

УДК 591.881:611.815

© В. П. Белоцерковский, Е. Н. Белоцерковская, Н. К. Каширина, 2013

МОРФОЭНЗИМОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЛИЯНИЯ СИМПАТИЧЕСКОЙ ДЕНЕРВАЦИИ СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА НА ЦЕРЕБРАЛЬНЫЕ СТРУКТУРЫ

В. П. Белоцерковский, Е. Н. Белоцерковская, Н. К. Каширина*Кафедра нормальной анатомии человека (зав. – д. мед. н., проф. Пикалюк В. С.), ДУ «Крымский государственный медицинский университет». 95006 Украина, г. Симферополь, бул. Ленина 5/7. E-mail:*

MORPHOENZYMOLOGICAL ASPECTS OF RED NUCLEUS STRUCTURES UNDER THE INFLUENCE OF SYMPATHETIC DENERVATION OF BRAIN BLOOD VESSELS

V. P. Belotzerkovskiy, E. N. Belotzerkovskaya, N. K. Kashrina

SUMMARY

Brain blood vessels adrenergic denervation provide morphological and enzyme changes of neurons cytoplasm and nucleus structures. Among neurons appear different dystrophic changes, graduate lipofuscin cytoplasm imbibitions, adipose dystrophy, necrosis and also active neuralgia proliferation in late stage. With TNST designate activity of Krebs's cycle enzymes, glucose-6-phosphate dehydrogenize, lactate dehydrogenize, NAD- and NADPH-diaphoreses in cytoplasm of red nucleus neurons.

МОРФОЭНЗИМОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВПЛИВУ СИМПАЧНОЇ ДЕНЕРВАЦІЇ СУДИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ НА ЦЕРЕБРАЛЬНІ СТРУКТУРИ

В. П. Білоцерківський, О. Н. Білоцерківська, Н. К. Каширіна

РЕЗЮМЕ

Часткова адренергічна денервація судин головного мозку обумовлює стадійні зміни в клітинах червоного ядра: початковий розвиток тканинної гіпергідратації внаслідок порушення мозкового кровообігу завершується посиленням ступеня ураження із появою різновидів дистрофії, розповсюдженого ліпофусцинозу, жирової дистрофії, некроза нейронів, проліферації нейроглиї. За допомогою кількісних гистоензімологічних методів встановлені достовірні й різнонаправлені зміни активності внутрішньоклітинних ферментів циклу Кребса, пентозофосфатного шунта, гліколізу та електронтранспортної систем.

Ключевые слова: морфология нервной системы, десимпатизация сосудов мозга, гистоэнзимология.

Сердечно-сосудистые заболевания занимают лидирующее место в общей заболеваемости, смертности и инвалидизации среди остальных заболеваний населения; особенно выражены эти тенденции в развитых странах. В современной клинической практике в качестве вспомогательного, дополнительного лечения артериальной гипертензии и ее осложнений нередко применяют ганглиоблокаторы и симпатолитики, препятствующие выделению катехоламинов в церебральных адренергических нервных окончаниях. К настоящему времени достаточно полно обоснованы сведения как о распределении симпатической иннервации в сосудах головного мозга, так и вопрос о функциональной способности адренергических волокон с помощью их синаптических окончаний принимать участие в изменении мозгового кровотока [1, 2, 3]. В первую очередь это касается адренергических волокон мозговых сосудов, происходящих из верхнего шейного симпатического узла. Безусловным является и то, что любое изменение кровотока приобретает большое значение для нервной ткани головного мозга, имеющей чрезвычайно высокую скорость метаболизма.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния частичной симпатической денервации сосудов головного мозга на морфологические

и гистоэнзимологические характеристики красного ядра, как одного из важнейших образований, объединяющих различные звенья экстрапирамидной нервной системы и имеющего обширные связи с корой полушарий большого мозга, ядрами ствола мозга, мотонейронами спинного мозга.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Частичная симпатическая денервация сосудов головного мозга достигалась путем экстирпации верхнего шейного симпатического узла с симпатическими путями вдоль сонной артерии справа. Операция проводилась под гексеналовым наркозом, с последующим послойным ушиванием раны и внутримышечным введением пенициллина. Контрольным животным проводилась ложная операция. Исследования проведены на кошках, учитывая сходство с головным мозгом человека по особенностям строения сосудистого русла и его симпатической иннервации, сходство в строении ядер стволовой части мозга. Эксперименты проведены в период отсутствия запрета на использование данных животных, соблюдались принципы гуманного отношения к подопытным животным. Из эксперимента животных 1-й серии (32) выводили под гексеналовым (или тиопенталовым) наркозом методом перфузии через восходящую аорту после предварительной

гепаринизации в сроки – на 7-е, 15, 30 сутки после операции. Постфиксация стволовой части мозга осуществлялась в жидкости Карнуа, блоки заливали в парафин, изготавливали фронтальные серийные срезы среднего мозга (10 мкм). Срезы окрашивали по Эйнарсону, Нисслю, Браше, суданом черным В. Животных 2-й серии для гистоэнзимологического исследования (24) выводили из эксперимента путем декапитации под гексеналовым наркозом; в криостате (при -25 °С) сразу изготавливали серийные срезы стандартной толщины 10 мкм (И. М. Буйкис, 1971). Срезы инкубировали в защитной среде при +37 °С в термостате и выявляли НАД- и НАДФ-диафоразы по методу Scarpelli D. J. в модификации Райхлина Н. Т., сукцинатдегидрогеназу (СДГ-азу) – по методу Nachlas M. M., лактатдегидрогеназу (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу (Г-6 ФДГ), изоцитратдегидрогеназу (ИЦДГ) – по методу Rubinstein A. с использованием количественного красителя тетранитросинего тетразолия (TNST, Amersham). Активность ферментов определяли методом цитофотометрии. Отбор препаратов для зондовой сканирующей цитофотометрии (площадь зонда $S = 0,996 \text{ мкм}^2$) проводили интерференционным методом. Среди нейронов красного ядра вычисляли объем поражения, степень поражения и тяжесть поражения. Дифференцировка дистрофических изменений нейронов проводилась с учетом рекомендаций морфологического отдела Института Мозга АМНР. Полученные количественные данные были обработаны методом вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В красном ядре контрольных животных выявлены 3 типа нейронов: крупные (диаметр сомы 50–90 мкм), средние (20–50 мкм) и мелкие (до 20 мкм). Крупные нейроны концентрируются преимущественно в каудальной и средней трети ядра, содержат крупные, интенсивно окрашенные глыбки хроматофильного вещества, центрально расположенное ядро и, как правило, крупное ядрышко. Среднего размера нейроны рассредоточены довольно равномерно по протяжению ядра, по морфологии сходны с крупными. А мелкие нейроны доминируют в вентральной и вентро-латеральной частях ядра, редки в каудальной части. Они более округлые, содержат довольно крупное светлое ядро, умеренно эктопированное ядрышко, мелкие глыбки хроматофильного вещества.

На 7-е сутки после десимпатизации объем поражения нейронов очень высок и составляет 82%. Доминируют обратимые изменения нервных клеток (рис. 1). В большинстве нейронов (31,87%) отмечены набухание и округление сомы и ядер клеток, эктопия ядер, уменьшением размеров ядрышек, просветление кариоплазмы, преимущественно центральный хроматолиз. Ряд нейронов среднего и мелкого размера принимают пузырьковидную форму, как и их ядра, окружены тонким пояском цитоплазмы с одиночными мелкими глыбками хроматофильного вещества. В 21,43% нейронов обнаруживается умеренный и резкий гиперхроматоз, сопровождающийся формированием угловатых и втянутых контуров тел нейронов и их ядер, кариохромией, гомогенизацией и гиперхромией цитоплазматических структур, зачастую центральным хроматолизом.



Рис. 1. В ранние сроки после десимпатизации преобладают обратимые изменения (1, 2, 3 – отек, хроматолиз, первичное раздражение, глиоз) в поздние сроки – некроз (4), сморщивание (7), липофусциноз (5,6). Окраска по Эйнарсону, по Нисслю, судан черным В (6)

Выраженные дистрофические изменения по типу гомогенизирующего изменения обнаруживаются в 10,99% нейронов, чаще наблюдаются среди крупных и среднего размера нейронов и сопровождаются значительным лизисом и гомогенизацией хроматофильного вещества, кариохромией. В единичных нейронах (2,1%) обнаружены признаки первичного раздражения. Необратимые изменения (в 2,3% нейронах) обычно протекают по типу нейронофагии. При морфометрии выявлено достоверное увеличение площади профильного поля и объема тел нейронов (соответственно на 17,38 и 22,14%) и составляющих 229,14 мкм² и 1770,13 мкм³ соответственно. Более значительно возростала площадь и объем ядер нейронов (соответственно на 25,24 и 35,78%) и составляющих 53,37 мкм² и 184,83 мкм³ соответственно. Объем тел нейроглиоцитов и их ядер увеличивался более значительно – соответственно на 23,24 и 48,05%, составляя 11,03 и 2,88 мкм³. Отмечена выраженная тенденция к нарастанию числа перинейрональных сателлитов и величины глионейронального индекса.

На 15-е сутки после операции уменьшение объема поражения нервных клеток (до 74,21%) сопровождается максимальным увеличением тяжести поражения нейронов (до 51%). Дистрофические изменения нервных клеток усиливаются наряду с активной пролиферацией нейроглии (рис. 1). Количество нейронов с явлениями остро́го набухания уменьшается (до 24%), однако в них нарастает лизис и гомогенизация хроматофильного вещества, просветление структур ядер клеток и их эктопия. В мелких нейронах отежные изменения более значительны, чаще отмечается перинуклеарный отек и вакуолизация кариоплазмы. Увеличивается число нервных клеток (до 16%) с признаками гомогенизирующего изменения, степень которого также нарастает. Наряду с этим наблюдается уменьшение числа нервных клеток с явлениями гиперхроматоза. В этот период максимального выражения достигают дистрофические процессы, переходящих зачастую в деструктивные изменения и проявляющиеся значительными включениями липофусцина, жировой дистрофией, необратимыми изменениями по типу кариоцитолита, нейронофагии и появлением «клеток-теней». Нередко выявляются клетки, имеющие «стекловидную» цитоплазму, лишенную хроматофильного вещества или незначительными пылевидными остатками последнего, расплавлением кариолеммы и образованием зернистого скопления в виде «тутовой» ягоды. В 47,62% нейронов появляются видимые отложения липофусцина. Локализация липофусцина различается – он обнаруживается в месте отхождения одного из отростков, компактными комками в цитоплазме, в виде диффузно расположенных мелких гранул. Обнаружены нейроны в стадии липофусцинового перерождения. Жировая дистрофия нейронов встречалась реже (в 12%). Характерно, что дистрофические изменения по типу липофусциноза и жировой дистрофии обычно сочетаются с другими изменениями – чаще с лизисом и гомогенизацией хро-

матофильного вещества, резкой эктопией ядра и уменьшением размеров ядрышек. Проллиферация нейроглии приводит к достоверному увеличению общей глии, количества перинейрональных сателлитов, величины глионейронального индекса. Вследствие снижения гипергидратации нервной ткани сохраняется лишь тенденция к увеличению площади профильного поля и объема тел и ядер нервных клеток.

Через 30 суток после операции среди нервных клеток красного ядра отмечено значительное число нейронов с признаками восстановления структуры и развитием морфологических признаков внутриклеточных репаративных процессов – увеличение хроматофильного вещества, увеличение числа рибосом на наружной ядерной мембране, гипертрофия и гиперхромия ядрышек, появление парануклеолярных телец, что свидетельствует о повышении синтетической активности белок-синтезирующего аппарата нейронов. Обратимые изменения по типу остро́го набухания, гиперхроматоза, гидропической дистрофии, гомогенизирующего изменения выявлены в 25% клеток. В единичных нейронах явления гиперхроматоза переходят в необратимые изменения по типу сморщивания с формированием штопорообразно закрученных отростков и резкой гиперхромией клеток (рис. 1). Гиперхроматоз, столь часто выявляемый в ранние сроки после операции, не всегда является начальной стадией сморщивания нейронов, а для большинства нервных клеток красного ядра приобретает обратимый характер. В значительной части нейронов (42,87%) обнаруживается липофусциноз, а жировая дистрофия – в 11% нервных клеток (рис. 1). Вокруг нейронов с включениями липофусцина отмечено увеличение перинейрональных сателлитов, в их цитоплазме зачастую выявляются липофусциновые гранулы. Характерна выраженная пролиферация нейроглии с формированием цепочек. Количество глиоцитов нарастает значительно вокруг измененных нейронов, при нейронофагии, а также – и вокруг нервных клеток с признаками восстановления структур. Изменяются внутритканевые соотношения клеточных элементов нервной ткани в красном ядре, что проявляется достоверным увеличением общего числа глиальных клеток, количества перинейрональных сателлитов, величины глионейронального индекса. Указанные изменения отражают улучшение условий трофики нейронов за счет активации трофической, детоксикационной и других функций нейроглии. При морфометрическом исследовании не выявлено существенных изменений площади профильного поля и объема тел нервных клеток, их ядер и цитоплазмы. Развитие признаков репаративных процессов во многих нейронах красного ядра свидетельствуют о высокой пластичности нервной ткани, значительных ее возможностях для развития компенсаторно-приспособительных, адаптационных и репаративных процессов.

При гистоэнзимологическом исследовании красного ядра у контрольных животных в цитоплазме нервных

клеток выявлена низкая активность СДГ, в цитоплазме преобладают мелкие и пылевидные гранулы формазана, отложения которых значительно в околоядерной зоне цитоплазмы. Нередко встречаются нейроны, в соме которых активность фермента ниже, чем в окружающих структурах. Активность ИЦДГ высокая, в цитоплазме клеток выявляется плотное скопление мелких интенсивно окрашенных гранул формазана. В окружающих сому нейронов структурах активность фермента низкая. Активность ЛДГ низкая, гранулы формазана мелкие, редко лежащие, преимущественно расположены в околоядерной части цитоплазмы. Активность Г-6 ФДГ высокая, гранулы мелкие интенсивно окрашены, плотно расположены, доминируют в околоядерной зоне. Высокая активность НАДФ-диафоразы и НАДФ-диафоразы выявляется в цитоплазме нейронов и низкая – в структурах, окружающих их сому.

Симпатическая денервация сосудов головного мозга приводит к резкому возрастанию активности СДГ в цитоплазме нейронов (соответственно в 2,75, 1,98 и 1,84 раз – на 7-е, 15-е и 30-е сутки), тогда как в окружающих структурах количество гранул фор-

мазана нарастает несущественно (рис. 2). Динамика изменений активности другого фермента цикла Кребса – ИЦДГ- совершенно иная. Активность фермента достоверно снижается (на 18,51–17,62%) (рис. 2). Снижение активности ИЦДГ свидетельствует об уменьшении скорости протекания реакций в цикле Кребса, которые характерны для гипоксических расстройств в мозге (5), поскольку НАД-зависимая ИЦДГ является аллостерическим ферментом, лимитирует скорость протекания процессов в цикле Кребса.. Повышение активности СДГ является, видимо, результатом анаплеротических реакций, пополняющих запас сукцината. В условиях гипоксических расстройств при десимпатизации устранение дефицита в богатых энергией соединениях осуществляется путем преимущественного использования сукцината для перехода окислительных превращений на уровне цикла Кребса от НАД-зависимых субстратов к сукцинату. Таким образом, указанные энзимологические сдвиги, развивающиеся в цитоплазме нервных клеток, следует рассматривать как компенсаторную метаболическую перестройку.

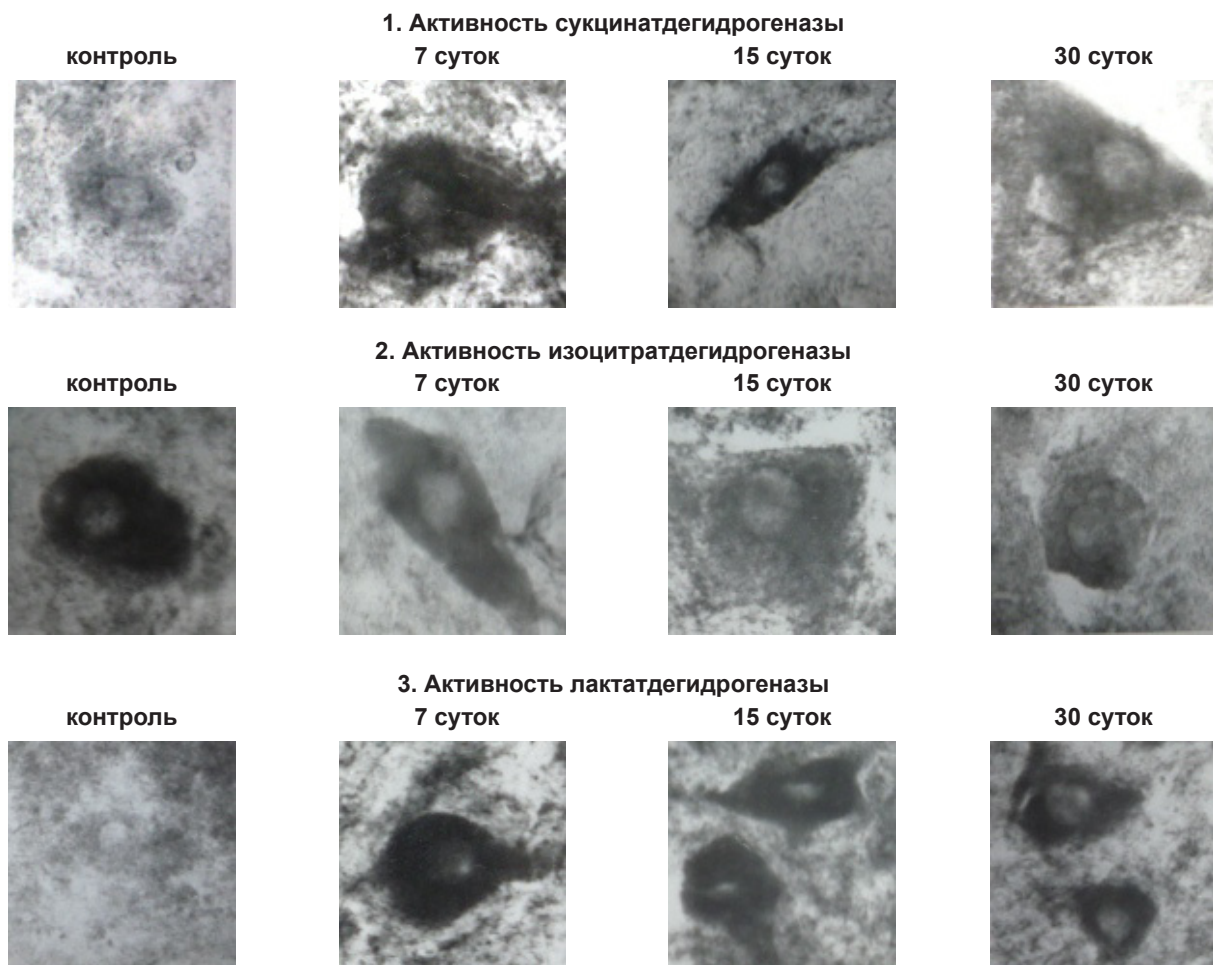


Рис. 2 Активность окислительно-восстановительных ферментов в нейронах красного ядра в контроле и на 7-е, 15-е и 30-е сутки после частичной симпатической денервации сосудов головного мозга. Выявление ферментов с помощью TNST (Amersham) по методам Nachlas M. M. (СДГ) и Rubinstein A. (ИЦДГ, ЛДГ). Увеличение $\times 900$

Общая активность Г-6 ФДГ в цитоплазме нейронов достоверно снижается на 15-е сутки (на 23,97%) после операции и имеет тенденцию к снижению на 30-е сутки исследования. Основное значение снижения активности этого фермента имеет не столько влияние на нарушение энергетического баланса, поскольку в пентозо-фосфатном пути расщепляется лишь 5–10% потребляемой глюкозы, а сопряженное снижение синтеза пентоз для образования нуклеиновых кислот, крайне необходимых для жизнедеятельности нервных клеток. Это подтверждают максимально выраженные дистрофические изменения в нервных клетках красного ядра на 15-е сутки исследования.

Резкое повышение активности ЛДГ (в 2,07; 2,32 и 2,3 раза соответственно на 7-е, 15-е и 30-е сутки) создает благоприятные условия для течения гликолиза и накопления молочной кислоты, что в свою очередь способствует развитию ацидоза и появлению необратимых изменений нейронов (рис. 2). Поскольку высокая способность к анаэробному гликолизу характерна для ранних стадий эмбриогенеза, усиление гликолиза в результате адаптации к условиям симпатической денервации может являться своеобразным приспособительным возвратом метаболического обмена.

Активность НАД- и НАДФ-диафораз, являющихся составной частью электронтранспортной системы, достоверно снижается на 15-е сутки послеоперационного периода в цитоплазме нервных клеток красного ядра, когда обнаруживаются наиболее выраженные дистрофические изменения нейронов. Восстановление активности диафораз на 30-е сутки после операции свидетельствует о развитии компенсаторно-приспособительных реакций, способствующих нормализации метаболизма нервных клеток и сопровождающихся активацией репаративных процессов.

ВЫВОДЫ

1. В ранние сроки после частичной десимпатизации сосудов головного мозга в красном ядре выявляются морфологические изменения по типу тканевой гипергидратации и гипоксических расстройств, доминируют обратимые изменения нервных клеток.

2. К 15-м суткам после операции десимпатизации максимального развития достигают дистрофические изменения нервных клеток, выявляется массивная дистрофия по типу липофусциноза и жировой дистрофии, характерные для старения; увеличивается тяжесть и степень поражения нейронов, что обусловлено нарастанием числа нейронов с необратимыми изменениями, нейронофагией. Компенсаторная пролиферация нейроглии сопровождается при увеличении общей глии и глионейронального индекса, преимущественным нарастанием числа перинейрональных сателлитов, непосредственно участвующих в трофике нейронов.

3. К 30-м суткам после операции значительно уменьшается объем поражения нервных клеток, пре-

имущественно за счет обратимых изменений, снижается гипергидратация компонентов нервной ткани в красном ядре. Однако количество дистрофически измененных нейронов по типу липофусциноза существенно не изменяется.

4. Методами количественной гистоэнзимологии установлены разнонаправленные сдвиги активности основных ферментов цикла Кребса, пентозофосфатно шунта, гликолиза и электронтранспортной системы в нервных клетках, свидетельствующие о развитии в них гипоксических расстройств, умеренно выраженных компенсаторно-приспособительных реакций и репарации.

Установленные нами изменения по типу гипергидратации, наиболее значительные в ранние сроки исследования, изменения активности основных ферментов, которые отражают направленность окислительно-восстановительных внутриклеточных процессов и определяют метаболические расстройства, появление дистрофических и некротических изменений в нервных клетках, – свидетельствуют о том, что полученные данные должны учитываться в кардиологической хирургической практике при лечении окклюзирующих заболеваний сосудов, обеспечивающих кровоснабжение головного мозга, так и при назначении фармакологических препаратов, вызывающих лекарственную фармакологическую симпатическую денервацию сосудов головного мозга.

Полученные данные свидетельствуют и о высокой пластичности структур красного ядра, однако необходимо учитывать и тот факт, что для осуществления адекватной саморегуляции в сложной и многозвеньевой системе мозгового кровотока необходима и сохранность нормальной иннервации сосудов мозга, тогда как в зонах с отеком мозга обычные ауторегуляторные механизмы не действуют.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мchedlishvili Г. И. Спазм артерий головного мозга. - Тбилиси: Мецниереба, 1977. - 179 с.
2. Hernandez-Peres M. J., Baichle M. E., Stone H. L. The role of the peripheral sympathetic nervous system in cerebral blood flow autoregulation. //Stroke. - 1975. - v.6, N3. - p. 284–292.
3. Sercombe R., Aubineau P., Edvinsson L. et al. Neurogenic influence on local cerebral blood flow. Effect of catecholamines or sympathetic stimulation as correlated with the sympathetic stimulation as correlated with the sympathetic innervation. //Neurology. - 1975. - v.25, N10. - p. 954–963.
4. Meyer M. W., Smith K. A., Klassen A. C. Sympathetic regulations of cephalic blood flow. //Stroke. - 1977. - v.8, N2. - p. 197–201.
5. Хватова Е. М., Лавровский С. Н. Изоферменты лактагидрогеназы мозга в разных условиях кислородного голодания. //Вопр. мед. химии. - 1978. - т. 24, № 1. - с. 31–35.