

В.А. Туманский, А.В. Евсеев

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕТРОГРАДНОГО РАЗРУШЕНИЯ (РЕТРОГРАДНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ) НЕЙРОНОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ПОСТРЕАНИМАЦИОННОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: ретроградная дегенерация нейрона, посттравматическая энцефалопатия.

На основании проведенных комплексных нейрогистологических и электронномикроскопических исследований показано, что через 5-8-12-14-18-30 суток после перенесенной клинической смерти у умерших больных и экспериментальных кошек в белом веществе и межклеточном нейропиле коры и ствола мозга обнаруживаются локальные деструктивные изменения миелинизированных аксонов по типу вторичной валлеровской дегенерации, а также ретроградные изменения некоторых кортикальных и стволовых нейронов, которые завершаются их ретроградным разрушением / ретроградной дегенерацией. Наиболее вероятными причинами валлеровской дегенерации может быть сегментарное разрушение аксонов в мелких очагах периваскулярного некроза, необратимые постшемически-реперфузионные повреждения дистальной части аксонов и апоптоз периаксональных олигодендроцитов.

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РЕТРОГРАДНОГО РУЙНУВАННЯ (РЕТРОГРАДНОЇ ДЕГЕНЕРАЦІЇ) НЕЙРОНІВ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ПОСТРЕАНИМАЦІЙНІЙ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ

В.О. Туманський, А.В. Євсєєв

На основі проведених комплексних нейрогістологічних та електронномікроскопічних досліджень показано, що через 5-8-12-14-18-30 діб після перенесеної клінічної смерті у померлих хворих та експериментальних кішок у білій речовині та міжклітинному нейропілі кори та стовбура мозку спостерігаються локальні деструктивні зміни мієлінізованих аксонів за типом вторинної валерівської дегенерації, а також ретроградні зміни деяких кортикальних та стовбурових нейронів, які завершуються їх ретроградним руйнуванням / ретроградною дегенерацією. Найбільш вірогідними причинами валерівської дегенерації можуть бути сегментарне руйнування аксонів у дрібних вогнищах периваскулярного некрозу, незворотні постішемично-реперфузійні пошкодження дистальної частини аксонів та апоптоз периаксональних олигодендроцитів.

Ключові слова: ретроградна дегенерація нейрона, посттравматична енцефалопатія.

Патологія. – 2008. – Т.5., №4. – С. 24-28

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF RETROGRADE DESTRUCTION (RETROGRADE DEGENERATION) OF BRAIN NEURONS AT THE POSTRESUSCITATIVE ENCEPHALOPATHY

V.A. Tumanskiy, A.V. Evseyev

Under the complex neurohistological and electronic microscopical investigations were demonstrated, that in 5-8-12-14-18-30 days after apparent death in white substance and intracellular neuropil of cortex and brain stem of dead human and experimental cats local destructive changes as a type of secondary Wallerian's degeneration, and retrograde changes of some cortical and stem neurons which terminated by retrograde destruction / retrograde degeneration were observed. The critical factors of Wallerian's degeneration might be the segmental destruction of axons in focuses of perivascular necrosis, irreversible postischemic-reperfusion damages of distal parts of axons and the apoptosis of periaxonal oligodendrocytes.

Key words: neuronal retrograde degeneration, postresuscitative encephalopathy.

Pathologia. 2008; 5(4): 24-28

Острая энергетическая недостаточность нейронов ЦНС во время клинической смерти и при геморе-перфузии головного мозга в раннем посттравматическом периоде индуцирует ишемический некроз нервных клеток и их апоптоз [1,2,3]. Проведенные нами исследования показали, что наряду с такими формами селективной гибели нейронов, в отдаленном посттравматическом периоде также обнаруживается так называемое ретроградное разрушение нейронов, обусловленное разрушением их аксонов или миелиновых оболочек, которое в классической нейроморфологии получило название ретроградная дегенерация (РД), «первичное раздражение» Ниссля или аксональная реакция. Одним из первых этот феномен под названием «первичное раздражение» описал в 1892 г. Ф.Ниссл [4], который, после вырывания корешков лицевого нерва, наблюдал в нейронах nucleus facialis комплекс стереотипных изменений: хроматолиз, начинавшийся с центральных отделов перикариона, набухание цитоплазмы и ядра со значительным сдвигом последнего на периферию клетки. Эти наблюдения своеобразных рет-

роградных микроскопических изменений в нейронах после разнообразных повреждений аксона были подтверждены многими авторами, предложившими различать реактивную стадию (аксональную реакцию), которая, в зависимости от многих факторов, может завершаться либо репаративной стадией и восстановлением структуры нейрона [5] либо – «дегенерацией» (по Jacob A., 1912) - ареактивным кариоцитоллизом нервной клетки [6]. Морфологические изменения в аксонах, возникающих под влиянием разных вредных влияний, в том числе и при травме, были классифицированы на две группы: 1) вторичная или валлеровская (Waller A., 1850) дегенерация, при которой аксон распадается одновременно с миелиновой оболочкой; 2) периаксональная сегментарная дегенерация (демиелинизация), когда деструктивные изменения в основном развиваются в миелиновой оболочке, существенно не затрагивая аксон [6].

Несмотря на то, что в литературе имеется очень много работ по ретроградной дегенерации при травматическом повреждении аксонов нервных клеток и при ишемии го-

лового мозга, особенности ретроградной дегенерации нейронов головного мозга у реанимированных больных практически не изучены.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: выяснение морфологических особенностей ретроградного разрушения/ретроградной дегенерации нейронов ЦНС при постреанимационной энцефалопатии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Работа выполнена на секционном материале 106 умерших больных и экспериментальном материале 50 домашних кошек. Микроскопическое изучение РД нейронов было проведено в кусочках ткани головного мозга, взятых во время патологоанатомического вскрытия у больных, умерших в возрасте от 21 до 89 лет, которые перенесли клиническую смерть (КС) длительностью от 30 секунд до 40 минут или двух-пятикратную клиническую смерть суммарной длительностью от 7 до 60 минут. Средний возраст больных составил $61,66 \pm 11,45$ лет. После клинической смерти больные прожили 1-6, 7-12, 13-24 часа, 1, 2, 3-4, 5-7, 8-15, 16-30 суток и более 1 месяца. Кроме того, аналогичные исследования были проведены на экспериментальном материале 50 беспородных взрослых домашних кошек, которым было проведено моделирование КС длительностью 5-6 минут по запатентованной нами методике [7] путём обратимой компрессии грудной клетки. Декапитация экспериментальных животных проводилась под внутрибрюшинным наркозом тиопенталом натрия через 1, 3, 6, 12 часов, 1, 2, 3, 6, 9, 12 и 30 суток после успешной реанимации.

Кусочки ткани головного мозга, взятые у умерших больных и экспериментальных кошек, фиксировали в забуференном 10% формалине и заливали в парафин. Для исследования брали материал из четырёх отделов головного мозга: кора прецентральной извилины больших полушарий, гиппокамп, мозжечок из зоны вклинения и ствол мозга на уровне нижних олив. На прецезионном ротационном микротоме НМ 3600 (фирмы «MICROM Laborgerate GmbH», Германия) изготавливали серийные срезы толщиной 3-5 мкм, которые помещали на обычные предметные стёкла и окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике для исследования в световом микроскопе Ахиоплан 2 (фирмы «Carl Zeiss», Германия). Кроме того, парафиновые срезы выборочно окрашивали крезил-виолетом по F. Nissl и галлоцианинхромовыми квасцами по L. Einarson. Изменения миелиновых оболочек аксонов оценивали в препаратах, обработанных по M. Krutsau.

Для исследования в электронном микроскопе иссекали кусочки коры и ствола головного мозга, фиксировали в 2,5% глютаральдегиде на 0,1M фосфатном буфере с рН=7,4 и в 1% растворе OsO₄ на аналогичном буфере. Затем кусочки ткани обезвоживали в спиртах восходящей крепости, контрастировали в 2% растворе уранилацетата на 70° спирте и заливали в аралдит. На ультратоме Reichert Om43 получали ультратонкие (45-60 нм) срезы, которые окрашивали на сеточках цитратом свинца по E. Reynolds и изучали в электронном микроскопе ПЭМ-100.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Проведенные исследования показали, что у больных, умерших через 5-8 суток после перенесенной клинической смерти в относительно сохранном субкортикальном белом веще-

стве, в малоизмененном межклеточном нейропиле коры и ствола мозга обнаруживаются отдельные деструктивно измененные миелинизированные аксоны, одновременно с которыми в немногочисленных кортикальных и стволовых нейронах выявляются характерные для аксональной дегенерации микроскопические изменения. Значительно поврежденные миелинизированные аксоны у умерших больных выявляются в парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином (рис. 1, цв. вкладка 1), как опустошённые, набухшие аксоны увеличенного объема с уплотненными наружными контурами (миелиновыми оболочками). При окраске миелина по Крутшау обнаруживаются набухшие, просветленные аксоны с баллоноподобными вспучиваниями миелиновых оболочек, имеющими фрагментарно серо-коричневую окраску (рис. 2, цв. вкладка 1). Набухшие опустошенные аксоны увеличенного объема с уплотненной миелиновой оболочкой, а также набухшие увеличенные аксоны с вакуолизированной аксоплазмой и уплотненной миелиновой оболочкой наиболее четко идентифицируются в парафиновых срезах, окрашенных галлоцианином по Эйнарсону (рис. 3, цв. вкладка 1). Наблюдаемые в галлоцианиновых микропрепаратах в относительно сохранном белом веществе и межклеточном нейропиле коры и ствола мозга набухшие, вспененные и вакуолизированные аксоны с уплотненными оболочками по сущности патогистологических изменений соответствуют субмикроскопическим изменениям миелинизированных аксонов, обнаруживаемым в этом сроке постреанимационной энцефалопатии у экспериментальных кошек. При электронной микроскопии коры и ствола головного мозга у кошек в этом сроке после клинической смерти также выявляются отдельные аксоны с существенными повреждениями аксоплазмы и миелина. Субмикроскопические изменения аксонов заключаются в значительном и неравномерном набухании аксоплазмы с ее отслоением от миелиновой оболочки; в разрушении органелл и цитоскелета аксона с появлением в нем гранулярного материала разной электронной плотности, чередующегося с вакуолями и гигантскими угловатыми опустошенными полостями (рис. 4,5).



Рис. 4 – Разрушение миелинизированного аксона и его миелиновой оболочки через 6 суток после клинической смерти. Электронограмма. Ув. $\times 4\ 000$.

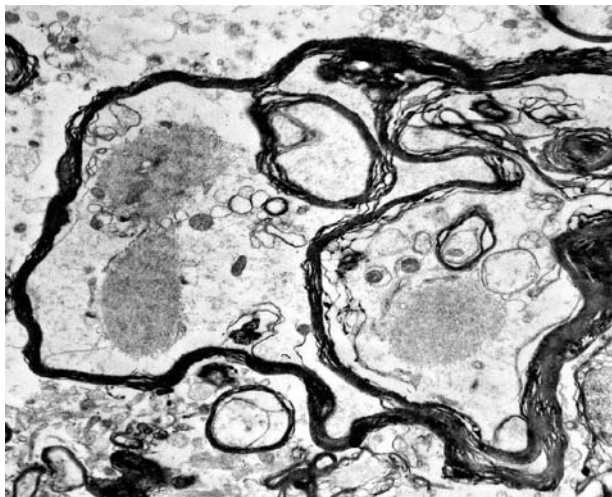


Рис. 5 – Сегменты неравномерного расслоения, гомогенизации и утолщения миелина в оболочке аксона через 9 суток после клинической смерти. Электронограмма. Ув.×4 000

В миелиновых оболочках деструктивно измененных аксонов определяются сегменты неравномерного расслоения миелина, а также сегменты гомогенизации и утолщения миелина (рис.4,5). Обнаруживаются также единичные «пустые» аксоны с гомогенной, утолщенной миелиновой оболочкой повышенной электронной плотности (рис.6).

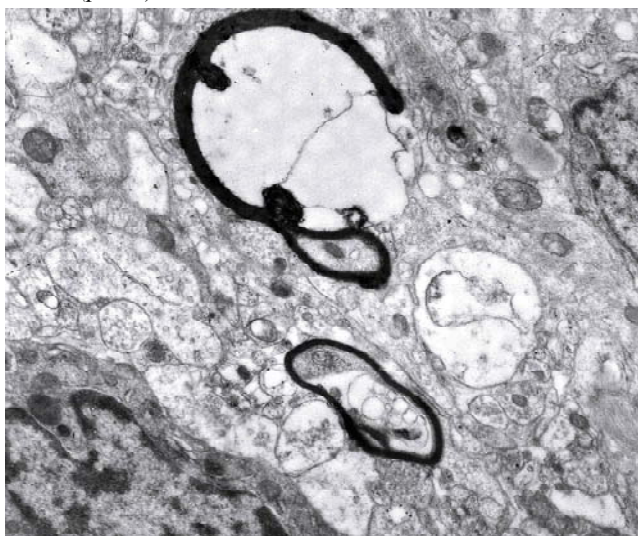


Рис. 6 – Опустошенный миелинизированный аксон с разрушенным миелином в нейроне коры мозга через 12 суток после клинической смерти. Электронограмма. Ув.×8 000.

В тесном контакте с аксонами с опустошенной аксоплазмой и уплотненной гомогенной миелиновой оболочкой выявляются одиночные периаксональные олигодендроциты в состоянии некроза (рис. 7). Отдельные деструктивно измененные миелинизированные аксоны обнаруживаются при световой микроскопии в белом веществе больших полушарий и ствола мозга, а также в межклеточном нейроне у больных, умерших через 12-14-18-30 суток после клинической смерти, а также при электронной микроскопии у экспериментальных кошек через 9, 12 и 30 суток после перенесенной клинической смерти. На протяжении первых двух недель пост-

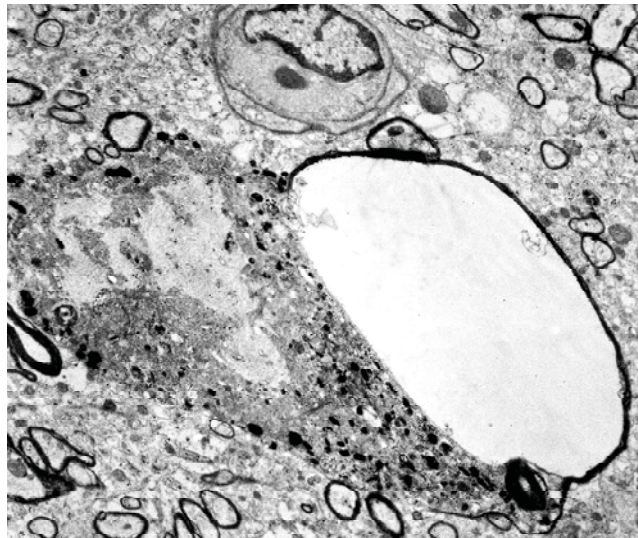


Рис. 7 – Опустошенный миелинизированный аксон и некроз его олигодендроцита через 6 суток после клинической смерти. Электронограмма. Ув.×3 000.

реанимационного периода при иммуногистохимических исследованиях головного мозга у умерших больных выявляется экспрессия проапоптотического белка Вах олигодендроцитами, при электронной микроскопии у экспериментальных кошек также выявляется апоптоз отдельных периаксональных олигодендроцитов (рис. 8).

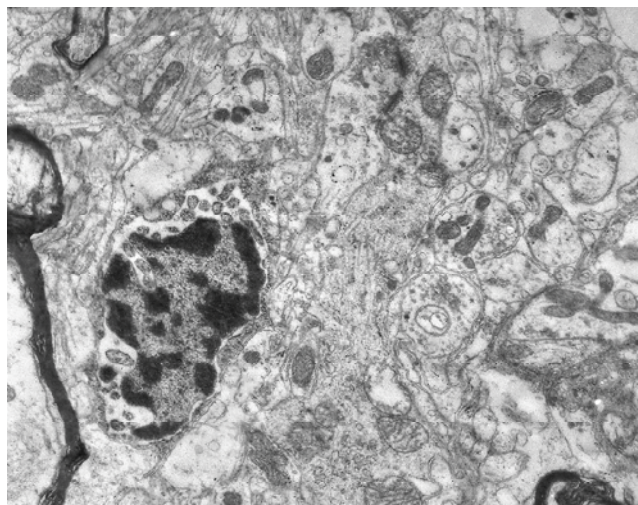


Рис. 8 – Апоптоз периаксонального олигодендроцита через 3 суток после клинической смерти. Электронограмма. Ув.×6 000.

Начиная с 8-х суток после перенесенной клинической смерти, в коре больших полушарий и в стволе головного мозга, наряду с ишемически поврежденными, апоптотически измененными и некротизированными нервными клетками, обнаруживаются единичные нейроны с характерными для аксональной дегенерации ретроградными микроскопическими изменениями. В реактивной стадии эти изменения заключаются в пылевидном измельчении хроматофильного вещества и его отсутствии в центральных отделах умеренно набухшей цитоплазмы нейрона – так называемый центральный хроматолиз. Большинство таких нейронов имеют незначительно увеличенную цитоплазму и эксцентрично расположенное ядро с сохран-

ным ядрышком. При электронной микроскопии у экспериментальных кошек такие нейроны идентифицировались как нервные клетки с умеренно набухшей цитоплазмой, содержащей набухшие митохондрии с неравномерным вакуолеподобным набуханием матрикса, пониженное число полирибосом, умеренно расширенные цистерны эндоплазматической сети, лишённые в центральной части цитоплазмы прикрепленных рибосом. Эксцентричное, умеренно набухшее ядро с просветленной карิโอплазмой имеет эксцентрично локализованное ядрышко.

У больных, умерших через 12-14-18-30 суток после клинической смерти, при световой микроскопии в коре больших полушарий и в стволе головного мозга выявляются немногочисленные нейроны с более выраженными ретроградными изменениями. Они заключаются в значительном набухании цитоплазмы, практически полностью лишённой даже мелких глыбок хроматофильного вещества Ниссля. Набухшие увеличенные нейроны с опустошённой цитоплазмой иногда содержат значительное количество гранул липофусцина и эксцентричное просветленное ядро с сохранным ядрышком. Небольшого объема, уплощенное и просветленное ядро с относительно крупным ядрышком нередко прилежит к плазмолемме в зоне ее выпячивания (рис. 9, цв. вкладка 1). Рядом с телами таких нейронов не обнаруживаются астроциты и олигодендроциты, так называемые глиальные клетки-сателлиты. Субмикроскопическим аналогом таких нервных клеток у экспериментальных кошек были крупные набухшие нейроны с крупным набухшим ядром и набухшей, опустошённой цитоплазмой, содержащей малочисленные рибосомы и набухшие митохондрии с редуцированными кристами, а также небольшое число вакуолизованных цистерн эндоплазматической сети без прикрепленных рибосом. Дифференциальным отличием таких клеток от нейронов в стадии кардиоцитолитиса является сохранное ядрышко, эксцентрично расположенное у кариолеммы набухшего ядра.

Дальнейший деструктивный метаморфоз ретроградно изменённых нейронов заключается в следующем. Увеличенные нервные клетки с опустошённой из-за тотального хроматолиза цитоплазмой принимают округлую форму, рядом с ними практически не выявляется адаптивный перинеурональный глиально-клеточный сателлитоз. В некоторых ретроградно изменённых нейронах в конечной деструктивной стадии обнаруживается уменьшенное и уплотненное из-за пикноза ядро с неразличимым ядрышком (рис. 10, цв. вкладка 2), в некоторых нервных клетках регистрируется ареактивный кардиоцитолитис с трансформацией нейрона в бледно окрашивающуюся клеточную тень (рис. 11, цв. вкладка 2).

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ. Проведенные нами комплексные нейрогистологические и электронномикроскопические исследования показали, что развивающиеся у реанимированных больных и экспериментальных кошек локальные деструктивные изменения миелинизированных аксонов соответствуют

процессу вторичной валлеровской дегенерации проксимальной части аксона, описанному множеством исследователей [5,6], при котором одновременно происходит разрушение субмикроскопических компонентов аксоплазмы аксона и его миелиновой оболочки. Проведенные нейроморфологические исследования разных отделов головного мозга показали, что наиболее вероятными причинами вторичной валлеровской дегенерации миелинизированных аксонов при постреанимационной энцефалопатии может быть сегментарное разрушение аксонов в мелких очагах периваскулярного некроза, обусловленного невосстановлением капиллярной гемомикроциркуляции, или необратимые постишемические-реперфузионные повреждения дистальной части аксонов после клинической смерти. Важную роль в отсутствии своевременного восстановления миелина может играть апоптоз отдельных периаксональных олигодендроцитов, выявленный нами в первые две недели после клинической смерти.

Наряду с селективным некрозом и апоптозом нейронов у умерших в постреанимационном периоде больных и у реанимированных экспериментальных кошек на 8-12-14-18-30 сутки после клинической смерти обнаруживаются так называемые ретроградные изменения некоторых нервных клеток, которые завершаются ретроградным разрушением (ретроградной дегенерацией) определенного количества нейронов. Наиболее важными факторами, способствующими ретроградному разрушению нейронов после локального повреждения их миелинизированных аксонов, являются значительный дефицит энергии в нейронах после клинической смерти с долговременным снижением синтеза в них белков, а также отсутствие феномена адаптивного перинеуронального сателлитоза, т.е. метаболической поддержки ближайшими астроцитами и олигодендроцитами.

ВЫВОДЫ

1. По данным световой и электронной микроскопии через 5-8-12-14-18-30 суток после перенесенной клинической смерти у умерших больных и экспериментальных кошек в относительно сохранным субкортикальном белом веществе, в малоизменённом межклеточном нейропиле коры и ствола мозга обнаруживаются отдельные миелинизированные аксоны с сегментарными деструктивными изменениями, патогномичными для вторичной валлеровской дегенерации проксимальной части поврежденного аксона.

2. У умерших в постреанимационном периоде больных и у реанимированных экспериментальных кошек на 8-12-14-18-30 сутки после клинической смерти в коре больших полушарий и в стволе головного мозга выявляются так называемые ретроградные изменения некоторых нервных клеток, которые завершаются ретроградным разрушением (ретроградной дегенерацией, ареактивным кардиоцитолитисом) определенного количества нейронов.

3. Наиболее вероятными причинами вторичной валлеровской дегенерации миелинизированных аксонов и ретроградного разрушения нейронов головного мозга при постреанимационной энцефалопатии может быть сегментарное разрушение аксонов в мелких очагах пери-

васкулярного некроза, обусловленного невосстановлением капиллярной гемомикроциркуляции, или необратимые постишемически-реперфузионные повреждения дистальной части аксонов после клинической смерти. Определенное значение в этом процессе играет апоптоз периаксональных олигодендроцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Туманский В.А. Селективная гибель специализированных клеток // Патологія, 2005. -Т.2, - № 1, с. 10-18.
2. Туманський В.О. Концепції молекулярно-метаболической альтерации клітин // Укр. журнал патології. – 2000. – № 1. – С.110-120.
3. Туманский В.А., Евсеев А.В., Полковников Ю.Ф. Апоптоз и селективный некроз нейронов ЦНС после клинической смерти

и церебральной ишемии : молекулярные механизмы и морфологические особенности // Патологія. – 2008. –Том 5. - №2. стр. 19-28.

4. Nissl F. Uber experimental erzeugte Veränderungen an den Vorderhornzellen des Rückenmarks bei Kaninchen mit Demonstrationen mikroskopischer Präparate // Allgemeine Zoologie und Psychiatrie. – 1892. – No.50. – P.370-378.

5. Смирнов Л.И. Патологические изменения нервных клеток // в кн: Рук-во по неврологии. - М.-Л.: Медгиз. 1941, т.2, с. 15-240.

6. Жаботинский Ю.М. Нормальная и патологическая морфология нейрона. – Ленинград: Медицина, 1965. – 323с.

7. Туманський В.О., Евсеев А.В. Патент України на корисну модель «Спосіб моделювання клінічної смерті» № 28969 UA МПК G09B23/28 (2007.01) від 25.12.2007

Сведения об авторах:

Туманский Валерий Алексеевич – д.мед.н., профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ, директор Института клинической патологии человека;

Евсеев Антон Владимирович – ассистент кафедры патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ.

Адрес для переписки:

Туманский Валерий Алексеевич, ЗГМУ, пр. Маяковского, 26, г. Запорожье, 69035, Украина.