

УДК 591.1481.1:615.213:612–092.9:547.854.5

© Коллектив авторов, 2013

АНАЛИЗ ПЛОТНОСТИ НЕЙРОНОВ В ЯДРАХ КОРТИКО-МЕДИАЛЬНОГО ОТДЕЛА МИНДАЛЕВИДНОГО ТЕЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС НЕПОЛОВОЗРЕЛОГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ БАРБИТУРАТАМИ

С. Н. Радионов, О. Ю. Шубина, О. Н. Кувенёва, А. А. Захаров, О. И. Радионова*Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. – д. мед. н. проф. Кащенко С. А.), ГУ «Луганский государственный медицинский университет». 91045, Украина, г. Луганск, квартал 50-летия Оборона Луганска, 1 г.
E-mail: Radion.s@mail.ru***ANALYSIS OF THE DENSITY OF NEURONS IN THE NUCLEUS OF THE CORTICO-MEDIAL AMYGDALA OF THE BRAIN OF RATS AFTER CHRONIC IMMATURE AGE BARBITURATE INTOXICATION
S. N. Radionov, O.Yu. SHubina, O. N. Kuveenav, A.A. Zaharov, O.I. Radionova**

SUMMARY

The changes in the density of cells (neurons), cortico-medial amygdala of the brain under the action of the body phenobarbitone immature white rats at doses of 30 and 70 mg / kg. Methods used in the study of morphological, morphometric and statistical analyzes, as well as color-graphic technique for visualizing poluchennyhrezultatov. Chronic toxicity barbiturates affects the density cells (neurons) amygdala of the rat brain in the direction of its decrease. Decrease in the density of neurons is associated with the death of neurons, the magnitude of which depends on the dose and timing of intoxication.

АНАЛІЗ ЩІЛЬНОСТІ НЕЙРОНІВ В ЯДРАХ КОРТИКО-МЕДІАЛЬНОГО ВІДДІЛУ МИГДАЛПОДІБНОГО ТІЛА ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ СТАТЕВОНЕЗРІЛОГО ВІКУ ПІСЛЯ ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ БАРБИТУРАТАМИ

С. М. Радіонов, О. Ю. Шубіна, О. М. Кувенюва, О. О. Захаров, О. І. Радіонова

РЕЗЮМЕ

Досліджено зміни щільності клітин (нейронів) кортико-медіального відділу мигдалеподібного тіла головного мозку під впливом на організм статевонезрілих білих щурів фенобарбітону у дозах 30 і 70 мг/кг. При дослідженні застосовано методи морфологічного, морфометричного та статистичного аналізів, а також кольорово-графічний метод для візуалізації отриманих результатів. Хронічна інтоксикація барбітуратами впливає на щільність клітин (нейронів) мигдалеподібного тіла головного мозку щурів в бік її зменшення. Зменшення щільності нейронів пов'язано з загибеллю частини нейронів, яка залежить від дози препарату та терміну інтоксикації.

Ключевые слова: головной мозг, миндалевидное тело, фенобарбитон, плотность клеток, цветографический метод.

Вопрос морфологии структур нервной системы и, особенно, отдельных участков ЦНС при активации функционально-приспособительных способностей организма под действием факторов внешней среды в настоящее время является актуальным для современной медицинской науки, поскольку позволяет понять материальную основу большой широты компенсаторных возможностей организма и нервной системы в частности [2, 4, 5]. Большое количество факторов свидетельствует о высокой структурной пластичности нервной системы и позволяет предполагать наличие функционально обусловленной перестройки нервных структур в обычных условиях жизнедеятельности организма животных и человека, и, иногда, при тяжелом изменении функциональных состояний нервной системы и развитии патологических процессов. Данные литературы по функциональной морфологии в ряде случаев противоречивы, либо не систематизированы и, особенно, не освещают вопросы, возникающие при изучении развивающегося организма [2, 4, 5, 7, 12, 13].

Детальное изучение нервной системы позволило наряду с другими категориями приспособительных процессов, возникающих в нервной системе при различных формах воздействия, выделить и ряд морфологических признаков функциональных изменений нервных структур [2, 4, 5, 7, 10, 13]. Однако при запредельных уровнях функциональных нагрузок или при развитии патологии могут возникать и дистрофические изменения в части нервных клеток. При таком развитии событий другие клетки восполняют утраченные функции поврежденных нейронов. Гиперфункция сохранившихся клеток сопровождается гипертрофией тела нейронов, увеличением размеров и числа ядрышек, изменением числа и структуры различных типов межнейронных контактов, разрастанием и ветвлением дендритов, гипертрофией отдельных шипиков, увеличением количества коллатералей на аксонах, гипертрофией и гиперплазией глии, реактивной активацией перинеурональной глии около функционирующих клеток [4, 5, 7, 10, 12, 13].

Многочисленные данные литературы свидетельствуют, что в работах посвященных изучению морфологии нервной ткани под действием различных как внешних, так и внутренних факторов, много внимания уделяется изучению изменений именно структуры и ультраструктуры клеток, их отростков и синаптических контактов, но совсем не освещается или только констатируется факт наличия изменений, но не делается их анализ в вопросе плотности клеток, изменения ее в различных структурах нервной системы в норме и в ходе эксперимента. Миндалевидное тело (МТ), важная структура лимбической системы головного мозга, в данном аспекте не является исключением, возможно, из-за труднодоступного расположения [4, 5, 7, 10, 12, 13].

Целью данной работы было изучение и анализ с помощью цвето-графического метода плотности клеток (нейронов) МТ головного мозга крыс в норме и при хронической интоксикации барбитуратами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 62 неполовозрелых белых крысах-самцах в эксперименте с хронической интоксикацией фенобарбитоном в дозе 30 и 70 мг/кг сроком 7, 15, 30 и 60 дней [8, 9]. Экспериментальные животные получали фенобарбитон методом зондирования желудка, а животные контрольных групп аналогичным способом дистиллированную воду в объеме 10 мл/кг. Все животные содержались в стандартных условиях вивария. Животные выводились из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом с соблюдением правил эвтаназии [6]. Экспериментальный материал (головной мозг) заливался в парафин с последующей окраской серийных фронтальных срезов крезильовым фиолетовым по Нислю в модификации Викторова [3]. Исследование проводилось с помощью световой микроскопии. Серии тотальных фронтальных срезов МТ головного мозга крыс позволили проследить изменения плотности распределения клеток в различных отделах МТ в переднезаднем его направлении. Эти данные учитывались, как одна из характеристик реактивных изменений в результате интоксикации в сравнение с контрольной группой [1]. В работе использована схема частей МТ с учетом данных Чепурнова С. А, и Чепурновой Н. Е. [11] (рис. 1).

При анализе полученных цифровых показателей использовали методы вариационной статистики. Достоверной считали вероятность ошибки менее 5% ($p < 0,05$) [1].

Для визуализации и большей наглядности полученных результатов исследования использовали метод отображения различной плотности с помощью гаммы интенсивности цвета в цветовой схеме RGB. Для плотности нейронов использовали гамму синего цвета (R255–0 G255–0 B255),

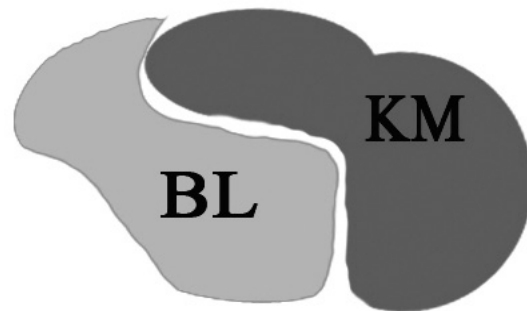


Рис. 1. Схема миндалевидного тела. Базолатеральный отдел (BL), кортико-медиальный отдел (KM)

для плотности общей глии гамму красного цвета (R255 G255–0 B255–0) и сателлитной глии зеленого цвета (R255–0 G255 B255–0). Все цветовые гаммы были разделены на 24 оттенка соответственно плотности клеток МТ головного мозга крыс от 200 до 5000 на 1 мм² мозгового вещества с шагом 200 (рис. 2).

Далее с помощью инструмента «градиент» программы Adobe Photoshop CS5.5 с настройками перехода цветов «по-умолчанию», соответственно количеству срезов в серии, визуализировали полученные цифровые данные.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что хроническое влияние барбитуратов на МТ головного мозга крыс приводит к появлению изменений плотности нейронов, которые различны в разных отделах МТ и зависят от дозы барбитурата и сроков его применения. Наиболее выражены морфологические изменения были в группе экспериментальных животных получавших фенобарбитон в дозе 70 мг/кг на 30 суток. В качестве примера приводим рис. 3., где с помощью предложенного метода на серийных фронтальных срезах представлены изменения плотности нейронов кортико-медиального отдела МТ головного мозга неполовозрелой крысы указанной выше группы. Уменьшение плотности, очевидно, связано с гибелью части нейронов в результате хронического воздействия препарата. Из схемы также видно волнообразное изменение плотности нейронов в переднезаднем направлении.

Таким образом, наши наблюдения, с использованием цвето-графического метода свидетельствуют о существенных морфологических преобразованиях МТ в ответ на хроническую интоксикацию фенобарбитоном, который является одним из ведущих препаратов в лечении такого тяжелого и довольно распространенного заболевания как, например, эпилепсии. Это необходимо учитывать, так как МТ – важнейшее образование лимбической системы, усиливает двигательные и эмоциональные компоненты судорожных реакций, способствует развитию генерализованных приступов и др [2].

Плотность	Нейроны		Цвета			
	Значение-цвета RGB	Оттенок	Общая		Сателлитная	
			Значение-цвета RGB	Оттенок	Значение-цвета RGB	Оттенок
200-400	R245-G245-B255		R255-G245-B245		R245-G255-B245	
401-600	R235-G235-B255		R255-G235-B235		R235-G255-B235	
601-800	R225-G225-B255		R255-G225-B225		R225-G255-B225	
801-1000	R215-G215-B255		R255-G215-B215		R215-G255-B215	
1001-1200	R205-G205-B255		R255-G205-B205		R205-G255-B205	
1201-1400	R195-G195-B255		R255-G195-B195		R195-G255-B195	
1401-1600	R185-G185-B255		R255-G185-B185		R185-G255-B185	
1601-1800	R175-G175-B255		R255-G175-B175		R175-G255-B175	
1801-2000	R165-G165-B255		R255-G165-B165		R165-G255-B165	
2001-2200	R155-G155-B255		R255-G155-B155		R155-G255-B155	
2201-2400	R145-G145-B255		R255-G145-B145		R145-G255-B145	
2401-2600	R135-G135-B255		R255-G135-B135		R135-G255-B135	
2601-2800	R125-G125-B255		R255-G125-B125		R125-G255-B125	
2801-3000	R115-G115-B255		R255-G115-B115		R115-G255-B115	
3001-3200	R105-G105-B255		R255-G105-B105		R105-G255-B105	
3201-3400	R95-G95-B255		R255-G95-B95		R95-G255-B95	
3401-3600	R85-G85-B255		R255-G85-B85		R85-G255-B85	
3601-3800	R75-G75-B255		R255-G75-B75		R75-G255-B75	
3801-4000	R65-G65-B255		R255-G65-B65		R65-G255-B65	
4001-4200	R55-G55-B255		R255-G55-B55		R55-G255-B55	
4201-4400	R45-G45-B255		R255-G45-B45		R45-G255-B45	
4401-4600	R35-G35-B255		R255-G35-B35		R35-G255-B35	
4601-4800	R25-G25-B255		R255-G25-B25		R25-G255-B25	
4801-5000	R15-G15-B255		R255-G15-B15		R15-G255-B15	

Рис. 2. Распределение оттенков цветовой гаммы в соответствии с плотностью клеток МТ головного мозга крыс (на 1 мм² мозгового вещества)

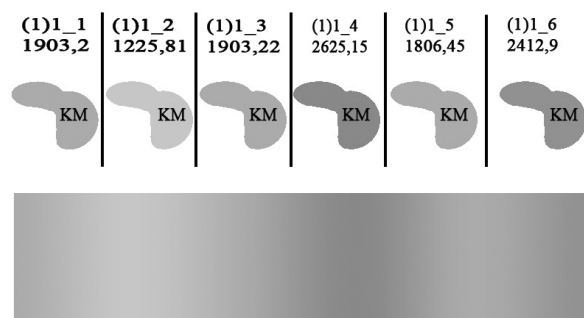


Рис. 3. Цвето-графическая схема изменения плотности нейронов МТ головного мозга неполовозрелой крысы при введении фенобарбитона в дозе 70 мг/кг на 30 суток эксперимента (серийные фронтальные срезы)

ВЫВОДЫ

1. Цвето-графический метод, дополняя другие методы исследования (в частности, гистологические, морфометрические и др.), свидетельствует о влиянии хронической интоксикации барбитуратами на плотность клеток миндалевидного тела головного мозга крыс.

2. Плотность клеток (нейронов) миндалевидного тела различна в переднезаднем направлении.

3. Плотность клеток миндалевидного тела головного мозга крыс при хроническом влиянии барбитуратов зависит от дозы препарата и сроков эксперимента.

4. Предложенный нами цвето-графический метод анализа плотности клеток структур ЦНС весьма нагляден, прост в использовании и имеет большие перспективы в дальнейшей доработке, модернизации и адаптации к обработке других видов информации. Дальнейшая его разработка может быть направлена на формирование и анализ данных объемных моделей морфологических образований, особенно труднодоступных для непосредственного обозрения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия/Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 357 с.

2. Бакуменко Л. П. Электроэнцефалографический анализ участия лимбико-неокортикальных структур в развитии судорожных

реакций/Л. П. Бакуменко//Неврология и психиатрия. – 1981. – вып. 10. – С. 117–121.

3. Викторов В. И. Современные методы морфологических исследований мозга/В. И. Викторов. – М.: Ин-т мозга АМН СССР, 1969. – 300 с.

4. Дробленков А. В. Нейроглияльное взаимодействие в дофаминергических структурах мозга лиц, умерших от алкогольной интоксикации/А. В. Дробленков, П. Д. Шабанов//Наркология. – 2011. – № 3. – С. 43–50.

5. Дробленков А. В. Изменения нейроглияльных комплексов мезокортиколимбической дофаминергической системы мозга при длительной алкоголизации и после ее отмены у крыс/А. В. Дробленков, А. А. Лебедев, П. Д. Шабанов//Наркология. – 2008. – № 8. – С. 55–58.

6. Западнюк И. П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте/И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.

7. Мусеридзе Д. П. Влияние этанола на плотность расположения нейронов в лимбической коре головного мозга и коррекция вызванных изменений антиоксидантом доливином/Д. П. Мусеридзе, Л. Г. Гегенава//Морфология. – 2009. – № 3. – С. 20–23.

8. Правила доклинической оценки фармакологических средств: [зб. науч. работ/науч. ред. Бурова Ю. В.]. – М.: Медицина, 1992. – 258 с.

9. Рыболовьев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности/Ю. Р. Рыболовьев, Р. С. Рыболовьев//Докл. АН СССР. – 1979. – Т. 274, № 6. – С. 1513–1516.

10. Струков А. И. Вопросы классификации структурных изменений элементов нервной системы/А. И. Струков, Н. Е. Ярыгин, С. К. Лапин//Вопросы морфологии нервной системы. – М., 1960. – С. 69–86.

11. Чепурнов С. А. Миндалевидный комплекс мозга/С. А. Чепурнов, Н. Е. Чепурнова. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981. – 256 с.

12. Чурілін О. О. Морфологічні особливості ядра основи передніх рогів спинного мозку після хронічної інтоксикації барбітуратами в різні вікові періоди/О. О. Чурілін//Біологічний вісник. – 2004. – № 6. – С. 160–164.

13. Шабанов П. Д. Моделирование девиантных форм поведения введением кортиколиберина и белков теплового шока 70 кДа в раннем онтогенезе у крыс/П. Д. Шабанов, А. А. Лебедев, А. В. Дробленков//Наркология. – 2008. – № 4. – С. 22–32.