

© С.Е.Шемяков, В.Н.Николенко, К.Д.Саркисян, 2016  
УДК 611.813.3.018-053

С.Е.Шемяков<sup>1</sup>, В.Н.Николенко<sup>1</sup>, К.Д.Саркисян<sup>2</sup>

## ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА ЧЕЛОВЕКА

<sup>1</sup> Кафедра анатомии человека (зав. — проф. В.Н.Николенко), Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова; <sup>2</sup> Научно-исследовательский отдел хирургии и хирургических технологий в онкологии (руков. — проф. В.Д.Чхиквадзе), Российский научный центр рентгенорадиологии, Москва

Возрастные изменения гиппокампа (ГК) обуславливают нарушение всех видов памяти и сдвиги в эмоциональных реакциях. Целью исследования явилось изучение морфометрических показателей нейронов в ГК человека в процессе старения. Материал получен при аутопсии трупов 43 людей обоего пола в возрасте от 21 года до 92 лет, которые были разделены на 4 возрастные группы. Препараты окрашивали крезильным фиолетовым для выявления нейронов. На срезах полей СА1 и СА3 собственно ГК и зубчатой извилины в области ножки ГК проводили подсчет нейронов на стандартной площади и определяли также площадь профильного поля их тел. Установлено, что при старении в ГК человека происходит гетерохронная потеря нервных клеток, интенсивность которой различна на уровне средней части и ножки. Степень возрастной убыли нервных клеток в ГК человека возрастает в направлении зубчатая извилина → поле СА3 → поле СА1. При этом в большинстве отделов ГК наблюдается компенсаторное увеличение площади профильного поля нейронов в период с 36 до 74 лет, сменяющееся ее уменьшением у людей старше 75 лет.

**Ключевые слова:** гиппокамп, зубчатая извилина, нейрон, площадь профильного поля

Гиппокамп (ГК), как центральное образование лимбической системы, играет важную роль в реализации когнитивно-мнестических функций и нейроэндокринной регуляции [1, 8]. Возрастные изменения ГК обуславливают нарушение всех видов памяти, а также сдвиги в эмоциональных реакциях и условнорефлекторном поведении [12]. Изучение ГК человека при помощи магнитно-резонансной томографии (МРТ) выявило линейную обратную корреляцию между возрастом и объемными показателями полей СА1–2 и отсутствие линейной зависимости в поле СА3 и зубчатой извилине (ЗИ) [8]. При аналогичном исследовании у людей с болезнью Альцгеймера было выявлено значимое уменьшение объемных показателей поля СА1, тогда как поля СА2–3 мало изменялись как в процессе старения, так и при патологии [9]. Таким образом, изучение структурных особенностей ГК у людей старших возрастных групп имеет большое значение для понимания механизмов «нормального» старения и его психопатологических вариантов [7, 10, 12].

Исходя из этого, цель настоящего исследования — изучение морфометрических показателей нейронов ГК человека в процессе старения.

Материал и методы. Объектом исследования служили препараты ГК, полученные при аутопсии трупов 43 людей обоего пола в возрасте от 21 года до 92 лет, смерть которых не была напрямую связана с заболеваниями ЦНС (решение этического комитета №53 от 21.11.2005 г.). Материал для исследования предоставлен бюро судебно-медицинской экспертизы №2 (Москва), областным бюро судебно-медицинской экспертизы и областным патологоанатомическим бюро (г. Челябинск).

Взятие материала производили не позднее 24 ч с момента смерти. Исследовали 4 возрастные группы людей: I периода зрелого возраста (от 22 до 35 лет — мужчины; от 21 до 35 лет — женщины) (n=9); II периода зрелого возраста (от 36 до 60 лет — мужчины; от 36 до 55 лет — женщины) (n=12); пожилого возраста (от 61 до 74 лет — мужчины; от 56 до 74 лет — женщины) (n=12); старческого возраста (75 лет и старше) (n=10).

Образцы ГК толщиной 0,5 см фиксировали в 10% нейтральном формалине. После стандартной гистологической обработки нейроны выявляли на срезах толщиной 10 мкм, окрашенных крезильным фиолетовым. Для обзорного исследования препаратов, определения отдельных слоев, отделов и полей ГК, а также в качестве вспомогательной методики для выявления нейронов использовали окраску гематоксилином — эозином. Исследованы поля СА1 и СА3 собственно ГК и ЗИ на уровне средней части и ножки ГК. Особое внимание было обращено на пирамидный слой собственно ГК и зернистый (гранулярный) слой ЗИ. Под микроскопом Leica DMRXA (Leica, ФРГ) с помощью компьютерной программы анализа изображения ImageScope, Leica на каждом срезе

### Сведения об авторах:

Шемяков Сергей Евгеньевич (e-mail: [shemy-akov@mail.ru](mailto:shemy-akov@mail.ru)), Николенко Владимир Николаевич (e-mail: [vn.nikolenko@yandex.ru](mailto:vn.nikolenko@yandex.ru)), кафедра анатомии человека, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Саркисян Карен Джаникович (e-mail: [karsarik@rambler.ru](mailto:karsarik@rambler.ru)), Российский научный центр рентгенорадиологии, 117997, ГСП-7, Москва, ул. Профсоюзная, 86

определяли количество нейронов в 10 полях зрения в  $0,01 \text{ мм}^3$  и площади профильного поля (ППП) их тел. Результаты были обработаны при помощи стандартного пакета прикладных программ Statistica 6 for Windows. Различия изучаемых величин оценивали по t-критерию Стьюдента и считали значимыми при  $P < 0,05$ . В качестве показателей статистической связи между изучаемыми параметрами рассчитывали коэффициенты линейной корреляции Пирсона ( $r$ ) и коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ).

**Результаты исследования.** Нейронный состав пирамидного слоя собственно ГК представлен в подавляющем большинстве пирамидными и корзинчатыми нейронами. Тела пирамидных нейронов имеют треугольную или овальную форму, их апикальный дендрит уходит в радиальный слой ГК.

Количество нейронов в  $0,01 \text{ мм}^3$  в ГК человека на поздних этапах постнатального онтогенеза меняется с определенной закономерностью (таблица). Во всех изученных отделах ГК максимально количество нейронов в  $0,01 \text{ мм}^3$  определяется в I периоде зрелого возраста, а минимальное — в пожилом и старческом. Данный факт не является новым, однако, обращает на себя внимание гетеротопность и гетерохронность убыли нейронов. Этот процесс проявляется как в горизонтальном, так и в вертикальном направлении.

В первом случае это касается количественных возрастных различий по отдельным полям и слоям ГК, во втором — особенностей изучаемых показателей на уровне средней части ГК и его ножки. Наибольшая плотность расположения пирамидных нейронов определяется в поле СА1 и значимо меньше на уровне его ножки (см. таблицу,  $P < 0,05$ ). Минимальные показатели количества пирамидных нейронов наблюдаются у людей старше 75 лет (рисунок, а, б). В поле СА1 их

число у людей старческого возраста на  $\frac{1}{3}$  меньше аналогичных показателей у людей I периода зрелого возраста ( $P < 0,05$ ). В поле СА3 степень возрастной убыли плотности расположения нейронов несколько ниже, где их количество уменьшается лишь на  $\frac{1}{4}$ . Значимое снижение количества пирамидных нейронов на уровне средней части собственно ГК проявляется уже во II периоде зрелого возраста, относительно равномерно уменьшаясь в последующие возрастные периоды. На уровне ножки ГК количество нейронов в  $0,01 \text{ мм}^3$  мало изменяется в возрастном интервале 21–60 лет. Его статистически значимое снижение происходит у людей более старших возрастных групп ( $P < 0,05$ ).

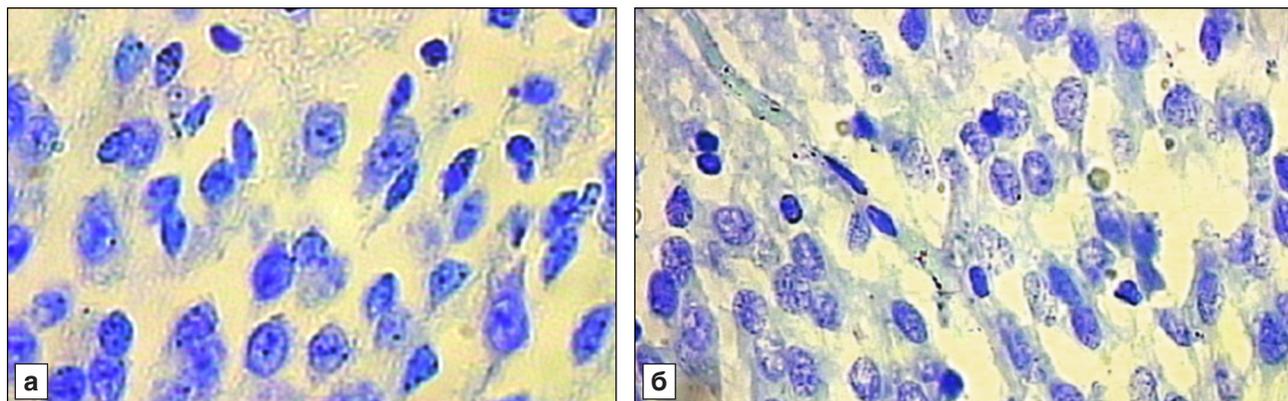
Зернистый слой ЗИ представлен нейронами, тело которых имеет округлую и овальную форму, а плотность расположения значительно выше, чем пирамидных нейронов в собственно ГК (см. рисунок, в, г). Количество нейронов в зернистом слое ЗИ превышает аналогичный показатель пирамидных нейронов в собственно ГК в 3–5 раз. При этом и степень возрастной убыли нейронов в зернистом слое ЗИ существенно ниже. В период с 21 года до 92 лет количество нейронов уменьшается на 21,5–21,9%. Во все изученные возрастные периоды плотность расположения нейронов в ЗИ на уровне средней трети ГК несколько выше, чем на уровне его ножки. Другим проявлением гетеротопности возрастных изменений следует считать тот факт, что в средней части ГК значимое уменьшение числа нейронов в зернистом слое ЗИ происходит уже во II периоде зрелого возраста, тогда как на уровне ножки — только у людей пожилого возраста. Последнее соотносится с онтогенетической динамикой количества пирамидных нейронов собственно ГК и подтверждается прямой корреляционной зависимостью количества нейронов

**Возрастные изменения морфометрических показателей нейронов в гиппокампе человека ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )**

Возрастные периоды	Исследованные показатели	Средняя часть гиппокампа			Ножка гиппокампа		
		Поле СА1	Поле СА3	Зубчатая извилина	Поле СА1	Поле СА3	Зубчатая извилина
I период зрелого возраста	КН	202±9	167±8	794±12	181±7	163±9	741±11
	ППП	210±6	254±6	113±6	203±9	316±6	121±7
II период зрелого возраста	КН	178±10*	144±9*	719±11*	168±8	159±9	719±12
	ППП	252±7*	305±6*	132±8*	215±8	325±8	138±8*
Пожилой возраст	КН	156±6*.*	137±11*	692±14*	132±8*.*	126±11*.*	655±13*.*
	ППП	294±6*.*	289±6*	93±6*.*	256±7*.*	318±8	99±8*.*
Старческий возраст	КН	135±9*.*.#	126±7*.*	623±12*.*.#	110±6*.*.#	123±11*.*	578±11*.*.#
	ППП	249±6*.*	242±7*.*.#	89±8*.*	251±8*.*	281±6*.*.#	82±7*.*.#

\* Различия значимы по сравнению с показателями у людей I периода зрелого возраста; \*\* II периода зрелого возраста; # с показателями в группе пожилого возраста при  $P < 0,05$ .

Примечание. КН — количество нейронов в  $0,01 \text{ мм}^3$ ; ППП — площадь профильного поля нейрона ( $\text{мкм}^2$ ).



Нейроны зернистого слоя зубчатой извилины у мужчин 23 лет (а) и 63 лет (б).

Окраска крезиловым фиолетовым. Об. 90, ок. 10

в поле СА3 и в ЗИ на уровне средней части ГК ( $r=0,514$ ;  $P<0,05$ ).

В контексте разновременности и размерности уменьшения числа как пирамидных нейронов собственно ГК, так и нейронов зернистого слоя ЗИ, большой интерес представляют сведения о размерах нейронов (ППП). Более крупные пирамидные нейроны расположены в поле СА3, чем в ножке ГК. Размер тел нейронов в этом отделе превышает соответствующие показатели в поле СА1 в 1,12–1,55 раза ( $P<0,05$ ). Значения ППП пирамидных нейронов в поле СА3 на уровне ножки доминируют над аналогичными показателями в поле СА1 во все изученные возрастные периоды.

Большинство изученных отделов характеризуются гипертрофией нейронов в период от 36 до 74 лет, сменяющейся уменьшением размеров их клеток у людей старше 75 лет. Более лабильными в этом отношении являются параметры пирамидных нейронов на уровне средней части ГК, тогда как на уровне его ножки изменения зачастую имеют характер лишь статистически незначимой тенденции. Однако и в этом отделе ГК отчетливо проявляются увеличение размеров тел нейронов у людей старших возрастных групп (поле СА1) и их последующее уменьшение в старческом возрасте (поле СА3) ( $P<0,05$ ). Стоит также отметить, что в поле СА1 у людей старше 75 лет размер нейронов остается значимо больше, чем у людей I периода зрелого возраста (на 18,3% — на уровне средней части и на 23,4% — на уровне ножки ГК) ( $P<0,05$ ).

Собственно в ГК наблюдается значимая обратная корреляционная зависимость между возрастным уменьшением количества пирамидных нейронов и увеличением их ППП, что наиболее отчетливо видно в поле СА1 на уровне ножки ГК.

Средняя площадь сечения нейронов зернистого слоя ЗИ в 2–3 раза меньше, чем пирамидных нейронов (см. таблицу). Без существенных

топических различий возрастная динамика этого показателя характеризуется увеличением у людей II периода зрелого возраста с последующим снижением в пожилом и старческом возрасте (см. таблицу).

**Обсуждение полученных данных.** Обобщая полученные результаты, можно констатировать, что при старении в ГК человека происходит гетерохронная потеря нейронов, интенсивность которой различна на уровне средней его части и ножки. Степень возрастной убыли нейронов в ГК человека возрастает в направлении от ЗИ к полю СА3 и полю СА1. Это показывает аналогичность возрастных изменений морфофункционально тесно связанных структур,  $r=0,514$  ( $P<0,05$ ). Известно, что аксоны нейронов зернистого слоя ЗИ направляются к пирамидным нейронам именно поля СА3 [1]. При этом есть основание полагать, что центральную роль в обучении и памяти играют нейроны зернистого слоя ЗИ [11]. Ранее было показано, что при церебральном атеросклерозе у мужчин пожилого возраста наиболее значимые гистологические изменения отмечаются в молекулярном и пирамидном слоях полей СА1 и СА3, проявляясь уменьшением плотности расположения нейронов [3]. Исследования *in vivo* при помощи МРТ подтвердили снижение объемных показателей ГК на 14% каждые 10 лет в период от 65 до 85 лет, более выраженные в поле СА1 [9]. Именно ассоциированные с возрастом изменения на нейронном уровне могут служить морфологическим базисом снижения объемных размеров отдельных полей ГК и лежать в основе возрастных изменений когнитивных функций [8].

Признаком, который обуславливает индивидуальную вариабельность мозга, является показатель ППП нейронов. Изменения этого параметра определяют морфологические предпосылки индивидуальной психической деятельности чело-

века [2]. При этом в большинстве отделов ГК наблюдается компенсаторное увеличение ППП нейронов в период с 36 до 74 лет, сменяющееся ее уменьшением у людей старше 75 лет. Принимая во внимание имеющуюся обратную корреляционную зависимость возрастных изменений данного параметра и количества нейронов ( $r_s = -0,6$ ;  $P < 0,05$ ), можно предположить, что гипертрофия нейронов — это адаптационный механизм, а нивелирование этой реакции у людей старческого возраста, наряду с уменьшением количества нейронов, свидетельствует об истощении компенсаторно-приспособительных возможностей ЦНС. Возрастное уменьшение количества нейронов в головном мозгу на фоне циркуляторной гипоксии можно рассматривать как запрограммированную гибель какого-то их числа. Таким путем, вероятно, может быть достигнут баланс между количественными характеристиками и функциональными возможностями капиллярного русла, с одной стороны, и количеством, активностью и метаболическими потребностями нейронов — с другой [5]. Одной из причин перечисленных морфологических изменений является оксидативный стресс [4, 6].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградова О.С. Гиппокамп и память. М.: Наука, 1975.
2. Боголепова И.Н. Цитоархитектонические критерии индивидуальной вариабельности мозга человека // Морфология. 2000. Т. 117, вып. 3. С. 24.
3. Смирнов А.В., Краюшкин А.И., Горелик Е.В. и др. Структурные особенности гиппокампа лиц мужского пола пожилого возраста при церебральном атеросклерозе // Вестн. ВолгГМУ. 2012. Т. 41, вып. 1. С. 44–47.
4. Шемяков С.Е. Активность МАО-Б, процессы ПОЛ и морфологические изменения гипоталамуса в динамике старения человека // Бюл. экспер. биол. 2001. Т. 131, № 6. С. 694–696.
5. Шемяков С.Е. Показатели капиллярного русла головного мозга человека и факторы их определяющие // Ангиол. и сосуд. хир. 2012. Т. 18. С. 32–33.
6. Aliev G., Priyadarshini M., Reddy V.P. et al. Oxidative stress mediated mitochondrial and vascular lesions as markers in the pathogenesis of Alzheimer Disease // Curr. Med. Chem. 2014. Vol. 21. P. 2208–2217.
7. Amador-Ortiz C., Ahmed Z., Zehr C., Dickson D.W. Hippocampal sclerosis dementia differs from hippocampal sclerosis in

frontal lobe degeneration // Acta Neuropathol. 2007. Vol. 113, № 3. P. 245–252.

8. Daugherty A. M., Bender A. R., Raz N., Ofen N. Age differences in hippocampal subfield volumes from childhood to late adulthood // Hippocampus. 2016. Vol. 26. P. 220–228.
9. Frisoni G. B., Ganzola R., Canu E. et al. Mapping local hippocampal changes in Alzheimer's disease and normal ageing with MRI at 3 Tesla // Brain. 2008. Vol. 131. P. 3266–3276.
10. Kohl Z., Winner B., Ubhi K. et al. Fluoxetine rescues impaired hippocampal neurogenesis in a transgenic A53T synuclein mouse model // Eur. J. Neurosci. 2012. Vol. 35, № 1. P. 10–19.
11. Sloviter R. S., Dichter M. A., Rachinsky T. L. Basal expression and induction of glutamate decarboxylase GABA in excitatory granule cells of the rat and monkey hippocampal dentate gyrus // J. Comp. Neurol. 1996. Vol. 373, № 4. P. 593–618.
12. Vivar C. Adult hippocampal neurogenesis, aging and neurodegenerative diseases: Possible strategies to prevent cognitive impairment // Curr. Top. Med. Chem. 2015. Vol. 15. P. 2175–2192.

Поступила в редакцию 20.05.2016

Получена после доработки 08.07.2016

*S.Ye. Shemyakov<sup>1</sup>, V.N. Nikolenko<sup>1</sup>, K.D. Sarkisyan<sup>2</sup>*

#### AGE-RELATED CHANGES IN THE MORPHOMETRIC PARAMETERS OF THE NEURONS IN HUMAN HIPPOCAMPUS

Age-related changes in the hippocampus (HC) result in the disturbances of all types of memory and the shifts of emotional reactions. The aim of the present study was to examine the morphometric parameters of neurons of human HC during the aging process. The material was obtained at autopsy of the bodies of 43 individuals of both sexes aged 21–92 years that were divided into 4 age groups. The sections were stained with Nissl's cresyl violet for identification of neurons. The neurons were counted within the standard area and their profile field area was measured in HC proper, in the area of fields CA1 and CA3, and in dentate gyrus in the hippocampal pes. It was found that with aging human HC underwent a heterochronic loss of nerve cells, the intensity of which differed at the level of the middle part and the hippocampal pes. The degree of age-related loss of nerve cells in human HC increased in the direction: dentate gyrus → CA3 → CA1. In most compartments of HC, a compensatory increase of the neuron profile field area was observed in the period from 36 to 74 years, giving place to its reduction in individuals older than 75 years.

**Key words:** *hippocampus, dentate gyrus, neuron, profile field area*

<sup>1</sup> Department of Human Anatomy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; <sup>2</sup> Research Department of Surgery and Surgical Technologies in Oncology, Russian Scientific Center of Roentgenology and Radiology, Moscow