

Д. Э. Коржевский, О. В. Кирик и Т. Д. Власов

ПОЯВЛЕНИЕ ЗВЕЗДЧАТЫХ ГЛАДКИХ МИОЦИТОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ КРЫСЫ ПОСЛЕ ТРАНЗИТОРНОЙ ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы (зав. — д-р мед. наук Д. Э. Коржевский), отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург; кафедра патологической физиологии (зав. — проф. Т. Д. Власов), Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

Одной из мало исследованных проблем патогенеза ишемического повреждения головного мозга является ранняя реорганизация кровеносных сосудов в зоне транзиторной ишемии. Цель настоящего исследования состояла в изучении структурной организации и цитохимических характеристик гладких миоцитов (ГМ) стенки внутримозговых кровеносных сосудов у 16 крыс Вистар в ранний постишемический период (через 48 ч после 30-минутной ишемии). При изучении поврежденного полушария обнаружены звездчатые клетки, дающие реакцию на α -гладкомышечный актин, представляющие собой, по-видимому, особую популяцию структурно измененных ГМ, не характерных для интактного мозга контрольных животных ($n=5$). Функциональная роль этих клеток остается неясной.

Ключевые слова: головной мозг, ишемия, гладкие миоциты, α -актин

Ишемическое повреждение головного мозга у человека является причиной таких тяжелых заболеваний, как ишемический инсульт и постишемическая энцефалопатия [1]. Эти состояния моделируются на лабораторных животных с целью исследования патогенеза заболеваний, изучения возможностей их фармакологической коррекции и разработки новых профилактических приемов [4, 5]. Одной из малоисследованных проблем в рамках этого направления является ранняя реорганизация кровеносных сосудов в зоне транзиторной ишемии.

Цель настоящего исследования — изучение структурной организации и цитохимических характеристик гладких миоцитов (ГМ) стенки кровеносных сосудов мозга в ранний постишемический период.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на половозрелых крысах-самцах линии Вистар. Содержание животных и все экспериментальные манипуляции осуществляли с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Индукцию ишемии у 16 животных проводили при помощи эндоваскулярной окклюзии средней мозговой артерии [4] под общей анестезией (тиопентал-

натрий, 60 мг/кг). Продолжительность нарушения кровообращения в бассейне левой средней мозговой артерии в каждом случае составляла 30 мин, а время реперфузии — 48 ч. Контролем служил головной мозг интактных животных ($n=5$). Материал фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде, обезживали и заливали в парафин обычным способом. Морфологическому исследованию подвергали фронтальные срезы конечного мозга. Для иммуноцитохимического выявления специфической формы актина, характерной для ГМ — α -актина, были использованы мышиные моноклональные антитела (клон 1A4; Dako, Дания) и набор EnVision+ System Labelled Polymer-HRP Anti-Mouse (Dako, Дания). После постановки иммуноцитохимических реакций часть срезов докрашивали гематоксилином. Фотосъемку выполняли, используя микроскоп Leica DM750 и фотокамеру ICC50 (Leica, Германия).

Результаты исследования. В контроле при проведении иммуноцитохимической реакции на актин отчетливо выявлялись ГМ, располагающиеся в стенках крупных кровеносных сосудов как артерий, так и вен, в мягкой мозговой оболочке, сосудистом сплетении и нервной ткани головного мозга. Капилляры были, как правило, иммунонегативны.

Через 48 ч после 30-минутного прекращения кровотока у 10 крыс в бассейне левой средней

Сведения об авторах:

Коржевский Дмитрий Эдуардович (e-mail: DEK2@yandex.ru), Кирик Ольга Викторовна (e-mail: iemmorphol@yandex.ru), лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы, отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12

Власов Тимур Дмитриевич (e-mail: tvlasov@yandex.ru), кафедра патологической физиологии, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6–8

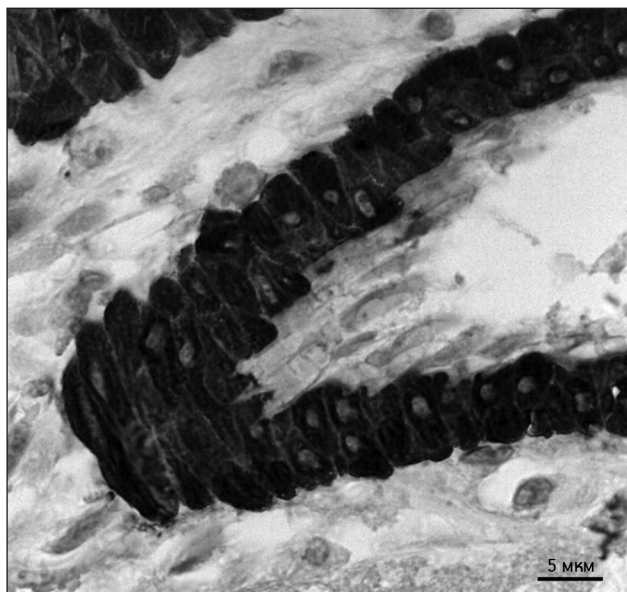


Рис. 1. Типичные гладкие миоциты (ГМ) в стенке мозговой артерии крысы.

Иммуноцитохимическая реакция на актин ГМ с докраской ядер гематоксилином

мозговой артерии в левом полушарии регистрировалось повреждение нейронов стриатума, и у 6 крыс формировался очаг ишемического инсульта (ишемический некроз части стриатума, иногда с захватом прилежащего неокортекса). У животных экспериментальной серии в неповрежденной части мозга (рис. 1) и даже в области некроза нервной ткани сохранялась иммунопозитивность стенок кровеносных сосудов.

В отличие от интактных животных и неповрежденного полушария экспериментальных крыс, в их ишемизированном полушарии были обнаружены иммунопозитивные крупные звезд-

чатые клетки (рис. 2). У большей их части контакта с кровеносными сосудами не было, но отдельные из них имели отростки, соприкасающиеся с тонкостенными сосудами. При этом тела иммунопозитивных клеток были расположены вне стенки сосуда. Обнаруженные клетки имели крупные ядра с преобладанием эухроматина. Преимущественная локализация иммунопозитивных звездчатых клеток соответствовала ретроградному миграционному пути, прилежащей части субкортикального белого вещества и верхней части латеральной субвентрикулярной зоны.

Обсуждение полученных данных. Известно, что α -актин является маркером ГМ, что в полной мере подтверждает и окраска средней оболочки артерий в контрольных препаратах. Ранее было показано, что в мелких кровеносных сосудах как в мозгу, так и вне мозга, α -актин-иммунопозитивными являются клетки, имеющие сложную отростчатую форму [2, 3]. Однако эти отростчатые клетки по выполняемой ими функции, развитию сократительного аппарата и локализации представляют собой особую популяцию ГМ. Их отростки охватывают стенку сосуда (эндотелиальную трубку) и не направлены во вне. Поэтому появление внесосудистых звездчатых ГМ в участках полушария мозга, подвергнутого ишемии, кажется необъяснимым. Тем не менее, сходные по строению и цитохимическим свойствам клетки были обнаружены при индукции ишемического инсульта у другой линии крыс на 3-и сутки перфузии [6]. В поставленном нами эксперименте необычным представляется раннее (48 ч) появление новых клеток, структурно и цитохимически являющихся дифференцированными клеточными элементами. Организация отростков выявленных

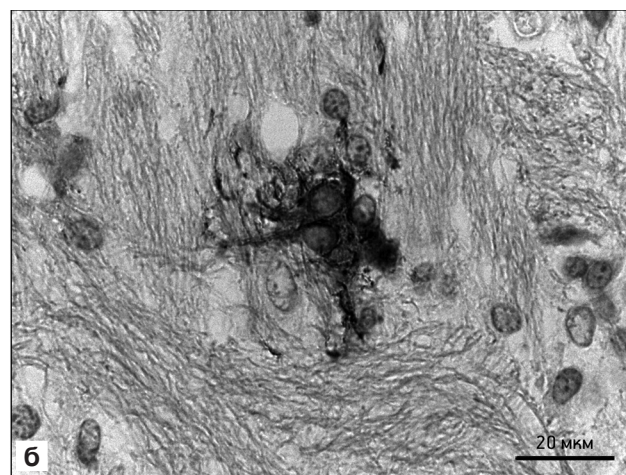
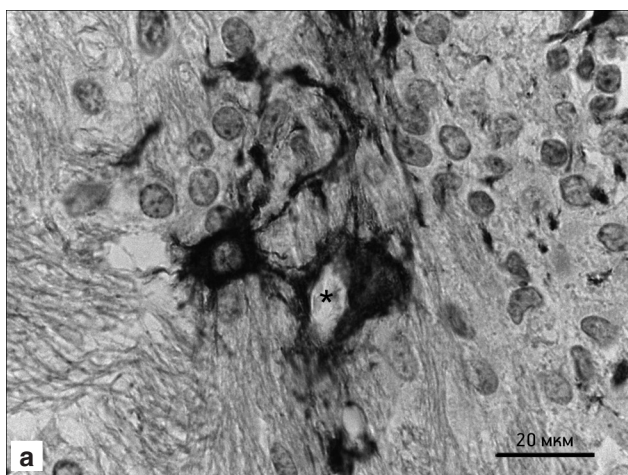


Рис. 2. Варианты атипичных звездчатых гладких миоцитов (ГМ), имеющих (а) и не имеющих (б) отростков, соприкасающихся со стенкой кровеносного сосуда через 48 ч после транзиторной фокальной ишемии головного мозга крысы.

Звездочка — просвет сосуда. Иммуноцитохимическая реакция на актин ГМ с докраской ядер гематоксилином

клеток не характерна для типичных микроглиоцитов и астроцитов мозга крысы. Не похожи они и на олигодендроциты, которые обычно имеют меньшие размеры. Контакт части иммунопозитивных клеток со стенкой кровеносного сосуда указывает на возможность их выселения в нервную ткань из этой области локализации типичных ГМ.

Таким образом, обнаруженные звездчатые клетки, вероятно, представляют особую популяцию структурно измененных ГМ, не характерную для интактного мозга. Функциональное значение появления этих клеток остается непонятным и нуждается в дальнейшем изучении.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект — 10-04-00180а).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е. И. и Скворцова В. И. Ишемия головного мозга. М., Медицина, 2001.
2. Коржевский Д. Э. Сосудистое сплетение головного мозга человека: гистогенез и тканевая организация: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2001.
3. Коржевский Д. Э., Отеллин В. А., Неокесарийский А. А. и др. Организация и цитохимические особенности барьерных структур плаценты человека. Морфология, 2006, т. 129, вып. 3, с. 63–64.
4. Korzhevskii D. E., Kirik O. V., Baisa A. E. and Vlasov T. D. Simulation of unilateral ischemic injury to the striatal neurons inflicted by short-term occlusion of the middle cerebral artery. Bull. Exp. Biol. Med., 2009, v. 147, № 2, p. 255–256.
5. Otellin V. A., Korzhevskii D. E., Kostkin V. B. et al. The neuroprotective effect of creatin in rats with cerebral ischemia. Dokl. Biol. Sci., 2003, v. 390, p. 197–199.
6. Sharma V., Ling T. W., Rewell S. S. et al. A novel population of α -smooth muscle actin-positive cells activated in rat model of stroke: an analysis of the spatio-temporal distribution in response to ischemia. J. Cereb. Blood Flow Metab., 2012., v. 32, № 11, p. 2055–2065.

Поступила в редакцию 23.10.2012

APPEARANCE OF STELLATE SMOOTH MUSCLE CELLS IN THE RAT BRAIN AFTER TRANSITORY FOCAL ISCHEMIA

D. E. Korzhevskiy, O. V. Kirik and T. D. Vlasov

One of the poorly studied problems of the pathogenesis of the brain ischemic damage is the early reorganization of blood vessels in the zone of the transitory ischemia. The aim of the present study was to investigate the structural organization and cytochemical characteristics of smooth muscle cells (SMC) in the wall of the intracerebral blood vessels in 16 Wistar rats during the early postischemic period (48 hrs after a 30 minute-long ischemia). Examination of the lesioned hemisphere revealed the stellate cells, demonstrating positive reaction to α -smooth muscle actin, which seem to be a special population of structurally modified SMC, uncharacteristic to the intact brain of control animals (n=5). The functional role of these cells remains to be elucidated.

Key words: *brain, ischemia, smooth muscle cells, α -actin*

Laboratory of the Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special Morphology, RAMS North-Western Branch Institute of Experimental Medicine; Department of Pathological Physiology, I. P. Pavlov State Medical University, St. Petersburg