

© О. Н. Забродин, 2013
УДК 001.891.53:611.81:636.92(091)

О. Н. Забродин

РАЗВИТИЕ СТЕРЕОТАКСИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА КРОЛИКОВ (к 100-летию со дня рождения Л. Н. Дерябина)

Кафедра анестезиологии и реаниматологии (зав. — проф. В. А. Волчков), Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

Возникновение и развитие стереотаксического метода связаны с работами многих исследователей [13, 18–19] и подробно изложены в монографии Р. М. Мещерского [14]. V. Horsley и R. H. Clarke [18] впервые предложили для головного мозга кошки основной горизонтальный план, проходящий через центры наружных слуховых проходов и нижние поверхности орбит.

Изучение функций головного мозга кролика затруднялось из-за наличия у них косоного расположения наружных слуховых проходов, препятствующих вставлению в них прямых металлических держателей. Выход из этого положения нашли С. Н. Sawyer и соавт. [20], использовавшие для изготовления стереотаксических карт мозга кролика принцип V. Horsley и R. H. Clarke [18]. Они определяли пространственное расположение структур мозга в системе прямоугольных координат, опирающихся на внешнечерепные ориентиры. Вместо ушных держателей для кошек при ориентации и фиксации каудальной части головы были использованы двусторонние прижимы.

С помощью этих приспособлений голову кролика фиксировали в горизонтальном положении способом, при котором ориентирная точка на поверхности черепа — брегма принимала положение точки на 1,5 мм выше ламбды. Плоскость, проходящая через эти 2 точки, авторами была принята за основную горизонтальную плоскость. Они считали, что при использовании боковых прижимов (вместо прямых ушных держателей) основная горизонтальная плоскость устанавливается без боковых перекосов головы. Кроме того, авторы разработали методику подхода к изготовлению стереотаксических карт. Все это позволило им изготовить стереотаксический атлас мозга кролика [20].

Другой стереотаксический атлас был создан в Чехословакии [17] для головного мозга кролика неизвестной породы и различной массы тела. В основу построения атласа были положены те же методы и принципы координатной системы, которые были использованы при создании стереотаксического атласа для новозеландских кроликов [20]. Е. Фифкова и Дж. Маршала [16] в стереотаксическом атласе промежуточного мозга кролика представили изображения фронтальных срезов с хорошо различимыми структурами, их границами и разнообразными клеточными скоплениями.

До середины 60-х годов XX в. при исследованиях головного мозга кролика в нашей стране использовали стереотаксические атласы С. Н. Sawyer и соавт. [20] и Е. Фифковой и Дж. Маршалла [16]. Это вызывало ряд трудностей, связанных

с отсутствием стереотаксических и морфологических атласов мозга, изготовленных для кроликов отечественной породы шиншилла. Поэтому с большим интересом было встречено издание стереотаксического атласа головного мозга молодых кроликов [2, 3], атласа мозга взрослых кроликов [1] и стереотаксического и цитоархитектонического атласа гипоталамуса кролика [17]. К достоинствам атласа гипоталамуса необходимо отнести многоплановые стереотаксические карты и микрофотографии, изготовленные по фронтальным, сагиттальным и горизонтальным срезам мозга. При этом становился возможным выбор стереотаксических координат необходимых структур с трех позиций разных планов.

С. М. Блинков, Ф. А. Бразовская и М. В. Пуцилло [1] создали морфологический атлас мозга кролика, состоящий из 30 таблиц целлоидиновых фронтальных срезов, окрашенных крезиловым фиолетовым. Авторы противопоставляют свои таблицы стереотаксическим картам, объясняя эту позицию тем, что последние представляют некую абстракцию, отвлеченную от реального расположения структур мозга. Они не дают, по их мнению, реальной картины границ между структурами мозга, не оттеняют многообразные особенности структур головного мозга с их гаммой границ, не отражают плотности расположения и формы клеток. Такая точка зрения является спорной, поскольку стереотаксия и морфологическое исследование структур мозга представляют собой различные методы, дополняющие друг друга. Стереотаксический метод в изучении функций мозга не может существовать без знания границ структур — объектов исследования.

Следует отметить, что во всех представленных авторами таблицах имеются признаки боковых смещений мозга, допущенных при изготовлении фронтальных срезов. Кроме того, при составлении таблиц были использованы кролики массой тела 1200–2500 г, что затрудняет сопоставление морфологических картин со структурами мозга новозеландских и чешских кроликов с большей массой тела. Все это снижает достоинства морфологических таблиц, несмотря на большой труд авторов, изготовивших их.

Эффективность использования стереотаксических карт атласа мозга молодых кроликов [2, 3] была сведена к минимуму по той причине, что ориентация мозга была избрана с сильным наклоном ростральной его части в вентральном направлении [12].

Применение стереотаксического атласа структур головного мозга новозеландского кролика [20] при изучении

Сведения об авторе:

Забродин Олег Николаевич (e-mail: ozabrodin@yandex.ru), кафедра анестезиологии и реаниматологии, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6–8

отечественных кроликов имеет ряд затруднений [14]. Прежде всего, трудно подобрать нашего «усредненного» кролика без большого «отсева» непригодных животных. При этом необходимо знать возраст, массу тела кролика и расстояние у него между брегмой и ламбдой на поверхности обнаженного черепа. При использовании атласа мозга новозеландского кролика в экспериментах на отечественных кроликах выявлены значительные расхождения расчетных координат с действительными координатами структур мозга (± 3 мм).

Для эффективного использования стереотаксических карт необходимо полное совпадение координат структур мозга, определяемых по картам, с координатами аналогичных структур подопытного животного. Это условие оказывается трудно выполнимым. Для получения точной координатной карты нужно избрать отдельное или стандартное животное. Однако при наличии индивидуальных вариаций всегда имеется опасность, что избранное животное относится не к среднестатистическому типу, а к одной из крайних вариаций. В этом случае координатная карта будет точно соответствовать расположению структур мозга лишь у относительно немногих животных и существенно отличаться от действительных размеров и формы мозга у большинства животных [14].

Были обнаружены вариации стереотаксических координат мозга у отечественных кроликов [15]. На основании опытов на кроликах массой тела 2,2–3,8 кг, авторы пришли к выводу, что координаты карты С. Н. Sawyer и соавт. [20] существенно отличаются от реального расположения структур у отечественного кролика породы шиншилла. Подтверждены также данные, что у наших кроликов подкорковые структуры мозга сдвинуты, приблизительно, на 1 мм каудальнее по сравнению с таковыми на картах С. Н. Sawyer и соавт. [20]. Колебания стереотаксических координат расположения структур мозга отечественного кролика достигают 6 мм.

В связи с изложенным, основной целью наших исследований [4, 5, 7–9, 12] явилась разработка подходов к изготовлению стереотаксических карт структур головного мозга отечественного кролика для дальнейших исследований в постнатальном онтогенезе. В частности, необходимо было усовершенствовать как ориентацию и фиксацию головы кролика, так и применявшиеся ранее способы определения расстояний между структурами мозга, изображенных на картах, а также расстояний от структур до нулевой точки отсчета на поверхности черепа кролика. При этом важно было выявить, обнаружится ли отличие этих карт по расположению структур мозга от карт мозга новозеландских и чешских кроликов. Для этого необходимо было изготовление стереотаксических карт по принципу, предложенному С. Н. Sawyer и соавт. [20].

Правильная ориентация головного мозга при изготовлении стереотаксических карт зависит от придания голове животного точного положения при жесткой фиксации в стереотаксическом приборе. Задачу ориентации при косом расположении наружных слуховых проходов у кролика в определенной степени удалось решить путем создания ушных держателей оригинальной конструкции [6].

С целью ориентации головы кролика в стереотаксическом приборе нами были предложены новые ориентирные приспособления. Первое из них служит для приведения горизонтальных планов головного мозга кроликов в соответствие с горизонтальным планом стереотаксического прибора. Оно позволяет производить ориентацию мозга по способу С. Н. Sawyer и соавт. [20] и новому способу [4, 5]. Это приспособление содержит два игольчатых ориентира, совмещаемых с ориентирными точками головы [10]. Второе ориентирное при-

способление способствует устранению боковых наклонов головы в процессе ее ориентации [11].

Однако практическая реализация этого принципа связана с большими трудностями и ошибками: из большого количества кроликов необходимо выбрать экземпляр, имеющий определенный возраст, массу тела и расстояние между ориентирными точками на поверхности черепа, которые соответствуют аналогичным параметрам кролика, для мозга которого были разработаны стереотаксические карты. Трудности сопряжены также с тем, что при подборе указанного животного нужна хирургическая операция по обнажению части поверхности черепа для определения расстояния между брегмой и ламбдой, характеризующегося большой вариабельностью у разных экземпляров.

В поисках выхода из затруднений нами был разработан новый способ стереотаксической ориентации головного мозга кролика [4, 5]. Применение этого способа не связано с предварительным подбором животных по возрасту (что важно было при проведении исследований в постнатальном онтогенезе), массе тела и расстоянию между ориентирными точками — брегмой и ламбдой.

Предлагаемый способ ориентации предусматривает установку на одном уровне по высоте (по оси Z стереотаксического прибора) двух ориентирных точек на поверхности черепа. Первая точка расположена на пересечении нулевого сагиттального плана с поперечным затылочным швом, соединяющим затылочную и интерпариетальную кости. Место второй ориентирной точки определяется на сагиттальном шве удвоенным расстоянием между ламбдой и самым ростральным уровнем венечного шва. В процессе ориентации эти две ориентирные точки на черепе совмещаются на одном уровне по высоте ориентирным устройством стереотаксического прибора.

Ошибки ориентации горизонтальных планов головы при новом способе ориентации у кроликов различного возраста, массы тела при различных вариациях расстояния брегма — ламбда, как правило, не превышают 1–2 °. При ориентации по способу С. Н. Sawyer и соавт. [20], как установлено нами, ошибки в расположении горизонтальных планов у взрослых кроликов составляют 0–3 °, у молодых — до 9 ° [4, 5].

При изготовлении фронтальных срезов на замораживающем микротоме с целью составления стереотаксических карт мозга одной из трудных задач является точное сохранение его ориентации, полученной на стереотаксическом приборе. При изготовлении стереотаксических карт для отражения реальных размеров мозга было предложено вводить в мозг кошки стальные иглы [19]. Однако этот способ маркировки мозга труден в практическом исполнении и не ясен по результатам, являясь одной из сложных задач при изготовлении стереотаксических карт [17].

Нами разработан и опробован в течение ряда лет другой способ маркировки мозга для обеспечения правильного положения фронтальных срезов на площадке микротомы [11]. Положение структур определялось от ростральной спайки мозга и первой ориентирной точки на поверхности черепа. Ростральная спайка проецируется на поверхность сагиттального шва черепа в точке, положение которой можно определить графически [7]. От этой точки можно определять по стереотаксическим картам положение структур мозга по оси X стереотаксического прибора. Как упоминалось ранее, первая ориентирная точка находится между межтеменной и затылочными костями и может использоваться для ориентации мозга, а также в качестве нулевой точки отсчета координат.

С помощью маркировки мозга предложенным нами способом у нестандартных кроликов определяли расстояния до структур головного мозга от ростральной спайки мозга до мозжечка. Обнаружено, что у кроликов массой 3440–4850 г месторасположение одинаковых структур отличается друг от друга в пределах 0–0,6 мм [11]. Это почти в 10 раз меньше, чем различия в расположении структур (2–3 мм) у кроликов, отмеченные ранее [15]. Эти расстояния у кроликов массой 3 кг, которых С. Н. Sawyer и соавт. [20] использовали для изготовления стереотаксических карт, оказались на 1,5 мм меньше, чем у кроликов большей массы. Следовательно, предложенный нами способ маркировки мозга дает возможность более точно определять расположение его структур, расстояния между ними и ориентирными точками на поверхности черепа.

Таким образом, для стереотаксии структур головного мозга кролика нами предложены ряд методических приемов, которые призваны способствовать изучению функций структурных образований мозга кролика. К таким методическим приемам относятся: 1) новый способ ориентации головного мозга кролика; 2) ушные держатели для кроликов, которые имеют косое расположение наружных слуховых проходов; 3) приспособления, способствующие более быстрой и точной ориентации мозга; 4) способ его маркировки при построении стереотаксических карт. Кроме того, в качестве нулевых точек отсчета координат предлагаются ростральная спайка мозга и ориентирная точка, расположенная между межтеменной и затылочной костями черепа кролика. Все перечисленное в случае применения новых стереотаксических карт позволит повысить точность попадания в структуры головного мозга кролика электродов или других приспособлений без специального отбора животных по возрасту, массе, расстоянию между брегмой и ламбдой по осям X и Z стереотаксического прибора [11].

ЛИТЕРАТУРА

- Блинков С. М., Бразовская Ф. А. и Пуцилло М. В. Атлас мозга кролика. М., Медицина, 1973.
- Волохов А. А. и Шиягина Н. Н. Определение стереотаксических координат подкорковых образований мозга у развивающихся животных. Журн. высш. нервн. деят., 1965, т. 15, вып. 1, с. 176–184.
- Волохов А. А. и Шиягина Н. Н. Стереотаксический атлас мозга кроликов молодого возраста. Журн. высш. нервн. деят., 1966, т. 16, вып. 1, с. 145–147.
- Дерябин Л. Н. Новый способ стереотаксической ориентации головного мозга кролика. Физиол. журн. СССР, 1969, т. 55, № 12, с. 1501–1504.
- Дерябин Л. Н. О стереотаксической ориентации головы кролика породы Шиншилла в различные периоды постнатального онтогенеза. Журн. высш. нервн. деят., 1969, т. 19, вып. 4, с. 723–729.
- Дерябин Л. Н. Ушные держатели для ориентации фиксации головы кролика в стереотаксическом приборе. Бюллетень: Открытия, изобретения, промышленные образцы и товарные знаки, 1969, № 26, с. 77.
- Дерябин Л. Н. Нулевая точка отсчета стереотаксических координат структур головного мозга «нестандартных» взрослых кроликов. Журн. высш. нервн. деят., 1974, т. 24, вып. 4, с. 873–875.
- Дерябин Л. Н. Использование «нестандартных» молодых кроликов породы Шиншилла для определения стереотаксических координат структур головного мозга. Журн. высш. нервн. деят., 1976, т. 26, вып. 6, с. 1301–1305.
- Дерябин Л. Н. Об ошибках расчетных стереотаксических координат структур головного мозга у нестандартных взрослых кроликов породы Шиншилла. Журн. высш. нервн. деят., 1977, т. 27, вып. 3, с. 654–660.
- Дерябин Л. Н. и Лапин А. В. Приспособление к стереотаксическому аппарату для ориентации головы кролика. Бюллетень: Открытия, изобретения, промышленные образцы и товарные знаки, 1968, № 16, с. 62.
- Дерябин Л. Н. и Маневский С. Е. Стереотаксия структур головного мозга. В кн.: Анатомия кролика. СПб., Изд-во Санкт-Петербургск. ун-та, 2009, с. 265–303.
- Дерябин Л. Н. и Шиягина Н. Н. Топография стереотаксического нулевого горизонтального плана (по Сойеру и соавт.) у молодых кроликов породы Шиншилла. Журн. высш. нервн. деят., 1973, т. 23, вып. 1, с. 182–186.
- Зернов Д. Н. Энцефалометр — прибор для определения положения частей мозга у живого человека. Предварительное сообщение. Труды Физико-медицинского общества при Московском университете, 1889, № 2, с. 70–80.
- Мещерский Р. М. Стереотаксический метод. Применение в эксперименте и клинике. М., Медгиз, 1961.
- Мещерский Р. М. и Хаецкий И. К. Вариации стереотаксических координат мозга кролика. Журн. высш. нервн. деят., 1962, т. 12, вып. 1, с. 186–190.
- Фифкова Е. и Маршалл Дж. Электрофизиологические методы исследования. М., Изд-во иностр. лит-ры, 1962.
- Цветкова А. П. Гипоталамус кролика. Стереотаксический и цитоархитектонический атлас. Л., Наука, 1987.
- Horsley V. and Clarke R. H. The structure and functions of the cerebellum examined by a new method. Brain, 1908, v. 31, № 1, p. 45–124.
- Ranson S. W. and Ingram W. R. A method for accurately locating points in the interior of the brain. Proc. Exper. Biol. Med., 1931, v. 28, № 6, p. 577–578.
- Sawyer C. H., Everett J. W. and Green J. D. The rabbit diencephalons in stereotaxic coordinates. J. Comp. Neurol., 1954, v. 101, № 3, p. 801–804.