

© Коллектив авторов, 2013
УДК 612.822:612.273.2:599.323.4

А. В. Дробленков, Н. В. Наумов, М. В. МониД, Э. И. Валькович и П. Д. Шабанов

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ЦИРКУЛЯТОРНОЙ ГИПОКСИИ

Кафедра гистологии и эмбриологии (зав. — проф. Э. И. Валькович), Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет МЗ РФ; отдел нейрофармакологии (зав. — проф. П. Д. Шабанов), Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАН, Санкт-Петербург

Цель настоящего исследования — выявить структурные, пространственные и количественные изменения элементов паранигрального ядра (ПНЯ) среднего мозга и переднего цингулярного поля (ПЦП) конечного мозга при различных условиях циркуляторной гипоксии. Исследовали переднюю медиальную часть ПНЯ и слои V–VI ПЦП у взрослых крыс через 7 сут ($n=4$) после окклюзии обеих общих сонных артерий, а также у интактных (1-й контроль, $n=4$) и ложнооперированных животных (2-й контроль, $n=4$). На гистологических срезах, окрашенных крезиловым фиолетовым по Нисслю и используя методы выявления глиального фибриллярного кислого белка и белка Iba1, определяли соотношение малоизмененных, гипохромных, пикноморфных и тeneвидных нейронов, количество астроцитов, олигодендроцитов, микроглиоцитов и эндотелиоцитов. Измеряли площадь тел нейронов и глиоцитов, расстояние от них до стенки капилляров, вычисляли глиоцито-нейрональный индекс. Установлено, что клеточные элементы головного мозга, переживающие разные условия циркуляторной гипоксии, характеризуются спектром патологических изменений. Нейроны находятся в процессе пикнотизации ядер, лизиса и превращения в «клетки-тени». Клетки ядерной зоны гипоксии склонны к гибели или пикнозу. Нейроны, расположенные за пределами области гипоксии и испытывающие лишь гуморальное воздействие реакций глутамат-кальциевого каскада, часто подвергаются острому набуханию. Реакция микроглиоцитов в виде слабо выраженного увеличения их числа и структурных признаков активации является ранним диффузным проявлением переднемозговой очаговой гипоксии. Пролиферация эндотелиоцитов через 7 сут ишемического воздействия не связана с цепью каскадных реакций и наблюдается лишь в фокусе гипоксии. Концентрация жизнеспособных нейронов и астроцитов вблизи кровеносных капилляров, а также рост числа сателлитных форм глиоцитов является адаптационным механизмом и условием выживания клеток при различных ишемических воздействиях на головной мозг.

Ключевые слова: нейроны, глиоциты, эндотелиоциты, гипоксия, реактивные изменения

Распространенной моделью ишемических повреждений головного мозга является перевязка обеих общих сонных артерий. В этом случае страдают все отделы мозга, но стволые — в меньшей степени [17]. Кровоснабжение мозга поддерживается за счет двух позвоночных артерий, и животные выживают в течение 2–4 нед, если их не подвергать стрессорным воздействиям [10]. Данная модель глобальной ишемии мозга обычно используется для установления функциональных и биохимических постишемических нарушений [9, 14], важных для оценки эффективности фармакологической коррекции этих нарушений [10, 12]. Данных литературы о структурных, пространственных и количественных изменениях клеточных элементов формаций мозга при данном способе моделирования ишемии мы не нашли.

Морфологические исследования глобальной ишемии мозга единичны; большей частью они

связаны с зоной ишемического инфаркта и прилегающей области «полутени» (*zona penumbra*), образовавшимися в результате фокальной циркуляторной гипоксии. В этих зонах процесс развития постгипоксических изменений строения различных клеток мозга исследован довольно подробно [2]. Однако в большинстве экспериментальных работ отсутствует систематическое описание реактивных изменений всех основных клеточных элементов, находящихся в одинаковых условиях фокальной ишемии.

Исследована, главным образом, пространственная и структурная изменчивость тел клеток амебоидной формы глии (активированных макрофагов), начинающих концентрироваться в зоне пенумбры после 3 сут острой гипоксии. Пространственная пластичность других видов глиоцитов мало изучена. Способность олигодендроцитов концентрироваться вблизи тел нейронов

Сведения об авторах:

Дробленков Андрей Всеволодович (e-mail: droblenkov_a@mail.ru), *Наумов Николай Георгиевич* (e-mail: b15@zdrav.spb.ru), *Валькович Эрнест Иванович*, кафедра гистологии и эмбриологии, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

МониД Максим Викторович, *Шабанов Петр Дмитриевич*, отдел нейрофармакологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины, 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12

изучена при глобальной наркотической гипоксии [1, 6], при алкогольной абстиненции [4]; увеличение числа периваскулярных форм этих глиоцитов выявлено при хронической алкогольной интоксикации [4].

Несмотря на наличие данных о перемещениях тел астроцитов, направленных к области повреждения мозга у взрослых особей [15] и выделение периваскулярных и перинейрональных форм астроцитов, отличающихся по положению относительно стенки ближайших сосудов [2], в литературе нами не найдено работ, касающихся прицельного изучения изменчивости расстояния между астроцитами и стенкой сосудов. В единичных исследованиях лишь упомянуты наблюдения периваскулярных скоплений тел астроцитов, в частности, при иммунном воспалении [18]. Убедительные данные о дислокации тел нейронов относительно сосудистых компонентов мозга при различных воздействиях на зрелый мозг нами не найдены. Вместе с тем, феномен миграции нейронов нельзя исключить из перечня динамичных признаков гипоксии, даже исходя из данных о миграции клеток нейроглии.

В целом, морфологические исследования последствий глобальной или фокальной ишемии далеко не приближаются к выявлению целостного спектра лабильных структурных, количественных и пространственных постишемических изменений основных клеточных элементов мозга, способных представлять собой совокупность критериев, верифицирующих степень повреждения мозга и морфологическую эффективность ее фармакологической коррекции.

Цель настоящего исследования — выявить структурные, пространственные и количественные изменения клеточных элементов парангидрального ядра (ПНЯ) среднего мозга и переднего цингулярного поля (ПЦП) конечного мозга при различных условиях циркуляторной гипоксии.

Материал и методы. Опыты выполнены на крысах-самцах линии Вистар массой 200–220 г в возрасте 4 мес, полученных из питомника «Рапполово» РАМН (Ленинградская область). Были исследованы 2 левосторонние формации мозга, получающие кровь из разных крупных артерий [16] — переднемедиальный подотдел ПНЯ среднего мозга и V–VI слои прегенуальной части ПЦП — Cg3. Вследствие наиболее компактного расположения и крупного размера тел их нейронов данные структуры были предложены в качестве стандартных подотделов дофаминергической системы, клеточные элементы которых способны к динамичным изменениям при различных воздействиях на мозг [4–6]. Первая формация снабжается кровью из многочисленных мелких срединных среднемозговых артерий (бассейн позвоночной артерии), другая — из ветвей внутренней лобной артерии (бассейн передней мозговой артерии).

Клеточные элементы ПНЯ и ПЦП были исследованы у 3 групп крыс через 3 мин после декапитации согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ от 2003 г. № 267). Первая группа — интактные крысы (n=4) представляла собой основной контроль (контроль I). У крыс экспериментальной группы (n=4) воспроизводили неполную ишемию ПЦП. Под кратковременным эфирным наркозом производили билатеральную окклюзию обеих общих сонных артерий. Крыс фиксировали на стенке, препарировали общие сонные артерии и перевязывали их. Рану обрабатывали антисептиком и послойно зашивали. Контролем для животных с ишемией (контроль II) служили ложнопериоперированные животные (ЛОЖ, n=4), у которых воспроизводили все этапы операции без перевязки сонных артерий. Экспериментальных и ЛОЖ умерщвляли через 7 сут после операции.

Головной мозг фиксировали в 9% растворе нейтрального формалина, обезжизняли в этаноле возрастающей концентрации и заливали в парафин, изготавляли серийные срезы во фронтальной плоскости толщиной 3 мкм. Для исследования ПНЯ срезы делали на уровне передней границы сосцевидных тел, а V–VI слоев ПЦК — на уровне основания передних щипцов мозолистого тела.

Срезы окрашивали крезиловым фиолетовым по методу Ниссля, выявляли глиальный фибриллярный кислый белок астроцитов (GFAP — с использованием мышиных антител, клон GA-5, Biocare medical, США, разведение 1:250) и Iba1-антиген мембран клеток амебной формы глиоцитов (при помощи козых поликлональных антител к Iba1, AbCam, Великобритания, разведение 1:200). Вторичные биотинилированные антитела применяли из набора VECTASTAIN ABC (США). После проявления связанных антигенов диаминобензидином (DAB) срезы докрашивали гематоксилином Карazzi.

Визуальную и морфометрическую оценку клеточных элементов исследованных структур мозга осуществляли в трех последовательных квадратах площадью 0,01 мм² у каждого животного в группе (n=12). На срезах, окрашенных по Ниссля, подсчитывали тела астроцитов, олигодендроцитов, микроглиоцитов, эндотелиоцитов, а также нейронов после их идентификации согласно классификации Ю. М. Жаботинского [7], широко используемой в современных нейроморфологических исследованиях [5, 6, 8], как неизменные (малоизменные), гипохромные, сморщенные гиперхромные (пикноморфные) и тенивидные. Определяли абсолютное количество и долю данных форм, площадь тел жизнеспособных нейронов (малоизменных и гипохромных), расстояние между их телами, а также телами астроцитов и стенкой кровеносного капилляра в пределах окружности радиусом 20 мкм. Астроциты идентифицировали по светлым ядрам овальной и округлой формы, диаметр которых находился в пределах 5–8 мкм и имеющим на срезе отчетливо видимое ядрышко. Ядра были окружены светлым ободком цитоплазмы толщиной 1–4 мкм. Подсчитывали количество олигодендроцитов, определяли глиоцито-нейрональный индекс (как отношение количества клеток-сателлитов к количеству малоизменных и гипохромных нейронов), количество эндотелиоцитов и площадь их ядер. Олигодендроциты были идентифицированы по гиперхромным ядрам округлой формы, диаметр которых составлял 3–5 мкм, снаружи которых часто был различим узкий светлый ободок цитоплазмы толщиной не более 2 мкм. Эндотелиоциты идентифицировали по самым небольшим гиперхромным ядрам вытянутой формы, обращенным в про-

Таблица 1

Характеристика нейронов в исследованных формированиях головного мозга у интактных крыс и после пролонгированного воздействия циркуляторной гипоксии на площади $0,01 \text{ мм}^2 (\bar{x} \pm \bar{s}_x)$

Исследованные формирования мозга	Группа животных	Абсолютное количество (в 12 квадратах верхняя строка) и доля (нижняя строка, %) нейронов в популяции						Площадь тел нейронов, мкм^2			Расстояние тел нейронов до стенки капилляра, мкм	
		неизменённых	дистрофически изменённых		теневидных	Суммарное количество нейронов	малоизменённых	гипохромных	гипохромных	малоизменённых	гипохромных	
			гипохромных	пикноморфных								
Паранитральное ядро среднего мозга	Интактные	$7,3 \pm 0,4$ 61 ± 3	$1,8 \pm 0,3$ 15 ± 3	$0,40 \pm 0,20$ $3,3 \pm 1,1$	$2,6 \pm 0,5$ 21 ± 15	$12,1 \pm 0,5$ 100	104 ± 9 (n=20)	89 ± 6 (n=9)	$7,0 \pm 2,0$ (n=12)	$5,8 \pm 2,5$ (n=12)		
	После гипоксии	$0,30 \pm 0,10^*$ $2,8 \pm 1,7^*$	$5,3 \pm 0,6^*$ $50 \pm 4^*$	$0,80 \pm 0,20^*$ $7,7 \pm 2,2^*$	$4,3 \pm 0,6^*$ $39 \pm 5^*$	$10,7 \pm 1,0$ 100	–	$186 \pm 14^*$ (n=12)	$3,7 \pm 1,2^*$ (n=20)			
Переднее цингулярное поле, слои V–VI	Интактные	$18,1 \pm 0,8$ $82,5 \pm 2,0$	$1,2 \pm 0,3$ $5,0 \pm 1,4$	$0,80 \pm 0,20$ $3,7 \pm 1,1$	$1,90 \pm 0,20$ $8,8 \pm 1,1$	$22,0 \pm 1,0$ 100	89 ± 34 (n=23)	70 ± 7 (n=7)	$7,9 \pm 1,5$ (n=48)	$7,0 \pm 1,8$ (n=8)		
	После гипоксии	$0,10 \pm 0,10^*$ $0,3 \pm 0,3^*, **$	$3,4 \pm 0,5^*$ $15,1 \pm 2,0^*, **$	$8,5 \pm 0,9^*$ $37,0 \pm 2,9^*, **$	$10,8 \pm 0,7^*$ $47,6 \pm 2,2^*, **$	$22,9 \pm 1,1$ 100	–	$172 \pm 9^*$ (n=17)	$2,1 \pm 1,0^*$ (n=20)			

Примечание. п. — количество исследованных. Здесь и в табл. 2 и 3: * различия по сравнению с параметрами у интактных крыс значимы при $P < 0,05$; ** различия по сравнению с соответствующим параметром в паранитральном ядре значимо при $P < 0,05$.

свет капилляра, часто содержащего эритроциты. На срезах при реакции на GFAP определяли количество астроцитов, расстояние от их тел до стенки капилляра в пределах окружности радиусом 20 мкм (контроль результата, полученного аналогичным способом на срезах, окрашенных по Нисслю), площадь тел астроцитов и длину их осевых отростков. При реакции Iba1 определяли количество и площадь микроглиоцитов.

Морфометрию проводили с помощью программы Imagescore. Среднее арифметическое, среднее квадратическое отклонение и стандартную ошибку среднего определяли с помощью компьютерной программы Excel. О значимости различий судили по величине t-критерия Стьюдента и считали их значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования. Тела большинства нейронов ПНЯ и исследованных слоев цингулярной коры у интактных крыс были неизмененными, т. е. содержали хромотофильную субстанцию, имели четкие ровные контуры клеточной и ядерной поверхности. Единичные нейроны выглядели гипохромными, пикноморфными и тeneвидными. Все нейроны находились на разном расстоянии от стенки кровеносных капилляров, клетки сателлитной глии были единичными (рис. 1, а; 2, а; табл. 1).

Ядра астроцитов, чаще занимающие центральное положение в теле клетки, были окружены равномерно экспрессируемыми белками промежуточных филаментов (см. рис. 1, б; 2, б). Тонкие осевые отростки астроцитов ПНЯ в количестве от 1 до 5 и глубоких слоев ПЦП в количестве от 2 до 7 также равномерно экспрессировали GFAP. Концевые части некоторых отростков образовывали тонкие периваскулярные глиальные мембраны, экспрессия GFAP которых в отдельных небольших участках была прерывистой. Средняя длина осевых отростков астроцитов на плоскости в 3–4 раза превышала длинный диаметр тел клеток, которые по отношению к капиллярам были расположены на разном расстоянии (табл. 2).

Микроглиоциты были самыми малочисленными клетками (см. рис. 1, а; 2, а; табл. 3), они располагались преимущественно по ходу капилляров и экспрессировали Iba1 в удлинённом клеточном теле и основании осевых отростков (см. рис. 2, в). Эндотелиоциты встречались в 2–3 раза чаще, чем микроглиоциты, но несколько реже макроглиоцитов и имели самые мелкие ядра из всех клеточных элементов.

В ПНЯ и ПЦП у ЛОЖ через 7 сут значимых изменений морфометрических параметров всех клеточных элементов не наблюдалось.

После 7 сут гипоксии среди нейронов ПНЯ преобладали набухшие гипохромные, а в ПЦП — тeneвидные и гиперхромные пикноморфные формы (см. рис. 1, в; 2, г). Наименее измененные единичные нейроны, определявшиеся вблизи кро-

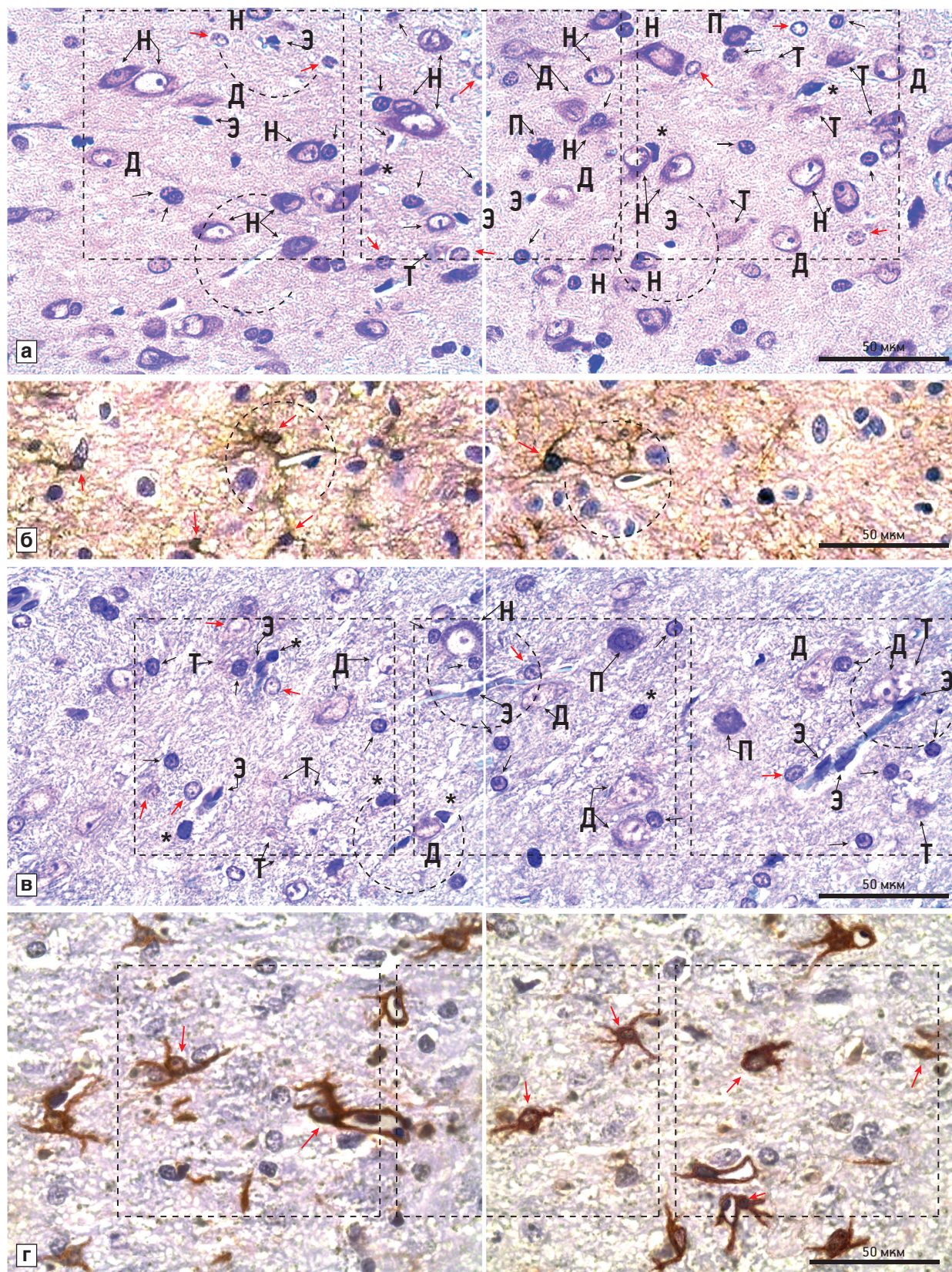


Рис. 1. Клеточные элементы паравентрального ядра у крыс в норме (а, б) и их реактивные изменения через 7 сут экспериментальной гипоксии (в, г).

Н — малоизмененные нейроны; дистрофически измененные нейроны: Д — гипохромные, П — пикноморфные гиперхромные; Т — теневидные нейроны; черные стрелки — олигодендроциты; красные стрелки — астроциты, звездочки — микроглиоциты, Э — эндотелиоциты. Квадратной рамкой (пунктир) ограничена площадь исследования, равная 0,01 мм². Центр окружности (пунктир) радиусом 20 мкм совмещен со стенкой кровеносного капилляра, ближайшей к телу нейрона и астроцита. а, в — окраска крезильовым фиолетовым по Нисслю; б, г — реакция на глиальный фибриллярный кислый белок с докраской гематоксилином. Об. 63, ок. 10

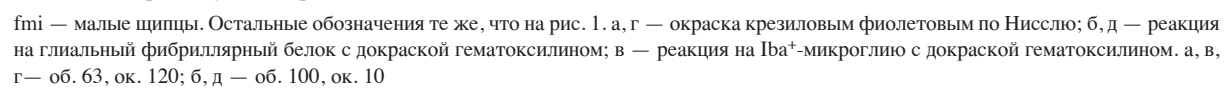


Таблица 2

Характеристика астроцитов в исследованных формациях головного мозга у интактных крыс и после пролонгированного воздействия циркуляторной гипоксии на площади 0,01 мм² ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Исследованные формации мозга	Группы животных	Количество астроцитов при реакции на GFAP	Расстояние тела астроцита до стенки капилляров, мкм		Площадь тел астроцитов, мкм ² (19<n>30)	Длина отростков, мкм (28<n>53)
			Окраска по Нисслю	Реакция на GFAP		
Паранигральное ядро среднего мозга	Интактные	3,7±0,3	9,5±1,7	9,8±0,9	38±3	13,1±0,8
	После ишемии	3,3±0,4	1,3±0,9*	2,7±1,6*	65±5*	8,3±0,6*
Переднее цингулярное поле, слои V–VI	Интактные	5,0±0,6	7,8±2,0	10,2±2,1	42,6±2,7	13,3±0,6
	После ишемии	4,1±0,6	1,9±1,1*	0,7±0,6*	59±6*	15,7±1,1**

Примечание. GFAP — глиальный фибриллярный кислый белок.

Таблица 3

Характеристика олигодендроцитов, микроглиоцитов и эндотелиоцитов в исследованных формациях головного мозга у интактных крыс и после пролонгированного воздействия циркуляторной гипоксии на площади 0,01 мм² ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Исследованные формации мозга	Группа животных	Олигодендроциты		Микроглиоциты		Эндотелиоциты	
		Количество	Глиоцито-нейрональный индекс	Количество	Площадь тел, мкм ²	Количество	Площадь ядер, мкм ²
Паранигральное ядро среднего мозга	Интактные	3,4±1,0	0,19±0,03	1,10±0,20	26,9±1,8	2,7±0,4	11,0±0,7
	После гипоксии	3,6±0,5	0,26±0,05*	1,9±0,4*	40±4*	2,8±0,4	18,1±1,7*
Переднее цингулярное поле, слои V–VI	Интактные	5,9±0,6	0,10±0,10	1,4±0,3	29,9±2,2	2,6±0,5	10,1±0,8
	После гипоксии	4,8±0,5	0,36±0,04*,**	2,0±0,4*	39,6±2,2*	3,9±0,3*,**	23,0±1,5*,**

веносных капилляров, были окружены сателлитной формой олигодендроцитов и астроцитов. Тела этих нейронов были набухшими, но сохранившими скопления глыбок хроматофильного вещества. Малоизмененные нейроны в ПЦП встречались значительно реже, чем в ПНЯ (0,3±0,3 и 2,8±1,7% соответственно, $P<0,05$; см. табл. 1). Набухшие гипохромные нейроны в ПНЯ встречались в 3,3 раза чаще, чем в ПЦП. Гиперхромные сморщенные и тeneвидные нейроны чаще были обнаружены в ПЦП, чем в ПНЯ (в 4,8 и 1,2 раза соответственно, $P<0,05$). В отличие от ПНЯ, ПЦП было лишено жизнеспособных нейронов (малоизмененных, гипохромных и пикноморфных) почти наполовину, которые, как и большая часть тeneвидных клеток, группировались вблизи капилляров. Между перикапиллярными скоплениями нейронов были видны участки разреженности клеток, среди которых располагались единичные измененные нейроны. В ПНЯ таких участков разреженности нейронов не было. Расстояние между телами жизнеспособных нейронов и стенкой капилляров в обеих исследованных формациях мозга после пролонгированной гипоксии значительно сократилось по сравнению с таковым в контрольных группах. Степень набухания нейронов и сокращение расстояния их тел до стенки капилляров, а также глиоцито-нейрональный индекс в ПЦП

по сравнению с данными параметрами в ПНЯ при пролонгированной гипоксии были незначительно больше ($0,05<P<0,1$) и существенно различались с параметрами обеих контрольных групп.

В астроцитах сравниваемых формаций мозга в результате пролонгированной гипоксии были выявлены значительные различия реактивных изменений (см. рис. 1, г; 2, д). В ПНЯ значительное увеличение площади их тел (см. табл. 2) было обусловлено гипертрофией цитоплазмы, равномерно и интенсивно экспрессирующей GFAP, окружающей неизменное ядро, у некоторых клеток расположенное слегка эксцентрично. Отростки были утолщены и укорочены (в 1,6 раза; $P<0,05$). Периваскулярные глиальные мембраны выглядели утолщенными и непрерывными. Они так же, как тела и отростки астроцитов, равномерно экспрессировали GFAP. Большинство тел находились в непосредственной близости от стенки капилляров; расстояние между ними, установленное как при окраске по Нисслю, так при реакции на GFAP, было меньше в 3,6–7,3 раза ($P<0,05$), чем в контрольных группах.

Астроциты ПЦП отличались отеком цитоплазмы и ядра, а также разреженностью, фрагментацией и смещением GFAP-позитивного материала к одной из сторон клеточного тела. Длина осевых отростков клеток не отличалась от этого

параметра в обеих контрольных группах. Уровень экспрессии GFAP в отростках астроцитов и периваскулярных глиальных мембранах был снижен, GFAP-позитивный материал на большем протяжении мембран был неразличим. Расстояние между телами астроцитов и стенкой капилляра по сравнению с контролем сократилось (в 4,1–14,6 раза). Степень уменьшения этого расстояния в ПЦП была незначительно больше, чем в ПНЯ ($0,05 < P < 0,1$). Количество астроцитов и олигодендроцитов в ПНЯ и ПЦП осталось без изменений.

Количество микроглиоцитов в обеих структурах было несколько увеличено (см. табл. 3); также была увеличена и площадь их тел (в 1,3–1,5 раза; $P < 0,05$). Многие клетки в ПНЯ остались вблизи сосудов и приобрели округлую форму, большая часть активированных микроглиоцитов в ПЦП группировались вблизи измененных нейронов и имели вытянутую форму.

Количество эндотелиоцитов было значительно увеличено только в ПЦП (см. рис. 1, в; 2, г; табл. 3), хотя на отдельных срезах ПНЯ они располагались небольшими группами и в обеих формациях имели значимо большую площадь ядер ($P < 0,05$), чем в контроле.

Обсуждение полученных данных. Несмотря на то, что в настоящем исследовании была использована модель фокальной гипоксии переднего мозга, включающая его основные функции [12], полученные нами данные свидетельствуют о значительном спектре структурно-функциональных нарушений клеточных элементов ПНЯ, получающих кровь из действующего капиллярного русла срединных среднемозговых артерий. Изменения нейронов в виде острого набухания, лизиса и образование клеток-теней в ПНЯ через 7 сут опыта не могут не быть отсроченным проявлением глутамат-кальциевого каскада как результата взаимодействия системы «нейрон—астроцит—капилляр—нейрон». В ходе гуморального варианта этой реакции, распространяющейся вширь от зоны пенумбры, в нейронах происходят активация кальмодулин-зависимых клеточных ферментов, оксидантный стресс, избыточная выработка токсичного оксида азота и накопление низкомолекулярных цитотоксичных соединений [3]. Нейроны в ПЦП, переживающие, кроме реакций глутамат-кальциевого каскада, состояние гипоксии, погибают, реже сморщиваются, по-видимому, вследствие конденсации оргanelл [2] либо набухают.

Концентрация тел жизнеспособных нейронов и астроцитарных глиоцитов вблизи кровеносных капилляров может быть обусловлена как появлением участков «выпадения» клеток при рас-

паде апоптотических телец [11], так и благодаря их перемещению в пространстве. Способность к миграции жизнеспособных нейронов: гипохромных, пикноморфных, единичных малоизмененных, как и астроцитов, в направлении стенки капилляров связана с содержанием густой сети микрофиламентов, распределенных вблизи плазмолеммы тел и отростков этих клеток [2, 16]. Можно полагать, что астроциты и связанные с ними тела нейронов в ПНЯ приблизились к стенке капилляров в начале ишемического воздействия, поскольку через 7 сут многие из астроцитов уже представляли собой периваскулярную форму клеток, отростки которых были укорочены, окружали стенку капилляров, обладали признаками гипертрофии и увеличенной экспрессией GFAP. Также логично предположить, что в результате миграции астроциты и связанные с ними нейроны ПЦП, находящиеся в фокусе гипоксии, приобрели периваскулярную локализацию в более ранние сроки опыта, поскольку астроциты к его концу обладали отчетливо выраженными признаками дистрофии. Выявленные признаки гипертрофической реакции астроцитов, не долго переживающих гипоксию на значительном удалении от ее фокуса, коррелируют с данными о накоплении гликогена и увеличении продукции промежуточных филаментов в этих клетках в зоне пенумбры [13].

Значительное увеличение числа клеток-сателлитов в условиях жесткой гипоксии следует расценивать как чувствительную компенсаторную неспецифическую глиальную реакцию, выявленную также при алкогольной и опиатной абстиненции [1, 2] и наркотической гипоксии [1]. Деятократное увеличение глиоцито-нейронального индекса может свидетельствовать о напряженной передаче глиальных нутриентов перикарионам нейронов.

Таким образом, клеточные элементы головного мозга при переживании разных условий циркуляторной гипоксии характеризуются спектром выраженных патологических изменений. Нейроны находятся в процессе сморщивания—гиперхромии, лизиса и превращения в «клетки-тени». Клетки ядерной зоны гипоксии склонны к гибели или сморщиванию—гиперхромии. Нейроны, расположенные за пределами области гипоксии (например ПНЯ) и испытывающие лишь гуморальное воздействие реакций глутамат-кальциевого каскада, склонны к острому набуханию.

Реакция микроглиоцитов в виде слабо выраженного увеличения их числа и признаков активации является ранним диффузным проявлением переднемозговой фокальной гипоксии.

Пролиферация эндотелиоцитов через 7 сут ишемического воздействия не связана с цепью каскадных реакций и наблюдается лишь в фокусе гипоксии, т. е. в ПЦП.

Концентрация жизнеспособных нейронов и астроцитов вблизи кровеносных капилляров, а также рост числа сателлитных форм глии являются адаптационными механизмами и условием выживания клеток при различных ишемических воздействиях на головной мозг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богомолов Д. В. Судебно-медицинская диагностика наркотической интоксикации по морфологическим данным: Автореф. дис. д-ра мед. наук. М., 2001.
2. Васильев Ю. Г. и Берестов Д. С. Гомеостаз и пластичность мозга. Ижевск, изд. Ижевск. гос. с.-х. акад., 2011.
3. Гусев Е. И. и Скворцова В. И. Ишемия головного мозга. М., Медицина, 2001.
4. Дробленков А. В. Морфологические признаки отравления этанолом, алкогольной абстиненции и хронической алкогольной интоксикации в мезокортиколимбической дофамин-ергической системе. Суд.-мед. экспертиза, 2011, т. 54, № 5, с. 11–17.
5. Дробленков А. В. и Карелина Н. Р. Структурные особенности нейронов и макроглиоцитов взаимосвязанных отделов мезоаккумбацинглярной дофамин-ергической системы крыс. Морфология, 2009, т. 136, вып. 5, с. 11–17.
6. Дробленков А. В., Карелина Н. Р. и Шабанов П. Д. Изменения нейронов и глиоцитов мезоаккумбацинглярной системы при перинатальном воздействии морфина у крыс. Морфология, 2009, т. 136, вып. 6, с. 35–37.
7. Жаботинский Ю. М. Нормальная и патологическая морфология нейрона. М., Наука, 1965.
8. Литвинцев Б. С., Одинак М. М., Гайкова О. Н. и др. Клинико-морфологическая характеристика неврологических проявлений наркомании. Профилактич. и клин. медицина, 2011, т. 39, № 2, с. 99–104.
9. Пошивалов В. П. Этологический атлас для фармакологических исследований на лабораторных грызунах. М., 1978. Деп. в ВИНТИ, № 3164–3178.
10. Шабанов П. Д., Зарубина И. В. и Soultanov Vagif S. К механизму действия полипептидов при ишемии головного мозга. Мед. акад. журн., 2011, т. 11, № 2, с. 24–31.
11. Charriaut-Marlangue C., Margail I. and Represa A. J. Apoptosis and necrosis after reversible focal ischemia: an in situ DNA fragmentation analysis. Cereb. Blood. Flow Metab., 1996, v. 16, p. 186–194.
12. Ginsberg M. D. and Busto R. Rodent models of cerebral ischemia. Stroke, 1989, v. 20, p. 1627–1642.
13. Kajihara H., Tsutsumi E., Kinoshita A. et al. Activated astrocytes with glycogen accumulation in ischemic penumbra during the early stage of brain infarction: immunohistochemical and electron microscopic studies. Brain Res., 2001, v. 909, № 3, p. 92–101.
14. Marysheva V. V., Mikheev V. V. and Shabanov P. D. Effect of amitizol on resistance of SHR mice to acute hypoxia with hypercapnia under conditions as isolated functioning of one cerebral hemisphere. Bull. Exp. Biol. Med., 2013, v. 154, № 4, p. 453–456.
15. Okoye G. S., Powel E. M. and Geller H. M. Migration of A7 immortalized astrocyte cells grafted into the adult rat striatum. J. Comp. Phys., 1995, v. 262, p. 524–534.
16. Racchetti G., D'Alessandro R. and Meldolesi J. Astrocyte stellation, a process dependent on Rac1 is sustained by the regulated exocytosis of enlargeosomes. Glia, 2012, v. 60, issue 3, p. 465–475.
17. Scremin O. U. Cerebral blood vessels. In: The Rat Nervous System. 3-d ed. Amsterdam, Elsevier Acad. Press, 2004, p. 1176–1780.
18. Voskuhl R. R., Peterson R. S., Song B. et al. Reactive astrocytes form scar-like perivascular barriers to leukocytes during adaptive immune inflammation of the CNS. J. Neurosci., 2009, v. 29, p. 11511–11522.

Поступила в редакцию 22.04.2013

REACTIVE CHANGES OF THE RAT BRAIN CELLULAR ELEMENTS UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF CIRCULATORY HYPOXIA

A. V. Droblenkov, N. V. Naumov, M. V. Monid,
E. I. Valkovich and P. D. Shabanov

The aim of this study was to detect structural, spatial and quantitative changes of cellular elements of midbrain paragnathal nucleus (PNN) and telencephalic anterior cingulate area (ACA) under different conditions of circulatory hypoxia. PNN anterior-medial part and ACA layers V–VI were examined in adult rats 7 days (n=4) after an occlusion of both common carotid arteries as well as in intact (1st control, n=4) and sham-operated animals (2nd control, n=4). In histological sections, stained with Nissl cresyl violet, and using the methods of glial fibrillary acidic protein and an Iba1-protein detection, the proportions of unmodified, hypochromic, pyknotic neurons and ghost cells were determined as well as the numbers of astrocytes, oligodendrocytes, microglia and endothelial cells. Cell body area of neurons and gliocytes, and the distance between cell bodies and capillaries were measured, a gliocyte-neuronal index was calculated. It was found that brain cellular elements that survive different conditions of a circulatory hypoxia underwent a range of pathological changes. Neurons were in process of nuclear pyknosis, lysis and transformation into the ghost cells. The cells within the hypoxia nuclear zone were prone to death or pyknosis. The neurons located outside the area of hypoxia which were affected only by a humoral impact of reactions of the glutamate-calcium cascade, frequently underwent acute swelling. Microglia reaction in the form of poorly expressed increase in their number and structural signs of activation was an early diffuse manifestation of a prosencephalic focal hypoxia. Endothelial cell proliferation 7 days after of ischemic challenge was not associated with a chain of cascade reactions and was observed only in the hypoxia focus. Concentration of viable neurons and astrocytes near blood capillaries, as well as an increase in the number of satellite form gliocytes is an adaptation mechanism and a condition for the survival of cells during various types of brain exposure to ischemia.

Key words: neurons, gliocytes, endothelial cells, hypoxia, reactive changes

Department of Histology and Embryology, St. Petersburg State Pediatric Medical University, Department of Neuropharmacology, RAMS Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg