УДК 611.813.14.018:599.323.4

УЧАСТИЕ КОМПЛЕКСОВ НЕЙРОН-АСТРОЦИТ В ПРОЦЕССЕ ЭПИЛЕПТИЗАЦИИ МОЗГА

Ахмадеев А.В., Нагаева Д.В.
Башкирский государственный университет, Уфа

В работе дана характеристика выявленных авторами комплексов нейрона с астроцитом в ретикулярном ядре таламуса (РТЯ), формируемых ими группировок и патогистологических процессов, разворачивающихся в эпилептическом очаге с их участием. Исследования выполнены на крысах линии WAG/Rij, показавших различную чувствительность к звуковому стимулу. Авторы полагают, что, вероятно, с самых начальных этапов эпилептизации мозга ее предопределяют эпилептогенные группы комплексов нейрона с астроцитами.

Несмотря на явные успехи в изучении патогенетических механизмов эпилепсии, до сих пор остаются невыясненными структурные перестройки в нервной ткани, происходящие на начальных этапах этого заболевания. Не решен вопрос, как происходит формирование первых групп нейронов, синхронная деятельность которых приводит к формированию чрезмерного нейронного разряда. Мы постарались приблизиться к пониманию этих вопросов в процессе изучения реактивных изменений в ретикулярном ядре таламуса(РТЯ), вовлеченного в патогенез абсансной эпилепсии у крыс линии WAG/Rij при исследовании его до- и после аудиогенной стимуляции.

Целью работы является характеристика выявленных нами комплексов нейрона с астроцитом, формируемых ими группировок и патогистологических процессов, разворачивающихся в эпилептическом очаге с их участием.

Материал и методы

В работе использованы крысы обоего пола в возрасте шести месяцев с массой тела 300-350. Животные были выращены из родительских особей, предоставленных профессором Г.Д. Кузнецовой (Институт ВНД, г.Москва). Животных содержали при свободном доступе к воде и еде при световом дне продолжительностью 14 часов.

Головной мозг для изучения влияния повторных судорожных припадков, вызываемых аудиогенной стимуляцией(n=9), взят у 15 животных на следующий день после завершения эксперимента. Известно, что судорожный припадок у крыс этой линии при аудиогенной стимуляции развивается у 30% животных [10], что нашло подтверждение и в нашем эксперименте. Для гистологического анализа сформировано три группы: 5 крыс имели ежедневные судорожные припадки, вызываемые однократно на протяжении 9 дней эксперимента (1 группа), 5 крыс показывали их периодически, через день-два (2 группа), 5 крыс оказались неаудиогенными, т.е. у них отсутствовали припадки (3 группа). Аудиогенная стимуляция проведена по методике Кузнецовой и соавт., 2000[10]. В качестве контроля был использован головной мозг 5 крыс линии WAG/Rij, не подвергавшихся аудиогенной стимуляции(4 группа).

После нембуталовой анестезии (60мг/кг) и декапитации, головной мозг фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин. Готовили серии фронтальных срезов толщиной 8-10 мкм (для изучения цитологических характеристик нейронов) и 20 мкм (для исследования цитоархитектоники), которые окрашивали гематоксилином – эозином и крезилом фиолетовым по Нисслю. Оценку функционального состояния нейронов проводили с использованием классификации Einarson et Krough [9].

Результаты исследования

Большинство нейронов в РТЯ у крыс линии WAG/Rij (4 группа) имеют крупные и средние размеры, на долю мелких, обладающих признаками короткоаксонных, приходится около 5-8%. Значительная часть крупных и средних нейронов РТЯ находятся в хромонейтральном состоянии, но есть и умеренно хромофильные и умеренно хромофобные нейроны.

Делению ядра на дорсальную и вентральную части способствует наличие зоны, прилежащей к вступающим в ядро со стороны внутренней капсулы волокнам. Именно в этой зоне, кроме обычных картин сателлитоза, мы видели особые контакты одного астроцита с определенным нейроном – комплекс, который обозначили как КНА.

КНА характеризуется рядом особенностей: 1.астроцит, лежащий на поверхности нейрона, всегда один в отличие от картин сателитоза, когда на поверхности нейрона можно видеть не-

сколько астроцитов, расположенных в различных частях перикариона и на крупных, проксимальных частях дендритов; 2. астроцит располагается на нейроне всегда в одном и том же месте – а именно, над центральными зонами тела нейрона, там, где локализуется клеточное ядро нейрона. Поэтому при изучении комплекса нейрона с астроцитом в световом микроскопе его легко принять за крупное базофильное ядрышко, которое хорошо определяется на фоне светлого ядра; 3. формирование комплекса нейрона с астроцитом изменяет конфигурацию тела нейрона и его клеточного ядра – они увеличиваются в размерах; 4. укрупняются клеточные ядра, вокруг которых определялся узкий перикарион. Постоянство топики расположения астроцита на нейроне позволяет предполагать наличие в участке контакта молекул адгезии клеток.

Нами также обнаружены группировки КНА. Наиболее часто они встречались у крыс второй группы. Они занимают равную площадь, образованы пятью-шестью нейронами, на поверхности которых «сидят» астроциты (это подтвердила и электронная микроскопия). Поперечник площади, занятой указанными группами, около 100 мкм. Обе группы располагаются на достаточно близком расстоянии друг от друга (130 мкм).

Очень важно отметить функциональное состояние нейронов, входящих в состав группировок. Все нейроны верхней группы светлые, умеренно хромофобные, округлой конфигурации. Все нейроны, входящие в состав нижней группировки – темные, умеренно хромофильные, очертания их угловаты. Согласно классификации Einarson et Krough [9] умеренная хромофобия отражает повышенную активность нервной клетки в течение продолжительного периода с исходом в утомление, и проявляется тогда, когда в нейроне утилизация белковых молекул начинает превышать их синтез. Умеренная хромофилия (хромофилия первоначальной активности) имеет место в нейронах, которые приступили к активной работе, накопив необходимый для этого запас белков. Сведения о тесных взаимосвязях, существующих между белковым, энергетическим и ионным обменом в нейронах [1,6], позволяют трактовать хромофилию и хромофобию описанных выше групп нейронов как отражение «перезарядки» мембран. При «разрядке нейронов» или их деполяризации ионные потоки K^+ устремляются в глиоциты, а Na^+– в нейроны, и это проявляется возбуждением нейрона; а при их «зарядке» - реполяризации - происходит обратный процесс. Это позволяет говорить, что хромофильные нейроны – это нейроны, которые «заряжаются», в них происходит усиленный синтез белков и макроэргических связей, в то время как хромофобные – «разряжающиеся» нейроны, биоэлектрохимические процессы в которых сопровождаются расходом белков и АТФ.

Функциональная морфология нейронов, входящих в состав группировок, свидетельствует о том, что их деятельность происходит синхронно в каждой из рассмотренных групп, но явно отличается между группами. Мы предполагаем, что охарактеризованные группы КНА и есть эпилептогенные группы.

Количество КНА в РТЯ увеличивалось у крыс, подвергшихся аудиогенной стимуляции Сравнительный анализ представительства КНА у крыс, различавшихся по чувствительности к звуковому стимулу, показал, что их больше у неаудиогенных и периодически аудиогенных крыс. У крыс первой группы (имевших каждый день судорожные припадки) число КНА было снижено.

Представляло интерес проследить как наличие контакта нейрона с астроцитом сказывается на характере развивающихся патогистологических процессов. Мы отметили, что в нейронах, входящих в состав таких комплексов, чаще выявлялись гидропические изменения, и они гибли путем кариоцитолиза с формированием «клеток-теней». Другая часть нейронов, находившихся также в контакте с астроцитами, подвергалась атрофии и сморщиванию.

Обсуждение

Согласно новой гипотезе абсансная эпилепсия является кортико-таламическим типом эпилепсии [3]. В ее формировании принимают участие кора больших полушарий с эпилептогенной зоной, вентробазальное и ретикулярное ядро таламуса. Крысы линии WAG/Rij являются инбредной линией с генетически детерминированной абсансной эпилепсией.

Подробная характеристика структурной организации РТЯ у этой линии крыс описана в ранее опубликованных работах [4,8]. При этом наше внимание привлекли особые комплексы нейрона с астроцитом, которых мы не нашли в других ядрах таламуса. Формирование КНА, на наш взгляд, отражает высокую степень напряженности процессов, осуществляющихся между этими двумя клетками нервной ткани у крыс линии WAG/Rij: а именно:

1. совместное участие в функционировании ГАМК-шунта и глутаминового цикла [11], а также в обеспечении деятельности глутаматных транспортеров [13]; известно, что нейроны РТЯ содержат ГАМК, а приходящие из неокортекса афферентные волокна формируют на них глутаматэргические синапсы, при этом у крыс линии WAG/Rij глутамат поступает в ядро в избыточных количествах;

2. другой линией связи между нейроном и астроцитом являются биоэлектрические процессы. Погодаевым [6] показано, что нейрон и астроциты взаимосвязаны электрохимическими потенциалами ионов H^+, K^+ и Na^+ мембран нейроглиального комплекса, находящихся в динамическом равновесии, которое сдвигается при «разрядке» и при «зарядке» мембран. Велика роль и Ca^{2+} , который в условиях интенсивного действия глутамата избыточно поступает в нейрон [1]. Он является регулятором нейрональной возбудимости и играет ведущую роль в механизмах инициации, поддержания и терминации эпилептиформных пачечных разрядов [7].

КНА формировали небольшие группы, находящиеся в одном и том же функциональном состоянии, которые могли создавать основу для формирования синхронизированных разрядов, свойственных для эпилептогенной группы нейронов. Известно, что эпилептический нейрон способен давать разряды потенциалов действия в условиях, при которых нормальный нейрон отвечает только единичными потенциалами. При этом показано, что единичные нейроны с такими свойствами не могут генерировать эпилептические припадки. Они формируются популяцией эпилептических нейронов, способных обеспечить синхронность и синфазность разрядов. Также известно, что от эпилептического нейрона регистрируются низкоамплитудные высокочастотные пиковые потенциалы, а от популяции эпилептических нейронов – известные электрографические феномены – спайки, острые волны и разряды типа пик-волна. При этом эпилептологи полагают, что это результат наличия в эпилептическом очаге определенным образом организованных нейронных ансамблей[2]. На основании этих данных, можно предположить, что группы нейронов, характеристики которых были приведены выше, являются частями подобного ансамбля, в деятельность которого заложен маятникообразный механизм функционирования.

Важную роль в образовании группировок КНА, на наш взгляд, играет оксид азота (NO). Известно, что инициирующую роль на массивное образование NO и пероксинитритов в астроцитах оказывают супероксиды, которые синтезируются в нейронах в ответ на перевозбуждение глутаматных рецепторов. NO является объемным нейропередатчиком, способным оказывать влияние на импульсную активность соседних нейронов без вовлечения в этот процесс механизма синаптической глутаматэргической передачи [5].

Важным в свете наших рассуждений является описание скоплений NADPH-d позитивных астроцитов в височной коре у аудиогенных крыс линии Крушинского – Молодкиной [5]. Показано, что астроциты группируются в небольшие округлые, либо слегка вытянутые островки. Приведенная в работе фотография позволяет предполагать, что выявленные астроциты лежат на телах нейронов. Авторы считают, что они совпадают с очагами эпилептиформной активности.

Косвенным показателем влияния NO на формирование группировок КНА является их размер – он не превышает 100 мкм, т. е. размер того ареала, на территории которого распространяет свое влияние NO [7].

NO может оказывать как нейропротективное, так и деструктивное воздействие на нервную ткань, включаясь в патогенетические механизмы эпилепсии у крыс линии WAG/Rij [12]. Большое количество КНА у неаудиогенных крыс(3 группа), по всей видимости, отражает стабильный уровень развивающихся компенсаторных процессов. У аудиогенных крыс снижение их числа сопровождается развитием нейродеструктивных процессов, что свидетельствует о срыве адаптационных возможностей организма.

Повторные судорожные припадки, формировавшиеся в условиях аудиогенной стимуляции крыс, приводили к формированию в РТЯ гидропических изменений нейронов, их сморщиванию и атрофии, т.е. по своему характеру были типичны описанным в литературе в эпилептическом очаге[2].

Впервые на роль нейроглиальных комплексов как частей морфо-функциональной системы нейрон – глион – миоцит, определяющей генез и развитие эпилептической активности, указал Погодаев [6]. Полученные нами данные свидетельствуют об обоснованности положений учения Погодаева и углубляют его в части структурных характеристик нейроно-глиальных взаимоотношений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Исаев Н.К., Андреева Н.А., Стельмашук Е.В., Зоров Д.Б. //Биохимия. 2005. т.70. №6. С.741.

2. Карлов В.А. Лекции по эпилепсии. М., Медицина, 1990.

3. Меерен Х.К.М., ван Луителаар Е.Л.Дж., да Сильва Ф.Х.Лопес и др. //Успехи физиол. наук. 2004. т.35. № 1. С. 3.

4. Нагаева Д.В., Ахмадеев А.В, Калимуллина Л.Б.//Морфология. 2005. т. 127. № 1. С.55.

5. Охотин В.Е., Калиниченко С.Г., Дудина Ю.В. //Успехи физиол. наук. 2002. т.33. № 2. С. 41.

6. Погодаев К.И. Эпилептология и патохимия мозга. М., Медицина, 1986.

7. Семьянов А.В., Годухин О.В. //Успехи физиол. наук. 2001. т.32. № 1, С. 60.

8. Akhmadeev A.V.et al. Ultrastructure of the Reticular Thalamic Nucleus of the WAG/Rij Rats. In : The WAG/Rij model of absence epilepsy: The Nijmegen-Russion Federation Papers. Nijmegen (Netherlands), Nijmegen Institute for Cognition and Information, 2004, P.89.

9. Einarson L, Krogh E. //J.Neurol. Neurosurg. Psychiat. 1955. v. 18, P. 1.

10. Kuznetsova G.et al. Mixed forms of epilepsy in a sub-population of WAG/Rij rats. In: The WAG/Rij rat model of absence epilepsy: ten years of research. Ed.G.van Luijtelaar, A.Coenen. - Nijmegen: Nijmegen Univ. Press, 2000, P.31.

11. Leif H, Arne S.//Brain Research Bulletin, 1980, V.5, Suppl., 2, P.389.

12. Przewlocka B.et al. //Neuroscience research communications., 1996, V. 18, № 2. P. 125.

13.Shigeri Y.et al.//Brain Research Reviews, 2004, V, 45, P. 250.

NEURON-ASTROCYTE COMPLEX IN PROCESSES OF BRAIN EPILEPTISATION

Akhmadeev A.V., Nagaeva D.V.
Bashkir state university, Ufa

In this article described characteristics of complexes neuron with astrocyte in Reticular Thalamic nucleus (RTN), groups of whose complexes and pathohistology processes which take place in epileptic area with participation of whose complexes. The study was performed on WAG/Rij rats showing different sensibility to sound stimulus. The authors suppose what may be these epileptic groups of neuron-astrocyte complexes play leading role on early stages of brain epileptisation.