

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© В. Н. Сальков, Р. М. Худоевков, Д. Н. Воронков, 2016
УДК 611.815.41

В. Н. Сальков, Р. М. Худоевков, Д. Н. Воронков

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР ЧЕРНОГО ВЕЩЕСТВА МОЗГА У ЧЕЛОВЕКА

Лаборатория функциональной морфохимии (зав. — д-р мед. наук Р. М. Худоевков), отдел исследований мозга, Научный центр неврологии, Москва

Нейроны и глиоциты были изучены методами компьютерной морфометрии в сегментах вентральной и дорсальной областей компактной части черного вещества (КЧВ) мозга на аутопсийном материале, полученном от 6 мужчин и 3 женщин в возрасте от 52 до 87 лет. Обнаружено, что в сегментах вентральной области КЧВ размеры тел и ядер нейронов были больше, чем в сегментах дорсальной области. Плотность расположения нейронов и глиоцитов в вентролатеральном сегменте была выше, чем в сегментах дорсальной области. В вентромедиальном сегменте глиальный индекс был ниже, чем в сегментах дорсальной области. Обнаруженные морфометрические различия между сегментами КЧВ необходимо учитывать для оценки морфологических изменений в черном веществе мозга, обусловленных как возрастной инволюцией, так и патологическим процессом.

Ключевые слова: *мозг человека, черное вещество, морфометрия, нейроны, нейроглия*

В настоящее время большое внимание уделяется изучению различных аспектов старения и заболеваний, связанных с пожилым возрастом, среди которых важное место отводится болезни Паркинсона, клинические проявления которой обусловлены избирательной гибелью дофаминергических нейронов черного вещества (ЧВ) мозга [7, 8]. В связи с этим актуальным становится изучение особенностей структурно-функциональной гетерогенности ЧВ головного мозга человека [1, 12], а именно количественная оценка клеточных структур ЧВ как у здоровых людей, так и при болезни Паркинсона, что позволит создать фундаментальную базу для уточнения локализации и распространения патологического процесса. Основные количественные параметры нервных клеток и глиальных элементов структур ЧВ мозга человека к настоящему времени представлена лишь в отдельных работах [5].

Цель данного исследования — изучить морфометрические параметры нервных и глиальных элементов в структурах компактной части черного вещества (КЧВ) головного мозга человека.

Материал и методы. Аутопсийный материал головного мозга неврологически здоровых пациентов (6 мужчин и 3 женщины), умерших от интеркуррентных заболеваний в возрасте от 52 до 87 лет, фиксировали в 10% формалине, дегидратировали, заключали в парафин и на уровне КЧВ делали фронтальные срезы толщиной 10 мкм, которые окрашивали крезильным фиолетовым. Структуры ЧВ изучали

под бинокулярной лупой Motic SMZ-161 (Motic, Гонконг, Китай), а клеточные элементы — с помощью микроскопа Leica-DMLB (Leica Microsystems, Германия), оснащенного цифровой видеокамерой и системой компьютерного анализа видеоизображений Leica QWin.

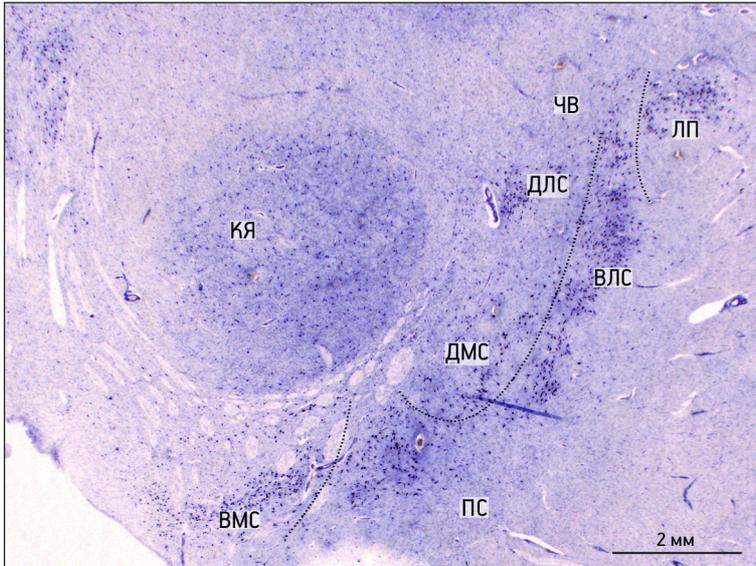
Количество нейронов и общее количество глиоцитов исследовали в отдельных сегментах (скоплениях групп нейронов) вентральной и дорсальной областей КЧВ [6]. В вентральной области выделяли: вентромедиальный (ВМС), вентролатеральный (ВЛС) и промежуточный (ПС) сегменты, а в дорсальной области — дорсомедиальный (ДМС) и дорсолатеральный (ДЛС) сегменты, а также латеральную подобласть (ЛП) (рисунк). В связи с тем, что в вентральной области ВЛС и ПС не были четко отграничены друг от друга, их условно объединили в один сегмент (ВЛС+ПС).

Нейроны и глиоциты в структурах КЧВ подсчитывали в поле зрения микроскопа (об. 40, ок. 10), а затем вычисляли их количество на площади, равной 0,01 мм², т. е. определяли плотность их расположения. В каждом случае изучали не менее 25 полей зрения. Вычисляли глиальный индекс, т. е. отношение: величина плотности расположения глиоцитов/величина плотности расположения нейронов. Площадь сечения (мкм²) тел нейронов и их ядер в сегментах КЧВ измеряли при об. 100, ок. 10 (не менее 100 клеток в одном сегменте).

Полученные данные обрабатывали статистически, используя пакет прикладных программ «SigmaPlot-12.0». Оценку статистической значимости полученных данных (за исключением глиального индекса) устанавливали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA on Ranks) с использованием Н-критерия Краскала—Уоллиса. Для апостериорного анализа применяли Q-критерий Данна, сравнивая его значения для каждого показателя с критическим значением (Q_к).

Сведения об авторах:

Сальков Владимир Николаевич (e-mail: vla-salkov@yandex.ru), *Худоевков Рудольф Михайлович* (e-mail: rolfbrain@yandex.ru), *Воронков Дмитрий Николаевич* (e-mail: neurolab@yandex.ru), лаборатория функциональной морфохимии, отдел исследований мозга, Научный центр неврологии, 105064, Москва, переулок Обуха, 5



Расположение скоплений нейронов в компактной части черного вещества головного мозга человека.

КЯ — красное ядро; ЧВ — черное вещество; ВМС — вентромедиальный, ПС — промежуточный, ВЛС — вентролатеральный, ДМС — дорсомедиальный и ДЛС — дорсолатеральный сегменты; ЛП — латеральная подобласть. Окраска крезидовым фиолетовым

Результаты исследования. Проведенное исследование показало, что на серийных фронтальных срезах ЧВ прослеживалось на всем протяжении среднего мозга человека. Оно выявлялось в виде продольного тяжа, изогнутого в дорсолатеральном направлении, и располагалось между красным ядром и основанием ножек мозга. Выделялась густоклеточная КЧЧВ и редкоклеточная ретикулярная часть. В КЧЧВ различалась

дорсальная область и более широкая — вентральная. В каждой области нейроны располагались группами, которые, в свою очередь, формировали сегменты, по 3 сегмента в каждой области (см. рисунок).

При морфометрическом исследовании было обнаружено, что средняя плотность расположения нейронов на $0,01 \text{ мм}^2$ составила $13,2 \pm 0,3$, а глиоцитов — $83,3 \pm 0,8$.

При сопоставлении выборочных значений плотности расположения нейронов в сегментах КЧЧВ были выявлены значимые различия ($H=43,94$; $P<0,001$ по ANOVA on Ranks). Плотность расположения нейронов в ВЛС+ПС вентральной области (табл. 1) была значимо выше, чем в сегментах дорсальной области (по сравнению с ДМС, $Q=6,18$, с сегментом ДЛС, $Q=3,86$, а с ЛП, $Q=2,96$; $Q_k=2,81$; при каждом сравнении — $P<0,05$), а в ВМС вентральной области плотность их расположения была значимо выше, чем в сегменте ДМС дорсальной области ($Q=4,68$; $Q_k=2,81$; $P<0,05$). При сравнении этого показателя в разных сегментах в пределах каждой области КЧЧВ в вентральной области различий выявлено не было, а в дорсальной области они были обнаружены только между ДЛС и ДМС: в ДЛС плотность расположения нейронов была значимо выше, чем в ДМС ($Q=3,21$; $Q_k=2,81$; $P<0,05$).

При сопоставлении выбороч-

Морфометрическая характеристика клеточных структур в разных сегментах компактной части черного вещества головного мозга человека

Исследованные сегменты черного вещества	Номер сегмента	Плотность расположения Me [LQ; HQ]		Глиальный индекс
		нейронов	глиоцитов	
ВМС	1	14 [10; 17] *3	81 [76; 85,25] *2,3,5	5,79
ВЛС+ПС	2	15 [12,25; 19,75] *3,4,5	90 [86,5; 97,5] *3,4	6
ДМС	3	9 [7; 12] *4	71 [66; 77] *5	7,89
ДЛС	4	12 [10; 15]	77 [72,5; 82] *5	6,42
ЛП	5	11 [9; 14,25]	87,5 [83,25; 91,75]	7,95

* При сравнении с показателями в сегментах указанного номера различия значимы при $P<0,05$.

Примечание. Здесь и в табл. 2: ВМС — медиальный сегмент; ВЛС+ПС — латеральный и промежуточный сегменты вентральной области; ДМС — медиальный сегмент; ДЛС — латеральный сегмент; ЛП — латеральная подобласть дорсальной области. Показатели вариации: Me — медиана, LQ — 1-й квартиль, HQ — 3-й квартиль.

Таблица 1

ных значений плотности расположения глиоцитов в сегментах КЧЧВ были обнаружены значимые различия ($H=95,92$; $P<0,001$ по ANOVA on Ranks). Сравнение плотности расположения глиоцитов по сегментам между областями КЧЧВ показало разнонаправленные ее колебания (см. табл. 1). Так, в ВМС вентральной области плотность расположения глиоцитов была значимо выше, чем в ДМС ($Q=3,17$; $Q_k=2,81$; $P<0,05$), и значимо ниже, чем в ЛП ($Q=3,23$; $Q_k=2,81$; $P<0,05$), но она существенно не отличалась от аналогичного показателя в ДЛС. В другом сегменте вентральной области (ВЛС+ПС) плотность расположения глиоцитов была значимо выше, чем в ДМС ($Q=8,36$; $Q_k=2,81$; $P<0,05$).

и в ДЛС ($Q=6,79$; $Q_k=2,81$; $P<0,05$), но она существенно не отличалась от аналогичного показателя в сегменте ЛП. Сопоставление плотности расположения глиоцитов в сегментах в пределах каждой области показало, что в вентральной области в ВЛС+ПС этот показатель был значимо выше, чем в ВМС ($Q=5,26$; $Q_k=2,81$; $P<0,05$), а в дорсальной — в ЛП он был значимо выше, чем в ДМС ($Q=6,31$; $Q_k=2,81$; $P<0,05$) и в ДЛС ($Q=4,72$; $Q_k=2,81$; $P<0,05$).

Величина глиального индекса, характеризующего отношение между глиоцитами и нейронами, в сегментах дорсальной области была выше, чем в сегментах вентральной (см. табл. 1). Максимальные различия между показателями в сегментах этих областей достигали 37%, как, например, между ВМС вентральной области и ЛП дорсальной области, и минимальные различия в 7% были выявлены между показателями в ВЛС+ПС вентральной области и ДЛС дорсальной области.

При сравнении сегментов КЧЧВ по показателю площади сечения тел нейронов методом однофакторного дисперсионного анализа были обнаружены значимые различия ($H=81,9$; $P<0,001$ по ANOVA on Ranks). Сравнение этого показателя в сегментах разных областей КЧЧВ показало, что в сегментах вентральной области он был существенно выше, чем в дорсальной (табл. 2). При его посегментном сравнении в пределах каждой области было обнаружено, что в вентральной области различия незначимы, а в дорсальной — они имеются только между ДЛС и ДМС: площадь сечения тел нейронов была значимо выше в сегменте ДЛС, чем в ДМС ($Q=2,87$; $Q_k=2,81$; $P<0,05$).

Сопоставление площади сечения ядер нейронов в разных областях КЧЧВ методом однофакторного дисперсионного анализа показало, что между последними имеются значимые различия ($H=81,9$; $P<0,001$ по ANOVA on Ranks). В сегментах вентральной области этот показатель был существенно выше, чем в дорсальной области (см. табл. 2). Его различий в сегментах вентральной области не было, но они имелись в дорсальной области: в ДЛС и ЛП площадь сечения ядер нейронов была значимо выше, чем в ДМС ($Q=4,29$ и $2,87$ соответственно; $Q_k=2,81$; $P<0,05$).

Обсуждение полученных данных. Проведенное исследование позволило выявить различия по таким показателям,

как плотность расположения нейронов и глиоцитов, глиальный индекс, площадь сечения тел и ядер нейронов, которые отчетливо обнаруживались при сравнении сегментов разных областей КЧЧВ. Так, ВЛС+ПС существенно отличался от каждого сегмента дорсальной области (ДМС, ДЛС и ЛП) по всем изученным показателям. Исключение составила лишь ЛП, с которой ВЛС+ПС не имел значимых различий по плотности расположения глиоцитов. Другой сегмент вентральной области — ВМС значимо отличался от сегмента дорсальной области — ДМС по каждому из изученных показателей, а при сравнении с ЛП он отличался только по плотности расположения нейронов. ВМС также значимо отличался от ДЛС — по площади сечения тел и ядер нейронов.

Следовательно, каждый из сегментов вентральной области существенно отличался от каждого из сегментов дорсальной области и, прежде всего, большими размерами тел и ядер нейронов.

Полученные нами результаты при изучении плотности расположения нейронов в отдельных сегментах КЧЧВ существенно не отличались от аналогичных показателей у людей пожилого возраста, представленных другими исследователями [10]. В то же время, по нашим данным, площадь сечения тел нейронов в КЧЧВ была выше, чем в образцах мозга индийцев как старших возрастных групп (60–89 лет), так и зрелого возраста (30–59 лет) [2]. Возможно, такое несоответствие, по данным этих авторов [2], обусловлено особенностями организации нейронных структур КЧЧВ у индийцев: плотность расположения нейронов в этих структурах у них выше, чем у европейцев и североамериканцев, и с возрастом она, как и другие основные морфометрические показатели нейронов КЧЧВ, существенно не изменяется. У европейцев [3] и североамериканцев [4] с возрастом снижается число нейронов отдельных популяций

Таблица 2

Площадь сечения тел и ядер нейронов в различных сегментах компактной части черного вещества головного мозга человека, Me [LQ; HQ]

Исследованные сегменты черного вещества	Номер сегмента	Тело нейрона, мкм ²	Ядро нейрона, мкм ²
ВМС	1	534,62 [398,55; 698,3] *3, 4, 5	201,95 [156,64; 262,01] *3, 4, 5
ВЛС+ПС	2	583,46 [431,28; 715,76] *3, 4, 5	202,91 [162,76; 258,29] *3, 4, 5
ДМС	3	389,57 [293,01; 632,61] *4	148,49 [111,5; 196,74] *4, 5
ДЛС	4	501,11 [339,39; 655,29]	176,84 [139,93; 221,84]
ЛП	5	481,5 [337,21; 660,42]	171,64 [133,98; 222,53]

КЧЧВ (у европейцев — число нейронов, содержащих нейромеланин, а у североамериканцев — число нейронов, содержащих дофамин), а размеры нейронов увеличиваются, что одни авторы связывают с их гипертрофией [3], другие — с накоплением нейромеланина [11].

Согласно данным литературы, гибель нейронов в КЧЧВ при болезни Паркинсона вследствие нейродегенерации в большей степени характерна для сегментов вентральной области — ВМС [6] и ВЛС [10], чем для сегментов дорсальной.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что у неврологически здоровых людей размеры тел и ядер нейронов в сегментах вентральной области значимо больше, чем в дорсальной, и именно в сегментах вентральной области, как упоминалось выше, нейродегенеративный процесс развивается интенсивнее. Хорошо известно, что центральным звеном клеточного обмена является ядро, и его размеры в значительной степени отражают функциональную и метаболическую активность нейрона. В таком случае можно предположить, что для нейронов вентральной области КЧЧВ характерна высокая функциональная активность. В то же время, как показали наши исследования, количество глиоцитов на один нейрон (глиальный индекс) в вентральной области в целом меньше, чем в дорсальной. Учитывая, что нейроглия поддерживает гомеостаз нервной ткани и нормальное функционирование нейронов [9], выявленный нами в условиях нормы «дефицит» глиоцитов в сегментах вентральной области, в условиях патологии может способствовать избирательной потере функционально активных нейронов, формирующих эту область.

Таким образом, морфометрическое исследование КЧЧВ мозга людей (аутопсийный материал) в возрасте от 52 до 87 лет выявило количественные различия между структурами её вентральной и дорсальной областей (сегментами) по таким показателям, как плотность расположения нейронов и глиоцитов, площадь сечения нейронов и их ядер, которые необходимо учитывать для объективной оценки морфологических изменений в ЧВ мозга, обусловленных как возрастной инволюцией, так и патологическим процессом.

Работа поддержана грантами РФФИ № 16-04-00377а и № 14-04-31922 мол.а.

ЛИТЕРАТУРА

- Труфанов А.Г., Литвиненко И.В. МРС черной субстанции у первичных пациентов с болезнью Паркинсона, ранее не получавших леводопатерапию // *Болезнь Паркинсона и расстройства движений: Руководство для врачей*. М.: Изд-во «РКИ Соверо пресс», 2014. С. 147–149.
- Alladi P.A., Mahadevan A., Yasha T.C. et al. Absence of age-related changes in nigral dopaminergic neurons of Asian Indians: relevance to lower incidence of Parkinson's disease // *Neuroscience*. 2009. Vol. 159. P. 236–245.
- Cabello C.R., Thune J.J., Pakkenberg H., Pakkenberg B. Ageing of substantia nigra in humans: cell loss may be compensated by hypertrophy // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2002. Vol. 28. P. 283–291.
- Chu Y., Kompoliti K., Cochran E.J. et al. Age-related decreases in Nurr1 immunoreactivity in the human substantia nigra // *J. Comp. Neurol.* 2002. Vol. 450. P. 203–214.
- Damier P., Hirsch E.C., Agid Y., Graybiel A.M. The substantia nigra of the human brain. I. Nigrosomes and nigral matrix, a compartmental organization based on calbindin D_{28k} immunohistochemistry // *Brain*. 1999. Vol. 122, № 8. P. 1421–1436.
- Fearnley J.M., Lees A.J. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity // *Brain*. 1991. Vol. 114. P. 2283–2301.
- Henchcliffe C., Severt W.L. Disease modification in Parkinson's disease // *Drug. Aging*. 2011. Vol. 28, № 8. P. 605–615.
- Kordower J.H., Olanow C.W., Dodiya H.B. et al. Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson's disease // *Brain*. 2013. Vol. 136, № 8. P. 2419–2431.
- Panickar K.S., Norenberg M.D. Astrocytes in cerebral ischemic injury: morphological and general considerations // *Glia*. 2005. Vol. 50, № 4. P. 287–298.
- Ross G.W., Petrovitch H., Abbott R.D. et al. Parkinsonian signs and substantia nigra neuron density in decedents elders without PD // *Ann. Neurol.* 2004. Vol. 56, № 4. P. 532–539.
- Rudow G., O'Brien R., Savonenko A.V. et al. Morphometry of the human substantia nigra in ageing and Parkinson's disease // *Acta Neuropathol.* 2008. Vol. 115, № 4. P. 461–470.
- Zucca F.A., Basso E., Cupaioli F.A. et al. Neuromelanin of the human substantia nigra: an update // *Neurotox. Res.* 2014. Vol. 25, № 1. P. 13–23.

Поступила в редакцию 27.06.2015
Получена после доработки 29.01.2016

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF SUBSTANTIA NIGRA CELLULAR STRUCTURES OF THE HUMAN BRAIN

V.N. Sal'kov, R.M. Khudoyerkov, D.N. Voronkov

Neurons and glial cells were studied by means of computer-assisted morphometry in the segments of the ventral and dorsal regions of the compact part of the substantia nigra (CPSN) of the brain. The material obtained at autopsy from 6 males and 3 females aged from 52 to 87 years. It was found that in segments of the ventral CPSN region the neuronal cell bodies and nuclei were larger than those in the segments of the dorsal region. The numerical density of neurons and gliocytes in the ventrolateral segment was higher than in the segments of the dorsal region. In the ventromedial segment the glial index was lower than in the segments of the dorsal region. The morphometric differences found between CPSN segments must be taken into account in the assessment of the morphological changes in substantia nigra of the brain, due to both age involution or pathological process.

Key words: *human brain, substantia nigra, morphometry, neurons, neuroglia*

Laboratory of Functional Morphochemistry, Department of Brain Research, Research Center of Neurology, Moscow