

Иммуногистохимическое определение серотонина в мозговых сосудах крыс в условиях ограничения двигательной активности

В.А. Карапетян

Кафедра фармакологии ЕрГМУ им. М.Гераци

375025, Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: гипокинезия, мозговые сосуды, серотонин

Злокачественные новообразования, травмы и заболевания сердечно-сосудистой системы прочно заняли ведущие места среди причин смертности населения в развитых странах мира. Но даже на таком неблагоприятном фоне нарушения мозгового кровообращения оставались и остаются наиболее тяжелыми заболеваниями по своим медицинским и социально-экономическим последствиям [6].

Мрачная действительность и неблагоприятный прогноз на ближайшее будущее вступают в явное противоречие с научными достижениями последних лет. Появление и развитие таких научных направлений, как нейрехимия, нейрогенетика, нейроморфология привели к расшифровке тончайших биохимических процессов, участвующих в повреждении мозга при нарушениях мозгового кровообращения [2].

Современная общепринятая идеология профилактики нарушений мозгового кровообращения основана на массовой стратегии и стратегии высокого риска. Массовая стратегия борьбы – это стратегия борьбы с факторами риска, среди которых на первом месте многими авторами указывается хронический дефицит физической активности, гипокинезия профессиональная и в быту [6].

Бурное развитие техники, механизация и автоматизация производства являются неотъемлемой частью прогресса и развития человеческого общества. В этих случаях существенно снижается необходимость непосредственной интенсивной мышечной деятельности и резко возрастает роль умственных процессов. Характерной особенностью многих видов профессий становится также существенное нарастание нервного и эмоционального напряжения при выполнении ответственных операций [1,3]. В этих условиях, естественно, возникает неблагоприятное влияние возросшего симпатикотонического влияния на ряд систем организма и прежде всего на сердечно-сосудистую [5]. Ограничение функции мышц становится в определенной мере типичной особенностью режима жизни современного человека в развитых странах. Замена тяжелых мышечных усилий на легкие или их ограничение от-

носится не только к сфере производства, но и к быту [3].

Таким образом, возникает серьезная и масштабная проблема развития гипокинезии и ее последствий, среди которых, как уже указывалось выше, ведущее место занимает резкое увеличение заболеваний сердечно-сосудистой системы и, особенно, нарушения мозгового кровообращения.

К настоящему времени накоплено значительное количество данных о характере изменений основных функций организма при ограничении двигательной активности [1,5].

Принимая во внимание всю серьезность последствий нарушений мозгового кровообращения [1] и ведущую роль серотонина в генезе сосудистой патологии мозга [4,7,8], целью настоящей работы явилось определение серотонина в различных мозговых сосудах в условиях ограничения двигательной активности.

Материал и методы

Опыты проводились на белых беспородных крысах-самцах массой 200–220 г. Животные были разделены на следующие группы: контроль; крысы, находящиеся в условиях 15-, 30- и 45-суточной гипокинезии.

Животные контрольной группы содержались в обычных условиях вивария.

Экспериментальное моделирование гипокинезии осуществлялось в индивидуальных клетках-пеналах из органического стекла, согласно описанному И.В.Федоровым подходу, позволяющему обеспечить максимальное ограничение движений животных, не ограничивая дыхательные движения [5].

Серотонин в мозговых сосудах определялся иммуногистохимическим методом, описанным Sluka K. and Westlund K. [9], с использованием набора реактивов фирмы Serotec.

Животные забивались под эфирным наркозом. После декапитации извлекали мозг, промывали 0,1М раствором какадилата, содержащего 10 г/л метаби-

сульфата натрия (рН 6,2) и на 2 часа помещали в инкубационную среду, содержащую 0,1М раствор какодилата, 5% глутаральдегид и 10г/л метабисульфата натрия (рН 7,5). По истечении срока инкубации мозг крыс 4 раза промывали 0,05М раствором Трис содержащего 8,5г/л метабисульфата натрия (рН 7,5). После промывки готовились парафиновые срезы мозговой ткани толщиной 15мкм и помещались на предметные стекла. Полученные срезы инкубировались в течение 1,5 часа в инкубационной среде, содержащей 0,05М раствор Трис (рН 7,5), 3% нормальную козью сыворотку. Затем препараты на ночь помещались в инкубационную среду, содержащую 0,05М раствор Трис (рН 7,5), 0,2% тритона X100 и 1% нормальную козью сыворотку. После инкубации проводилась специфическая реакция с использованием козьих противокровельных антител.

Исследование готовых слайдов проводили под световым микроскопом марки Karl Zeiss Epa.

Результаты и обсуждение

Серотонин определялся в стенке базальной артерии, в эндотелиальном слое внутримозговых капилляров и сосудистых сплетений боковых желудочков

мозга крыс в различные сроки ограничения двигательной активности.

При исследовании сосудов мозга контрольных крыс наиболее интенсивная экспрессия серотонина была отмечена в базальной артерии, особенно в ее адвентиции.

В цитоплазме клеточных элементов мышечной оболочки были выявлены лишь редкие мелкие зернышки серотонина.

В эндотелиальном слое сосудистых сплетений боковых желудочков содержание серотонина было умеренным, только на отдельных участках эндотелия сосудов местами отмечалась более интенсивная реакция.

В эндотелии внутримозговых капилляров наблюдалось преимущественно низкое содержание серотонина, и только в отдельных капиллярах была выявлена мелкоочаговая интенсивная реакция (рис.1).

На 15-е сутки ограничения двигательной активности содержание и распределение серотонина в стенке базальной артерии и внутримозговых капилляров не отличались от такового у контрольных животных.

В цитоплазме эпителия сосудистых сплетений имело место повышение содержания серотонина по сравнению с контролем. Просветы сосудов сплетений были резко расширены (рис.2).

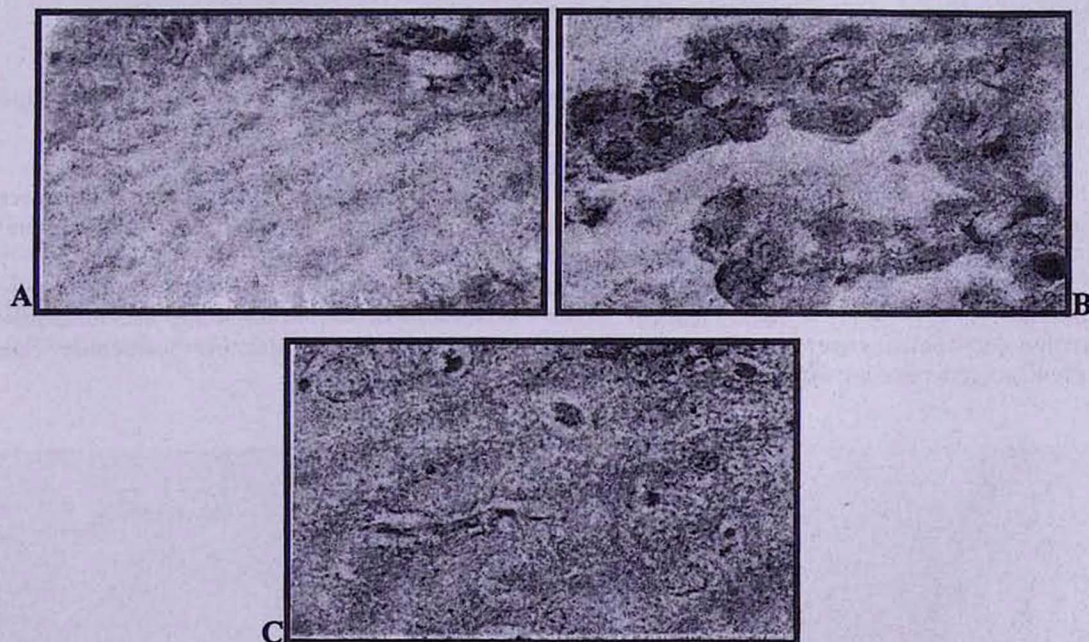


Рис.1. Серотонин в мозговых сосудах контрольных крыс:

А – серотонин в стенке базальной артерии. Наиболее интенсивно окрашены адвентиция и эндотелий и слабо – средняя оболочка, х 1000;

В – серотонин в эпителии сосудистых сплетений, х 1000;

С – очень низкое содержание серотонина в эндотелии внутримозговых капилляров, х 1000

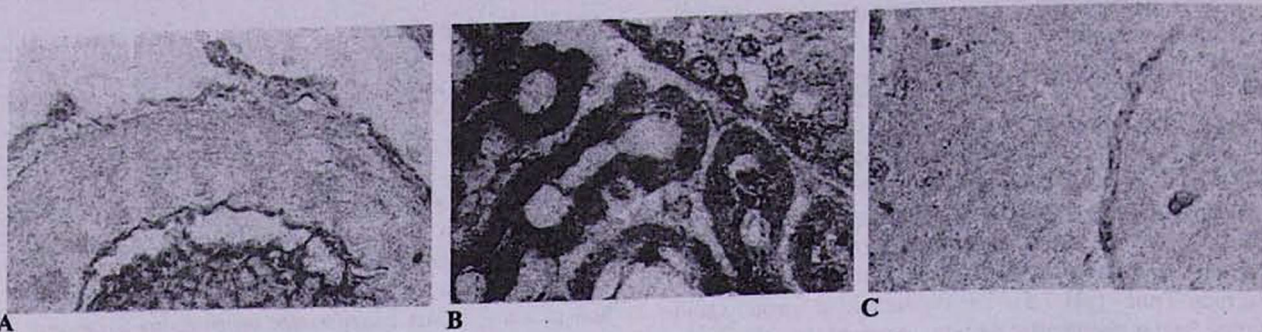


Рис. 2. Серотонин в мозговых сосудах крыс после 15-суточной гипокинезии:

А – серотонин в стенке базальной артерии, х 1000;

В – по сравнению с контролем более высокое содержание серотонина в эпителии сосудистых сплетений, х 1000;

С – низкое содержание серотонина в эндотелии внутримозговых капилляров, х 1000

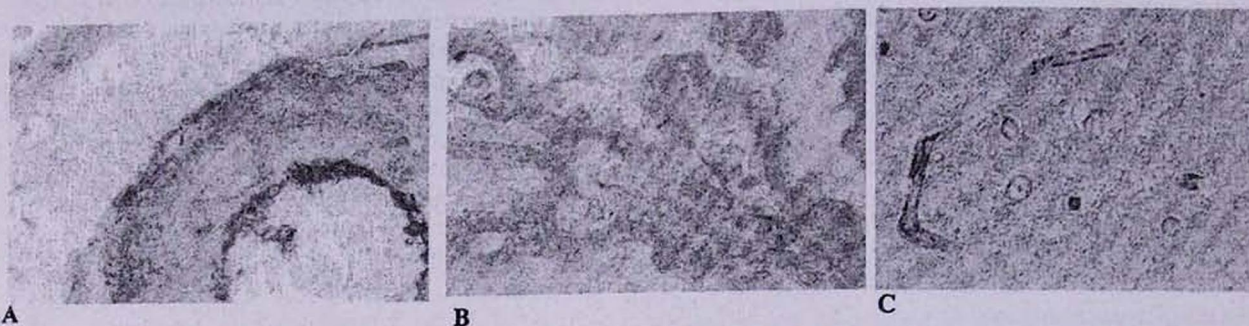


Рис. 3. Серотонин в мозговых сосудах крыс после 30-суточной гипокинезии:

А – умеренное содержание серотонина во всех слоях стенки базальной артерии, х 1000;

В – неравномерная интенсивность реакции на серотонин в эндотелии сосудистых сплетений, х 1000;

С – преимущественно низкое, местами умеренное содержание серотонина в эндотелии внутримозговых капилляров, х 1000

На 30-е сутки гипокинезии наиболее интенсивная реакция на серотонин наблюдалась в эндотелии и адвентиции базальной артерии. В саркоплазме миоцитов повсеместно было отмечено умеренное содержание серотонина.

В эпителии сосудистых сплетений боковых желудочков интенсивность реакции была неоднородна – от

полного отсутствия до умеренного и высокого. В участках с интенсивной реакцией серотонина сосуды были резко расширены и полнокровны.

В эндотелии внутримозговых капилляров, вне зависимости от их локализации, наблюдалось преимущественно низкое, местами умеренное содержание серотонина (рис.3).

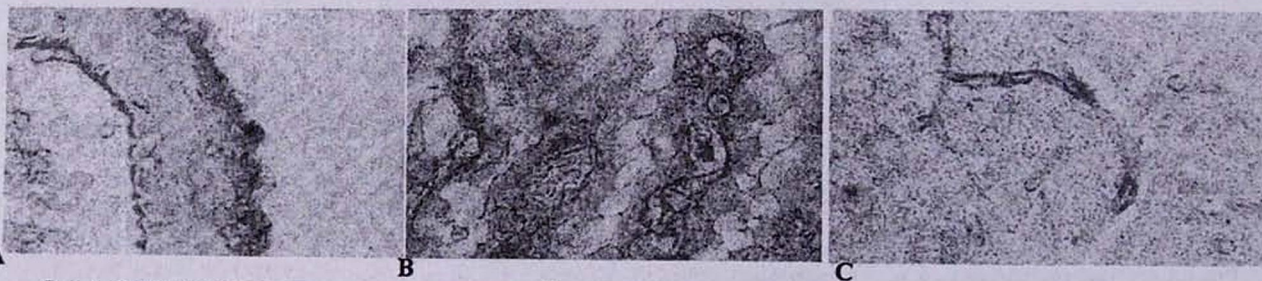


Рис. 4. Серотонин в мозговых сосудах крыс после 45-суточной гипокинезии:

А – высокое содержание серотонина в адвентиции и эндотелии и равномерно-умеренное во всей толще мышечной оболочки базальной артерии, х 1000;

В – интенсивная реакция на серотонин в эндотелии сосудистых сплетений, х 1000;

С – высокое содержание серотонина в эндотелии внутримозговых капилляров, х 1000

На 45-е сутки ограничения двигательной активности во всех исследуемых областях, по сравнению с контролем и предыдущими сроками гипокинезии, было отмечено повышение содержания серотонина. Во всех слоях базальной артерии была выявлена интенсивная экспрессия серотонина. Особенно интенсивно прореагировала мышечная оболочка.

В эндотелии внутримозговых капилляров и сосудистых сплетений боковых желудочков также наблюдалась интенсивная реакция на серотонин (рис.4).

Таким образом, из всех исследованных областей интенсивней остальных на серотонин прореагировала базальная артерия, причем интенсивность реакции возрастала со сроком ограничения двигательной активности, достигая максимума на 45-е сутки, когда серотонин определялся уже во всех слоях базальной артерии. Внутримозговые капилляры характеризовались преимущественно слабой интенсивностью, а сосудистые сплетения боковых желудочков – неоднородностью реакции на серотонин.

Поступила 25.07.06

Սերոտոնինի իմունահիստոքիմիական որոշումը ուղեղային անոթներում շարժողական ակտիվության սահմանափակման պայմաններում

Վ.Ն. Կարապետյան

Շարժողական ակտիվության սահմանափակման 15-, 30- և 45-րդ օրերին առնետների ուղեղի հիմային արգրկերակում, ներուղեղային մազանոթներում և ակտոմային փորքների անոթային հյուսակում իմունահիստոքիմիական եղանակով որոշվել է սերոտոնինի մակարդակը: Սերոտոնինի հանդեպ ամենամիտենսիվ ռեակցիան գրանցվել է հիմային զարկերա-

կում, ընդ որում ռեակցիայի ինտենսիվությունը աճել է սակավաշարժության ժամանակաշրջանի մեծացման հետ զուգընթաց: Ներուղեղային մազանոթները աչքի են ընկել սերոտոնինի հանդեպ հիմնականում թույլ, իսկ կոմային փորքների անոթային հյուսակները՝ ամենամասեղ ռեակցիայով:

The determination of serotonin by immunohistochemistry in brain blood vessels in conditions of restricted movement activity

V.H. Karapetyan

Serotonin was immunohistochemically determined in rat brain basilar artery, intracerebral capillaries and vascular plexus of lateral ventricles on the 15- 30- and 45-th days of restricted movement activity. The most intensive reaction to serotonin was observed in basilar artery and

the intensity of reaction increased parallel with prolongation of restricted movement activity period. In intracerebral capillaries the reaction to serotonin mainly was poor and in vascular plexus of lateral ventricles it was heterogeneous.

Լիտերատուրա

Акопян В.П. Гипокинезия и мозговое кровообращение. М., 1999, 240с.
Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М., 2001, 327с.
Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. М., 1980, 320с.
Мирзоян Р.С. Пути фармакологической регуляции мозгового кровообращения. Экспер. и клин. фармакол., 1995, т. 58, 4, с. 3-7.
Федоров И.В. Обмен веществ при гиподинамии, М., 1982, 252с.
Широков Е.А. Проблемы и перспективы превентивной ангионеврологии. ЦЭЛТ 10 лет по пути развития новых медицинских технологий. М., 2003, с. 40-44.

7. Marco E.J., Moreno M.J., Lopez de Pablo A.L. Local treatments of dorsal raphe nucleus induce changes in serotonergic activity in rat major cerebral arteries, Stroke, 1999, 30, p.1695-1701.
8. Moreno M.J., Lopez de Pablo A.L., Conde M.V., Marco E.J. Cat cerebral arteries are functionally innervated by serotonergic fibers from central and peripheral origins, Stroke, 1995, 26, p. 271-276.
9. Sluka K., Westlund K. Spinal projection of the locus coeruleus and the nucleus subcoeruleus in the Harlan and Sasco Sprague-Dawley rat, Brain Research, 1992, 579, issue1, p.67-73.