

УДК 619:616.831-005.4:636.028

МОРФОЛОГИЯ ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ СРЕДНЕГО МОЗГА КРЫС НА ФОНЕ ПЕРЕНОСЕННОЙ ТРАНЗИТОРНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Вольхин И.А.

ФГБОУ ВПО «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия»,
Ижевск, e-mail: info@izhgsha.ru

Проведен анализ строения черной субстанции среднего мозга пятидесяти шести белых лабораторных крыс линии *Wistar*, самцов 6 месяцев постнатального онтогенеза, после острой, транзиторной, билатеральной окклюзии общих сонных артерий на 3, 7, 14, 30, 60 суток после проведенного эксперимента. В ходе исследований цитоархитектонической организации черной субстанции белых крыс рассмотрены их микроанатомические, гистологические особенности в различных зонах ядерного центра. Показана взаимосвязь нейроархитектонической и глиоархитектонической особенности организации ядра. Выведена существенная динамика морфологических ответов в виде усиления экспрессии каспазы-3, при проведении иммуногистохимического исследования, морфологических проявлений апоптозов, нейронофагии, проявлений диффузного глиоза. Эти ответы, по-видимому, связаны с проявлениями деафферентации на фоне повреждения мозга в бассейне передней и средней мозговых артерий.

Ключевые слова: средний мозг, черная субстанция, острая транзиторная ишемия

THE MORPHOLOGY OF THE BLACK SUBSTANCE SREDNEGO RAT BRAIN AGAINST THE BACKGROUND PRESENOL TRANZITORNAYA ARTERIAL ISCHEMIA

Volkhin I.A.

Izhevsk State Agricultural Academy, Izhevsk, e-mail: info@izhgsha.ru

The analysis of the structure of the substantia nigra of the midbrain and fifty-six white laboratory Wistar rats, males 6 months of postnatal ontogenesis, after acute, transient, bilateral occlusion of the common carotid artery at 3, 7, 14, 30, 60 days after the experiment. Studies cytoarchitectonic organization of the substantia nigra albino rats examined their microanatomical, histological features in various areas of nuclear center. The interrelation and neuroarchitectonicheskoy glioarchitektonicheskoy features of the organization of the nucleus. Essential dynamics derived morphological responses in the form of enhancing the expression of caspase-3, during the immunohistochemical study, morphological manifestations of apoptosis, neuronophagia, manifestations of diffuse gliosis. These responses seem to be related manifestations of deafferentation on the background of brain damage in a pool of anterior and middle cerebral arteries.

Keywords: middle brain, black substance, acute transient ischemia

Нарушение сосудисто-трофического обеспечения мозга является одной из важных проблем современной неврологии (Гусев Е.И., Скворцова В.И., 2001). При анализе ответов обычно рассматриваются зоны, непосредственно подвергшиеся ишемии или прилежащие к ним участки пенумбры (Трошин В.Д., Густов А.В., 2006). Однако до настоящего времени недостаточно освещены вопросы общих острых повреждений и отдаленных последствий на фоне острых дисциркуляторных сосудистых расстройств головного мозга, не сопровождающиеся тотальным или очаговым некрозом (Grau A.J., Weimar C., Buggle F. et al., – 2001. Н.В. Верещагин, М.А. Пирадов, З.А. Суслина. 2002). Особенно интересны в этом отношении в настоящее время недостаточно исследованные центры экстрапирамидальной системы, в частности, черной субстанции (ЧС).

Цель исследования – проанализировать морфологическое строение черной суб-

станции среднего мозга крыс после острой транзиторной артериальной ишемии.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования служили 56 белых крыс-самцов 6 месяцев постнатального онтогенеза на 3, 7, 14, 30, 60 суток после транзиторной 30-минутной билатеральной окклюзии общих сонных артерий (ОСА). Острая транзиторная артериальная ишемия головного мозга согласно этой методике осуществлялась на 0,5 см проксимальнее бифуркации. Под контролем понимали животных, перенесших оперативное вмешательство без окклюзии ОСА. Вывод из опыта осуществляли через 3, 7, 14, 30, 60 суток после вмешательства. Животных оперировали и забой осуществляли под общим залетилловым наркозом в дозе препарата 50 мг/кг. Послеоперационный уход за животными и их кормление осуществлялись по стандартной методике.

Препараты окрашивали по методу Ниссля, импрегнация по Гольджи-Бюбенет, антитела к ГФКБ, каспаза-3.

Морфометрический анализ проводили согласно рекомендациям Ю.Г. Васильева, В.М. Чучкова с соавт. (2003). Статистическая обработка осуществля-

лась с помощью пакета программ «Microsoft Excel 2003». Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

На третьи сутки после ОСА основные реактивные ответы нейронов проявлялись в сморщивании перикарионов, гиперхромности цитоплазмы и ядер части клеток, особенно в ретикулярной зоне ЧС ($17,4 + 3,1\%$ в опыте, $4,1 + 0,7\%$ в контроле, $p < 0,001$). В других нервных клетках обнаруживалась вакуолизация цитоплазмы на фоне гипертрофии ядрышкового аппарата ($9,7 + 1,2\%$ в компактной зоне ЧС опыте, $0,6 + 0,2\%$ в контроле, $p < 0,01$).

Реакции глиоцитов проявлялись в виде гипертрофии ядер, повышении содержания клеток в толще ядерного центра, формировании групп из нескольких прилежащих клеток. Реакции сосудов выражались в виде проявления полнокровия, с увеличением диаметра как приносящих, так и выносящих сосудов. В единичных случаях наблюдались признаки набухания эндотелия, иммиграция лейкоцитов и периваскулярного отека. На третьи сутки наблюдалась недостоверная выборочная средняя арифметическая по всем показателям цитоархитектоники и трофического обеспечения компактной и ретикулярной зоны черной субстанции крыс.

В обоих субъядрах ЧС к 7 суткам после окклюзии ОСА ответы нервных клеток нередко выражались в виде вакуолизации, тигролиза ($15,6 + 3,1\%$ в компактной зоне, $11,7 + 2,2\%$ в ретикулярной зоне $p < 0,001$). Эти клетки нередко отличались гипертрофированным ядрышковым аппаратом. Изменения в данных клетках рассматривали как проявления защитно-компенсаторных реакций в ответ на возможную частичную деафферентацию нейронов, обусловленную снижением афферентного контроля вышележащих центров. Выявлялись также нейроны со сморщенными темными ядрами, уменьшенным объемом цитоплазмы на фоне понижения ее хроматофильности (в ретикулярной зоне ЧС $39,6 + 3,7\%$, $p < 0,001$). Наблюдаемые ответы могут быть проявлением апоптотической реакции клеток. Обнаруживались единичные нейроны с резкими проявлениями набухания, вакуолизации цитоплазмы, кариолизиса. В непосредственном окружении нередко выявлялись группы глиоцитов (астроциты, микроглия), что рассматривалось нами как проявление нейронофагии. Изучение каспазы-3 указывает на усиление проявления апоптоза на данном сроке после проведения операции.

Так имеются единичные группы по 2–4 клетки с высоким уровнем каспазы-3. У нейронов обнаруживается умеренная, либо слабая экспрессия фермента. При анализе особенностей ответов компактной и ретикулярной зоны ядра выявляется большая реактивность компактной зоны ЧС, что соответствует количественному анализу, указывающему на более высокое содержание морфологически измененных клеток в компактной зоне по сравнению с ретикулярной зоной черной субстанции. При исследовании нейроглии на 7 сутки после проведенной билатеральной окклюзии обнаруживают активные глиальные реакции в виде увеличения числа глиоцитов в толще ядерного центра, повышения хроматофильности их ядер. Часто встречающаяся деформация ядер клеток затрудняет их идентификацию на предмет популяционной принадлежности. Глиоциты иногда располагаются компактными группами вокруг тел нейронов, проявляя признаки нейронофагии. Исследование ГФКБ в указанном сроке обнаруживает сниженную экспрессию. При этом хорошо заметны глиальные муфты вокруг кровеносных сосудов. Реактивные изменения сосудистого русла в обоих субъядрах были менее заметны, но наблюдались умеренные проявления венозного застоя и полнокровия без признаков агрегации эритроцитов, сохранение структурной организации ядер эндотелия и перицитов. Проявления периваскулярного отека были малозначительны, практически не наблюдалось краевого стояния лейкоцитов и периваскулярного отека. Исследование реакции астроцитов на транзиторную артериальную ишемию обнаруживает умеренно выраженные проявления реактивных ответов в виде гипертрофии ядер некоторых клеток, смещение нейроглиального индекса в сторону нейроглии. Ядра глиоцитов нередко располагаются в виде групп по 3–5 ядер клеток. Наблюдаются пролиферативно-гипертрофические реакции отростков астроцитов в виде увеличения длины и степени ветвления отростков астроцитов при импрегнации по Гольджи. Наблюдаются редкие случаи нейронофагии, которые характерны в основном для компактной зоны ЧС. Данные проявления подтверждаются изменениями в экспрессии ГФКБ.

Структурная организация ЧС на 14 сутки у животных характеризуется положительной динамикой распределения популяций нейронов по сравнению с 7 сутками. Существенно снижается число измененных нейронов в ретикулярной зоне с проявлениями сморщивания ($25,8 + 2,4\%$ с $39,6 + 3,7\%$)

и вакуолизации ($7,8 + 1,7\%$ с $11,7 + 2,2\%$ на 7 сутки). В то же время несколько возрастает число гипертрофированных нейронов ($4,9 + 0,3\%$ по сравнению с $2,4 + 0,2\%$ на 7 сутки). Однако на этом фоне наблюдается динамическое уменьшение удельной плотности нейронов по отношению к ядру в целом. На гибель нейроцитов указывают признаки единичной нейронафагии в структуре ядра особенно в компактной зоне. Это сопровождается неравномерным распределением тел нейронов, более заметное в компактной зоне черной субстанции. Аналогичные изменения в ретикулярной зоне менее заметны, что проявляется меньшей интенсивностью морфометрических изменений в нервных клетках. Это сопровождается увеличением плотности ядер глиоцитов, как по сравнению с телами нейронов, так и в абсолютных показателях. Наряду с количественными изменениями выявляются значительные качественные перестройки в виде гипертрофии ядер астроцитов. Нередко увеличение размеров ядрышек, просветление кариоплазмы. Обнаруживается перераспределение ядер глиоцитов с образованием групп двух – трех и более ядер. Астроциты отличаются существенным разнообразием с увеличением длины отростков $84,3 + 1,2$ мкм по сравнению с $71,8 + 2,1$ мкм и степени их ветвления, существенным повышением экспрессии ГФКБ. Ясно отслеживаются астроцитарные терминалы в периваскулярных пространствах кровеносных сосудов, отличающихся значительным содержанием ГФКБ. Иногда прослеживаются признаки умеренного периваскулярного отека. Проявление венозного застоя по отношению к предыдущему сроку существенно уменьшается, что сопровождается снижением степени расширения посткапиллярных образований. Сосудисто-капиллярные сети отличаются значительным полиморфизмом распределения капиллярных сетей, нередко извитым характером капилляров.

Морфологическое строение ЧС к 30 суткам у животных характеризуется неравномерным распределением тел нейронов в компактной зоне черной субстанции. Наблюдается уменьшение плотности тел нейронов по отношению к ядру в целом. Реакции в ретикулярной зоне ЧС носят менее выраженный характер. Выявляются отдельные крупные нейроны с гипертрофированными ядрышками и крупными глыбками хроматофильного вещества цитоплазмы. Повышается морфологическое разнообразие нейронных ансамблей, выражающееся в значительном числе клеток

с более сильным развитием дендритного дерева, шипикового аппарата, нетипичной структурой форм и тел нейронов.

При исследовании нейроглии у контрольных животных в компактной зоне ЧС выявлялись пролиферативно-клеточные и гипертрофические реакции нейроглии с изменением нейро-глиального отношения в сторону повышения содержания нейроглии ($7,8 + 0,4$ ед. по сравнению с $3,6 + 0,4$ ед.). Нередко обнаруживались промежуточные формы астроцитов с увеличенной распространенностью отростков. При высокой степени их ветвления наибольшее их количество обнаруживается в ретикулярной зоне ЧС. В участках с редким расположением тел нейронов выявлялись группы астроцитов, заполняющие эти пространства, что указывало на умеренное проявление глиоза. Изменения в сосудистом русле носили преимущественно количественный характер и проявлялись в уменьшении плотности распределения сосудов в обоих субъядрах, а также деформация сосудисто-капиллярных сетей. Все это создавало картину более выраженного полиморфизма сосудисто-капиллярного кровоснабжения рассматриваемого ядра.

По сравнению с контрольными животными значительное содержание шипиков указывает на высокую напряженность синтетических процессов в ядре. Нейроны с высоким уровнем каспазы-3 встречаются в виде единичных клеток, имеется значительное число клеток со средним или низким уровнем экспрессии рассматриваемого белка. Нейро-глиальный индекс существенно ниже по сравнению с животными опытной группы. Общая организация глиоархитектоники приближается к контрольным животным.

К 60 суткам морфологическое строение ЧС у животных характеризовалось существенным снижением объемной плотности тел нейронов в компактной зоне. Что сопровождалось развитием глиального окружения. Глиоциты образовывали небольшие группы из 3–5 клеток, либо располагались одиночно, окружая тела нейронов микрососудами. Существенно повышалось разнообразие астроцитов в связи с пролиферативно-гипертрофическими ответами их отростков.

Как и в предыдущем сроке, наблюдались выраженная деформация сосудисто-капиллярных сетей, их неравномерное распределение, уменьшение удельной плотности микрососудов по сравнению с контрольными животными. Апоптотическая активность в виде повышения каспазы-3 приближалась к ложноопериро-

ванным животным. Обнаружились лишь единичные тела нейронов со значительным уровнем экспрессии каспазы-3.

Выводы

Таким образом выявлены следующие изменения в ЧС: после окклюзии ОСА выявляется снижение показателей количественного содержания тел нейронов, прогрессирующее в продолжение всего эксперимента, связанное с апоптозами и ранними аутолитическими реакциями нейронов. В поздние сроки наблюдались проявления диффузного глиоза и деформации сосудисто-капиллярных структур.

Список литературы

1. Васильев Ю.Г. Нейро-глио-сосудистые отношения в центральной нервной системе (морфологическое исследование с элементами морфометрического и математического анализа) / Ю.Г. Васильев, В.М. Чучков. – Ижевск. : Изд-во АНК. – 2003. – 164 с.
2. Варлоу Ч.П., Меннис М.С., Жван Гейн и др. Инсульт. Практическое руководство для ведения больных // Пер. с англ. – СПб. – 1998. – 629 с.
3. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. // М. -2001. – 328 с.
4. Инсульт. Принципы диагностики, лечения и профилактики / под ред. Н.В. Верещагина, М.А. Пирадова, З.А. Суслиной. -М.: Интермедика, 2002. – 208 с.
5. Трошин В.Д., Густов А.В. Острые нарушения мозгового кровообращения. – М.: Мед. информ. агентство, 2006. – 431 с.

6. Grau A.J., Weimar C., Buggle F. et al. Risk factors, outcome, and treatment in subtypes of ischemic stroke // Stroke. -2001. -Vol. 32. -P. 2559–2566.

References

1. Vasiliev Yu.G. Neuro-vascular glioma relations in the central nervous system (morphological study with elements of morphometric and mathematical analysis) Yu.G. Vasiliev, V.M. Chuchkov. – Izhevsk. Univ ANC. 2003. 164 p.
2. Warlow Ch.P., Mennis M.S., Zhvan Gagne et al Stroke. Practical guidance for the management of patients // Per. from English. SPb. 1998. 629 p.
3. Gusev E.I. Skvortsova V.I. Cerebral ischemia. // M. 2001. 328 p.
4. Insult. Principles of diagnosis, treatment and prevention / Ed. NV Vereshchagin, M.A. Piradova, Z.A. Suslina. M.: Intermedika, 2002. 208 p.
5. Troshin V.D., Gustov A.V. Acute cerebrovascular krovooobrascheniya.-M.: Honey. Inform. Agency, 2006. 431 p.
6. Grau A.J., Weimar C., Buggle F. et al. Risk factors, outcome, and treatment in subtypes of ischemic stroke // Stroke. 2001. Vol. 32. pp. 2559–2566.

Рецензенты:

Селякин С.П., д.м.н., профессор кафедры анатомии человека ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия», г. Ижевск;

Сабельников Н.Е., д.м.н., доцент кафедры анатомии человека ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия», г. Ижевск.

Работа поступила в редакцию 14.08.2014.