

МОРФОЛОГИЯ И ПАТОЛОГИЯ

УДК 611.818.616.831.8 – 091

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ КОНСТИТУЦИОНАЛЬНОЙ МОРФОЛОГИИ ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА В НОРМЕ И ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

В.Б. Писарев, В.И. Фролов, В.В. Новичадов

Кафедра патологической анатомии ВолГМУ

Отдел общей и экспериментальной патологии ВНИЦ РАМН и Администрации Волгоградской области

Современная нейроморфология располагает достаточным арсеналом методологических подходов, среди которых наиболее перспективными являются исследования конкретных структур нервной системы на молекулярном уровне (прежде всего методами иммуногистохимии) [3, 4, 9, 11, 12], изучение фенотипической вариабельности генетически детерминированных структур [2, 8, 13, 15], а также все более уточненные количественные морфологические (морфометрические) исследования [1, 6, 7, 10, 14, 16]. На наш взгляд, в последнем случае, помимо широко распространенного и оправданного подхода, основанного на определении средних показателей пространственно и функционально близких элементов (например, нейронов конкретного ядра гипоталамуса или слоя определенной зоны коры головного мозга), новые представления о закономерностях строения нервной системы можно получить и при использовании ряда других подходов.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Установить приемлемость градиентного и полевого подходов в исследовании морфологии центральной нервной системы и обосновать алгоритм оценки конституциональной вариабельности нервных структур на их основе.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования послужили ткани головного мозга крыс, полученные от 8 интактных животных, различающихся по уровню общей неспецифической реактивности (УОНРО). Дифференцировку по уровню провели с использованием порога ноцицептивной чувствительности по А.Б. Мулику (2001), выделив из большой группы крыс по 4 животных с крайне высоким и низким УОНРО. Подразделение на типы подтверждали при выведении из эксперимента на основании конституциональных особенностей коэффициентов масс печени, почек и сердца.

Оцифрованные изображения фронтальных срезов на уровне продолговатого мозга, окрашенных

гемаоксилином и эозином, по Нисслию и серебрянием по Бильшовскому подвергали двум процедурам: классической компьютерной морфометрии с использованием аппаратного комплекса Видеотест-Морфо 4.0 и с помощью оригинальных программ, созданных в ВНИЦ РАМН и АВО. Для удобства выделения структур производили воссоздание полного среза путем объединения с помощью программы Adobe Photoshop 7.0 (Microsoft, USA) 44-70 полей зрения при обычном микрофотографировании (10 x 10). Базисные представления о вариабельности признаков при градиентном исследовании заключались в построении усредненной (за 100 проходов) функции тинкториальных свойств по каждому красителю в трех направлениях: краниокаудальном, дорсовентральном и трансверсальном. Последние градиенты были сгруппированы по 5 сегментам в краниокаудальном направлении (рис. 1). При микрогистионном подходе основу анализа составляло сравнение корреляций между основополагающими морфологическими свойствами данного нейрона и аналогичными свойствами близлежащих. Картирование этих корреляций легло в основу выделения взаимосвязанных групп нейронов – микрогистионов внутри классических ядер продолговатого мозга (рис. 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Различия в градиентах интенсивности окраски тионином в дорсовентральном направлении показали, что для продолговатого мозга крыс с высоким УОНРО характерны более высокие абсолютные значения интенсивности, но монотонные по профилю сечения. У животных с низким УОНРО средняя интенсивность была значительно ниже, но имелись участки с выраженными колебаниями этого показателя (табл. 1).

При сравнении поперечных профилей интенсивности окраски тионином от центра в центрoлатеральном направлении были выявлены те же закономерности: более высокая, но монотонно из-

меняющаяся интенсивность у животных с высоким УОНРО, меньшая, но с наличием неоднородности профиля – для животных с низким УОНРО.

Воссоздание краниокаудального градиента проведено путем инвертирования объединенной таб-

лицы Excel «столбцы – строки». Различия между показателями в группах с высоким и низким УОНРО заключались в наличии пиков интенсивности в краниальных и каудальных срезах продолговатого мозга у животных с низким УОНРО (рис. 3).

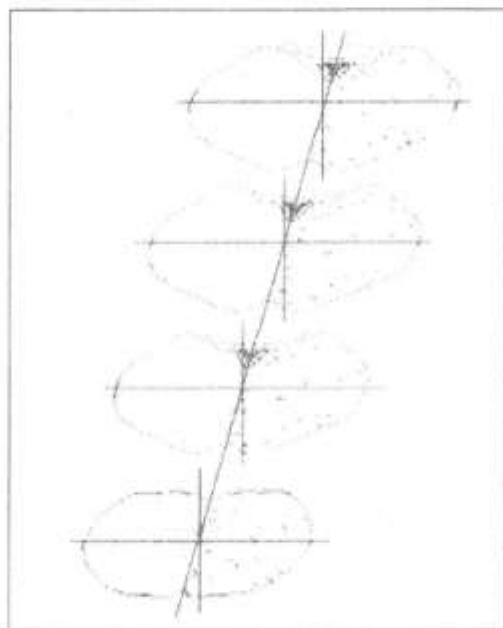


Рис. 1. Направления осей при анализе градиентов тинкториальной плотности в продолговатом мозге крыс.



Рис. 2. Выделение нейронных групп на основании анализа корреляционной зависимости между суммарной интенсивностью аргирофильной окраски перикарионов соседних нейронов.

Таблица 1

Интенсивность окраски тионином при исследовании срезов продолговатого мозга в градиентных направлениях

Уровни сканирования (ход 50 мкм)	Высокий УОНРО	Низкий УОНРО
<i>Дорсовентральный градиент</i>		
1-10	22,42±1,22	9,23±0,54*
11-20	23,81±1,28	12,60±0,62*
21-30	27,85±1,43	13,61±0,70*
31-40	26,07±1,29	8,43±0,82*
41-50	23,63±1,37	6,04±0,75*
51-60	20,42±1,80	7,08±0,65*
61-70	24,09±1,93	8,85±0,48*
71-80	26,24±1,45	5,89±0,70*
81-90	25,4±1,22	6,81±0,42*
91-100	26,6±1,22	8,50±0,60*
<i>Центролатеральный градиент</i>		
1-10	27,00±1,45	5,25±0,48*
11-20	29,62±1,80	8,25±0,60*
21-30	25,81±1,44	5,82±0,43*
31-40	30,25±2,32	7,14±0,56*
41-50	27,84±1,54	5,81±0,39*
51-60	28,65±1,32	9,22±0,67*
61-70	28,45±1,40	5,24±0,33*
71-80	28,84±1,32	7,25±0,62*
81-90	28,12±1,38	6,00±0,48*
91-100	26,62±1,20	4,66±0,32*

Примечание: знаком * помечены достоверные различия между группами, жирным шрифтом – достоверные пики интенсивности окраски.

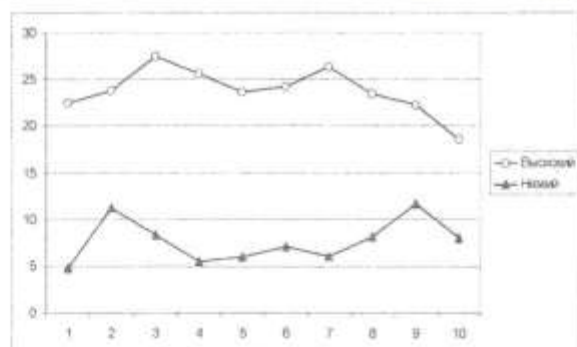


Рис. 3. Краниокаудальные профили интенсивности окраски тионином в продолговатом мозге крыс с высоким и низким УОНРО.

Таблица 2

Аутокорреляционная зависимость между аргентофилией нейронов в ядрах блуждающего нерва и ретикулярной формации продолговатого мозга крыс с высоким и низким УОНРО

Структуры	Высокий УОНРО		Низкий УОНРО	
	Разброс корреляций	Число групп	Разброс корреляций	Число групп
Дорсальное ядро	-0,54 - 0,32	1	-0,60 - 0,24	1-2
Двойное ядро	-0,48 +0,45	1-2	-0,55 - +0,58	3-4
Ядро одиночного пути	-0,62 +0,38	1-2	-0,28 - +0,44	2-3
Гигантоклеточное ядро	-0,11 - +0,63	3-4	-0,18 - +0,61	4-6
Лат. ретикулярное ядро	-0,24 - +0,52	3-4	-0,12 - +0,70	4-6

Как видно из представленных данных, на основании подобного подхода можно говорить о более детализированном, фрагментированном строении классических ядер продолговатого мозга у крыс с конституционально низкой реактивностью организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Компьютерная морфометрия, основанная на построении осевых градиентов (трансверсального, дорсовентрального и краниокаудального) тинкториальных свойств нервной ткани по отношению к тионину и солям серебра является эффективным подходом к анализу конституциональных особенностей морфологии продолговатого мозга. С его помощью возможно установление типовых признаков высокой и низкой неспецифической реактивности организма.

Выявление функционально связанных микрогрупп нейронов внутри ядер продолговатого мозга на основе исследования корреляционных зависимостей между свойствами соседних нейронов перспективно в плане изучения конституциональной нейроморфологии, но предъявляет более высокие требования к качеству микропрепаратов и привлечения сложного логического анализа для формирования функционально значимых компонентов внутри классических ядер продолговатого мозга.

При серебрении различия в градиентах интенсивности окраски в дорсовентральном и центрлатеральном направлениях имели те же закономерности, но были несколько менее выраженными, а при исследовании краниокаудального градиента не выявлялись. Окраска гематоксилином и эозином была признана непригодной для подобного анализа.

При корреляционном анализе, как наиболее понятные для последующего обсуждения, были выбраны зависимости между суммарной аргентофилией перикарионов соседних нейронов (табл. 2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. -М.: Медицина, 2002. - 240с.
2. Анохина И.П., Веретинская А.Г., Васильева Г.Н., Овчинников И.В. // Физиология человека. -2000. -Т.26. - №6. - С. 74-81.
3. Елисеева Е.В., Романова Н.Е., Баранов В.Ф., Мотавкин П.А. // Морфология - 2002. - №4. - С. 32-36.
4. Зиматкин С.М., Кузнецова В.Б., Алишик О.В. Гистаминергическая нейронная система мозга // Морфология - 2003. - № 1. - С. 80-83.
5. Мулик А.Б. Уровень общей неспецифической реактивности организма. - Волгоград: Изд-во ВолГУ, 2001. - 144 с.
6. Новочадов В.В., Писарев В.Б., Фролов В.И. // Морфология. - 2004. - № 4. - С. 92.
7. Писарев В.Б., Свиридов А.В. // Морфология - 2004. - №4. - С. 100-101.
8. Семье В.Я., Мельникова Т.Н., Бохан Н.А. // Журнал неврологии и психиатрии. - 2002. - №8. - С. 61-66.
9. Тоталин А.А. // Молекула. медицина - 2003. - №3. - С. 25-34.
10. Фролов В.И. // Вестник ВолГМУ - 2004. - №10. - С. 15-17.
11. Balboa M.A., Varela Nieto I., Killermann-Lucas K., Dennis E.A. // FEBS Lett. - 2002. - Iss. 531, №1. - P. 12-17.
12. Hamano H., Noguchi M., Fukui H., et al. // Life Sci. - 2002. - Vol. 72, №4-5. - P. 565-574.
13. Hesselbrock V., Begleiter H., Porjesz B., et al. // J. Biomed. Sci. - 2001. - Vol. 8. - №1. - P. 77-82.
14. Mann K., Agartz I., Harper C., et al. // Alcohol. Clin. Exp. Res. - 2001. - Vol. 25. - №5. - P. 104S-109S.
15. Matsumoto I., Wike P.A., Buckley T., et al. // Alcohol. Clin. Exp. Res. - 2001. Vol. 25. - №5. - P. 82S-86S.
16. Thompson R.H., Swanson L.W. // Brain Res. Brain Res. Rev. - 2003. - Vol. 41, №2-3. - P. 153-202.