashev E.R., Galimova V.U., Galiakhmetov R.F., Kirillichev A.I., Aprelev A.E., Nigmatullin R.T. Morphological aspects of pharmacopuncture using biomaterials. *Morfologicheskie vedomosti*. 2007; 3-4: 128–30. (in Russian)
7. Aprelev A.E. Efficiency of using pharmacopuncture with Alloplant biomaterial in the complex treatment of patients with myopia in the long-term period. *Sovremennaya optometriya*. 2011; 2(42): 12–4. (in Russian)
8. Mirkhaydarov R.Sh. Experience in the use of alloplant biomaterial in chronic viral hepatitis C at the outpatient stage of rehabilitation. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoy fizicheskoy kul'tury*. 2021; 98(3–2): 126–7. (in Russian)
9. Porsolt R.D., Anton G., Blavet N., Jalfre M. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment. *European Journal of Pharmacology*. 1978; 47(4): 379–91. doi: 10.1016/0014-2999(78)90118-8
10. Volchegorsky I.A., Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L., Tseylikman V.E. *Experimental modeling and laboratory assessment of adaptive reactions of the body. [Eksperimental'noe modelirovanie i laboratornaya otsenka adaptivnykh reaktsiy organizma]*. Chelyabinsk: Izd-vo CHG-PU; 2000. (in Russian)
11. Karkishchenko V.N., Kapanadze G.D., Denginina S.E., Stankova N.V. Development of a methodology for assessing the physical endurance of small laboratory animals to study the adaptogenic activity of certain drugs. *Biomeditsina*. 2011; 1: 72–4. (in Russian)
12. Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Gareev E.M., Popov S.V., Afanas'ev S.A., Kondrat'eva D.S. Experimental cardiomyogenesis under conditions of administration of different doses of the allogeneic biomaterial. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018; 165(6): 753–6.
13. Belousov P.V. *Acupuncture points of Chinese Zhenjiu therapy. [Akupunkturnye tochki kitayskoy chzhen'c'zyu-terapii]*. Almaty: 2004. ISBN 9965-9452-5-X (in Russian)
14. Rebrova O.Yu. *Statistical analysis of medical data. Application of the application package STATISTICA. [Statisticheskiy analiz meditsinski-kh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA]*. Moscow: Media Sfera; 2002. (in Russian)
15. Peters A., Paley S., Webster G. *Ultrastructure of the nervous system. [Ul'trastruktura nervnoy sistemy]*. Moscow: Mir; 1972. (in Russian)
16. Lebedeva A.I. Regulation of parenchymal-stromal relationships in the correction of skeletal muscle defects with allogeneic biomaterial. *Eksperimental'naya i klinicheskaya dermatokosmetologiya*. 2014; 1: 51–6. (in Russian)
17. Shangina O.R., Khasanov R.A., Kadyrov R.Z., Rodionov O.V., Musina L.A. *Biomaterial for surgery and method for its production. [Biomaterial dlya khirurgii i sposob ego polucheniya]*. Patent for invention 2780831 C1, 04.10.2022. Application No. 2021113799 dated 05/17/2021 (in Russian)
18. Xie X., Chen Y., Ma L., Shen Q., Huang L., Zhao B., et al. Major depressive disorder mediates accelerated aging in rats subjected to chronic mild stress. *Behavioural Brain Research*. 2017; 329: 96–103. doi:10.1016/j.bbr.2017.04.022
19. Llorens-Martín M., Jurado-Arjona J., Bolós M., Pallas-Bazarra N., Ávila J. Forced swimming sabotages the morphological and synaptic maturation of newborn granule neurons and triggers a unique pro-inflammatory milieu in the hippocampus. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2016; 53: 242–54. doi:10.1016/j.bbi.2015.12.019
20. Stepanov S.S., Makarieva L.M., Akulinin V.A., Korzhuk M.S., Shoronoova A.Yu., Avdееv D.B., et al. Comparison of immunohistochemical and ultrastructural study of the response of axonal terminals of the sensorimotor cortex of white rats to ligation of the common carotid arteries. *Zhurnal anatomii i gistopatologii*. 2022; 11(3): 65–74. https://doi.org/10.18499/2225-7357-2022-11-3-65-74 (in Russian)
21. Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000) *Neurochemical Research*. 2000; 25(9–10): 1439–51.
22. Gorbacheva L.R., Pomytkin I.A., Surin A.M., Abramov E.A., Pinelis V.G. Astrocytes and their role in the pathology of the central nervous system. *Rossiyskiy peditricheskii zhurnal*. 2018; 21(1): 46–53. https://doi.org/10.18821/1560-9561-2018-21-1-46-53 (in Russian)

References

23. Sofroniew M.V. Astrogliosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2015; 7(2): a020420. doi: 10.1101/cshperspect.a020420
24. Sofroniew M.V., Vinters H.V. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathologica*. 2010; 119: 7–35.
25. Tsujimoto Y., Finger L.R., Yunis J., Nowell P.C., Croce C.M. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science* 1984; 226: 1097–9.
26. Cleary M.L., Smith S.D., Sklar J. Cloning and structural analysis of cDNAs for bcl-2 and a hybrid bcl-2/immunoglobulin transcript resulting from the t(14;18) translocation. *Cell*. 1986; 47: 19–28.
27. Lindsten T., Zong W.X., Thompson C.B. Defining the role of the Bcl-2 family of proteins in the nervous system. *Neuroscientist*. 2005; 11(1): 10-5. doi: 10.1177/1073858404269267
28. Sinyakin I.A., Batalova T.A. Microglia as a key component in the regulation of synaptic activity. *Nauchnoe obozrenie. Biologicheskie nauki*. 2020; 4: 53-8. (in Russian)
29. Alekseeva O.S., Kirik O.V., Gilerovich E.G., Korzhevsky D.E. Brain microglia: origin, structure and functions. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii*. 2019; 55(4): 231–41. (in Russian)
30. Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Afanasiev S.A., Kondratieva D.S. The role of macrophages in the regeneration of muscle tissues induced by allogeneic biomaterial. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal*. 2019; 13(22): 849-51. (in Russian)
31. Sudakov K.V. *General theory of functional systems. [Obshchaya teoriya funktsional'nykh sistem]*. Moscow: Meditsina. 1984. (in Russian)
32. Zilov V.G., Sudakov K.V., Epstein O.I. *Elements of information biology and medicine. [Elementy informatsionnoy biologii i meditsiny]*. Moscow: MGUL; 2000. (in Russian)

**Сведения об авторах:**

**Лебедева Анна Ивановна**, доктор биол. наук, ст. науч. сотр., и.о. зав. научно-исследовательским отделом морфологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии»;

**Гареев Евгений Мусинович**, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела нейрофизиологии ФГБУ ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии»;

**Дусалимова Айгуль Маратовна**, врач-невролог отд-ния восстановительной медицины ФГБУ ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии»;

**Кадыров Радик Завилович**, доктор мед. наук, зам. директора по лечебной работе, врач-офтальмолог ФГБУ ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии»;

**Мусина Ляля Ахияровна**, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. научно-исследовательского отдела морфологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии»;

**Галаутдинов Марс Фларитович**, мл. науч. сотр. Института фундаментальной медицины ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;

**Терегулов Ильдар Ильшатович**, мл. науч. сотр. научно-морфологической лаб. Института фундаментальной медицины ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.