

Ерофеева Л. М., Сергеева С. П., Шишкина Л. В.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

*Первый Московский государственный университет им. И. М. Сеченова, Россия,
Научно-исследовательский институт морфологии человека, г. Москва,
Научно-исследовательский институт нейрохирургии
имени академика Н. Н. Бурденко, г. Москва*

Изучение морфофункциональных особенностей нервной ткани головного мозга после инсульта является важной задачей не только с точки зрения фундаментальной науки, но и практической неврологии, т. к. церебральный инсульт в большинстве стран занимает 2–3-е место в структуре общей смертности [1]. Воспалительная реакция и апоптоз являются важными звеньями патогенеза ишемического инсульта [2]. Имеются данные, что локальное ишемическое поражение головного мозга сопровождается изменением межклеточных взаимодействий, ведущим за собой апоптоз, не только в перифокальной области, но также в других отделах ипси- и контралатерального полушария [3]. Наряду с процессами повреждения нервной ткани имеют место также процессы саногенеза, которые реализуются посредством механизмов нейрональной пластичности [4, 5].

Материал и методы. Объект исследования — полученные при аутопсии образцы ткани головного мозга 9 человек, умерших в результате острого нарушения мозгового кровообращения по ишемическому типу в бассейне левой средней мозговой артерии. Аутопсийный материал получали в патологоанатомическом отделении ГКБ № 36. Работа одобрена этическим комитетом Первого МГМУ им. И. М. Сеченова. В каждом случае образцы ткани брали из 3 зон головного мозга: 1 — из прилежащей непосредственно к очагу некротической ткани, 2 — из отдаленной от предыдущей на 5–10 см, 3 — из контралатерального полушария, симметричного очагу ишемии. Образцы тканей головного мозга фиксировали в 10%-ном забуференном формалине. После отмывания фиксатора в проточной воде проводили стандартную гистологическую проводку образцов путем обезвоживания в этиловом спирте. Затем кусочки ткани пропитывали парафином, заливали в парафиновые блоки. Срезы толщиной 5 мкм изготавливали

на ротационном микротоме Leica RM2125RT (Германия) и растягивали их на предметных стеклах с полилизинным покрытием Vision bio systems pluslides (Великобритания). Срезы окрашивали по методу Ниссля, а также гематоксилином и эозином. На данных сериях препаратов с использованием 25-узловой морфометрической сетки (с шагом 10 мкм), вмонтированной в окуляр микроскопа, при увеличении окуляра $\times 10$, объектива $\times 90$ проводили подсчет нейронов с учетом содержания реактивно измененных нейронов по методу С. Б. Стефанова. Затем вычисляли относительное содержание измененных нейронов.

Выявление белков p53, NSE проводили непрямым иммунопероксидазным иммуногистохимическим методом. Для иммунофенотипирования использовали мышинные моноклональные антитела к указанным белкам человека фирмы Vision bio systems novocastra (Великобритания), а также пероксидазную детекционную систему Novocastra Peroxidase Detection System производства «Leica Microsystems» (Германия), включающую вторичные универсальные биотинилированные антитела и стрептавидин-пероксидазный комплекс. Визуализация реакции осуществлялась DAB-хромогеном. Иммуногистохимические реакции осуществляли согласно протоколам, прилагаемым к используемым антителам. Фоновое контрастирование осуществляли гематоксилином Майера. Полученные препараты заключали под покровное стекло и изучали с помощью светового микроскопа «Axio Scope A1», Carl Zeiss (Германия) с использованием цифровой фотокамеры «Canon Power Shot», программного обеспечения Axio Vision LE, Carl Zeiss (Германия). Контроль специфичности реакции проводили с помощью неиммунной сыворотки, а также антител к виментину (Dako, Дания). Вариационно-статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0. Значимыми считали различия, если вероятность ошибки Р была меньше 0,05. При проведении корреляционного анализа использовали коэффициент Пирсона для нормальных распределений и коэффициент ранговой корреляции Спирмена для ненормальных распределений.

Результаты и обсуждение. При исследовании особенностей серого вещества головного мозга на срезах, окрашенных по стандартным методикам гематоксилином и эозином и по Ниссля, при увеличении $\times 100$ обнаружено снижение общего количества нейронов и глиальных элементов преимущественно в образцах из перифокального участка. Отмечено диффузное «запустение» участков коры мозга как ипсилатерального, так и контралатерального полушарий. При этом выраженность изменений в ипсилатеральном полушарии была большей и наиболее выраженной в прилежащем к очагу некроза регионе. Во всех образцах были выявлены изменения регионарного кровотока: венозная гиперемия и стаз, а также агрегация эритроцитов и периваскулярный отек. В очаге некроза и прилежащем к нему регионе наблюдалась лейкоцитарная инфильтрация. При увеличении $\times 900$ в ипсилатеральном полушарии обнаружены существенные изменения нервных клеток: гомогенизация их цитоплазмы и ее инкрустация; тигролиз, деформация и сморщивание ядер, кариоцитоллиз с образованием клеток-теней, хроматолиз, перемещение ядра на периферию клетки и его набухание, смещение ядрышка к периферии ядра; перичеселлюлярный отек. Выявленность указанных изменений достигала максимума в перинфарктной

области, однако и в остальных регионах наблюдались такие же изменения. При этом в контралатеральном полушарии преобладала дегенерация нейронов по типу сморщивания. В обоих полушариях были выявлены также признаки сателлитоза и нейронофагии.

При морфометрическом анализе выявлено, что количество жизнеспособных нейронов было наибольшим в образцах контралатерального полушария и минимальным в перифокальной зоне. Относительное содержание реактивно измененных нервных клеток было наименьшим в образцах контралатерального полушария. При этом в перифокальной зоне все нейроны были существенно изменены, а в отдаленной от пограничной области на 5–10 см количество реактивно измененных нейронов значительно преобладало над неизмененными.

Использование непрямого иммунопероксидазного метода позволило выявить в исследуемых образцах ряд закономерных изменений распределения белков p53, NSE:

– при окраске p53 (апоптоз) наибольшее количество p53-позитивных клеток отмечено в перифокальной зоне; в отдаленной от очага ишемии зоне ипсилатерального полушария, и в образцах контралатерального полушария число маркированных клеток было сопоставимым;

– при окраске NSE выявлены гомогенизация цитоплазмы, интра- и перипеллюлярный отек, деформация и сморщивание ядер, кариоцитолитиз с образованием клеток-теней, хроматолиз, перемещение ядра на периферию клетки и его набухание. Наибольшей выраженности указанные изменения достигали в перифокальной зоне. Возможности метода не предполагают количественного определения фермента, однако отдельные нейроны имели значительно более яркое окрашивание. На этом основании можно сделать заключение о более интенсивной экспрессии NSE в нервных клетках, а, следовательно, их большей функциональной активности.

Выводы. Локальная ишемия головного мозга сопровождается повышением числа реактивно измененных нейронов как в перифокальной зоне, так и в отдельных зонах ипси- и контралатерального полушария. Апоптоз нейронов наиболее выражен в перифокальной зоне. Более интенсивное окрашивание, т. е. экспрессия NSE в отдельных нейронах может быть свидетельством их участия в реализации механизмов нейропластичности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев, Е. И. Проблема инсульта в Российской Федерации : время активных действий / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, Л. В. Стаховская // Журнал неврологии и психиатрии. 2007. Т. 107, № 8. С. 4–10.

2. *The temporal profile of inflammatory markers and mediators in blood after acute ischemic stroke differs depending on stroke outcome* / H. Worthmann [et al.] // *Cerebrovasc. Dis.* 2010. № 30. P. 85–92.

3. *Iadecola, C. The immunology of stroke : from mechanisms to translation* / C. Iadecola, J. Anrather // *Nature medicine.* 2011. Vol. 17, № 7. P. 796–808.

4. *Johansson, B. B. Neurorehabilitation and brain plasticity* / B. B. Johansson // *J. Rehabil. Med.* 2003. № 35. P. 1–7.

5. *Ward, N. S. Mechanisms underlying recovery of motor function after stroke* / N. S. Ward, L. G. Cohen // *Archives of neurology.* 2004. Vol. 61, № 12. P. 1844–1848.

Erofeeva L. M., Sergeeva S. P., Shishkina L. V.

Human cerebral cortex morphological characteristics after local cerebral ischemia

*I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russia,
Institute of Human Morphology, Moscow,
N. N. Burdenko Scientific Research Neurosurgery, Moscow*

Samples of cerebral cortex of 9 people died as a result of left middle cerebral artery ischemic stroke from 3 areas: 1 — adjoining directly to the site of necrosis, 2 — 5–10 cm distant from the previous 3 — the area of the contralateral hemisphere symmetrical hearth were investigated. Samples were stained by Nissl and Hematoxylin and Eosin; p53 and NSE proteins were detected by means of indirect immunoperoxidase immunohistochemistry. Local cerebral ischemia is accompanied by an increase in the number of reactive changes of neurons in the perifocal zone, as well as in some areas of ipsi- and contralateral hemisphere. Apoptosis of neural tissue is the most significant in the perifocal area.

Key words: cerebral cortex, ischemia, neurons.