

DOI 10.26724 / 2079-8334-2018-2-64-115-119

УДК 616.12 – 008.331.1:612.82.084

В.С. Айдарова, О.В. Наумова¹, О.В. Кулюкоцева, П.П. Ломакін, В.Г. Бабичук
 Інститут проблем криобіології та криомедицини НАН України, м. Харків
¹Харківський національний медичний університет

СТРУКТУРА МОЗГА КРЫС ЛИНИИ SHR С ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

E-mail: 2ilomakin53@gmail.com

В работе были проведены морфологические и морфометрические исследования ткани головного мозга из области прецентральной извилины спонтанно гипертензивных крыс линии SHR. У животных этой линией в артериальных сосудах мягких мозговых оболочек обнаружены морфологические изменения, характерные для артериальной гипертензии: гипертрофия и гиперплазия гладких миоцитов, умеренный межмышечный склероз, неравномерно выраженный спазм, плазматическое пропитывание, гиалиноз стенки части артерий и артериол. В капиллярах вещества головного мозга наблюдались признаки стаза и разобщение эндотелиоцитов, в венозных сосудах – признаки застойного полнокровия. Морфометрически в группе крыс линии SHR значения плотности нейроглии и нейроглиального индекса были значимо больше, а нейронов и функционирующих капилляров – значимо меньше в сравнении с показателями нормотензивного контроля, что свидетельствует о развитии патологических изменений в их центральной нервной системе.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, спонтанно-гипертензивные крысы, головной мозг.

Робота виконана в рамках НДР «Формування адаптаційних реакцій організму експериментальних тварин в умовах дії штучного охолодження та криоконсервованих ядромісних клітин кордової крові при старінні і патологічних станах», шифр 2.2.6.103, 2016–2020 гг.

На сегодняшний день артериальная гипертензия (АГ) является наиболее распространенной причиной заболеваемости и смертности во всем мире [4, 8]. Крысы чистой линии SHR, выведенной К. Окамото и К. Аоки, спонтанно развивают хроническую гипертензию в результате нарушения функции от 1 до 6 генов, участвующих в регуляции артериального давления (АД) [7]. Развитие АГ, ее течение и последствия на организм у этих животных близко к развитию АГ у человека, поэтому в настоящее время крысы линии SHR признаны удачной моделью АГ и широко используются в экспериментальной работе [6–9]. Чрезвычайно важной проблемой является влияние повышенного АД на морфофункциональное состояние головного мозга (ГМ). Высокие цифры АД чаще ассоциируются с высоким риском развития острого нарушения мозгового кровообращения и инсульта, однако показано, что ведущую роль в изменении состояния ГМ играет не одномоментное их повышение, а хронически высокие показатели АД [5, 6, 9, 10].

Целью работы было изучение морфологических и морфометрических особенностей головного мозга крыс линии SHR с генетически детерминированной артериальной гипертензией.

Материал и методы исследования. Исследования были проведены на 12-месячных спонтанно гипертензивных крысах линии SHR (SHR) и беспородных белых крысах, принятых за нормотензивный контроль (К) (по 6 животных в каждой группе). Эксперименты выполнены в соответствии с «Общими принципами работы на животных», одобренными V Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013) и согласованными с положениями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986). Материалом для морфологического исследования служил головной мозг крыс, фиксированный в 10% нейтральном формалине, из которого иссекали образцы ткани мозга из области прецентральной извилины толщиной около 0,4 см. Полученные образцы ткани обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (от 50° до 100°), заключали в парафиновые блоки и изготавливали срезы толщиной 5-6 мкм. Обзорные препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, использовались для общей оценки состояния мягких мозговых оболочек и вещества мозга. Окрашивание препаратов пикрофусином по ван Гизон проводили для выявления и оценки степени развития коллагеновых волокон в строме мягких мозговых оболочек и в стенке сосудов. Препараты, окрашенные толуидиновым синим по Нисслию, служили объектом для изучения состояния нейронной популяции (наличие патологически измененных нейронов), состояния глиального компонента клеточной популяции вещества мозга (тип глиальных клеток, визуальная оценка количества глиоцитов, особенности их структуры), состояния глио-нейрональных взаимодействий (активность

сателлитоза, наличие и выраженность нейронофагии) [1]. Микроскопическое исследование препаратов проводили на микроскопе Olympus BX-41 (Olympus Corporation, Япония). Морфометрическое исследование для объективизации полученных данных проводили на препаратах, окрашенных толуидиновым синим по Нисслию. Определяли значение нейроглиального индекса, плотность нейронов, глиоцитов и функционирующих (открытых) капилляров (в 1 мм²) в III–V слоях коры ГМ. Для вычисления величины нейроглиального индекса в каждом препарате в 10 полях зрения в III–V слоях коры при увеличении 400 подсчитывали количество клеток нейроглии и нейронов и определяли их соотношение [2]. Для определения плотности клеточной популяции вещества мозга или функционирующих капилляров в каждом препарате в 10 полях зрения III–V слоев коры при увеличении 400 определяли площадь исследуемой зоны (в мм²), подсчитывали количество соответствующих клеток или капилляров. Все морфометрические и морфологические исследования проводили на микроскопе Olympus BX-41 с использованием программ Olympus DP-Soft (Version 3:1).

Статистическую обработку данных выполняли с применением пакета прикладных программ фирмы Excel Microsoft (2007 г.). Полученные цифровые данные были представлены в виде средней арифметической величины (M) и ошибки средней арифметической величины (m). На основании U-критерия Манна-Уитни между группами рассчитывали вероятность различий (p). Различия считали достоверными при $p < 0,05$ [3].

Результаты исследования и их обсуждение. При микроскопическом исследовании препаратов ГМ спонтанно гипертензивных крыс, в отличие от нормотензивного контроля [5, 6], отмечалось утолщение мягких мозговых оболочек головного мозга за счет их отека и избыточного развития коллагеновых волокон, которые были сгруппированы в фуксинофильные пучки преимущественно вокруг сосудов. Вследствие накопления отечной жидкости пространства между волокнистыми структурами выглядели расширенными, оптически пустыми. В составе мягких мозговых оболочек встречались многочисленные фибробласты, отдельные фиброциты, лимфоциты и гистиоциты. Артериальные сосуды с признаками неравномерно выраженного спазма, в участках которого определялась типичная аккомодация эндотелия в виде частокола и очаговая десквамация клеток. По сравнению с нормотензивным контролем у крыс линии SHR отмечалось утолщение стенки артерий вследствие гипертрофии и гиперплазии гладкомышечных клеток и избыточного развития межмышечных коллагеновых волокон.

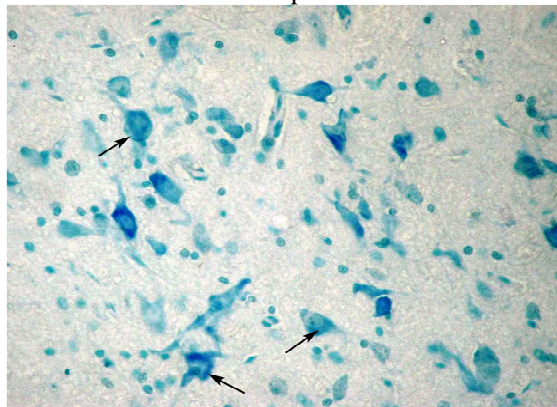


Рис. 1. Дегенеративные изменения нейронов ганглионарного слоя коры. Крысы линии SHR. Окраска по Нисслию, $\times 400$.

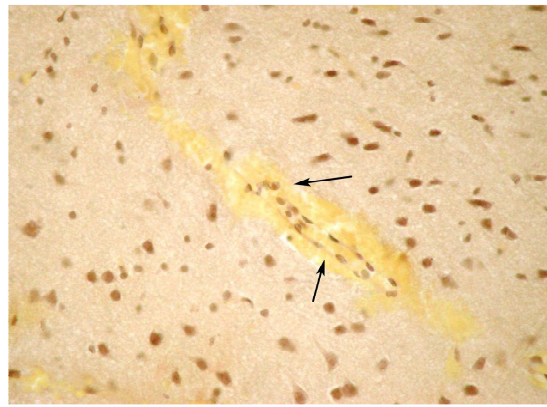


Рис. 2. Свежие мелкоочаговые кровоизлияния в подкорковом образовании головного мозга. Крысы линии SHR. Окр. пикрофуксином по ван Гизон, $\times 400$.

Тонус стенки вен снижен, просветы их расширены, переполнены кровью. В половине наблюдений визуализировались вены с признаками эритродиапедеза и формированием очаговых периваскулярных кровоизлияний. Эндотелиальные клетки вен – частично десквамированы, пространства между оставшимися клетками расширены. Во всех наблюдениях в коре ГМ обнаруживались участки с нарушением ламинарного строения, что обусловлено наличием во всех слоях коры очагов ганглиозноклеточных разрежений и запустений с неравномерно выраженным снижением плотности нейронов. Подобные изменения фиксировались и в подкорковых структурах. Наряду с нейронами обычного строения во всех слоях коры и подкорковых образований, в отличие от нормотензивных животных, обнаруживались отдельные клетки или их группы с ишемическими изменениями – уменьшенные в размерах, с треугольной или вытянутой формой тела, мелким, эксцентрически расположенным ядром, гомогенной, гиперхромной цитоплазмой, в которой не определялась субстанция Ниссля. Визуализировались многочисленные клетки – «тени» с бледно окрашенной гомогенной цитоплазмой, не контурирующейся клеточной и ядерной мембранами, иногда со слабо намечающимся очень бледно окрашенным ядрышком. Часть из них с явлениями

нейронофагии (рис. 1). Плотность нейронов в III–V слоях коры в среднем по группе составляла $1116,15 \pm 41,97$ экз/мм², что значимо ниже в сравнении с соответствующим показателем у нормотензивных крыс ($p < 0,05$) (таблица).

Таблица

Показатели компенсаторных процессов у экспериментальных животных

Группа	Нейро-глиальный индекс	Плотность, экз/мм ²		
		нейронов	глиоцитов	функционирующих капилляров
Контроль	$0,85 \pm 0,02$	$1473,09 \pm 41,46$	$1253,43 \pm 45,33$	$228,81 \pm 9,61$
SHR	$1,48 \pm 0,04^*$	$1116,15 \pm 41,97^*$	$1655,68 \pm 52,26^*$	$170,23 \pm 7,01^*$

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с группой нормотензивного контроля.

В мелкозернистом, бледном нейропиле коры наблюдалось диффузное увеличение плотности глиоцитов с формированием периваскулярных очагов пролиферации гипертрофированных астроцитов в локусах ганглиозноклеточных разрежений и запустений. В подкорковых образованиях под эндимой желудочков имела место очаговая пролиферация амeboидных мелких астроцитов. Многочисленные олигодендроглиоциты коры визуализировались вблизи нейронов, вокруг нервных клеток с выраженными дегенеративными изменениями отмечалась пролиферация олигодендроглиоцитов (сателлитоз), количество сателлитов достигало 4–5. В белом веществе были сформированы цепочки из олигодендроцитов, количество клеток в которых колебалось от 3 до 8 экземпляров. Плотность клеток нейроглии в III–V слоях коры в среднем по группе SHR составляла $1655,68 \pm 52,26$ экз/мм², значение нейроглиального индекса – $1,48 \pm 0,04$, что значимо превышало соответствующие показатели у нормотензивных животных ($p < 0,05$) (таблица).

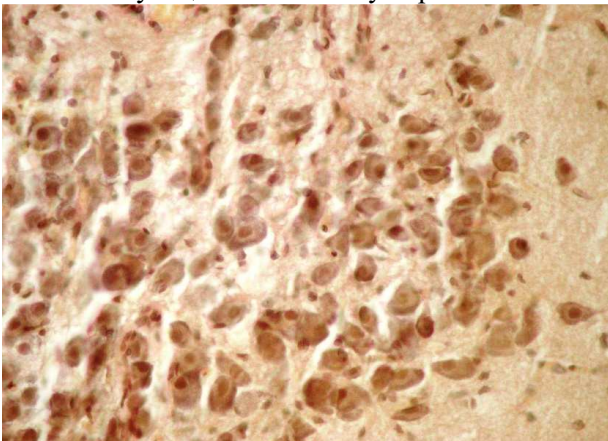


Рис. 3. Организующееся кровоизлияние с макрофагальной реакцией в подкорковой области. Крысы линии SHR. Окраска пикрофуксином по ван Гизон, $\times 400$.

Внутри мозговые артерии и артериолы с участками парциального спазма с типичной аккомодацией эндотелиоцитов и неравномерно выраженным просветом, со снижением кровенаполнения. Стенки артерий неравномерно утолщены вследствие гиперплазии и гипертрофии гладких миоцитов с умеренным развитием межмышечных коллагеновых волокон, некоторые мелкие артерии и артериолы с признаками гиалиноза стенки. Периваскулярные пространства расширены, оптически пустые. Вены со снижением тонуса стенки, растянуты, избыточно кровенаполнены. Эндотелиоциты, выстилающие венозные сосуды и капилляры, уплощенной формы с вытянутым базофильным ядром и умеренно эозинофильной цитоплазмой.

Отмечались разобщение пространств между эндотелиоцитами и очаговая десквамация последних. Часть капилляров с хорошо выраженными заполненными кровью просветами, часть – в спавшемся состоянии и слабо различимыми просветами, некоторые дилатированы с признаками стаза. Плотность функционирующих капилляров в среднем по группе составляла $170,23 \pm 7,01$ экз/мм², что значимо ниже показателя у нормотензивных крыс ($p < 0,05$) (таблица).

В 40% наблюдений в части полей зрения отмечались признаки плазматического пропитывания и фибриноидного некроза стенки артерий с образованием преимущественно в области подкорковых образований и белого вещества диапедезных и мелкоочаговых кровоизлияний, как острых, так и организующихся (рис. 2, 3). В 30% наблюдений в коре и подкорковых структурах встречались мелкие ишемические инфаркты, частью с признаками организации. В процессе организации наблюдалось превращение микроглиоцитов в макрофаги, которые осуществляют резорбцию некротизированной ткани, наблюдалось новообразование сосудов и пролиферация астроцитов, продуцирующих глиальные волокна. В дальнейшем сосуды запустевают, на месте очага деструкции формируется глиальный рубчик или киста с глиальными волокнами в стенке. Таким образом, на примере микроскопического исследования ткани ГМ крыс с генетически-детерминированной артериальной гипертензией линии SHR показано, что стойкое повышение АД приводит к адаптивным изменениям в виде гипертрофии средней (мышечной) оболочки и умеренного межмышечного склероза стенок артерий. Деструктивные процессы проявлялись изменениями, обусловленными эритродиапедеза с формированием очаговых периваскулярных кровоизлияний и утолщением стенки артерий с субэндотелиальным

накоплением гиалиноподобного вещества. Изменения морфофункциональной архитектоники внутримозговых артерий, артериол и вен с признаками капилляроза сопровождались появлением ганглиозноклеточных разрежений и запустений с неравномерно выраженным снижением плотности нейронов. Появление очагов отека ГМ, преимущественно в белом веществе полушарий, сопровождалось патологически измененной структурой сосудов с сужением и расширением отдельных их сегментов, что может расцениваться как проявление начинающегося срыва ауторегуляции мозгового кровотока. Отмеченные изменения архитектоники сосудистого русла мозга и дегенеративно-дистрофические поражения его ткани являются причиной постепенного нарастания неврологических поражений вследствие длительного нарушения кровоснабжения ГМ и развития сосудистой энцефалопатии.

Выводы

1. В результате микроскопического исследования препаратов головного мозга спонтанно гипертензивных крыс линии SHR в области прецентральной извилины в артериальных сосудах мягких мозговых оболочек обнаружены морфологические изменения, характерные для артериальной гипертензии: гипертрофия и гиперплазия гладких миоцитов, умеренный межмышечный склероз, неравномерно выраженный спазм, плазматическое пропитывание, гиалиноз стенки части артерий и артериол. В капиллярах вещества головного мозга наблюдались признаки стаза и разобщение эндотелиоцитов, в венозных сосудах – признаки застойного полнокровия.
2. Морфометрическое исследование III–V слоев коры головного мозга крыс линии SHR показало значимые увеличение нейроглиального индекса и снижение плотности функционирующих капилляров, в сравнении с нормотензивным контролем, что может быть признаком развития патологических изменений в центральной нервной системе у животных с генетически детерминированной артериальной гипертензией.
3. Крысы линии SHR могут служить адекватной моделью сосудистой энцефалопатии.

Перспективы дальнейших исследований заключаются в разработке методов коррекции патологических изменений, происходящих в структурах головного мозга спонтанно гипертензивных крыс линии SHR в результате хронически высоких цифр артериального давления.

Список литературы

1. Khudoyerkov RM, Voronkov DN. Kolichestvennaya otsenka neyronov i neyroglii s pomoshchyu kompyuternoy morfometriyi. Byulleten eksperimentalnoy biologiyi i meditsyny. 2010; 149(1): 109–12. [in Russian]
2. Korzhevskiy DE, Gilerovich YEG, Kirik OV. Morfologicheskaya diagnostika. SPb: SpetsLit; 2013. 127 s. [in Russian]
3. Zverev AA, Zefirov TL. Statisticheskiye metody v biologiyi: uchebno-metodicheskoye posobiye. Kazan: KFU; 2013. 42 s. [in Russian]
4. A global brief on Hypertension. Silent killer, global public health crisis. Geneva: WHO Press; 2013. 40 s.
5. Amenta F, Tayebati SK, Tomassoni D. Spontaneously hypertensive rat neuroanatomy: applications to pharmacological research. Ital J Anat Embryol. 2010;115(1–2):13–7.
6. De Deyn PP, Van Dam D, editors. Models of Dementia. Neuromethods 48. NY:Humana Press; 2010. 732 s.
7. Doris PA. Genetics of hypertension: an assessment of progress in the spontaneously hypertensive rat. Physiol genomics. 2017 Nov 1;49(11): 601–17. 8. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redyn J, Zanchetti A, Вцћm M, et al. ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). J. of Hypertension. 2013;31(7):1281–357.
9. Meissner A. Hypertension and the brain: A risk factor for more than heart disease. Cerebrovasc Dis. 2016;42 (3–4): 255–62.
10. Tayebati SK, Tomassoni D, Amenta F. Spontaneously hypertensive rat as a model of vascular brain disorder: microanatomy, neurochemistry and behavior. J Neurol Sci. 2012 Nov 15;322(1–2):241–9.

Реферати

СТРУКТУРА МОЗКУ ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR З ГЕНЕТИЧНО ДЕТЕРМІНОВАНОЮ АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Айдарова В.С., Наумова О.В.1, Кудокотцева О.В., Ломакін І.
Бабійчук В.Г.

У роботі були проведені морфологічні та морфометричні дослідження тканини головного мозку з області прецентральної звивини спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR. У тварин цієї лінії в артеріальних судинах м'яких мозкових оболонок виявлені морфологічні зміни, характерні для артеріальної гіпертензії: гіпертрофія і гіперплазія гладких міоцитів, помірний між'язовий склероз, нерівномірно виражений спазм, плазматичне

BRAIN STRUCTURE OF SHR RATS WITH GENETICALLY DETERMINED ARTERIAL HYPERTENSION

Aidarova V.S., Naumova O.V.1, Kudokotseva O.V., Lomakin I.
Babiichuk V.G.

Morphological and morphometric studies of brain tissue from the region of the precentral gyrus of spontaneously hypertensive rats of the SHR line were performed in this research. In animals of this line, morphological changes characteristic of arterial hypertension were detected in the arterial vessels of the pia mater: hypertrophy and hyperplasia of smooth myocytes, moderate intermuscular sclerosis, uneven pronounced spasm, plasmorrhagia, wall hyalinosis in part of the arteries and

просочування, гіаліноз стінки частини артерій і артеріол. У капілярах речовини головного мозку спостерігалися ознаки стази і роз'єднання ендотеліоцитів, в венозних судинах – ознаки застійного повнокров'я. Морфометрично в групі щурів лінії SHR значення щільності нейроглії і нейрогліального індексу були значуще більше, а нейронів і функціонуючих капілярів – значуще менше в порівнянні з показниками нормотензивного контролю, що свідчить про розвиток патологічних змін в їх центральній нервовій системі.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, спонтанно-гіпертензивні щури, головний мозок.

Стаття надійшла 21.12.17р.

arterioles have been revealed. In the brain matter capillaries, there were signs of stasis and separation of endotheliocytes, in the venous vessels - signs of the brain congestion. Morphometrically, in the group of the SHR line rats, the values of neuroglia density and neuroglial index were significantly higher, and the neurons and functioning capillaries were significantly less in comparison with the normotensive control indices, indicating the development of pathological changes in their central nervous system.

Key words: arterial hypertension, spontaneously hypertensive rats, brain.

Рецензент Єрошенко Г.А.

DOI 10.26724 / 2079-8334-2018-2-64-119-122

UDC 611.831.1-053.9

A.V. Bambuliak, N.B. Kuzniak, O.M. Boichuk, L.Ya. Lopushniak
HSEE of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE NERVES IN THE WALLS OF THE NASAL CAVITY AND THOSE OF THE ADJACENT STRUCTURES IN ELDERLY AND SENILE PEOPLE

E-mail: olegb007@i.ua

The purpose of the research was to study syntopical features of the pterygopalatine ganglion, the nerves of the nasal area in order to determine their morphological changes in elderly and senile people. Using a complex of morphological methods of research, 31 specimens of the nasal area of elderly and senile people have been studied. They were carried out on the corpses of people who had died of causes not associated with ENT pathology. In accordance with the Helsinki Declaration of the World Medical Association "Ethical Principles of Medical Investigations involving Human Subjects as a Research Object" (1964-2000). The study involved the pterygopalatine foramen, the pterygopalatine ganglion, the nerve branches were separated, their course and branches that were traced. Then the posterior nasal branches of the pterygopalatine ganglion were examined. The rates of their branching and their syntopy were identified. The mucous membrane, glands and vessels of the walls of the nasal cavity and adjacent structures are innervated in different ways. For instance, 2-6 branches of the pterygopalatine nerves arise in the pterygopalatine fossa from the median surface of the maxillary nerve at a distance of 1.9-2.4 mm from the foramen rotundum. Some of them enter the pterygopalatine ganglion, and the others adjoin the ganglion and connects to the nerve branches, which arise from the latter. In this age group, on 20 specimens, the ganglion is located in the middle of the pterygopalatine fossa, on 6 of them it is closer to the front wall and on the rest 4 it is closer to the back wall. It is located 1.5-2.0 mm deep more laterally of the pterygopalatine foramen. The projection of the foramen on 25 specimens corresponded to the posterior end of the middle nasal turbinate and on 6 of them to the area between the posterior ends of the middle and upper nasal turbinates. In 11 specimens the ganglion was triangular, in 8-polygonal, 8-oval and in 4 of them it was cone-shaped. The pterygopalatine ganglion gives rise to some nervous branches. The greater palatine nerve, which is located in a large palatine canal, is the longest of them. The lateral upper posterior nasal branches on the 30 specimens arose from the ganglion, and on the 1st one, they branched out from the greater palatine nerve. In the region of the posterior edge of the nasal septum, the nerve branches were topographically located at the point of transition of the anterior wall of the sphenoid sinus to the lower one, which could serve as a benchmark for surgical interventions on the nerves of the nasal cavity walls. The pterygopalatine ganglion in elderly and senile people is of various shape: from from triangular and polygonal to oval or conical. In a certain category of people in the mucous membranes of the nasal cavity and its adjacent structures, the number of small and medium nerve fibers decreases. The posterior edges of the middle and lower nasal turbinates, the transition site of the anterior to the lower wall of the sphenoid sinus, may serve as a benchmark for surgical interventions in the posterior nasal nerves of the pterygopalatine ganglion.

Key words: pterygopalatine ganglion, nerves of the nasal cavity walls, ontogenesis, human.

The paper is a fragment of the planned comprehensive scientific work of the M.H. Turkevych Department of Human Anatomy and the Departments of Anatomy, Topographic Anatomy and Operative Surgery of the Higher State Educational Institution of Ukraine "Bukovinian State Medical University" "Features of morphogenesis and topography of systems and organs in pre and postnatal periods of human ontogenesis", state registration number 0115U002769 (2015-2019).

Recently, considerable attention has been paid to the anatomical changes occurring in the body of elderly and senile people. An increasing share of these people needs medical care. Therefore, the detection of morphological changes in organs of various systems, including the nervous one, is important for both theoretical and practical medicine. At the beginning of the elderly age atrophic processes in the mucous membrane begin. It was atrophied in six specimens (12.48%) [1, 3]. During aging the morphological and functional changes occur in all parts of the respiratory system, including the thorax, airways, pulmonary parenchyma and the vascular system of the small pulmonary circulation [8]. Based on the complex of implemented morphological methods of research, it was found that during the elderly