

УДК 611.81-092.2

Макаренко А.Н., Ковтун А.Н., Петров Ф.И.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМНОЙ НЕЙРОГЛИАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ОБРАЗОВАНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко

ГВУЗ «Переяслав - Хмельницкий государственный педагогический университет имени Григория Сковороды»

Институт продовольственных ресурсов НААН Украины, Киев

В статье отображены результаты сравнительного исследования общего состава и количества глиоцитов (астроцитов, олигодендроцитов и микроглиоцитов), а также ряда глиальных индексов эволюционно молодой сенсомоторной зоны коры больших полушарий головного мозга и филогенетически разнородных паравентрикулярного, вентромедиального ядер и латеральной зоны гипоталамуса белых крыс. Полученные результаты подтверждают гипотезу о взаимосвязи эволюционного процесса формирования различных отделов и образований головного мозга и клеточного нейроглиального содержания этих отделов. Более древние типы глиоцитов (микроглиоциты) составляют значительно большую часть в структуре филогенетически более ранних (древних) образований промежуточного мозга, а глиальные клетки, возникшие на более поздних этапах эволюции (например, олигодендроциты) составляют значительно большую долю в структуре филогенетически более поздних отделов и образований головного мозга (например, в сенсомоторном цереброкортексе).

Ключевые слова: млекопитающие, головной мозг, астроциты, олигодендроциты, микроглиоциты.

Введение

Нейроглия совместно с пулом нейронов играет ведущую и до конца не изученную роль в жизнеобеспечении и функционировании нервной системы [1,2,3,8]. Специализация различных отделов головного мозга сопровождается сопутствующими структурно-функциональными перестройками нервной ткани и существенными изменениями в системной организации нейроглии. Результаты предыдущих исследований показали, что нейроглия является достаточно лабильной и реактивной клеточной системой, которая изменяется в количественном составе и соотношениях астроцитов, олигодендроцитов и микроглиоцитов под действием различных факторов. Эти результаты были выявлены в опытах моделирования острого геморрагического инсульта или в процессе постиинсультного восстановления мозга [6,7].

Однако вопросы изучения филогенеза нейроглии в целом и отдельных ее типов в частности освещены в литературе недостаточно. Состав и соотношение астроцитов, олигодендроцитов и микроглиоцитов в отдельных клеточных образованиях головного мозга, как и сравнение этих структур мозга между собой по данным показателям, может позволить в будущем выявить взаимосвязь между филогенетическим возрастом клеточных структур мозга и распределением различных типов глиоцитов в них.

В связи с этим, целью данного исследования стало сравнительное изучение общего состава и количества глиоцитов (астроцитов, олигодендроцитов и микроглиоцитов), а также ряда глиальных индексов эволюционно молодой сенсомоторной зоны коры больших полушарий головного мозга и филогенетически разнородных паравентрикулярного, вентромедиального ядер и латеральной зоны гипоталамуса, с учетом изучаемых кортико-гипоталамических взаимоотношений.

Объект и методы исследования

Работа выполнена на 22 белых крысах-самцах линии Вистар, средний вес которых составлял $218,3 \pm 9,7$ г.

Для гистологических исследований отбирались участки сенсомоторного цереброкортекса, в диэнцефальной области – крупноклеточного паравентрикулярного ядра переднего гипоталамуса, вентромедиального ядра и латеральной зоны среднего гипоталамуса. Перед этим головной мозг животных фиксировался перфузией 10% раствора нейтрального формалина (рН 7,4), приготовленного на фосфатном буфере. Участки мозга ткани крыс обезжировали в батарее возрастающих концентраций спиртов, и заливали парафином, который затем охлаждали. На санном микротоме МС-2 (Россия), получали фронтальные срезы (толщиной 6-7 мкм), которые окрашивали стандартным раствором тионина или гематоксилином-эозином. Все экспериментальные исследования на крысах проводились согласно протоколу Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (1996). Окрашенные срезы изучались в светооптическом микроскопе Micromed XS-5520 (Китай) при общем увеличении 100х и 400х (объектив - 10х, окуляры - 10х и 40х). Стандартная площадь изучаемого поля зрения составляла 689000 мкм^2 , последовательно исследовались 10 разных полей зрения указанных выше образований мозга.

Фотографирование клеточных образований цереброкортекса и гипоталамуса производили с помощью цифровой камеры TourCam SCMOS03000KPA 3.0. (Китай), а обработку микрофотографий осуществляли в графическом редакторе Adobe Photoshop CS6. Типы глиоцитов определяли и подсчитывали с использованием следующих дифференциальных критериев: структуры глиальных клеток, формы их ядер, клеточных тел, интенсивности окраски и харак-

тера ядерно-цитоплазматических отношений. Для количественной и качественной оценки глиоцитов в структурах мозга использовались предложенные ранее системные показатели:

1) глиальная формула (ГФ), т.е. количественное и процентное содержание астроцитов, олигодендроцитов, микроглиоцитов по отношению к суммарному количеству глиоцитов;

2) глиальные индексы количественные (ГИК 1-3) (т.е. соотношение суммы одного типа глиоцитов по отношению к другому). При этом оценивали ГИК1, т.е. отношение суммы астроцитов к микроглиоцитам, ГИК2 – олигодендроглиоцитов к микроглиоциту и ГИК3 – астроцитов к олигодендроглиоцитам [6,7]. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли методами описательной и вариационной статистики, используя программу SPSS Statistics Data Editor. Для оценки достоверности обнаруженных закономерностей в исследуемых группах результатов использовали следующие статистические показатели – меру центральной тенденции (среднее арифметическое, М) и меру изменчивости (стандартное отклонение, м). Достоверность различий между полученными данными оценивали по U-критерию Манна-Уитни (при $p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ клеточного состава изученных образований головного мозга белых крыс показал наличие существенных различий в соотношениях изучаемых типов глиоцитов, а также между правым и левым полушариями головного мозга животных. Особенно существенной, на наш взгляд, оказалась взаимосвязь между периодом формирования (в филогенетическом аспекте) конкретного клеточного образования мозга и преобладанием в нем соответствующих данному историческому периоду типов глиоцитов (Табл.1).

Эволюционно наиболее древний тип глиоцитов – микроглиоциты – среди изученных клеточных образований мозга занимает доминирующее положение в крупноклеточном нейросекреторном паравентрикулярном ядре гипоталамуса – наиболее эволюционно древнем образовании промежуточного мозга. В большей мере эти клетки представлены в ядре левого полушария. В остальных образованиях гипоталамуса доля микроглиоцитов уменьшается прямо пропорционально эволюционному периоду (возникновения, формирования) других ядер (вентромедиального ядра и латеральной зоны гипоталамуса). В сенсомоторном цереброкортексе – наиболее эволюционно молодом образовании мозга – доля микроглиоцитов существенно

меньше, чем в паравентрикулярном ядре переднего гипоталамуса на 13,73% в левом и на 9,35% – в правом полушариях, соответственно.

Астроциты представляют собой эволюционно более молодой тип глиоцитов по сравнению с микроглиоцитами. В паравентрикулярном ядре астроциты занимают практически равную с микроглиоцитами долю в правом и левом полушариях головного мозга животных. В левом полушарии, в клеточном составе вентромедиального ядра среднего гипоталамуса доля астроцитов представлена в меньшей степени (на 3,69%) по сравнению с данными ГФ паравентрикулярного ядра. Однако, в ядре латеральной зоны гипоталамуса доля астроцитов максимальна среди изученных нами клеточных образований мозга (34,36%). Но этот же показатель в цереброкортексе оказался сниженным, при этом в правом полушарии показатель доли астроцитов находился практически в одном диапазоне колебаний с левым (табл.1).

Эволюционно наиболее молодым типом глиоцитов являются олигодендроциты. По данным ГФ, они составляют свыше половины от общего количества глиоцитов наиболее филогенетически молодого клеточного образования головного мозга млекопитающих – сенсомоторного цереброкортекса. Эти клетки составляют 58,56% в левом и 60,76% в правом полушариях цереброкортекса соответственно. Согласно высказанной нами гипотезе было обнаружено, что самые низкие значения олигоглии мы наблюдали в паравентрикулярном ядре, несколько более выраженные в ядре правого полушария. Вентромедиальное ядро и латеральная зона гипоталамуса занимали в этом отношении промежуточное положение. По данному показателю ГФ было установлено, что в правом полушарии доли олигодендроцитов в паравентрикулярном и вентромедиальном ядрах находились приблизительно в одном количественном диапазоне.

Наиболее отчетливо различия в системной организации нейроглии были получены и продемонстрированы при сравнительной оценке количественных глиальных индексов 1-3 (ГИК 1-3).

Значения ГИК 1, (т.е. отношения общего количества астроцитов к микроглиоцитам) не позволило обнаружить зависимость ни от исследованного клеточного образования, ни от полушария. В левом полушарии наибольшие значения ГИК1 наблюдались только в латеральной клеточной зоне гипоталамуса, а правом – в сенсомоторном цереброкортексе (табл.2).

Таблиця 1
Сравнительный анализ распределения глиоцитов в разных клеточных образованиях головного мозга белых крыс
Площадь поля зрения 0,689 мм² (10 полей зрения, $\bar{x} \pm s_x$)

Исследуемые зоны головного мозга	Глиальные клетки		
	Микроглиоциты	Астроциты	Олигодендроциты
Левое полушарие			
Паравентрикулярное ядро	76,66±17,55 31,38	77±10,58 31,52	90,6±9,71 37,1
Вентромедиальное ядро	64,66±7,37 28,57	63±14,73 27,83	98,66±10,06 43,60
Латеральная зона гипоталамуса	48±3,46 24,74	66,66±7,63 34,36	79,33±8,14 40,90
Сенсомоторный цереброкортекс	270,7±42,9 17,65%	365±39,03 23,79%	898,4±103,4 58,56%
Правое полушарие			
Паравентрикулярное ядро	60±8,71 25,10	61,66±7,63 25,80	117,33±15,53 49,10
Вентромедиальное ядро	60±5 24,09	66,33±6,02 26,65	122,66±13,20 49,26
Латеральная зона гипоталамуса	44,33±5,13 20,79	53,66±9,07 25,15	115,33±9,45 54,06
Сенсомоторный цереброкортекс	225,5±43,1 15,75%	331,8±50,7 23,49%	852,5±137,1 60,76%

Наиболее же информативным (с точки зрения изложенной выше научной гипотезы) оказался ГИК 2, т.е. отношение общего количества олигодендроцитов к микроглиоцитам. В левом полушарии данный индекс в сенсомоторном цереброкортексе был выше, чем в паравентрикулярном ядре гипоталамуса на 64,39%, а правом полушарии – на 48,16%. Отличительной особенностью оказались также более высокие значения ГИК 2 правого полушария, по сравнению с левым в случае с каждым исследованным клеточным образованием головного мозга. Минимальная разница при этом наблюдалась в сенсомоторной коре больших полушарий головного мозга – 12,22%, а наибольшая была отмечена в латеральной клеточной зоне гипоталамуса, которая составила 36,47%. Это подтверждает высказанную гипотезу эволюционного детерминирования клеточного глиального представительства в филогенетически неоднородных образованиях центральной нервной системы и, в частности, в клеточных структурах головного мозга.

Индекс ГИК3, объективно отражающий отно-

шение суммы астроцитов к олигодендроцитам, свидетельствует о степени концентрации олигодендроцитов в исследованных образованиях головного мозга. В частности, значения ГИК3 были наименьшими в сенсомоторном цереброкортексе обоих полушарий. В сравнении с паравентрикулярными ядрами гипоталамуса, где значения ГИК3 были наибольшими, разница составила 52,12% в левом полушарии и 26,05% в правом, соответственно. В целом, в исследованных клеточных образованиях головного мозга, сумма олигодендроцитов была наибольшей в отдельных образованиях гипоталамуса и сенсомоторном цереброкортексе правого полушария. При этом наименьшая разница между полушариями была зафиксирована в цереброкортексе (16,34%), а наибольшая – в латеральной клеточной зоне гипоталамуса (44,64%) (табл.2).

Следует уточнить, что последняя клеточная зона в стереотаксическом атласе мозга белых крыс [11] носит официальное название Lateral hypothalamic (LH) area или латеральная гипоталамическая область (рис.1).

Таблиця 2
Количественное отношение глиоцитов (индексов ГИК 1-3) в изученных клеточных образованиях головного мозга белых крыс
Площадь поля зрения 0,689 мм² (10 полей зрения, $\bar{x} \pm s_x$)

Исследуемые зоны головного мозга	Глиальные индексы		
	ГИК1 (А/М)	ГИК2 (О/М)	ГИК3 (А/О)
Левое полушарие			
Паравентрикулярное ядро	1,004	1,182	0,850
Вентромедиальное ядро	0,974	1,526	0,639
Латеральная зона гипоталамуса	1,389	1,653	0,840
Сенсомоторный цереброкортекс	1,351	3,319	0,407
Правое полушарие			
Паравентрикулярное ядро	1,028	1,960	0,526
Вентромедиальное ядро	1,106	2,044	0,541
Латеральная зона гипоталамуса	1,210	2,602	0,465
Сенсомоторный цереброкортекс	1,471	3,781	0,389

Условные обозначения: А - астроциты, О – олигодендроциты, М – микроглиоциты.

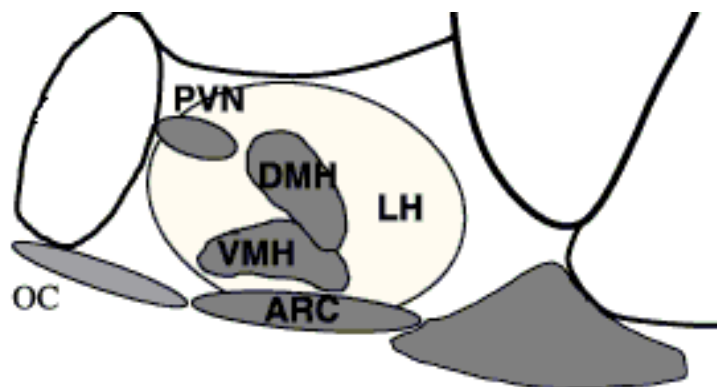


Рис.1. Схематичне зображення ядер гіпоталамуса (вид збоку). ARC – дугообразне ядро; PVN – паравентрикулярне ядро; VMH – вентромедіальне ядро; DMH – дорсомедіальне ядро; LH – латеральна гіпоталамічна область; OC – зрительний перехрест.

Выводы

Результаты проведенного системного исследования глиогомеостаза отдельных клеточных образований головного мозга млекопитающих подтверждают гипотезу о взаимосвязи эволюционного процесса формирования различных отделов и образований головного мозга и клеточного нейроглиального содержания этих отделов. Более древние типы глиоцитов (микроглиоциты) составляют значительно большую часть в структуре филогенетически более ранних (древних) образований промежуточного мозга и, в частности, в паравентрикулярном крупноклеточном и нейросекреторном ядре переднего гипоталамуса. Глиальные клетки, возникшие на более поздних этапах эволюции (например, олигодендроциты) составляют значительно большую долю в структуре филогенетически более поздних отделов и образований головного мозга (например, в сенсомоторном цереброкортексе). Качественный и количественный клеточный анализ, проведенный при изучении отношения олигодендроцитов к микроглиоцитам, выявил существенно большие показатели в цереброкортексе мозга, по сравнению с остальными изученными ядрами и образованиями гипоталамуса, т.е. в диэнцефальной области мозга белых крыс.

Также были установлены различия, имеющие место и между разными полушариями. В правом полушарии описанные различия выражены в большей степени, чем в левом. Это можно объяснить асимметрией и функциональным доминированием одного из полушарий в

деятельности головного мозга животных.

Литература

1. Абдурасулова И. Н. Роль иммунных и глиальных клеток в процессах нейродегенерации / И. Н. Абдурасулова, В. М. Клименко // Мед. акад. журн. - 2011. - Т. 11, №1.- С. 12–29.
2. Астапова В.М. Атлас «Нервная система человека. Строение и нарушения». / В.М. Астапова, Ю.В. Микадзе. 4-е издание, перераб. и доп.— М., 2004. — ПЕР СЭ — 80 с.
3. Васильев Ю.Г. Гомеостаз и пластичность мозга / Ю.Г. Васильев, Д.С. Берестов. – Ижевск : Ижевская ГСХА, 2011. – 216 с.
4. Думбай В.Н. Структура и функции глии / В.Н. Думбай. – Ставрополь : Издательство Южного федерального университета, 2007. – С. 4-10.
5. Макаренко А.Н. Метод моделирования локального кровоизлияния в различных структурах головного мозга у экспериментальных животных / А.Н. Макаренко, Н.С. Косицин, Н.В. Пасикова, М.М. Свинов // Журнал высшей нервной деятельности. – 2002. – Т. 52 (6). – С. 765-768.
6. Макаренко А.Н. Изучение нейроно- и глиоглиальных преобразований в клеточных системах головного мозга в норме и при моделировании цереброваскулярной патологии / А.Н. Макаренко, В.Н. Бибикина, Н.Н. Терещенко, С.И. Савосько // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2014. – Т.14, Вип. 1. - С. 100-106.
7. Макаренко А.Н. Изменения в глиальной системе сенсомоторного цереброкортекса белых крыс при экспериментальном воспроизведении цереброваскулярной патологии / А.Н. Макаренко, А.Н. Ковтун, В.В. Кривонос, С.И. Черная // Фундаментальные проблемы нейронаук. Функциональная асимметрия. Нейропластичность. Нейродегенерация : Мат. Всеросс. Науч. Конференции с междунар. участием (18-19 декабря 2014). – Москва, 2014. – С.599-614.
8. Семьянов А.В. Нейрон-глиальное взаимодействие в мозге / А.В. Семьянов, В.Б. Казанцев. - Нижний Новгород.: Издательство Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, 2007. – 107 с.
9. Сухорукова Е. Г. Структурная организация астроцитов неокортекса крысы и человека, содержащих глиальный фибриллярный кислый белок : Автореф. дис. канд. мед. наук., спец. 03.03.04 «Клеточная биология, цитология, гистология» / Е. Г. Сухорукова – Санкт-Петербург, 2011. – 22 с.
10. Luskin M. B. Neurons, Astrocytes, and Oligodendrocytes of the Rat Cerebral Cortex Originate from Separate Progenitor Cells: An Ultrastructural Analysis of Clonally Related Cells / M.B. Luskin, J.G. Parnavelas, J.A. Barfield // J. Neurosci. — 1993. — Vol. 13, № 4. — P. 1730–1750.
11. Paxinos G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, 6th Edition. / G. Paxinos, C. Watson - Academic Press, 2006. – 456 p.

Реферат

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМОЇ НЕЙРОГЛІАЛЬНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ УТВОРЕНЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ССАВЦІВ
Макаренко О.М., Ковтун А.М., Петров Ф.І.

Ключові слова: ссавці, головний мозок, астроцити, олигодендроцити, мікроглиоцити.

У статті відображені результати порівняльного дослідження загального складу і кількості глиоцитів (астроцитів, олигодендроцитів і мікроглиоцитів), а також ряду гліальних індексів еволюційно молодій сенсомоторної зони кори великих півкуль головного мозку і філогенетично різномірних паравентрикулярного, вентромедіального ядер і латеральної зони гіпоталамуса білих щурів. Отримані результати підтверджують гіпотезу про взаємозв'язок еволюційного процесу формування різних відділів і утворень головного мозку і клітинного нейроглиального змісту цих відділів. Давніші типи глиоцитів (мікро-

ліоцити) складають значно більшу частину в структурі філогенетично більш ранніх (древніх) утворень проміжного мозку, а гліальні клітини, що виникли на більш пізніх етапах еволюції (наприклад, олігодендроцити) складають значно більшу частку в структурі філогенетично більш пізніх відділів і утворень головного мозку (наприклад, в сенсомоторному цереброкортексі).

Summary

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF SYSTEMIC NEUROGLIAL STRUCTURE IN MAMMALIAN BRAIN

Makarenko O. M., Kovtun A. M., Petrov F. I.

Key words: mammals, brain astrocytes, oligodendrocyte, microgliaocytes.

The article describes the results of the comparative study of the composition and quantity of gliocytes (astrocytes, oligodendrocyte and microgliaocytes) as well as the glial indices of evolutionarily young sensorimotor area of the cerebral cortex and phylogenetically different paraventricular, ventromesial nuclei, and lateral hypothalamic area in albino rats. The results obtained support the hypothesis about the relationship between the evolutionary process in the development of various segments and structures of brain, and cell neuroglial content of these segments. Older types of gliocytes (microgliaocytes) make up much more larger part in the structure of phylogenetically older (ancient) formations of midbrain and glial cells arising at later stages of evolution (e.g., oligodendrocyte) form much larger share in the phylogenetically more recent segments and structures of the brain (e.g., sensorimotor cerebrocortex).

УДК: 546.221.1: 577.112.386: 611.13

Мельник А.В., Заїчко Н.В.

ВПЛИВ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПЛУК НА МЕТАБОЛІЗМ СІРКОВМІСНИХ АМІНОКИСЛОТ ТА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В ПЕЧІНЦІ У САМЦІВ ТА САМОК ЩУРІВ ЗА УМОВ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

Поліфенольні сполуки виявляють антиоксидантні, протизапальні та ендотеліопротекторні властивості. Залишається невивченим їх вплив на метаболізм сірковмісних амінокислот та гідроген сульфід (H₂S) у щурів обох статей за умов гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ). Тому, метою нашого дослідження було оцінити вплив геністеїну та кверцетину на метаболізм гомоцистеїну, цистеїну та H₂S в печінці щурів обох статей за умов ГГЦ. Модель ГГЦ створювали шляхом введення тіолактону D, L-гомоцистеїну внутрішньошлунково (100 мг/кг маси) протягом 28 днів. Частині тварин, які отримували тіолактон гомоцистеїну, вводили інтрагастрально геністеїн (2,5 мг/кг маси) чи кверцетин (25 мг/кг маси тіла) протягом 28 днів. В печінці визначали активність ферментів утилізації гомоцистеїну, цистеїну та синтезу H₂S, а в сироватці крові - вміст гомоцистеїну, цистеїну та H₂S. Виявилось, що геністеїн стримував розвиток гомоцистеїнемії, гіперцистеїнемії, дефіциту H₂S в крові, індукований ГГЦ. Поряд з цим геністеїн попереджував падіння швидкості утилізації гомоцистеїну в реакціях транссульфування, деградації цистеїну та синтезу H₂S в печінці самок та самців щурів на тлі ГГЦ. В той же час, кверцетин коригував лише вміст H₂S в крові та активність його синтезу в печінці за умов ГГЦ. Таким чином, із застосованих поліфенолів лише геністеїн ефективно попереджував негативний вплив ГГЦ на обмін гомоцистеїну, цистеїну та H₂S в печінці самок та самців щурів.

Ключові слова: геністеїн, кверцетин, гіпергомоцистеїнемія, гідроген сульфід, кров, печінка, ферменти.

Робота виконується в рамках планової НДР кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова "Вплив екзогенних та ендогенних чинників на обмін гідрогенсульфіду та асоційованих з ним метаболічних процесів в нормі та при патології" (№ держреєстрації - 0113U006461).

Вступ

Гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) є визнаним фактором ризику серцево-судинних та нейродегенеративних захворювань, ниркової недостатності, патології печінки та ін. [1,10]. Важливими біохімічними механізмами токсичної дії високих концентрацій гомоцистеїну є індукція оксидативного стресу, запалення та ендотеліальної дисфункції [10].

На сьогодні все більшу увагу науковців привертають поліфенольні сполуки, які володіють політропними фармакологічними ефектами [7,12]. Вони виявляють антиоксидантні, протиза-

пальні та ендотеліопротекторні властивості. Однак, залишається невивченим їх вплив на метаболізм сірковмісних амінокислот та гідроген сульфід у щурів обох статей за умов гіпергомоцистеїнемії.

Мета дослідження

Оцінити вплив поліфенольних сполук геністеїну та кверцетину на обмін гомоцистеїну, цистеїну та гідроген сульфід у печінці у самців та самок щурів на тлі гіпергомоцистеїнемії.

Матеріали і методи

Досліди проведені на 80 білих лабораторних