



УДК 611.018.81

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АРХИТЕКТониКИ СОСЦЕВИДНЫХ ТЕЛ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЛЮДЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА**HISTOLOGICAL DESCRIPTION OF HUMAN MAMILLARY BODIES ARCHITECTONIC IN DIFFERENT AGES****А.В. Павлов, С.Р. Жеребятъева, Г.С. Лазутина, Н.В. Овчинникова
A.V. Pavlov, S.R. ZHerebiateva, G.S. Lazutina, N.V. Ovchinnikova***Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова
Россия, 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9**Ryazan State Medical University
Russia, 390026, Rjazan, Vysokovol'tnaja St., 9**E-mail: vitrea@yandex.ru*

Ключевые слова: головной мозг, гипоталамус, сосцевидные тела, пол, возраст.
Key words: brain, the hypothalamus, mastoid bodies, sex, age.

Аннотация. Представлен анализ изменений клеточного состава и сосудов ядер сосцевидных тел головного мозга людей разных полов в онтогенезе. Гистологическое исследование архитектоники ядер сосцевидных тел у мужчин и женщин показало наличие возрастной трансформации их нейронов, глии и сосудов. Установлены сроки и последовательность инволюции. Со второй половины первого периода зрелого возраста в сосцевидных телах наблюдается рост популяции глиальных клеток и сокращение числа нейронов. Данные процессы протекают на фоне редукции количества микрососудов и достигают своего максимума в пожилом возрасте. У представителей разных полов цитологические закономерности сроков проявления и интенсивности инволютивных изменений ядер сосцевидных тел имеют свои особенности. У женщин инволюция сосцевидных тел происходит в 41–45 лет, а у мужчин – на пять лет позже (46–50 лет), достигая максимальной степени выраженности в пожилом возрасте.

Resume. The analysis of changes in the cellular composition and vessels of nucleus of mastoid bodies of the brain of people of different sexes in ontogenesis. Histological examination architectonic nucleus of mastoid bodies of men and women showed the presence of age transformation of their neurons, glia and blood vessels. The timing and sequencing of involution was established. Since the second half of the first period of mature age mastoid bodies in an increase in the population of glial cells and a reduction in the number of neurons. These processes take place against the background of the reduction of the number of microvessels and reach its peak in old age. The representatives of different sexes cytological pattern and timing of the changes in the intensity of involutive cores mastoid bodies have their own characteristics. Women involution mastoid bodies occurs in 41–45 years, and men – five years later (46–50 years), reaching a maximum degree of severity in the elderly.

Введение

Приоритетным направлением современной биологии и медицины является проблема старения. Старение организма представляет собой сложный многоуровневый процесс, проявляющийся как гипопластическими изменениями клеток и тканей организма, так и снижением их функциональной активности. По мнению ряда ученых, основным проявлением старения является инволюция трех важнейших регуляторных систем – нервной, иммунной и эндокринной [Пальцев и др., 2009]. Возраст-ассоциированные изменения этих систем связаны с общими законами старения организма, но имеют свои особенности, обусловленные структурно-функциональной спецификой каждого органа. Известно, что головной мозг животных и человека играет ключевую роль в процессе старения, морфологические признаки которого включают гибель нейронов, формирование губкообразного состояния с возможным отложением амилоида и с обязательной пролиферацией клеток глии [Скулачев, 1997, Маляренко, 1999, Завалишин, 2001]. Последнее общепринято рассматривать как реакцию на замещение утраченных нейронов. Однако в литературе есть мнение, что, учитывая выраженную степень защищенности нейрона и мозговой ткани в целом, при старении процесс повреждения нейрона является вторичным и может быть обусловлен предшествующим активным размножением клеток глии [Зуев, 2003]. В современной литературе также имеются данные о наличии в организме человека и животных так называемого «фактора старения». Данный фактор оказывает стимулирующее влияние на глию, вызывая ее пролиферацию [Зуев и др., 2005]. Исследования ряда авторов показывают снижение средних значений количества микрососудов нервной ткани наряду с увеличением их диаметра в старших возрастных группах [Бабики, 1999]. Одной из особенностей нервных клеток является то, что процесс их питания и энергообеспечения происходит при посредничестве глиоцитов. Возраст-

ное увеличение количества клеток глии в совокупности с редукцией функционально-активных микрососудов может нарушать питание нервных клеток, что в свою очередь будет приводить к их гибели [Павлов, Савельев. 2013]. Для нервной системы в целом и сосцевидных тел в частности является характерной чертой превалирование глиальных клеток над нейронами. В центральной нервной системе человека в целом клетки макроглии в 10–15 раз превышают численность нейронов [Haydon, 2000]. Этот феномен, по мнению ряда исследователей, определяется теми многочисленными функциями, которые выполняются глиальными клетками. Среди функций можно выделить такие как: участие астроглии в пре- и постнатальном нейрогенезе, поддержание трофики нейронов, обеспечение пластичности нервной системы, содействие межнейронной интеграции и регуляции синаптической эффективности. В сосцевидных телах уже в юношеском возрасте среднее количество астроцитов превалирует над нейронами в 3.5 раза. Особенности морфологии данной структуры, такие как обильное кровоснабжение, относительно небольшая численность нейронов и выраженные афферентные и эфферентные связи, делают сосцевидные тела одной из ключевых точек в обеспечении скоординированной работы различных отделов головного мозга. Это предположение подтверждается еще и тем, что в эволюционном ряде от крысы к человеку определяются строгие количественные отношения между главными проводящими путями сосцевидных тел, количеством клеток в них и связанными с ними структурами мозга. При этом у человека резко возрастает количество нейронов во всех основных звеньях цепи, в которую включены сосцевидные тела [Cowan et al., 1964].

Сосцевидные тела гипоталамуса представляют собой компактную структуру, имеющую собственное кровоснабжение, четко ограниченные ядра и выраженную сеть проводящих путей, что делает их удобным объектом для морфологического изучения возрастных изменений. Вместе с тем они тесно связаны с другими отделами головного мозга. В связи с этой особенностью морфологические изменения, происходящие в ядрах сосцевидных тел, могут служить ярким проявлением процессов, выходящих далеко за их пределы.

Объект и методы исследования

Работа выполнена на 292 препаратах сосцевидных тел головного мозга людей, полученных во время аутопсий, обоих полов в возрасте от 16 до 87 лет, смерть которых не была напрямую связана с заболеваниями центральной нервной системы. Для гистологического и цитохимического исследования материал фиксировали в 10%-ном кислом или нейтральном забуференном формалине (4%-й параформальдегид на 0.1M фосфатном буфере, pH 7.5), и заливали в парафин по стандартной методике [Меркулов, 1956]. Гистологические препараты готовились для всех образцов сосцевидных тел. Кусочки ткани обезжизивали в спиртах восходящей концентрации, диоксане или хлороформе и заливали в парафин. Готовили серийные срезы (5–10 мкм) вдоль поперечной оси мозга и наклеивали на предметные стекла. Впоследствии срезы депарафинировали, гидратировали, проводили гистологическую окраску гематоксилином и эозином по методу Маллори, Ниссля; ставили PAS-реакцию с докраской тионином и заключали в бальзам по рутинной методике [Ромейс Б., 1953]. Для обзорных препаратов применялась окраска гематоксилином-эозином. Метод окраски по Маллори использовали для уточнения и подтверждения данных окраски гематоксилином и эозином. Для цитоархитектонических исследований в ядрах сосцевидных тел использовали окраску по методу Ниссля. Для выявления сосудов и амилоидоподобных телец использовали PAS-реакцию с докраской тионином. Для выявления отростков глиальных клеток выполнялась импрегнация препаратов серебром по В.К. Белецкому [Волкова, Елецкий, 1982]. Все полученные результаты оценивали визуально с помощью микроскопа Zeiss Axio Imager A1. Видеозахват осуществляли с помощью камеры Webbers MYscope 310M, Lomo и программы Image Scope M. Для измерений выбирали по 10 случайных полей зрения, на каждом из которых проводили по 20 измерений. На окрашенных срезах в каждом поле зрения выполняли морфометрический анализ следующих параметров: количество глиальных клеток, количество нейронов, количество сосудов. Рассчитывали степень васкуляризации и глио-сосудистый индекс. Площадь нейронов и их ядер вычисляли в программе Image J. Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета анализа Microsoft Excel и Statistica 6.0, NCSS 2004. Для определения половых различий использовали критерий Уилкоксона-Манна-Уитни. Для определения степени связи возраста и исследуемых параметров вычисляли коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для определения значимости различий между несколькими выборками использовали тест Крускала-Уоллиса. Центральные тенденции и рассеяния количественных признаков описывали средним значением M и стандартной ошибкой среднего значения m , а также с помощью медианы и интерквартильного размаха в зависимости от вида распределения.

Результаты и их обсуждение

Можно предположить, что ввиду обилия связей с различными формациями головного мозга нейроны ядер сосцевидных тел испытывают значительное функциональное напряжение. Для под-



держания требуемого уровня активности нейроны сосцевидных тел должны обеспечиваться непрерывным потоком энергии, что в свою очередь реализуется посредством астроцитарной глии. Возможно, именно поэтому изменение числа функционирующих микрососудов с возрастом влечет за собой увеличение числа глиальных клеток в сосцевидных телах.

В своем исследовании мы обнаружили умеренную достоверную корреляционную связь между возрастом и количеством астроцитов: 0.56 ($p < 0.05$). Среднее значение количества астроцитов достоверно увеличивается относительно возраста на 51%: коэффициент корреляции равен 0.659621 ($p < 0.001$). Данный показатель увеличивается на 8% к первому зрелому возрасту, на 42.6% ко второму зрелому возрасту, на 51% к пожилому возрасту относительно значений юношеского периода.

При этом разница значений между периодами составляет 8% ($p < 0.001$) между юношеским и первым зрелым, 41.5% ($p < 0.001$) между первым зрелым и вторым зрелым и 8.6% ($p < 0.001$) между вторым зрелым и пожилым возрастом. Эти данные позволяют предположить, что во втором периоде зрелого возраста происходят процессы, предопределяющие резкое увеличение числа глиальных клеток в сосцевидных телах. При этом обращает на себя внимание тот факт, что различие средних значений численности астроцитов между вторым периодом зрелого возраста и пожилым возрастом не является статистически достоверным. Эти сведения позволяют сделать предположение, что выраженные процессы, провоцирующие резкое увеличение числа глиальных клеток к концу второго периода зрелого возраста, ослабевают и в дальнейшем протекают более сглажено. В современной литературе общепризнанной глиальной реакцией на различные повреждения головного мозга считается глиоз – разрастание астроцитарной нейроглии с гиперпродукцией глиальных волокон, ее заместительной гиперплазией в ответ на гибель нервной ткани. Но нам представляется некорректным столь однозначное рассмотрение процесса глиоза в сосцевидных телах. Если исходить из того, что процесс питания нейрона связан с функциональной активностью астроцита, то можно предположить, что увеличение количества астроглии с возрастом есть реакция глии на редукцию функционально активных капилляров, которая направлена на поддержание необходимого уровня обеспечения нейронов энергией. Нами обнаружено уменьшение среднего количества микрососудов относительно возраста. В первом периоде данный показатель уменьшается по сравнению со значениями в юношеском периоде на 8.4% ($p < 0.001$). Во втором периоде зрелого возраста происходит дальнейшее уменьшение его значений на 33.1% ($p < 0.001$), а в пожилом – еще на 29.4% ($p < 0.001$). Таким образом, разница значений данного показателя между юношеским и пожилым возрастом составляет 56.8% ($p < 0.001$) в среднем.

При сравнении динамики средних значений прироста глии и редукции микрососудов в возрастных группах отмечается следующая особенность. Прирост клеток глии в первом периоде зрелого возраста практически компенсирует уменьшение числа микрососудов, разница составляет 0.4%. Однако уже во втором периоде зрелого возраста количество глиальных клеток превалирует в своем росте на 8.4%. Но в пожилом возрасте отмечается изменение данного соотношения и рост количества глиальных клеток замедляется и уступает процессу снижения числа функционирующих микрососудов в ядрах сосцевидных тел. Сравнение динамических характеристик средних значений глиальных клеток и микрососудов в возрастном аспекте позволяет предположить, что увеличение числа астроцитов представляет собой компенсаторный процесс, направленный на обеспечение нейронов питательными веществами. Как показало наше исследование, данный процесс проходит успешно до окончания второго периода зрелого возраста, и лишь в пожилом возрасте мы не можем обнаружить компенсирующий рост глии на фоне редукции сосудистого русла. Данное наблюдение может быть ярко проиллюстрировано возрастными изменениями глио-сосудистого отношения. В результате исследования нами выявлено достоверное увеличение значений данного соотношения относительно возраста ($p < 0.001$). В первом периоде зрелого возраста этот показатель увеличивается по сравнению со значениями в юношеском возрасте на 21.4%. Во втором периоде зрелого возраста он увеличивается по сравнению с предыдущим на 61.9%, а в пожилом – на 40%. Как мы можем видеть, наиболее выражено значения глио-сосудистого отношения увеличиваются во втором периоде зрелого возраста.

Полученные данные можно интерпретировать таким образом, что наиболее выраженные изменения глио-сосудистого отношения происходят во втором периоде зрелого возраста и сопровождаются выраженной редукцией сосудистого компонента. Это в свою очередь приводит к тому, что глиальные клетки, компенсаторно увеличивая свою популяцию в ядрах сосцевидных тел, во втором периоде зрелого возраста не только не могут обеспечить требуемый уровень энергии для нормального функционирования нейронов, но и сами испытывают недостаток в питательных веществах ввиду малого количества функционирующих микрососудов. В результате чего имеет место феномен «обкрадывания» нейронов глиальными клетками и их гибель. Данное заключение подтверждается онтогенетическими трансформациями нервных клеток в ядрах сосцевидных тел. В первом периоде зрелого возраста количество нервных клеток уменьшается на 22.3% по сравнению с юношеским периодом. Нейроны относительно крупные, овальной, реже – полигональной формы. Цитоплазма нейронов базофильная, имеет ровный характер окраски. Вещество Ниссля хорошо заметно, распределено диффузно по всей цитоплазме. Ядра нейронов крупные, округлой формы, имеют ровные четкие границы. Нуклеола ориентирована по центру. Характерным отличительным признаком данной возрастной группы является наличие в некоторых полях зрения нейронов, в цитоплазме которых в области аксо-

нальных бугорков определяются гранулы липофусцина золотисто-коричневого цвета. В клетках с пигментными включениями можно видеть смещение ядра к противоположному краю и визуальное увеличение цитоплазмы в размерах. Можно предположить, что клетки с высокой метаболической активностью стараются накопить запас энергии для своего существования даже за счет собственных клеточных элементов (как это происходит в случае митохондрий). И выраженный липофусциноз в сосцевидных телах можно считать стремлением нейронов сохранить активность в условиях редукции сосудистого компонента [Moore W. et al., 1995]. Резкое уменьшение числа сосудов и выраженный глиоматоз дают картину «голода» нервных клеток в старших группах.

Во втором периоде зрелого возраста среднее количество нейронов уменьшается по сравнению с предыдущим периодом на 32% (рис.1 б, д). При этом если в первом периоде зрелого возраста среднее количество клеток, в цитоплазме которых присутствуют гранулы пигмента, незначительно: 5 ± 0.8 , что составляет 5.75% от общего количества нейронов, то во втором периоде липофусцин обнаруживается в большинстве нейронов. Ядро в нейронах, содержащих пигмент, сдвинуто на периферию, нуклеола небольших размеров, также расположена не по центру. Хроматин нежный, ориентирован по периферии. Отмечается утолщение отростков нейронов. В полях зрения отмечаются нервные клетки, имеющие морфологические признаки гибели: конденсация цитоплазмы, маргинация хроматина. В нейронах определяются формирующиеся апоптозные тельца. В полях зрения определяется феномен образования клеток-теней. Ядерные элементы в таких клетках не определяются. Начиная со второго периода зрелого возраста в некоторых полях зрения обнаруживается повышенная макрофагальная активность глиальных клеток, их активация и атака на нейроны (рис. 1 б).

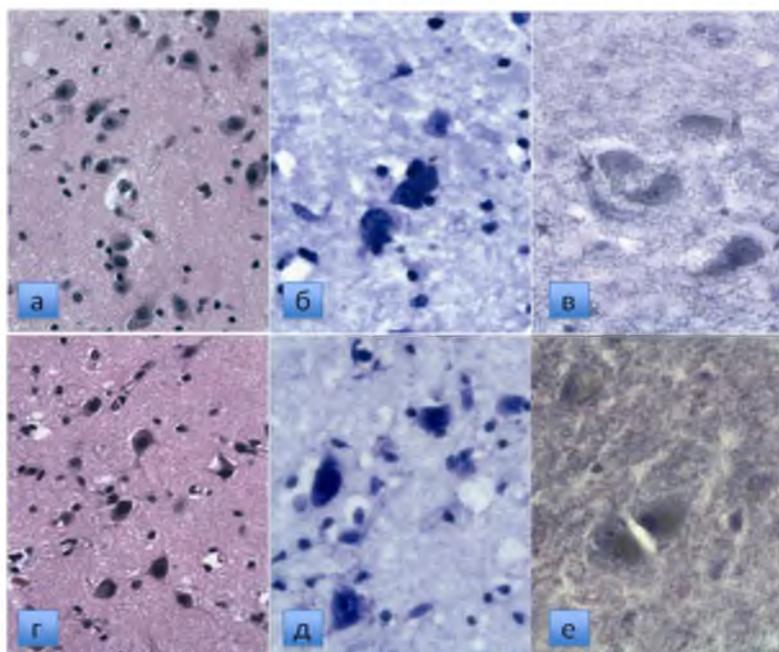


Рис. 1. Инволюционные изменения нейронов медиального ядра сосцевидных тел мужчин и женщин в разном возрасте (объяснение в тексте)

Женщины: а) 19 лет. Окраска гематоксилином и эозином (×20); б) 46 лет. Окраска по Нисслию (×40); в) 70 лет. Окраска по Маллори (×40);
 Мужчины: г) 19 лет. Окраска гематоксилином и эозином (×20); д) 50 лет. Окраска по Нисслию (×40); е) 73 лет. Окраска по Маллори (×40)

Fig. 1. Involutional changes in the neurons of the medial nucleus mamillary bodies of men and women at different ages (explanation in text)

Women: a) 19 years. H & E stain (×20); b) 46 years. Painting Nissl (×40); v) 70 years. Painting Mallory (×40);
 Men: g) 19 years. H & E stain (×20); d) 50 years. Painting Nissl (×40); e) 73 years. Painting Mallory (×40)

В пожилом возрасте достоверного изменения количества нервных клеток по сравнению с данными второго периода зрелого возраста не выявлено ($p < 0.001$). Редкие нейроны группируются вокруг сосудов, которые имеют картину выраженного склероза с плазматическим пропитыванием и расслоением их стенки (рис. 1 в, е). Вокруг сосудов отмечается просветление периваскулярных пространств, превышающее размер сосуда почти в четыре раза. Цитоплазма нейронов окрашена в бледно-синий цвет, заполнена гранулами липофусцина. Ядро также бледно окрашено, сдвинуто на периферию. В ядрах отмечается маргинация хроматина. Ядро контурировано нечетко. Ядрышко светлое, в некоторых клетках не определяется. В полях зрения наблюдается значительное количество клеток-теней, представленный бледной цитоплазматической мембраной с нечеткими контурами. В некоторых из клеток-теней можно различить контуры ядер.



Заключение

Анализируя данные исследования, в качестве критического периода можно отметить второй период зрелого возраста. Именно в этот отрезок времени происходят наиболее значимые достоверные сдвиги в архитектонике сосцевидных тел: снижение количества микрососудов на 33.1%, увеличение числа глиальных клеток на 41.5%, уменьшение популяции нейронов на 32%.

Данные нашего исследования показали наличие выраженных возрастных изменений в ядрах сосцевидных тел, проявляющихся достоверным уменьшением среднего количества нейронов на фоне выраженного роста популяции глии и редукции сосудистого компонента.

Список литературы References

- Бабик Т.М. и др. 2004. Морфометрическая характеристика функционально активного капиллярного русла головного мозга человека. Актуальные проблемы морфологии. Сб. науч. трудов. Красноярск: 32–34.
- Babik T.M. i dr. 2004. Morfometricheskaya kharakteristika funktsional'no aktivnogo kapillyarnogo rusla golovno go mozga cheloveka. Aktual'nye problemy morfologii [Morphometric characteristic of functionally active capillary course of a brain of the person. Actual problems of morphology]. Sb. nauch. trudov. Krasnoyarsk: 32–34. (in Russian)
- Волкова О.В., Елецкий Ю.К. 1982. Основы гистологии с гистологической техникой. 2-е издание. М., Медицина: 304.
- Volkova O.V., Eletskiy Yu.K. 1982. Osnovy gistologii s gistologicheskoy tekhnikoy [Fundamentals of histology with histological techniques]. 2-е издание. М., Meditsina: 304. (in Russian)
- Завалишин И.А., Яхно Н.Н., Гаврилова С.И. 2001. Глиоз как главный фактор старения и гибели мозга (новая концепция). В кн.: «Нейродегенеративные болезни и старение (руководство для врачей)». М., «А.А.А.»: 121–143.
- Zavalishin I.A. Jahno N.N., Gavrilova S.I. 2001. Glioz kak glavnyy faktor stareniya i gibeli mozga (novaya kontseptsiya). V kn.: «Neurodegenerativnye bolezni i starenie (rukovodstvo dlya vrachey) [Neurodegenerative diseases and aging (a guide for physicians)]. М., «А.А.А.»: 121–143. (in Russian)
- Зуев В.А., Автандилов Г.Г., Игнатова Н.Г., Быковская С.И. 2003. Искусственное старение мышей. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 136(9): 45–51.
- Zuev V.A., Avtandilov G.G., Ignatova N.G., Bykovskaja S.I. 2003. Iskusstvennoe starenie myshey [Artificial aging of mice]. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 136(9): 45–51. (in Russian)
- Зуев В.А., Халанский А.С., Кондакова Л.И., Игнатова Н.Г., Автандилов Г.Г., Игнатова Е.В. 2005. Межклеточные взаимоотношения глии и нейронов в процессе старения (механизм старения). Сб. научн. тр. VII Всероссийская конференция по патологии клетки. М.: 54–55.
- Zuev V.A., Halanskij A.S., Kondakova L.I., Ignatova N.G., Avtandilov G.G., Ignatova E.V. 2005. Mezhhkletochnye vzaimootnosheniya glii i neyronov v protsesse stareniya (mekhanizm stareniya) [Intercellular relationship of a glia and neurons in the course of aging (the aging mechanism)]. Sb. nauchn. tr. VII Vserosyskaya konferentsiya po patologii kletki. М.: 54–55. (in Russian)
- Маляренко Ю.Ф., Маляренко Т.Н., Прилуцкий Н.И. 1999. Мозг человека: развитие и старение. Тамбов: 50.
- Malyarenko Yu.,F., Maljarenko T.N., Priluckij N.I. 1999. Mozg cheloveka: razvitie i starenie [Brain of the person: development and aging]. Tambov: 50. (in Russian)
- Меркулов Г.А. 1956. Курс патологистологической техники. Ленинград., Медгиз. 262.
- Merkulov G.A. 1956. Kurs patologistologicheskoy tekhniki [The course of pathological and histological techniques]. Leningrad., Medgiz. 262. (in Russian)
- Павлов А.В., Савельев С.В. 2013. Иммуногистохимическая характеристика возрастных трансформаций клеточного состава сосцевидных тел головного мозга людей разных полов. Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. 4: 12–16.
- Pavlov A.V., Savel'ev S.V. 2013. Immunogistokhimicheskaya kharakteristika vozrastnykh transformatsiy kletochno go sostava sostsevidnykh tel golovno go mozga lyudey raznykh polov [Immunohistochemical characteristic of age transformations of cellular structure of mastoid bodies of a brain of people of different floors]. Ros. mediko-biol. vestn. im. akad. I.P. Pavlova. 4: 12–16. (in Russian)
- Пальцев М.А., Аничков Н.М. 2009. Патология человека. Учебник для медицинских вузов (В 2-х т.) Т1. М., Медицина. 493.
- Pal'tsev M.A., Anichkov N.M. 2009. Patologiya cheloveka. Uchebnik dlya meditsinskikh vuzov (V 2-kh t.) T1. М., Meditsina. 493. (in Russian)
- Ромейс Б. 1953. Микроскопическая техника. Москва. Издательство иностранной литературы, 718.
- Romeys B. 1953. Mikroskopicheskaya tekhnika [Microscopic Technology]. Moskva., Izdatel'stvo inostrannoy literatury, 718. (in Russian)
- Скулачев В.П. 1997. Старение организма – особая биологическая функция, а не результат поломки сложной живой системы. Биохимическое обоснование теории Вейсмана. БИОХИМИЯ. 62(11): 1394–1399.
- Skulachev V.P. 1997. Starenie oganizma – osobaya biologicheskaya funktsiya, a ne rezul'tat polomki slozhnoy zhivoy sistemy [Aging of an oganizma – special biological function, but not result of breakage of difficult live system. Biochemical justification of the theory of Veysman]. Biokhimicheskoe obosnovanie teorii Veysmana. BIOKHIMIYA. 62(11): 1394–1399. (in Russian)
- Cowan, W.M.; Guillery, R.W.; T.P.S. Powell, 1964. The origin of the mamillary peduncle and other hypothalamic connections from the midbrain. J. Anat, 98: 345–363.
- Haydon P.G. 2000. Neuroglial networks: Neuron and glia talk to each other. Current Biology. Vol. 10, 712–714.
- Moore W. et al. 1995. Lipofuscin accumulation in mouse brain with age: Effects of caloric restriction. Age 18. № 4, 217–218.