

Е. Ю. Соколов, В. В. Семченко

ЦИТОАРХИТЕКТНИКА СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ И ЗОНЫ СА1 ГИППОКАМПА ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ СУДОРОЖНОЙ АКТИВНОСТЬЮ В ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ

Кафедра анатомии, гистологии, физиологии и патологической анатомии (зав. — проф. В. И. Герунов), Институт ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П. А. Столыпина»

Цель — изучить цитоархитектонику сенсомоторной коры (СМК) и зону СА1 гиппокампа головного мозга белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы.

Материал и методы. Политравму моделировали по Ноблу—Коллипу под наркозом. В основную группу (n=25) вошли животные с судорожными пароксизмами (СП), а в группу сравнения (n=25) — без таковых. Материал забирали через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после травмы. Срезы окрашивали по Нисслю, определяли общую численную плотность пирамидных нейронов (ОЧПН), содержание темных нейронов (ТН). Проверку статистических гипотез проводили с помощью программы Statistica 8.0.

Результаты. Через 1 сут после травмы в СМК и зоне СА1 гиппокампа значительно увеличивалось количество ТН. В позднем восстановительном периоде в группе сравнения 65,0% ТН СМК восстанавливались до нормохромных, а в зоне СА1 гиппокампа — 18%. Появление СП препятствовало восстановлению ТН: в СМК восстанавливались 54,5%, а в зоне СА1 гиппокампа — только 2,7% клеток. В результате в основной группе ОЧПН в СМК уменьшалась на 32,4%, в зоне СА1 гиппокампа — на 55,6%, а в группе сравнения — на 24,7 и 43,3% соответственно.

Выводы. СП являются фактором, усиливающим патологические изменения нейронов в посттравматическом периоде.

Ключевые слова: большой мозг, кора, гиппокамп, цитоархитектоника, черепно-мозговая травма

Изучение цитоархитектоники различных отделов головного мозга при черепно-мозговой травме (ЧМТ) остается актуальной проблемой нейроморфологии [2, 4]. Исход функционального восстановления нервной ткани зависит от состояния сохранившихся нейронов и ряда сопутствующих патологических факторов [3, 4, 6]. Одним из таких факторов является низкий порог судорожной готовности поврежденного мозга (СГМ) [2].

Целью настоящей работы являлось сравнительное изучение после тяжелой ЧМТ цитоархитектоники соматосенсорной коры и зоны СА1 гиппокампа головного мозга у белых крыс, отличающихся величиной порога судорожной готовности мозга.

Материал и методы. Эксперимент выполнен на белых крысах-самцах (n=60) массой 220–250 г. Животные содержались в обычных условиях вивария, регламентируемых приказом МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983 г. Опыты проводили в соответствии с приказами МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.

и № 701 от 27.07.1978 г. об обеспечении принципов гуманного обращения с экспериментальными животными. Тяжелая сочетанная черепно-мозговая травма (ТСЧМТ) моделировалась у белых крыс по способу Нобла—Коллипа [5] под нембуталовым наркозом (внутрибрюшинно 30 мг/кг). Общая летальность сразу после травмы составила 55,2%. В группу сравнения вошли животные (n=25) без судорожного синдрома, в основную группу — животные (n=25) с различными клиническими проявлениями снижения порога СГМ (спонтанное двигательное возбуждение, судорожные пароксизмы). Судорожный синдром наблюдался у 76% крыс. Контролем служили интактные животные (n=10) без ТСЧМТ. Забор материала для морфологического исследования осуществляли через 1, 3, 7, 14, 30 сут после травмы (по 5 животных на срок). Эвтаназию под эфирным наркозом осуществляли путем обескровливания (рассечение верхушки сердца). Головной мозг животных фиксировали путем иммерсии в смеси 4% раствора параформальдегида, 1% раствора глутарового альдегида, 5% раствора сахарозы на 0,1М фосфатном буфере (рН 7,4), заключали в парафин, готовили фронтальные серийные срезы толщиной 4 мкм, окрашивали метиленовым синим по Нисслю. В пределах каждого срока на цифровых изображениях 100 полей зрения изучали пирамидные клетки слоя III соматосенсорной коры (ССК) и зоны

Сведения об авторах:

Соколов Евгений Юрьевич (e-mail: sokolovnew22@yandex.ru), Семченко Валерий Васильевич, кафедра анатомии, гистологии, физиологии и патологической анатомии, Институт ветеринарной медицины и биотехнологий, ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П. А. Столыпина», 44008, г. Омск, Институтская площадь, 1

CA1 гиппокампа. Определяли общую численную плотность нейронов (ОЧПН) на 1 мм² среза, абсолютное и относительное (%) содержание нормохромных и реактивно измененных (темные нейроны) клеток. Морфометрическое исследование проводили с помощью программы ImageJ 1.46. Проверку статистических гипотез проводили с помощью программы Statistica 8.0, использовали непараметрические методы (ANOVA Краскела—Уоллиса, критерий Манна—Уитни). Нулевая гипотеза отвергалась при уровне значимости $p < 0,05$. Материал представлен как медиана (нижний и верхний квартили) [1].

Результаты исследования. У интактных животных в слое III СМК и зоне CA1 гиппокампа преобладали нормохромные нейроны (96–98%) с большим круглым или овальным ядром (рисунки, а, в). ОЧПН в СМК составляла 672,3 (588,4–784,2) на 1 мм², а в гиппокампе — 2145,2 (1838,4–2277,5) на 1 мм² плоскости среза.

После ТСЧМТ в СМК и зоне CA1 гиппокампа развивались типичные очаговые и диффузно-очаговые ишемические повреждения нервной ткани — появлялись различные проявления гидропической дистрофии клеток, очаговый и тотальный хроматолиз, кариоцитоллизис, эктопия ядер, гиперхроматоз, гомогенизация ядра и цитоплазмы, распад ядра и ядрышка, нейронофагия. Среди реактивно измененных преобладали различные гиперхромные (темные — ТН) нейроны (см. рисунки, б, г). Например, в группе сравнения через 1 сут содержание ТН в СМК составило 61,8% (95% доверительный интервал: 51,5–71,3%) — 416,6 (338,2–465,3) на 1 мм², а в гиппокампе — 66,7% (56,6–75,8%) — 1431,3 (1255,6–1342,5) на 1 мм². Среди ТН преоб-

ладали несморщенные нейроны: в СМК — 62,5% (52,3–71,9%), в гиппокампе — 68,4% (58,3–77,4%).

В группе сравнения на протяжении последующих 30 сут после травмы 35,0% (25,7–45,2%) ТН СМК, образовавшихся в раннем периоде, подвергались необратимой деструкции и элиминации, а в зоне CA1 гиппокампа — 82% (73,1–89,0%) ($p < 0,001$). Остальные ТН, вероятно, восстанавливались до нормохромных или частично сохранялись в виде сморщенных пикноморфных клеток. При этом ОЧПН нейронов в СМК снижалась до 506,1 (445,2–538,5) на 1 мм² на 24,7%, а в зоне CA1 гиппокампа — до 1216,3 (1097,8–1294,7) на 1 мм² на 43,3% в сравнении с контролем (таблица). Таким образом, через 30 сут после травмы в большей степени (в сравнении с СМК) страдала популяция пирамидных нейронов зоны CA1 гиппокампа.

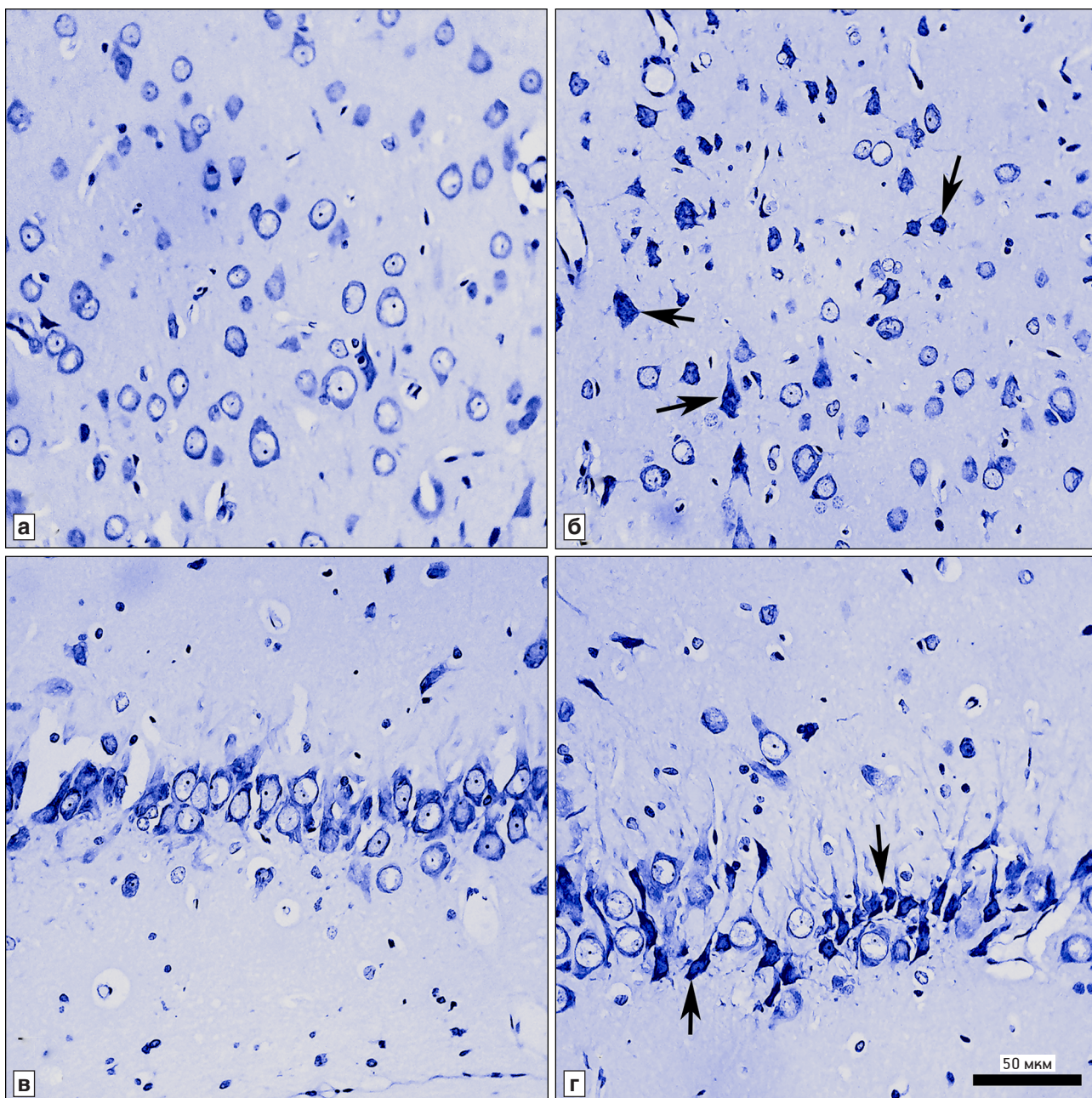
В основной группе через 1 сут после травмы содержание ТН в СМК составило 68,5%, а в гиппокампе — 72,3% (62,5–80,8%). Также преобладали несморщенные ТН. Низкий порог СГМ, вероятно, препятствовал восстановлению ТН в посттравматическом периоде. В течение 30 сут после ТСЧМТ в СМК элиминации подвергались 45,5% (35,5–55,8%), а в зоне CA1 гиппокампа — 97,3% (91,9–99,5%) ТН. При этом ОЧПН нейронов в СМК снижалась до 454,5 (401,4–469,3) на 1 мм² на 32,4%, а в зоне CA1 гиппокампа — до 952,5 (877,1–1062,1) на 1 мм² на 55,6% в сравнении с контролем, что было статистически значимо больше, чем в группе без СП (см. таблицу).

Обсуждение полученных данных. Таким образом, через 1 сут после ТСЧМТ в СМК

Общая численная плотность нейронов в слое III сенсомоторной коры и зоне CA1 гиппокампа в посттравматическом периоде, Ме (QU—QH)

Группа	Время после травмы, сут					
	Контроль	1	3	7	14	30
Сенсомоторная кора						
I&	672,3 (588,4–784,2)	631,4 (552,5–678,4)	602,2 (572,1–655,2)*	574,5 (544,3–601,4)*#	556,7 (545,6–598,5)*	506,1 (445,2–538,5)*#
II&		614,5 (533,7–665,3)*	578,3 (531,5–612,3)*#	531,1 (472,8–556,7)*#^	508,9 (441,5–546,2)*^	454,5 (401,4–469,3)*#^
Зона CA1 гиппокампа						
I&	2145,2 (1838,4–2277,5)	2005,1 (1726,4–2130,6)*	1976,2 (1735,8–2107,4)*	1855,3 (1667,5–2068,4)*	1656,2 (1449,3–1802,5)*#	1216,3 (1097,8–1294,7)*#
II&		1991,3 (1612,5–2123,4)*	1848,5 (1589,3–1927,4)*#^	1716,1 (1489,3–1815,2)*#^	1308,8 (1277,4–1645,7)*#^	952,5 (877,1–1062,1)*#^

* Различия в сравнении с контролем, # предыдущим сроком и ^ между группами статистически значимы при $p < 0,01$ (критерий Манна—Уитни). & — наличие статистически значимой динамики показателя в посттравматическом периоде (ANOVA Краскела—Уоллиса, $p < 0,001$). I — группа сравнения, II — основная группа.



Пирамидные нейроны слоя III сенсомоторной коры (а) и зоны CA1 гиппокампа (в) в контроле и через 1 сут после травмы (б, г).

Стрелки — темные нейроны. Окраска по Нислю

и зоне CA1 гиппокампа значительно увеличивалось количество ТН, преобладали несморщенные клетки. Однако в более позднем восстановительном периоде «судьба» ТН различалась в зависимости от отдела мозга и наличия судорожных пароксизмов. В группе сравнения до нормохромных восстанавливались 65,0% ТН СМК, а в зоне CA1 гиппокампа — 18%. Появление СП препятствовало восстановлению ТН: в СМК восстанавливались 54,5%, а в зоне CA1 гиппокампа — только 2,7% клеток. В результате при низ-

ком пороге СГМ (основная группа) ОЧПН в СМК уменьшалась на 32,4%, в зоне CA1 гиппокампа — на 55,6%, а в группе сравнения — на 24,7 и 43,3% соответственно.

Полученные результаты важны для понимания патологической роли СП в посттравматическом периоде. Вероятно, профилактика развития СП может быть положительным фактором структурно-функционального восстановления головного мозга после перенесенной черепно-мозговой травмы.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: Е. Ю. С., В. В. С.

Сбор и обработка материала: Е. Ю. С.

Статистическая обработка данных: Е. Ю. С.

Написание текста: Е. Ю. С., В. В. С.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. СПб.: Питер. 2003. 2-е изд. 688 с. [Borovikov V. Statistica. The art of data analysis on the computer. St Petersburg: Piter, 2003. 2-e izd. 688 p. In Russ.].
2. Семченко В.В., Степанов С.С., Боголепов Н.Н. Синаптическая пластичность головного мозга (фундаментальные и прикладные аспекты). 2-е изд. М.: Медиа-Сфера, 2014. 408 с. [Semchenko V.V., Stepanov S.S., Bogolepov N.N. Synaptic plasticity of the brain (fundamental and applied aspects). 2-e izdanie. Moscow: Media-Sfera, 2014. 408 p. In Russ.].
3. Kroemer G., Galluzzi L., Vandenabeele P. et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009 // Cell Death Differ. 2009. Vol. 16, № 1. P. 3–11.
4. Maurer L.L., Philbert M.A. The mechanisms of neurotoxicity and the selective vulnerability of nervous system sites // Handb. Clin. Neurol. 2015. Vol. 131. P. 61–70.
5. Noble R.L., Collip J.B. A quantitative method of production of experimental trauma without hemorrhage in unanesthetized animals // Q. J. Exp. Physiol. 1942. Vol. 31. P. 187–202.
6. Zille M., Farr T.D., Przesdzin I. Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: promises, problems, and perspectives // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2012. Vol. 32. P. 213–231.

Поступила в редакцию 30.07.2017

Получена после доработки 18.09.2017

CYTOARCHITECTURE OF THE SENSORIMOTOR CORTEX AND CA1 FIELD OF THE HIPPOCAMPUS IN THE BRAIN OF ALBINO RATS WITH DIFFERENT SEIZURE ACTIVITY IN POST-TRAUMATIC PERIOD

Ye. Yu. Sokolov, V. V. Semchenko

Objective — to study the cytoarchitecture of the sensorimotor cortex (SMC) and CA1 field of the hippocampus of albino rat brain after severe traumatic brain injury.

Material and methods. The polytrauma was modeled according to Noble-Collip method under the anesthesia. The main group (n=25) included animals with convulsive paroxysms (CP) and the comparison group (n=25) — rats free of them. The material was collected on days 1, 3, 7, 14 and 30 after the injury. The brain sections were stained with Nissl method, total numerical density of pyramidal neurons (TNDN) and the proportion of dark neurons (DN) were determined. Verification of statistical hypotheses was performed using Statistica 8.0.

Results. One day after trauma, the number of DN was significantly increased in SMC and CA1 field of the hippocampus. In the late recovery period, in the comparison group 65.0% of DN in SMC restored to normochromic cells, while in CA1 field of the hippocampus this was found in 18% neurons. The emergence of CP prevented the restoration of DN: in SMC 54.5% of the neurons, and in CA1 field of the hippocampus — only 2.7% of the cells were restored. As a result, in the main group TNDN in SMC decreased by 32.4%, while in CA1 field of the hippocampus it was reduced by 55.6% and in the comparison group — by 24.7% and 43.3%, respectively.

Conclusions. CP are a factor contributing to the pathological changes of neurons in the post-traumatic period.

Key words: brain, neocortex, hippocampus, cytoarchitecture, traumatic brain injury

Department of Anatomy, Histology, Physiology and Pathological Anatomy, Institute of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Omsk P. A. Stolypin State Agrarian University, 1, Institutskaya Ploshad, Omsk 44008