

© Павлов А.В., Савельев С.В., 2013
УДК 611.814.2 – 018 – 053.6/9

**ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ВОЗРАСТНЫХ ТРАНСФОРМАЦИЙ КЛЕТЧНОГО СОСТАВА
СОСЦЕВИДНЫХ ТЕЛ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЛЮДЕЙ РАЗНЫХ ПОЛОВ**

А.В. Павлов^{1,2}, С.В. Савельев²

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
г. Рязань (1)
ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН, г. Москва (2)

В результате проведенного исследования впервые показаны особенности функциональной дифференцировки нейронов и глии сосцевидных тел головного мозга людей разного пола и возраста. Данное исследование показало, что наибольшая концентрация GFAP – иммунопозитивных клеток располагается в области пограничной глиальной мембраны. В старческом возрасте у представителей обоих полов отмечается истончение данного слоя клеток в полтора-два раза. В центре препарата GFAP – позитивные клетки расположены редко. С возрастом их количество изменяется, увеличиваясь ко второму периоду зрелого возраста и достоверно уменьшаясь в старческом возрасте. В препаратах сосцевидных тел представителей обоих полов с возрастом отмечается достоверное уменьшение NSE – иммунопозитивных клеток, вместе с тем наиболее видимые изменения у мужчин имели место в 60-65 лет, а у женщин 45-50 лет. Исследование, направленное на изучение МВР-иммунореактивности в сосцевидных телах показало наличие возрастных инволютивных изменений, при этом половых отличий обнаружено не было.

Ключевые слова: сосцевидные тела, мозг человека, возраст, пол.

Несмотря на то, что иммуногистохимические методики при исследованиях головного мозга в настоящее время имеют широкое применение, при описании функциональных изменений или патологических трансформаций в сосцевидных телах гипоталамуса, по нашим данным, до настоящего времени они не использовались. Применение комплекса маркеров для описания функционального состояния архитектоники сосцевидных тел в разном возрасте и в зависимости от половой принадлежности, наряду с классическими методиками гистологического описания является актуальным и современным исследованием, позволяющим составить наиболее полное представление о данной структуре головного мозга.

Материалы и методы

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. Материал фиксировали в 10% кислом или нейтральном забуференном формалине (4%-й параформальдегид на 0,1М фосфатном буфере, pH 7,5), жидкости Буэна, жидкости Карнуа или спирт-формалином по методу Леннера (1 часть 40% формалина и 2 части 80% спирта) и заливали в парафин по стандартной методике [1]. Для проведения иммуногистохимических реакций срезы, наклеенные на адгезивные стекла Super Frost Plus фирмы Menzel, депарафинировали, гидратировали и обрабатывали 3% раствором перекиси водо-

рода в течение 15 - 20 минут для блокировки эндогенной пероксидазы. В работе использовали нейромаркеры (к нейрон-специфической энolahе (NSE), основному белку миелина (MBP), глиальному фибриллярному кислому белку (GFAP)). Работа с антителами проводилась согласно рекомендуемому производителем протоколу. Все полученные результаты оценивали визуально с помощью микроскопа Zeiss Axio Imager A1. Видеозахват осуществляли с помощью камеры Webbers MYscore 310M, Lomo и программы Image Score M.

Результаты и их обсуждение

При изучении иммуногистохимической функциональной дифференцировки нейронов и глии ядер сосцевидных тел мы обнаружили ряд возрастных особенностей, имеющих место у людей разного пола. Проведенное исследование показало, что наибольшая концентрация клеток, обладающих GFAP-позитивной реакцией, сосредотачивается в области поверхностной глиальной пограничной мембраны. Данная мембрана представляет собой своеобразную капсулу сосцевидных тел, окружая их ядерные образования по поверхности и состоит из расположенных в несколько слоев GFAP-иммунопозитивных клеток и волокнистых структур. Клеточный состав поверхностного слоя состоит из плотно расположенных в 3-6 рядов уплощенных клеток округлой формы, между которыми четко визуализируются многочисленные отростки. Дать точную количественную оценку толщины данного слоя клеток и волокон не представляется возможным ввиду особенностей его расположения. Сосцевидные тела представляют собой полусферы, обладающие высокой индивидуальной вариабельностью. Будучи распределенным по поверхности GFAP-иммунопозитивный слой пограничной глиальной поверхностной мембраны повторяет искривления поверхности сосцевидных тел, и при количественной характеристике его толщины велика вероятность погрешности. Вместе с тем у представителей обоих полов с возрастом отмечается визуальное истончение данного слоя клеток, приблизительно в полтора-два раза. В центре препарата GFAP-

иммунопозитивные клетки расположены редко и, как правило, вблизи микрососудов, имеют выраженную отростчатую структуру. С возрастом количество этих клеток также изменяется, увеличиваясь ко второму периоду зрелого возраста, и достоверно уменьшаясь в старческом возрасте. Важно отметить, что во втором периоде зрелого возраста изменяется не только их количество, но и положение: кроме периваскулярных, выявляются свободные астроциты, несвязанные с кровеносными сосудами.

Рассматривая вопрос накопления GFAP в астроцитах пограничной глиальной мембраны, нельзя не указать, что функция данного белка заключается в обеспечении стабильной морфологии тел и отростков астроцитов [2], в формировании нормальной архитектоники нервной ткани, поддержании целостности гемато- и ликворорэнцефалических барьеров [3], в обеспечении нейро-глиальных отношений. Снижение количества GFAP-иммунопозитивных клеток в сосцевидных телах в пожилом и старческом возрасте может свидетельствовать об увеличении проницаемости гемато- и ликворорэнцефалических барьеров, что в свою очередь приводит к инволютивным трансформациям нейронов.

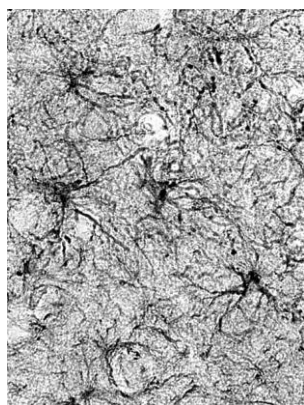
Имуногистохимическая реакция на NSE показала достоверное уменьшение количества NSE-иммунопозитивных клеток с возрастом, что наблюдалось в препаратах обоих полов. Вместе с тем, можно отметить, что наиболее видимые изменения количества нейронов, дающих положительную реакцию к NSE, у мужчин и женщин имели место в разные возрастные периоды. Для женщин таким возрастом можно считать 45-50 лет, для мужчин 60-65 лет. При оценке локализации NSE-иммунопозитивных клеток можно отметить, что в молодом возрасте нами не обнаружено определенных закономерностей в распределении данных клеток в препарате. При этом, начиная с 45 летнего возраста в препаратах сосцевидных тел обоих полов можно отметить, что наибольшее количество NSE-иммунопозитивных клеток располагается периваскулярно, что, по-видимому, связано с изменением

гемодинамики в данной структуре с возрастом. При изучении соседних срезов, окрашенных гематоксилин-эозином и реакции на NSE, во втором периоде зрелого возраста и старше отмечается достоверное отличие количества нервных клеток. Далеко не все нейроны, расположенные в полях зрения препарата и визуализирующиеся при применении гистологических методов окраски, обладают NSE-реактивностью. Этот феномен позволяет предположить, что определенная часть нейронов в ядрах сосцевидных тел в указанный отрезок времени хотя и определяется, но функционально неактивна.

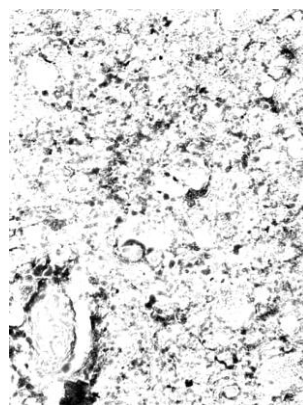
Поддержание адекватной функциональной активности головного мозга обусловлено многими факторами, одним из которых является состояние межнейронных связей. Известно, что олигодендроциты являются основными миелинообразующими клетками мозга, а также играют определенную роль в трофической поддержке нейронов [4].

Исследование, направленное на изучение МВР-иммунореактивности в сосцевидных телах, показало, что в данных структурах мозга, несмотря на присутствие разной степени МВР-позитивных волокон по всему препарату, можно выделить три зоны их наибольшей локализации. Большое количество МВР-иммунопозитивных волокон выявляется по поверхности сосцевидных тел в области их капсулы. Волокна располагаются компактно, образуя мелкую сеть. Глубже определяется разряжение волокнистых

структур, обладающих МВР-иммунореактивностью. По направлению к центру препарата волокна располагаются плотнее и образуют компактно расположенные однонаправленные тяжи. В половом отношении нами не было выявлено достоверных отличий по степени выраженности экспрессии МВР в сосцевидных телах. Вместе с тем обнаружены достоверные возрастные изменения, характеризующиеся снижением количества волокнистых структур, экспрессирующих данный протеин, как по периферии, так и в центре препарата. Нормальное функционирование головного мозга во многом зависит от состояния межнейронных связей, отростков нейронов и синаптических контактов. Уменьшение количества МВР-иммунопозитивных волокон в пожилом возрасте дает возможность предполагать нарушение синаптических связей, как в самих сосцевидных телах, так и за их пределами. В связи со сказанным важно подчеркнуть, что миелиновые оболочки аксонов играют важную роль в регуляции синаптических функций, поскольку они регулируют скорость проведения нервных импульсов по нервным волокнам и их синхронизацию, обеспечивая тем самым адекватную синаптическую пластичность [5]. Возрастное снижение уровня экспрессии МВР дает нам повод предполагать выраженный инволютивный процесс в ядрах сосцевидных тел. В результате которого происходит нарушения синаптических связей, как в самих сосцевидных телах, так и за их пределами (рис. 1).



А



Б

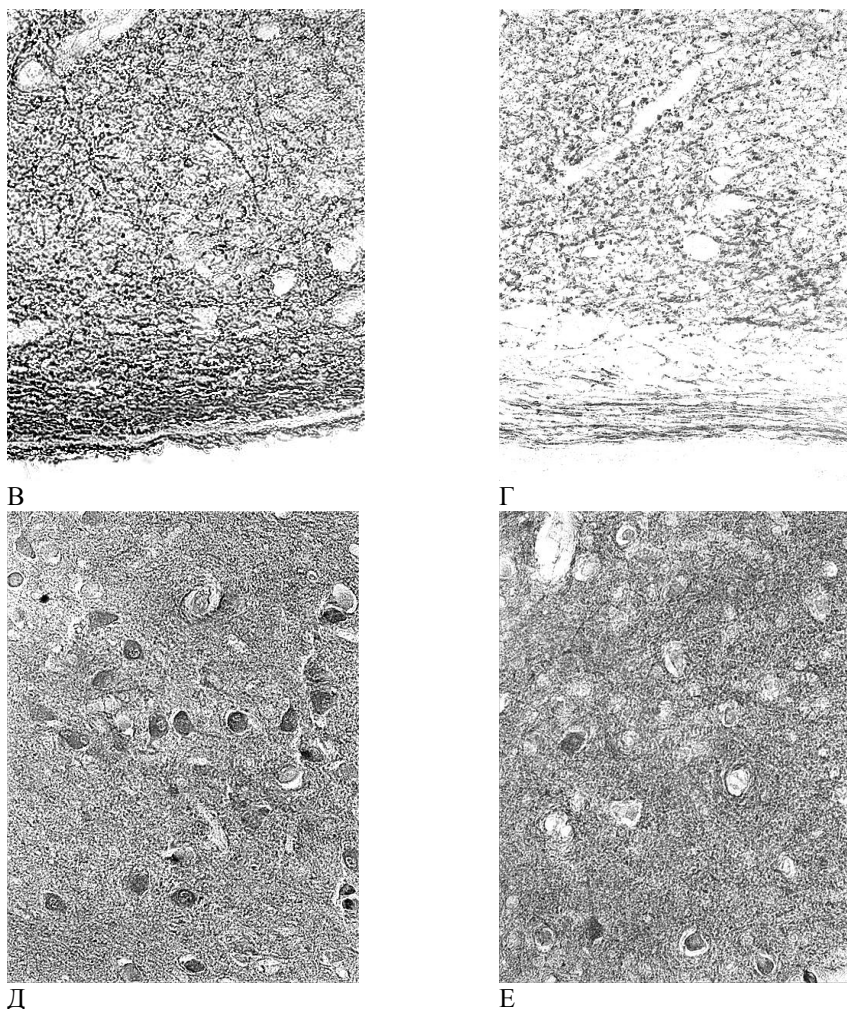


Рис. 1. Возрастные изменения в сосцевидных телах. А,Б – GFAP-иммунопозитивные клетки и волокнистые структуры в глубине препарата. (x400): А – сосцевидного тела женщины 33 лет, Б – сосцевидного тела женщины 72 лет. В,Г – МВР-иммунопозитивные клетки и волокнистые структуры поверхностного слоя сосцевидных тел (x200): В – мужчины 27 лет, Г – мужчины 71 года. Д,Е – NSE-иммунопозитивные клетки сосцевидного тела мужчины 27 лет (Д) и 72 лет (Е) (x200)

Заключение

Данные, полученные в результате проведенного иммуногистохимического исследования, дополнили результаты гистологических методов по изучению морфологии сосцевидных тел. В результате чего впервые были показаны особенности функциональной дифференцировки нейронов и глиальных клеток данной структуры у людей разного пола и возраста.

Литература

1. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – Ленинград: Медгиз, 1956. – 262 с.
2. Lepekhn E.A. Intermediate filaments regulate astrocyte motility / E.A. Lepekhn, C. Eliasson, C.H. Berthold // J. Neurochem. – 2001. – Vol. 79, № 3. – P. 617-625.
3. Ding M. Altered taurine release following hypotonic stress in astrocytes from mice deficient for GFAP and vimentin / M.

- Ding, C. Eliasson, C. Betsholtz // Brain Res. Mol. Brain Res. – 1998. – Vol. 62, №1. – P. 77-81.
4. The trophic role of oligodendrocytes in the basal forebrain / X. Dai [et al.] // J Neurosci. – 2003. – Vol. 23. – P. 5846-5853.
5. Markham J. Experience-driven brain plasticity: beyond the synapse / J. Markham, W.T. Greenough // Neuron Glia Biol. – 2004. – Vol. 1. – P. 351-363.

IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS AGE TRANSFORMATION OF THE CELL PHONE MASTOID BRAIN PEOPLE OF DIFFERENT SEX

A.V. Pavlov, S.V. Saveljev

Age-related changes in the structure of the human brain mamillary bodies were found in different age and sex. In elderly and senile age there is a decrease of GFAP-immunopositive cells. This process leads to an involutive transformations of neurons in the appropriate age. From 45 years of age in the mamillary bodies NSE-immunopositive cells are located around blood vessels in both sexes. Such an arrangement may be due to age-related changes in hemodynamics this structure. Reducing the number of MBP-immunopositive fibers in the elderly explains violation of synaptic connections both within the mamillary bodies and beyond. The observed changes in the expression of selected neuronal markers indicate age involution of mamillary bodies in both sexes.

Keywords: *mamillary bodies, human brain, age, sex.*

Павлов А.В. – канд. мед. наук, ассистент кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, ст. научный сотрудник лаборатории развития нервной системы ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН.

117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3.

390026, г. Рязань, ул.Высоковольтная, д. 9.

Тел.: (4912) 46-08-82 (раб.).

E-mail: vitrea@yandex.ru.

Савельев С.В. – д-р биол. наук, проф., зав. лабораторией развития нервной системы ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН.

117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3.