

Рис. 1. Продолговатый мозг мыши, инфицированной ВЗН с клинической симптоматикой ЛЗН (2-я группа). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

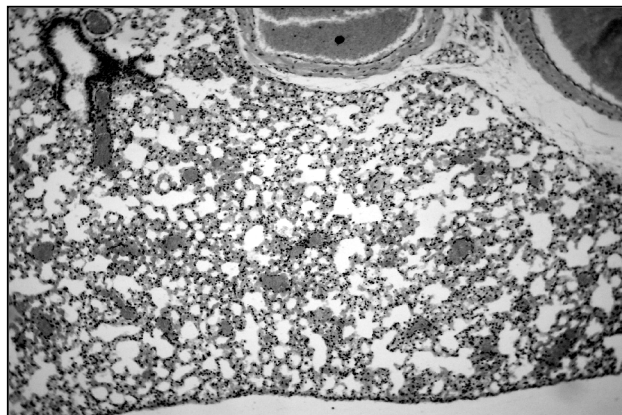


Рис. 2. Легкое мыши, инфицированной ВЗН с клинической симптоматикой ЛЗН. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при экспериментальном моделировании ЛЗН нами выявлены морфологические изменения в головном мозге, которые наиболее выражены на уровне продолговатого мозга. В легких мышей в группе с выраженными клиническими проявлениями наблюдаются изменения кровообращения, мелкоочаговые кровоизлияния по типу геморрагического отека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьева Н. В. Патоморфология органов и систем при лихорадке Западного Нила (клинико-экспериментальное исследование): автореф. дис. ... д-

ра мед. наук. – Волгоград, 2005. – 42 с.

2. Львов Д. К., Писарев В. Б., Петров В. А. и др. Лихорадка Западного Нила: по материалам вспышек в Волгоградской области в 1999–2002 гг. – Волгоград, 2004. – 104 с.

3. Писарев В. Б., Григорьева Н. В., Петров В. А. и др. // Арх. патологии. – 2004. – № 5. – С. 15–18.

4. Bauer J., Bien C. G., Lassmann H. // Curr. Opin. Neurol. – 2002. – № 15. – P. 197–200.

5. Bernard K. A., Kramer L. D. // Viral Immune. – 2001. – № 14. – P. 319–338.

6. Bien C. G., Bauer J., Deckwerth T. L., et al. // Ann. Neurol. – 2002. – № 51. – P. 311–318.

© Коллектив авторов, 2006

УДК 616.8–091:576.8.097.29

ГЛИАЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ И СТЕПЕНЬ ПОРАЖЕНИЯ НЕЙРОНОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЭНДОТОКСИКОЗЕ

Н.В. Ермолаев, В.Б. Писарев, В.В. Новочадов

Кафедра патологической анатомии ВолГМУ

При остром эндотоксикозе (ЭТ) самой различной природы быстрое развитие полиорганной недостаточности (печени, почек, легких, органов иммуногенеза) и неизбежных некомпенсированных метаболических нарушений становится причиной поражения центральной нервной системы. Клинически оно описывается как вариант энцефалопатии с неуправляемой церебральной недостаточностью, морфологическим субстратом которой являются диффузно-очаговые обратимые повреждения и неполные парциальные некрозы головного мозга. Явления хроматолиза, кариопикноза, ишемических повреждений сопровождаются содружественной реакцией нейроглии, принимающей участие в утилизации разрушенного материала нейронов [2, 4, 6, 10].

На мембране глиальных клеток обнаружены бензодиазепиновые, α - и β -адренорецепторы, глутаматные рецепторы, которые определяют продукцию цитокинов при вторичной активации глиальных элементов [9, 11, 16]. Показано, что популяция глиальных клеток может значительно активироваться большинством молекул острой фазы. На мембране микроглиоцитов находятся рецепторы к фактору некроза опухоли, интерлейкинам-1, -5, -6, -8, -9, -10, -12, -13 и -15. Глиальные клетки имеют собственные классы медиаторов, которые участвуют в их межклеточных взаимодействиях. В нестимулированных микроглиальных клетках человека присутствует РНК для синтеза более десятка ключевых цитокинов, а при стимуляции бактериальным липополисахаридом резко увеличивается секре-

ция интерлейкинов-8, -10, -12, фактора некроза опухоли, макрофагальных провоспалительных пептидов MIP-1 α , MIP-1 β и MCP-1. Наличие подобных обширных связей на молекулярном уровне позволяет считать именно микроглиальные клетки основным компонентом, опосредующим дальнейшее развитие целого спектра хронических заболеваний центральной нервной системы [8, 11–15].

В работах, выполненных ранее на кафедре патологической анатомии ВолГМУ, было показано, что для элементов нервной системы при хроническом ЭТ характерна мозаичность поражения. Степень повреждения и реакций на него со стороны нервной ткани зависела от функциональной нагруженности, васкуляризации и характера глиального окружения нейронов [3–5, 7]. Изучение изменений в коре головного мозга (КГМ) было оставлено за рамками предшествующих исследований. Между тем именно нарушения высшей нервной деятельности и вегетативной регуляции могут быть отнесены к наиболее значимым проявлениям энцефалопатии при хронических интоксикациях.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить в сравнении выраженность глиальной реакции и степень повреждения нейронов различных слоев по областям коры головного мозга крыс при моделировании хронического эндотоксикоза.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Патологический процесс вызывали в течение 30, 60 и 90 суток у белых крыс (по 6 животных на группу) многократным введением малых доз тетрахлорметана и бактериального липополисахарида [3]. Для гистологического исследования головной мозг выделяли немедленно после эвтаназии из черепной коробки, фиксировали в жидкости Буэна, после уплотнения заливали в парафин и получали серийные фронтальные срезы толщиной 5–7 микрон. Использовали окраски гематоксилином и эозином по Нисслию. Детальному изучению подвергали следующие области КГМ: *O* (затылочную), *T* (височную), *PA* (переднетеменную), *P* (собственно теменную), *FP* (заднюю лобную), *F* (лобную), *I* (инсулярную) и *L* (лимбическую). Микрорентгенографию и количественный анализ производили с использованием компьютерной системы "Видеотест Морфо 4.0" (Россия, СПб., 2003). Степень повреждения нейронов оценивали путем расчета полуколичественного фактора по Чубинидзе и определения средних размеров ядер нейронов. Выраженность глиальной реакции оценивали по среднему численному соотношению глия/нейрон, среднему размеру ядер глиоцитов и средней суммарной яркости имму-

нопозитивного материала после окраски на макрофагальный антиген и кислый глиальный протеин (клоны HAM-56 и GFA, наборы "DakoCytomation", Дания). Результаты были обработаны статистически встроенными подпрограммами комплекса "Видеотест-Морфо" [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При хроническом ЭТ для КГМ была характерна мозаичная картина поражения. Она позволяла наблюдать не только нейроны в состоянии повреждения, атрофии, но и высокий процент клеток с сохранной структурой, и находящихся в состоянии повышенной функциональной активности. Повсеместным был процесс пролиферации микроглии, который был тем интенсивнее, чем выше оказывалось кровоснабжение данного слоя коры. Наибольшие изменения в целом наблюдались в собственно лобной, задней лобной и собственно теменной областях КГМ. Более поздние и менее выраженные изменения регистрировались в лимбической области КГМ. Среди наиболее поражаемых нейронов следует выделить клетки 4-го и 5-го слоев КГМ, имеющие преимущественно эфферентные функции. В то же время скрининговая оценка выраженности глиальных реакций и повреждения нейронов по этим слоям выявила существенные различия между отделами КГМ (табл. 1).

Таблица 1

Скрининговая оценка изменений нейронов и микроглиоцитов в IV–V слоях различных отделов коры головного мозга при хроническом ЭТ у крыс

Области КГМ	Реакции	Сроки эксперимента, сут.		
		30	60	90
<i>O</i>	Н	–	+	+
	Г	+	+	+
<i>T</i>	Н	–	+	+
	Г	–	+	+
<i>PA</i>	Н	+	+	+
	Г	+	+++	+++
<i>P</i>	Н	+	+	+++
	Г	+	+++	+++
<i>FP</i>	Н	+	+	+++
	Г	+++	+++	+++
<i>F</i>	Н	+	+++	+++
	Г	+++	+++	+++
<i>I</i>	Н	–	+	+
	Г	+++	+++	+++
<i>L</i>	Н	–	–	+
	Г	+++	+++	+++

Примечание. "–" – изменения практически отсутствуют; "+" – присутствуют мозаичные изменения; "+++ – изменения, выраженные до фокусов тканевой перестройки.

Показатели повреждения нейронов и глиальной реакции в IV–V слоях коры головного мозга при хроническом ЭТ у крыс

Области КГМ	Контрольная группа	Сроки эксперимента, сут.		
		30	60	90
<i>Область Т (височная)</i>				
Степень повреждения нейронов, %	0,2±0,1	0,5±0,1	2,5±0,1	3,5±0,1
Ср. размеры ядер нейронов, мкм ²	69,0±5,0	66,5±4,7	66,0±4,9	65,1±4,6
Соотношение глия/нейрон	3,1±0,2	3,0±0,2	3,5±0,4	3,8±0,4
Ср. размеры ядер глиоцитов	22,0±1,2	22,5±1,2	20,7±1,1	25,0±1,6
Ср. суммарная яркость НАМ-56, усл. ед.	0,16±0,02	0,18±0,02	0,21±0,03	0,24±0,02
Ср. суммарная яркость GFA, усл. ед.	0,29±0,03	0,27±0,05	0,33±0,06	0,36±0,07
<i>Область F (лобная)</i>				
Степень повреждения нейронов, %	0,5±0,1	4,5±0,1*	27,4±1,7*	41,0±2,8
Ср. размеры ядер нейронов, мкм ²	48,4±3,1	43,0±3,0	40,4±2,1*	38,4±2,4*
Соотношение глия/нейрон	4,0±0,3	6,8±0,5*	7,9±0,6*	7,8±0,7*
Ср. размеры ядер глиоцитов	21,4±1,1	24,3±1,5	26,0±1,7	26,6±1,8*
Ср. суммарная яркость НАМ-56, усл. ед.	0,14±0,02	0,25±0,03*	0,28±0,03*	0,33±0,04*
Ср. суммарная яркость GFA, усл. ед.	0,29±0,03	0,36±0,05	0,47±0,06*	0,45±0,07*
<i>Область L (лимбическая)</i>				
Степень повреждения нейронов, %	0,4±0,1	0,7±0,2	2,5±0,1*	5,1±0,5*
Ср. размеры ядер нейронов, мкм ²	46,0±3,0	45,4±3,3	46,4±3,1	41,5±3,5
Соотношение глия/нейрон	4,2±0,4	8,1±0,5	8,2±0,6*	8,9±0,7*
Ср. размеры ядер глиоцитов	22,3±1,2	22,3±1,2	20,5±1,0	21,6±1,3
Ср. суммарная яркость НАМ-56, усл. ед.	0,13±0,02	0,18±0,03	0,29±0,04*	0,37±0,06*
Ср. суммарная яркость GFA, усл. ед.	0,26±0,03	0,27±0,03	0,30±0,03	0,28±0,04

* – достоверные различия со значениями в контрольной группе.

Как следует из полученных результатов, более ранняя и выраженная реакция со стороны нейроглии в областях *P*, *FP* и *F* сопровождалась в коре головного мозга повреждением нейронов с развитием нейронафагии, атрофии и фокальных некрозов, тогда как аналогичная реакция в областях *I* и *L* сопровождалась по мере нарастания сроков ЭТ менее выраженным повреждением нейронов. В затылочной (*O*) и височной (*T*) областях КГМ глиальная реакция и повреждение нейронов не были выражены столь интенсивно в сравнении с вышеописанными.

Для уточнения характера полученных различий было проведено сравнительное изучение нейрональных и глиальных реакций на хроническую эндогенную интоксикацию в IV–V слоях КГМ в областях *T* (слабо выраженная поздняя глиальная реакция и минимальное повреждение нейронов), *F* (ранняя выраженная глиальная реакция и выраженное повреждение нейронов) и *L* (ранняя выраженная глиальная реакция и позднее минимальное повреждение нейронов). Результаты приведены в табл. 2.

Как следует из приведенных данных, высокая степень повреждения нейронов, определяемая по полуколичественной шкале в процен-

тах и по уменьшению средних размеров их ядер, была выражена только в областях КГМ, где присутствовала содружественная реакция со стороны астроглии и микроглии (определяемая по приросту средней яркости иммунопозитивного материала в соответствующих окраках). Изолированная реакция микроглии не сопровождалась при хроническом ЭТ выраженным повреждением нейронов в инсультной и лимбической областях КГМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие хронического ЭТ сопровождается повреждением нейронов КГМ и глиальной реакцией, выраженность которых варьирует и не является содружественной во всех слоях и по областям коры головного мозга. При хроническом ЭТ происходит преимущественное повреждение зон двигательных (висцеральных и соматических) анализаторов в КГМ, которые являются неотъемлемым компонентом токсической энцефалопатии. Повышенная экспрессия глиальных белков и избирательная реакция микроглии при хроническом ЭТ являются чувствительным индикатором реакции данной области КГМ на токсическое повреждение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Мишнёв О. Д., Щеголев А. И., Трусов О. А. и др. // Бюл. ВНЦ РАМН. – 2005. – № 1. – С. 39–40.
3. Новочадов В. В., Писарев В. Б. Эндотоксикоз: моделирование и органопатология. – Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2005. – 240 с.
4. Новочадов В. В., Писарев В. Б., Фролов В. И. // Вестн. ВолГМУ. – 2004. – № 10. – С. 7–11.
5. Писарев В. Б., Новочадов В. В. // Морфология. – 2004. – № 4. – С. 112.
6. Филатов В. В., Глумов В. Я. // Бюлл. ВНЦ РАМН. – 2005. – № 1. – С. 47–48.
7. Фролов В. И. Патоморфология вегетативной нервной системы при хроническом эндотоксикозе: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Волгоград, 2004. – 35 с.
8. Bonini P., Cicconi S., Cardinale A., et al. // J. Neurosci. Res. – 2004. – Vol. 75, № 1. – P. 83–95.
9. Gavrilyuk V., Dello-Russo C., Heneka M.T., et al. // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277, № 33. – P. 29662–29668.
10. Kong G. Y., Kristensson K., Bentivoglio M. // Glia. – 2002. – Vol. 37, № 3. – P. 191–205.
11. Lee Y. B., Nagai A., Kim S. U. // J. Neurosci. Res. – 2002. – Vol. 69, № 1. – P. 94–103.
12. Penkowa M., Camats J., Hadberg H., et al. // J. Neurosci. Res. – 2003. – Vol. 73, № 4. – P. 481–496.
13. Qin H., Wilson C. A., Lee S. J., et al. // Blood. – 2005. – Vol. 106, № 9. – P. 3114–3122.
14. Sandhu J. K., Pandey S., Ribocco-Lutkiewicz M., et al. // Neurosci. Res. – 2003. – Vol. 72, № 6. – P. 691–703.
15. Takuma K., Baba A., Matsuda T. // Prog. Neurobiol. – 2004. – Vol. 72, № 2. – P. 111–127.
16. Woo M. S., Jang P. G., Park J. S., et al. // Brain Res. Mol. Brain Res. – 2003. – Vol. 113, № 1–2. – P. 86–96.

© Н. В. Ермолаев, В. Б. Писарев, В. В. Новочадов, 2006

УДК 616.37:616.379–008.64–092.4:541.8

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАСТВОРА GEWF ДЛЯ МАКРОСКОПИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Г. Л. Снигур, М. П. Самохина

Кафедра патологической анатомии, кафедра фармакологии ВолГМУ

Вследствие высокой распространенности сахарного диабета и его осложнений во всем мире остается актуальной необходимость создания новых подходов к его профилактике и лечению. Доклинический этап изучения новых лекарственных средств и биологически активных добавок включает морфологическое исследование поджелудочной железы.

Для оценки адекватности модели сахарного диабета у животных необходимо проводить исследование соотношения эндокриноцитов в островках в зависимости от отдела поджелудочной железы. При моделировании сахарного диабета у лабораторных животных (крыс) исследователь сталкивается с проблемой выделения железы, т. к. поджелудочная железа крысы отличается по макроскопическому строению от железы человека тем, что ткань железы распределена по брыжейке кишечника между двенадцатиперстной кишкой, желудком и селезенкой [4].

В эмбриогенезе поджелудочная железа человека развивается из двух выпячиваний двенадцатиперстной кишки: из одного образуется головка, а из другого – тело и хвост железы. Панкреатические островки диффузно распреде-

лены в экзокринной паренхиме и составляют от 1 до 1,5 % от общего объема поджелудочной железы. Однако соотношение эндокриноцитов в островах головки, тела и хвоста колеблется в довольно широких пределах от 25 % (β-клеток), 70 % (α-клеток) в головке до 75 % (β-клеток) и 20 % (α-клеток) в хвосте [1]. По аналогии с человеком (головка, тело, хвост) у крыс выделяют кишечный отдел, желудочный отдел и селезеночный отдел поджелудочной железы [4]. В ткани брыжейки, кроме поджелудочной железы, расположены также жировая ткань и лимфатические фолликулы. Макроскопически отличить жировую ткань и лимфатические узлы от ткани поджелудочной практически невозможно.

Раствор GEWF успешно используется в клинической практике на протяжении ряда лет как фиксирующий раствор при необходимости выявления лимфатических узлов, расположенных в брыжейке у пациентов с онкологическими заболеваниями кишечника и органов брюшной полости после проведении лучевой терапии [2].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить возможность применения раствора GEWF для выявления ткани поджелудочной же-