

ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕПЕНИ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ НЕЙРОНОВ МОЗГА КРЫСЫ ПОСЛЕ 30- МИНУТНОЙ СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Узлова Е. В., Валько Н. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
uzlovaliza@gmail.com

Введение. Центральная нервная система (ЦНС) крайне чувствительна к гипоксическим состояниям, что является следствием очень высокой интенсивности потребления кислорода нейронами, поэтому даже кратковременная ишемия приводит к серьезным повреждениям ее структур [1]. Для расширения уже имеющихся представлений о влиянии ишемии головного мозга (ИГМ) на ЦНС необходима систематическая сравнительная количественная оценка степени повреждения нейронов разных популяций и отделов мозга при ИГМ. Это позволит оценить чувствительность разных структур и отделов мозга к ИГМ, что и обуславливает актуальность исследования.

Цель исследования – оценить степень повреждения нейронов разных популяций и отделов мозга крысы после 30-минутной субтотальной ишемии мозга.

Материал и методы. Исследование проведено на 8 беспородных белых крысах-самцах (контрольная и опытная группы – по 4 крысы), массой 220-250 г. Моделирование субтотальной ишемии головного мозга (СИГМ) проводилось путем перевязки обеих общих сонных артерий в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40-50 мг/кг). Забор головного мозга крыс опытной группы осуществлялся через 30 минут после операции, контрольным животным проводилась ложная операция. После быстрой декапитации крыс извлекали головной мозг и делили его фронтальными разрезами на три части, фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [2], обезжизняли в спиртах возрастающей концентрации, просветляли в ксилолах и заключали в парафин. Серийные срезы толщиной 5 мкм изготавливали через каждые 500 мкм с использованием микротомы Leica 2125 RTS (Германия) и монтировали на заранее подготовленные стекла. Срезы из каждой серии окрашивали 0,1% толуидиновым синим по методу Ниссля для выявления хромотофильной субстанции нейронов.

В зависимости от интенсивности окраски хромотофильной субстанции выделяли следующие группы нейронов: нормохромные, гиперхромные, гиперхромные сморщенные, гипохромные и клетки-тени. Идентификацию структур мозга крысы проводили с помощью стереотаксического атласа [3]. Степень чувствительности нейронов структур и отделов мозга крысы к ишемии определялась по степени этих изменений, по сравнению с контролем, а также по преобладанию при этом обратимых (увеличение числа гиперхромных и

гипохромных нейронов) или необратимых изменений (увеличение числа гиперхромных сморщенных нейронов и клеток-теней) [4].

Изучение препаратов и их микрофотографирование проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия) и цифровой видеокамеры Leica DFC320 (Leica Microsystems, Германия). Всего изучено 60 структур мозга. У каждого животного оценивалось не менее 50 нейронов. Полученные данные обрабатывали методами описательной и непараметрической статистики с помощью компьютерной программы Statistica 10.0. Для сравнения контрольной и опытной групп использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ($p < 0,05$).

Результаты. У животных контрольной группы во всех отделах/структурах головного мозга преобладают нормохромные и гиперхромные нейроны. После 30-минутной СИГМ в большинстве структур мозга происходит снижение числа нормохромных и увеличение числа гиперхромных сморщенных, гипохромных нейронов и клеток-теней.

Наиболее значительные изменения хроматофилии нейронов при СИГМ выявляются в конечном и промежуточном мозге. Среди структур конечного мозга наиболее чувствительны к 30-минутной СИГМ структуры неокортекса. Зависимости между слоем коры и чувствительностью к ишемии не обнаружено. Достаточно чувствителен к СИГМ гиппокамп – во всех его полях, а также зубчатой извилине наблюдается увеличение количества гиперхромных сморщенных нейронов. Структуры обонятельного мозга проявляют разную чувствительность: у митральных клеток обонятельных лукович она высокая, у нейронов II слоя пириформной коры – низкая.

Относительную устойчивость к СИГМ демонстрируют ядра мозжечка, так как в них обнаружено только снижение доли нормохромных нейронов. Среди клеток Пуркинье коры мозжечка некоторых долек (парамедианной и окологлобуса) обнаружено значительное увеличение численности гиперхромных сморщенных нейронов и клеток-теней. Различия в чувствительности клеток Пуркинье разных отделов мозжечка прямо не связаны с филогенетическим возрастом. Вероятнее всего, различие опосредовано их функциональными особенностями и, как следствие – особенностями энергопотребления.

Наиболее устойчивы к ишемии нейроны среднего мозга, моста и продолговатого мозга. В среднем мозге наблюдаются изменения численности только гиперхромных и гипохромных нейронов, не отмечается значительного увеличения количества сморщенных нейронов и клеток-теней, а в мосту и продолговатом мозге отсутствует изменение численности гиперхромных и сморщенных нейронов. Лишь для нескольких структур наблюдаются изменения по количеству гипохромных нейронов и совсем не наблюдается увеличения числа клеток-теней.

Из полученных данных следует, что относительно устойчивы к СИГМ структуры, содержащие большое количество дофаминергических нейронов – черная субстанция и верхняя область покрышки, адреналинергическое ядро С1. Устойчивы к гипоксии и рецепторные нейроны мезенцефалического ядра тройничного нерва – псевдоуниполярные холинергические нейроны. Повышенной чувствительностью к гипоксии выделяются гистаминергические (ядро Е2) и глутаматергические (гигантоцеллюлярное ядро) нейроны.

Выводы. Нейроны разных отделов мозга крысы по-разному реагируют на ишемию, что приводит к обратимым и/или необратимым изменениям нейронов. В разных отделах мозга обнаружен ряд структур, относительно устойчивых к 30-минутной СИГМ. Наиболее уязвимы к ИГМ нейроны филогенетически более молодых отделов - конечный и промежуточный мозг. В пределах конечного мозга особенно уязвим неокортекс. Зависимости между слоем коры и чувствительностью к ишемии не выявлено. В мозжечке более чувствительны к ишемии клетки Пуркинье по сравнению с ядрами мозжечка. Не исключается возможная роль нейромедиаторной природы нейронов в их чувствительности к ИГМ.

Литература:

1. Бонь, Е.И. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга / Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович // Биомедицина. – 2018. - №2. – С. 59-71.
2. Коржевский, Д.Э Иммуногистохимическое исследование головного мозга / Д.Э. Коржевский, Е.Г. Гилерович, О.В. Кирик // Санкт-Петербург: СпецЛит, 2016. – 143 с.
3. Paxinos, G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson // 6nd ed. London: Academic Press, 2007. - 456 p.
4. Жаботинский, Ю.М. Нормальная и патологическая морфология нейрона / Ю.М. Жаботинский // Л.: Медицина, 1965. – 328 с.

STUDY OF THE DEGREE OF ISCHEMIC DAMAGE OF DIFFERENT POPULATIONS OF RAT BRAIN NEURONS AFTER 30-MINUTE SUBTOTAL ISCHEMIA

Uzlova E.V., Valko N.A.

*Grodno State Medical University, Grodno
uzlovaliza@gmail.com*

The study aims to assess the degree of neuronal damage in different populations and parts of the rat brain after a 30-minute subtotal cerebral ischemia. Neurons of different parts react differently to ischemia which leads to reversible and/or irreversible changes in neurons, and a number of structures were found relatively resistant to 30-minute subtotal ischemia. The most vulnerable are neurons of phylogenetically younger regions such as the telencephalon and diencephalon, where the neocortex is especially vulnerable, and no connections were found between the cortical layer and sensitivity to ischemia. In the cerebellum, Purkinje cells are