

УДК 616.831—005—091.8

ЦИТОСПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ РНК В СИСТЕМЕ НЕЙРОН—НЕЙРОГЛИЯ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЕМАТОМЕ

ПОЛЯКОВ Н. Ф.

Представлены результаты цитоспектрофотометрического исследования содержания количества РНК в нейронах и глиоцитах сенсомоторной коры и гиппокампа 64 белых крыс в различные сроки после моделирования внутримозговой гематомы (от 2 ч до 28 суток). Отмечено снижение содержания РНК в системе нейрон—нейроглия в первые 3 дня после развития гематомы. В последующем отмечается повышение количества РНК, в первую очередь, в нейроглии, а затем в нейронах, что рассматривается как включение компенсаторно-приспособительных механизмов.

Цереброваскулярные заболевания представляют важную медико-социальную проблему, так как являются одной из наиболее частых причин тяжелой инвалидности и смертности среди взрослого населения многих экономически развитых стран [1—5].

Кровоизлияние в головной мозг—одна из самых тяжелых форм сосудистых поражений мозга—является причиной высокой смертности, которая при консервативной терапии составляет 70—90%, а при некоторых локализациях достигает 96—100% [6—8].

Изучение метаболических процессов, протекающих в ткани головного мозга при геморрагических инсультах, имеет как теоретическое, так и практическое значение.

Материалы и методы

Изучено содержание РНК в единой метаболической системе нейрон—нейроглия новой и старой (висцеральной) коры головного мозга (сенсомоторная и гиппокамп) 64 белых крыс линии Вистар массой 140—220 г в различные сроки после моделирования экспериментальной внутримозговой гематомы (2 ч, 3, 7, 14, 21, 28 дней). Первоначально у животных воспроизводилась почечно-солевая гипертония, вызываемая стенозом левой почечной артерии. В дальнейшем оперированные крысы вместо воды получали 1,5%-ный раствор хлористого натрия. Артериальное давление у них повышалось до 140—160 мм рт. ст. Спустя 1 месяц после операции (к этому времени уже развивалась гипертония) животным при помощи стереотаксического прибора МВ-4101 в область внутренней капсулы левого полушария головного мозга вводили 0,15 мл

аутокрови, взятой из бедренной артерии. Животных декапитировали в различные сроки после моделирования внутримозговой гематомы. Операции и забой животных проводили под нембуталовым обезболиванием (35—40 мг нембутала на 1 кг массы). В качестве контроля использовали два вида животных: интактных крыс и животных с почечно-солевой гипертензией.

Для гистохимического исследования ткань мозга фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин по общепринятой методике. Серийные срезы толщиной 5 мкм после депарафинирования инкубировали в растворе дезоксирибонуклеазы (1000 ед/мл) на 0,025 М вероналовом буфере (рН 7,5), содержащем 0,003 MgSO₄, в течение 24 ч при температуре 37° с последующей окраской галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону [9]. Среди серийных срезов визуально отбирались срезы одинаковой толщины, которые фотометрировали на цитоспектрофотометре МУФ-5 методом сканирования при длине волны 570 нм. Фотометрии подвергались нейроны и нейроглия сенсомоторной коры и гиппокампа как в пораженном, так и в интактном полушарии головного мозга. В каждом участке мозга животного фотометрировали по 50 клеток. Среднюю оптическую плотность умножали на объем клетки и получали количество РНК в условных единицах (усл. ед.).

Результаты и обсуждение

Результаты анализа количественного содержания РНК в нейронах и глиальных клетках сенсомоторной коры мозга представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1
Содержание РНК в нейронах сенсомоторной коры крыс в разные сроки после моделирования экспериментальной гематомы

| Сроки забоя | Полушарие | Нейроны | | |
|----------------------|------------------|-------------|----------------|--------------|
| | | Д | V | К |
| Контроль | | 0,116±0,012 | 179,300±20,117 | 20,346±2,799 |
| Контроль гипертензия | | 0,167±0,019 | 142,386±16,714 | 23,778±2,820 |
| 2 ч | на стороне очага | 0,140±0,016 | 158,057±17,485 | 21,848±1,062 |
| | интактное | 0,145±0,016 | 209,291±23,071 | 30,347±3,5,7 |
| 3 дня | на стороне очага | 0,103±0,017 | 254,685±36,911 | 26,232±4,055 |
| | интактное | 0,110±0,017 | 226,546±37,175 | 24,920±3,817 |
| 7 " | на стороне очага | 0,135±0,020 | 227,845±35,461 | 30,759±4,647 |
| | интактное | 0,164±0,024 | 300,506±47,157 | 49,223±7,034 |
| 14 " | на стороне очага | 0,144±0,021 | 184,753±27,844 | 26,604±4,083 |
| | интактное | 0,151±0,025 | 270,307±30,284 | 40,816±6,138 |
| 21 " | на стороне очага | 0,136±0,021 | 196,278±31,114 | 26,694±3,983 |
| | интактное | 0,116±0,019 | 206,624±37,053 | 23,968±4,192 |
| 28 " | на стороне очага | 0,145±0,026 | 209,318±37,728 | 30,351±5,700 |
| | интактное | 0,155±0,023 | 189,075±27,550 | 29,874±4,319 |

Примечание. Д—оптическая плотность в опт. ед.; V—объем клеток в усл. ед.; К—количество РНК в усл. ед.

У интактных животных средняя оптическая плотность РНК в нейронах сенсомоторной коры составляла $0,116 \pm 0,012$ опт. ед., в клетках нейроглии— $0,179 \pm 0,024$ опт. ед. У крыс с почечно-солевой гипертонией отмечалось увеличение оптической плотности РНК как в нейронах ($0,167 \pm 0,019$ опт. ед.), так и в нейроглиальных клетках ($0,291 \pm 0,039$ опт. ед.) ($p < 0,01$).

Таблица 2
Содержание РНК в сателлитной глии нейронов сенсомоторной коры крыс в различные сроки после моделирования экспериментальной гематомы

| Сроки забоя | Полушарие | Нейроглия | | |
|-------------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | | Д | V | К |
| Контроль | | $0,179 \pm 0,024$ | $23,744 \pm 3,277$ | $4,250 \pm 0,596$ |
| Контроль | | | | |
| гипертония | | $0,291 \pm 0,039$ | $19,657 \pm 2,854$ | $5,720 \pm 0,854$ |
| 2 ч | на стороне очага | $0,209 \pm 0,043$ | $22,858 \pm 4,851$ | $4,777 \pm 1,407$ |
| | интактное | $0,237 \pm 0,037$ | $29,613 \pm 4,758$ | $7,019 \pm 1,074$ |
| 3 дня | на стороне очага | $0,209 \pm 0,038$ | $27,638 \pm 5,599$ | $5,776 \pm 1,074$ |
| | интактное | $0,244 \pm 0,045$ | $27,129 \pm 5,184$ | $6,619 \pm 1,291$ |
| 7 " | на стороне очага | $0,284 \pm 0,063$ | $25,870 \pm 6,056$ | $7,347 \pm 1,682$ |
| | интактное | $0,302 \pm 0,066$ | $28,722 \pm 6,528$ | $8,674 \pm 1,937$ |
| 14 " | на стороне очага | $0,222 \pm 0,045$ | $30,502 \pm 5,913$ | $6,771 \pm 1,108$ |
| | интактное | $0,280 \pm 0,051$ | $33,410 \pm 5,652$ | $9,354 \pm 1,586$ |
| 21 " | на стороне очага | $0,202 \pm 0,043$ | $26,368 \pm 5,493$ | $5,325 \pm 1,241$ |
| | интактное | $0,241 \pm 0,021$ | $31,803 \pm 6,104$ | $7,664 \pm 1,638$ |
| 28 " | на стороне очага | $0,270 \pm 0,040$ | $28,303 \pm 4,056$ | $7,642 \pm 1,181$ |
| | интактное | $0,282 \pm 0,053$ | $29,637 \pm 5,643$ | $8,358 \pm 1,565$ |

Примечание. Д—оптическая плотность в опт. ед.; V—объем клеток в усл. ед.; К—количество РНК в усл. ед.

Через 2 ч после моделирования интрацеребральной гематомы оптическая плотность РНК уменьшалась в нейронах и глиальных клетках пораженного и смежного полушарий головного мозга.

Параллельно с понижением оптической плотности РНК наблюдалось увеличение объема нейронов интактной гемисферы до $209,291 \pm 23,071$ усл. ед., что свидетельствует о включении компенсаторных механизмов уже в первые часы после развития кровозлияния в первую очередь в нейронах непораженного полушария. При этом общее количество РНК на один нейрон увеличивается до $30,347 \pm 3,547$ усл. ед. за счет увеличения объема нервной клетки.

На третьи сутки в нейронах сенсомоторной коры происходило дальнейшее снижение оптической плотности РНК, которая в пораженном полушарии составляла $0,103 \pm 0,017$ опт. ед., а в противоположном— $0,110 \pm 0,017$ опт. ед. В клетках нейроглии направленность метаболических процессов РНК имела обратную зависимость, то есть оптическая плотность РНК возрастала раньше всего в непораженном полушарии ($с 0,237 \pm 0,037$ опт. ед. до $0,244 \pm 0,045$ опт. ед.).

Спустя 7 дней после кровозлияния в нейронах и глиальных клетках повышалось количество РНК, при этом наблюдалось увеличение

оптической плотности и объема клеток в пораженном и интактном полушариях. В последующие сроки метаболизм РНК в нейронах коры стабилизировался, однако количество РНК на одну клетку оставалось выше по сравнению с контролем. Скорость восстановления исходного уровня содержания РНК в нейроглии отчетливо выше, чем в нейронах.

Распределение РНК в нейронах и нейроглии гиппокампа в контроле и при экспериментальной внутримозговой гематоме в разные сроки после ее моделирования представлено в табл. 3 и 4.

Таблица 3

Содержание РНК в нейронах гиппокампа крыс в различные сроки после моделирования экспериментальной гематомы

| Сроки забоя | Полушарие | Нейроны | | |
|-------------|---------------------|-------------|-----------------|----------------|
| | | Д | V | К |
| Контроль | | 0,183±0,018 | 248,499±27,499 | 45,475±5,062 |
| | Контроль гипертония | 0,185±0,023 | 408,237±52,548 | 75,524±9,367 |
| 2 ч | на стороне очага | 0,110±0,011 | 319,890±30,074 | 35,187±5,184 |
| | интактное | 0,121±0,012 | 491,465±55,465 | 59,467±5,973 |
| 3 дня | на стороне очага | 0,133±0,024 | 242,206±47,147 | 29,791±5,924 |
| | интактное | 0,138±0,020 | 255,522±36,997 | 35,262±5,232 |
| 7 " | на стороне очага | 0,186±0,026 | 372,616±51,970 | 69,306±9,895 |
| | интактное | 0,192±0,027 | 376,635±53,190 | 72,314±10,635 |
| 14 " | на стороне очага | 0,134±0,020 | 524,734±80,936 | 70,313±10,650 |
| | интактное | 0,155±0,030 | 642,111±122,214 | 99,524±17,833 |
| 21 " | на стороне очага | 0,096±0,015 | 600,083±92,840 | 57,608±16,178 |
| | интактное | 0,180±0,029 | 580,281±100,770 | 104,450±18,671 |
| 28 " | на стороне очага | 0,187±0,034 | 426,051±81,630 | 79,672±16,185 |
| | интактное | 0,168±0,030 | 367,324±66,851 | 61,710±10,929 |

Примечание. Д—оптическая плотность в опт. ед.; V—объем клеток в усл. ед.; К—количество РНК в усл. ед.

Оптическая плотность РНК в нейронах гиппокампа через 2 ч после кровоизлияния уменьшалась в пораженном и интактном полушариях. У контрольных животных с экспериментальной гипертонией оптическая плотность РНК равна 0,185±0,023 опт. ед., через 2 ч после развития кровоизлияния она уменьшалась на стороне поражения до 0,110±0,011 опт. ед., а в противоположном полушарии—до 0,121±0,012 опт. ед. Количество РНК на один нейрон гиппокампа снижается с 75,524±9,367 усл. ед. в контроле до 35,187±5,184 усл. ед. на стороне поражения и 59,467±5,973 усл. ед. в противоположном полушарии. Со стороны нейроглии в первые 2 ч после развития кровоизлияния отмечалось, с одной стороны, уменьшение оптической плотности РНК (с 0,243±0,035 опт. ед. в контроле до 0,183±0,033 опт. ед. на стороне очага и 0,194±0,027 опт. ед. в противоположном полушарии), а с другой стороны—увеличение объема глиальных клеток, так что общее количество РНК на глиоцит не изменилось.

Через три дня после кровоизлияния в головной мозг в нейронах гиппокампа наблюдалась тенденция к дальнейшему снижению количества

РНК, хотя оно и не носило статистически достоверный характер ($p > 0,05$). В клетках нейроглии пораженного полушария происходило прогрессирующее уменьшение оптической плотности РНК до $0,129 \pm 0,034$ опт. ед., а в противоположной гемисфере оптическая плотность РНК глиоцитов резко возрастала до $0,293 \pm 0,089$ опт. ед. и достигала своего максимума к концу первой недели— $0,341 \pm 0,129$ опт. ед.

Таблица 4

Содержание РНК в сателлитной глии нейронов гиппокампа крысы в различные сроки после моделирования экспериментальной гематомы

| Сроки забоя | Полушарие | Нейроглия | | |
|---------------------|------------------|-------------------|---------------------|--------------------|
| | | Д | V | К |
| Контроль | | $0,198 \pm 0,027$ | $22,457 \pm 3,153$ | $4,446 \pm 0,682$ |
| Контроль гипертония | | $0,243 \pm 0,035$ | $27,729 \pm 4,234$ | $6,738 \pm 1,062$ |
| 2 ч | на стороне очага | $0,183 \pm 0,033$ | $36,725 \pm 7,057$ | $6,728 \pm 1,145$ |
| | интактное | $0,194 \pm 0,027$ | $34,926 \pm 5,444$ | $6,776 \pm 1,619$ |
| 3 дня | на стороне очага | $0,129 \pm 0,034$ | $38,860 \pm 9,820$ | $5,013 \pm 1,295$ |
| | интактное | $0,293 \pm 0,089$ | $13,866 \pm 4,323$ | $4,063 \pm 1,251$ |
| 7 " | на стороне очага | $0,270 \pm 0,086$ | $37,391 \pm 11,391$ | $10,096 \pm 2,518$ |
| | интактное | $0,341 \pm 0,129$ | $32,249 \pm 12,212$ | $10,997 \pm 4,144$ |
| 14 " | на стороне очага | $0,155 \pm 0,041$ | $51,136 \pm 13,040$ | $7,926 \pm 1,969$ |
| | интактное | $0,219 \pm 0,046$ | $30,385 \pm 6,357$ | $6,654 \pm 1,437$ |
| 21 " | на стороне очага | $0,263 \pm 0,052$ | $37,715 \pm 7,845$ | $9,191 \pm 1,814$ |
| | интактное | $0,250 \pm 0,047$ | $36,142 \pm 6,759$ | $9,036 \pm 1,608$ |
| 28 " | на стороне очага | $0,246 \pm 0,055$ | $27,365 \pm 6,196$ | $6,732 \pm 1,539$ |
| | интактное | $0,254 \pm 0,046$ | $24,482 \pm 4,647$ | $6,218 \pm 1,130$ |

Примечание. Д—оптическая плотность в опт. ед.; V—объем клеток в усл. ед.; К—количество РНК в усл. ед.

К концу первой недели имело место увеличение количества РНК в нейронах гиппокампа и глиоцитах интактного и пораженного полушарий. На стороне очага кровоизлияния количество РНК в нейронах увеличивалось с $29,791 \pm 5,924$ усл. ед. до $69,306 \pm 9,895$ усл. ед., в интактном—с $35,262 \pm 5,232$ усл. ед. до $72,314 \pm 10,635$ усл. ед., в нейроглии—соответственно с $5,013 \pm 1,295$ усл. ед. до $10,096 \pm 2,518$ усл. ед. и с $4,063 \pm 1,251$ усл. ед. до $10,997 \pm 4,144$ усл. ед. При этом имело место повышение и оптической плотности РНК в нейронах и нейроглии, в нейронах пораженного полушария она равна $0,186 \pm 0,026$ опт. ед., противоположного— $0,192 \pm 0,027$ опт. ед., в нейроглии соответственно $0,270 \pm 0,086$ опт. ед. и $0,341 \pm 0,129$ опт. ед.

Через 21 день вновь отмечалось снижение количества РНК в нейронах гиппокампа пораженного полушария ($57,608 \pm 16,173$ усл. ед.), которое сопровождалось резким падением оптической плотности и увеличением объема нервных клеток. В нейронах интактного полушария количество РНК компенсаторно возрастало до $104,450 \pm 18,671$ усл. ед. Природа указанных процессов остается невыясненной.

Спустя 28 дней оптическая плотность и количество РНК на один нейрон и глиоцит приближались к уровню контрольных животных.

Таким образом, полученные данные цитоспектрофотометрического исследования количества РНК в системе нейрон—нейроглия коры головного мозга крыс с экспериментальной внутримозговой гематомой свидетельствуют о том, что кровоизлияние в головной мозг является чрезмерным раздражителем, который вызывает выраженный катаболизм РНК в первые три дня после развития инсульта, в результате чего количество РНК прогрессивно уменьшается во всей системе нейрон—нейроглия коры головного мозга. Этот процесс носит диффузный характер, нарушается обмен РНК во всех отделах коры головного мозга пораженного и интактного полушарий. Изменения метаболизма РНК имеют место и в старой коре, в так называемом висцеральном мозгу, что, по-видимому, влечет за собой развитие нервнотрофических изменений со стороны внутренних органов с нарушением их функции [1, 10—13].

Компенсаторно-приспособительные процессы при кровоизлияниях в головной мозг включаются очень рано, становление их происходит за счет интенсификации синтетических процессов РНК, в первую очередь, в структурах противоположного очагу кровоизлияния полушария, речь идет об индукционных взаимоотношениях и о внутриклеточной регенерации по Саркисову [14—17].

Увеличению содержания РНК в нейронах предшествует повышение количества её в нейроглии, что можно объяснить существованием единой функциональной и метаболической системы нейрон—нейроглия, в которой глия играет важную роль в энергетическом и пластическом обеспечении нейронов [18—22].

Первые три дня после развития геморрагического инсульта являются критическими в метаболизме РНК структур коры головного мозга с выраженным преобладанием катаболических процессов, проявляющихся прогрессирующим уменьшением ее количества в нейронах и глиальных клетках, чем можно частично объяснить высокую летальность больных в эти сроки при консервативной терапии кровоизлияний в головной мозг.

BRAIN RNA AND EXPERIMENTAL INTRACEREBRAL HEMATOMA

POLYAKOV N. F.

State Medical School, Zaporozhje

The amount of RNA has been determined cytospectrophotometrically in hippocampus and brain sensorimotor cortex in rats with experimental intracerebral hematoma (from 2h to 28 days of lesion). A decrease in RNA content in the neuron-neuroglia system in the first 3 days of hematoma has been followed by increase in RNA content first of all in glia and then in neurons and is considered to be a sign of adaptation.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Боголенов Н. К.— В кн.: Церебральные кризы и инсульт, М., Медицина, с. 392, 1971.
2. Котенева В. М., Лисицын Ю. Н., Петелин Л. С. Современные направления научных исследований в области сосудистой патологии мозга в США и других странах М., ВНИИМН, 134 с., 1976.
3. Сосудистые заболевания нервной системы (под ред. Шмидта Е. В.), М., Медицина, 662 с., 1975.
4. Ishii T. J. Tok. Women's med. coll., 47, 2, 174—181, 1977.
5. Lambert R., Audigier J.-C., Meyer F. Nouv. Presse med., 6, 16, 1397—1398, 1977.
6. Ромоданов А. П., Педаченко Г. А. Мозговой геморрагический инсульт, Киев, Здоров'я, 228 с., 1971.
7. Лебедева Н. В. Паренхиматозные кровоизлияния в большие полушария головного мозга, докт. дис., М., 1969.
8. Лебедева Н. В. Геморрагический инсульт, М., Медицина, 158 с., 1978.
9. Пирс Э. Гистохимия, М., ИЛ, 962 с., 1962.
10. Вейн А. М., Соловьева А. Д. Лимбико-ретикулярный комплекс и вегетативная регуляция, М., Наука, 268 с., 1973.
11. Мартынов Ю. С., Бурдов А. А., Пушкарь Ю. Т., Ильина Л. Н. Ж. невропат. и психиатр., 1, 3—17, 1977.
12. Мартынов Ю. С., Кишдина О. И. Ж. невропат. и психиатр., 11, 1628—1634, 1980.
13. Левин Г. Э. Ж. невропат. и психиатр., 9, 1306—1310, 1979.
14. Саркисов Д. С. Регенерация и ее клиническое значение, М., Медицина, 284 с., 1970.
15. Саркисов Д. С. Очерки по структурным основам гомеостаза, М., Медицина, 350 с., 1977.
16. Саркисов Д. С., Пальцын А. А., Втюрин Б. В. Приспособительная перестройка биоритмов, М., Медицина, 182 с., 1975.
17. Саркисов Д. С., Пальцын А. А., Втюрин Б. В. Электронномикроскопическая радиоавтография клетки, М., Медицина, 262 с., 1980.
18. Певзнер Л. Э. Нуклеиновые кислоты в системе нейрон—нейроглия при различных условиях функционирования нервной системы, докт. дис., Л., 1969.
19. Певзнер Л. Э. Функциональная биохимия нейроглии, Л., Наука, 302 с., 1972.
20. Певзнер Л. Э.—В кн.: Успехи нейрохирургии, Л., Наука, с. 140—153, 1974.
21. Hyden H. The Neuron, Elsevier, Amsterdam, 1967.
22. Лабори Г. Метаболические и фармакологические основы нейрофизиологии, М., Медицина, 168 с., 1974.

Запорожский медицинский институт

Поступила 9. IV 1982