

На правах рукописи



Акулинин Виктор Александрович

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ
МЕХАНИЗМЫ РЕОРГАНИЗАЦИИ ДЕНДРИТОВ
НЕРВНЫХ КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА
В ПОСТИШЕМИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ**

14 00.15 - патологическая анатомия
03.00.25 - гистология, цитология и клеточная биология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Омск-2004

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации Омской государственной медицинской академии

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор Семченко Валерий Васильевич

Официальные оппоненты:

Заслуженный деятель науки, чл.-корр. РАМН,
доктор медицинских наук, профессор Шкурупий Вячеслав Алексеевич
доктор медицинских наук, профессор Конев Владимир Павлович
доктор медицинских наук, профессор Иванов Владимир Викторович

Ведущая организация: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Российский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится 18 декабря 2004 г. в 10 часов на заседании Диссертационного совета Д208.065/04 Омской государственной медицинской академии по адресу: 644099. Омск, ул. Ленина, 12, тел (3812)233289

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Омской государственной медицинской академии

Автореферат разослан «15» ноября 2004 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, доцент Ваганова И.Г. Ваганова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

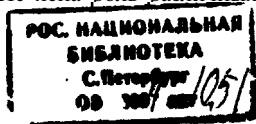
Актуальность проблемы. Дендриты, специализированные для восприятия афферентной импульсации отростки нейронов, посредством химических синапсов обеспечивают межнейронные взаимоотношения в центральной нервной системе млекопитающих (Сотников О.С. и др., 1994; Calverley R.K.S., Jones D.G., 1990; Matus A., 2000; Kaech S. et al., 2001; Segal M., 2001; Sheng M., 2001). Они осуществляют пространственную и временную суммацию афферентных импульсов, регулируют электротоническое распространение постсинаптических потенциалов к триггерным зонам нейрона (Шеперд Г., 1987). Названные функции опосредуются комплексом механизмов, реализация которых затрагивает практически все уровни структурно-функциональной организации дендритов (Sheng M., 2001; Toni N. et al., 2001; Jourdain P. et al., 2003).

Имеются данные о том, что любые физиологические и патологические влияния на мозг проявляются структурными изменениями синаптических контактов, пре- и постсинаптической зон (форма и размеры терминали, шипиков), дистальных отделов дендритного дерева и цитоскелета дендритов. Структурный гомеостаз на уровне дендритных отростков нейронов поддерживается посредством постоянной реализации механизмов деструкции и образования новых контактов, их созревания, активации, трансформации активно функционирующих синапсов в гипертрофированные с последующей их реорганизацией в более сложные синаптические устройства, а также гиперплазии структурных компонентов дендрита и роста его отростков (Jones D.G., Harris R.J., 1995; Edwards F.A., 1995; Kolodziej S.J. et al., 2000; Matus A., 2000; Geinisman, Y. et al., 2001; Kaech S. et al., 2001; Segal M., 2001).

Активация мозга сопровождается усложнением пространственной организации наиболее пластичных отделов дендритного дерева, увеличением эффективности афферентных входов. Инактивация, напротив, приводит к упрощению организации дендритов. Острое воздействие ишемии на мозг, несмотря на включение компенсаторных процессов, первоначально за счет Ca^{2+} -зависимых механизмов эксайтотоксического повреждения приводит к деструкции значительной части дендритного дерева поврежденных нейронов, а затем - к выраженной стимуляции компенсаторно-восстановительных процессов преимущественно в дистальной зоне дендритного дерева, образующей основную массу межнейронных контактов сохранившихся нейронов (Guidner F. H., Phillips S. C., 1986; Jones D.G., Calverley R.K., 1991; Jones D.G.; Harris R.J., 1995; Jourdain P. et al., 2003).

Высокая избирательная чувствительность дендритов к гипоксии и ишемии мозга послужила основанием целенаправленного исследования этих образований нейрона при изучении патогенеза постишемической энцефалопатии. Дана подробная ультраструктурная характеристика дендритов при различных ишемических и гипоксических состояниях мозга (Семченко В.В. и др., 1995, 1999; Geinisman Y., 1993, 1996; Fitzsimonds R.M., Poo M.M., 1998).

Однако эти данные получены в основном при изучении раннего постишемического периода и недостаточны для расшифровки общебиологических закономерностей реорганизации межнейронных взаимоотношений в отдаленном постишемическом периоде. Не ясна роль различных уровней



структурно-функциональной организации дендритов (зона синаптического контакта → шипик → ветви 3-го → 2-го → 1-го уровня) и дендритного цитоскелета в механизмах постсинаптической пластической реорганизации нейронов головного мозга

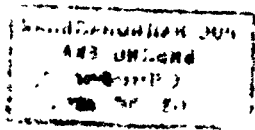
Для ответа на эти и другие вопросы представляется важным детальное исследование всех уровней дендритного дерева нейронов различных отделов головного мозга экспериментальных животных и человека в отдаленном периоде после тотальной ишемии мозга. Необходима сравнительная гистологическая характеристика апикальных и базальных дендритов пирамидных нейронов, пространственной организации дендритного дерева в целом и отдельных его компонентов (шипики, зоны ветвления и др.) в динамике постишемического периода. Исследование пространственной реорганизации дендритов в отдаленном постишемическом периоде целесообразно проводить параллельно с изучением динамики реактивных, дистрофических, некробиотических и компенсаторно-восстановительных процессов в нейронах с помощью электронномикроскопических и иммуногистохимических методов.

Работы по патологии нейронов подобного рода отсутствуют, но они необходимы для определения структурной базы механизмов, лежащих в основе нарушения и восстановления интегративно-пусковой деятельности мозга в отдаленном постишемическом периоде. Это позволит более осознанно и целенаправленно воздействовать на реорганизацию межнейронных взаимоотношений в постишемическом периоде, контролировать процессы реабилитации функций мозга и блокировать образование патологических систем мозга

Цель исследования. Выявить закономерности структурно- функциональной организации дендритов различных типов нейронов в головном мозге в норме, при ишемии и в отдаленном постишемическом периоде для определения морфологических основ постишемической энцефалопатии.

Задачи исследования:

1. Изучить цитоархитектонику сенсомоторной коры большого мозга, вентролатеральных ядер таламуса и ретикулярной формации продолговатого мозга белых крыс в отдаленном постишемическом периоде.
2. Провести сравнительный анализ пространственной организации дендритного дерева пирамидных нейронов слоев III и V сенсомоторной коры большого мозга, ретикулярных нейронов вентролатеральных ядер таламуса и гигантоклеточных нейронов ретикулярной формации продолговатого мозга белых крыс в отдаленном постишемическом периоде.
3. Осуществить сравнительный анализ изменения аксо-шипиковых и аксо-дендритных синапсов различных слоев сенсомоторной коры, вентролатеральных ядер таламуса и ретикулярной формации продолговатого мозга белых крыс в отдаленном постишемическом периоде.
4. Установить закономерности пространственной реорганизации различных отделов дендритного дерева пирамидных нейронов соматосенсорной коры белых крыс в постишемическом периоде с помощью метода ретроградной люминесцентной окраски дендролеммы (Dil-метод) и сопоставить их с данными метода Гольджи.
5. С помощью иммуногистохимических методов провести сравнительный



анализ состояния опорно-двигательной системы нейрона, рецепторно-барьерно-транспортной системы, системы синтеза биополимеров, системы хранения, воспроизведения и реализации генетической информации, а также систем, обеспечивающих регуляцию внутриклеточного ионного гомеостаза нейронов коры большого мозга человека в отдаленном постинсультном периоде.

6. Выявить морфологические диагностические критерии постинсультной энцефалопатии.

Научная новизна. В настоящей работе впервые дана сравнительная развернутая характеристика дендритов головного мозга белых крыс и человека в отдаленном постинсультном периоде. Раскрыты структурные механизмы, лежащие в основе реактивной и пластической реорганизации дендритного дерева, представлены новые данные о пластичности и регуляции структурного гомеостаза на различных уровнях структурно-функциональной организации дендрита. Физиологические и реактивные пространственные изменения дендритов зависят от типа (апикальный, базальный) и уровня иерархической организации дендрита (дистальный, проксимальный). Показано, что дендриты различных типов и уровней имеют различную устойчивость к ишемии, отличаются вариабельностью пространственной рекомбинации в постинсультном периоде. Впервые дана сравнительная характеристика пространственных изменений дендритного дерева различных отделов головного мозга в процессе повреждения и восстановления нейронов. Показано, что деструктивные и репаративные процессы находятся в динамическом равновесии. В отдаленном постинсультном периоде дендритное дерево активных нейронов гипертрофируется; усложнение пространственной организации дендритного дерева происходит в основном за счет дистальной зоны мелких дендритов 2-3-го порядка, активации процессов гиперплазии в фокусах ветвления дендритов. Показана роль механизмов расщепления гипертрофированных синапсов, в результате чего происходит усложнение пространственной организации синаптического устройства по конвергентному или дивергентному типу и рост дистальных дендритов, а также увеличение числа дендритных шипиков.

Выявлены общие и специфические для конкретных нейронов и отделов мозга закономерности пространственной реорганизации дендритов в отдаленном постинсультном периоде. Степень этой реорганизации отличается в различных нейронах и отделах мозга. Показано, что активно функционирующий нейрон в силу особенностей организации дендритов и распределения синапсов имеет нестабильную дистальную зону дендритного дерева, посредством реорганизации которой реализуются высокие пластические возможности нейрона.

Впервые для отдаленного постинсультного периода выявлено, что, несмотря на особенности структурно-функциональной реорганизации дендритов различных отделов мозга, общебиологические закономерности этой реорганизации направлены в конечном итоге на восстановление площади рецептивного поля. Однако компенсаторная гиперактивность отдельных нейронов в постинсультном периоде приводит к значительному увеличению их рецептивного поля, а это, в свою очередь, может быть причиной усиления пространственной суммации импульсов и структурной основой

формирования генераторов патологически усиленного возбуждения, на основании которых в отдаленном постишемическом периоде образуются патологические системы мозга.

Теоретическое и практическое значение. Проведенные нами сравнительные количественные исследования дендроархитектоники нейронов различных отделов головного мозга в отдаленном постишемическом периоде существенным образом расширили представления о структурно-функциональных механизмах реактивности и пластичности нейронов. Расшифровка реактивных и пластических механизмов мозга на уровне дендритов служит фундаментальной базой для целенаправленного изыскания способов регуляции функций мозга, разработки патогенетически обоснованной профилактики и терапии постишемической энцефалопатии, стимуляции компенсаторно-восстановительных процессов.

Полученные данные трехмерного нейронного картирования различных областей мозга крыс являются чрезвычайно важной информацией для патологической морфологии и анатомии в изучении межнейрональных взаимоотношений на разных уровнях организации мозга в центральной нервной системе в норме, при экстремальных состояниях и в постишемическом периоде. Впервые разработаны диагностические тесты постишемической энцефалопатии в раннем и отдаленном периодах после травмы.

Данные иммуногистохимического исследования коры большого мозга человека свидетельствуют о переходе большинства нейронов на иной уровень функционирования, когда механизмы повреждения одних дендритов и синапсов (в основном дистальные дендриты и возбуждающие синапсы) сочетаются с механизмами активации компенсаторно-восстановительных процессов в других дендритах и синапсах (проксимальные дендриты и тормозные синапсы).

Внедрение результатов в практику. Данные о закономерностях структурных изменений дендритов головного мозга в постишемическом периоде используются в лекционных курсах медицинских университетов и академий на кафедрах гистологии, цитологии и эмбриологии, неврологии, анестезиологии и реаниматологии при изучении разделов "нервная ткань", "органы нервной системы", "нарушение мозгового кровообращения". Полученные в настоящем исследовании данные использованы при написании монографий: Семченко В.В., Боголепов Н.Н., Степанов С.С. "Синптоархитектоника коры большого мозга" (морфологические аспекты). - Омск: ИПК "Омич", 1995. - 168с; Семченко В.В., Степанов С.С., Алексеева Г.В. Постаноксическая энцефалопатия. - Омск: ИПК "Омич", 1999. - 446с.

Положения, выносимые на защиту:

1. В отдаленном постишемическом периоде выявлена высокая реактивность и пластичность дендритов, степень выраженности которых зависит от зоны дендрита, его типа, разновидности нейронов и отдела головного мозга.
2. В результате последовательного включения деструктивных и компенсаторно-восстановительных механизмов происходит реорганизация дендритного дерева активно функционирующих нейронов, которая является структурной основой усиления пространственной суммации афферентных импульсов. Нейропластические изменения на уровне денд-

ритов максимально реализуются в дистальной зоне дендритного дерева и дендритных синапсах.

3. Реорганизация дендритного дерева нейронов в отдаленном постишемическом периоде приводит как к восстановлению межнейронных отношений, так и к появлению гиперактивных нейронов, структурно-функциональные особенности которых делают их основой формирования патологических систем мозга.
4. Диагностическими тестами постишемической энцефалопатии являются: атипичное разрастание дендритного дерева, увеличение количества дендритных шипиков и усложнение синаптического аппарата.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на республиканской научной конференции «Морфологические науки практической медицины и биологии» (Омск, 1986), учредительном конгрессе международного общества патофизиологов (Москва, 1991), симпозиумах и конференциях НИИ мозга РАМН (Москва, 1989, 1990, 1991, 1992, 2000, 2001), научно-практической конференции НИИ общей реаниматологии РАМН (Москва, 1991), конференции ЦНИЛ Омской медицинской академии (Омск, 1991), конференции кафедры гистологии и эмбриологии Омской медицинской академии (Омск, 1992), международном симпозиуме, посвященном 85-летию академика РАМН В.А. Неговского (Москва, 1994), III съезде анатомов, гистологов и эмбриологов РФ (Тюмень, 1994), IV Российско-Шведском симпозиуме по новым исследованиям в неврологии (Москва, 1996), III международной конференции по функциональной нейроморфологии, посвященной 100-летию со дня рождения чл.-корр. АН и АМН СССР Н.Г. Колосова (Санкт-Петербург, 1997), проблемной комиссии "Морфология" РАМН Сибирское отделение (Новосибирск, 1997), IV конгрессе Европейского общества реаниматологов (Копенгаген, Дания, 1998), конгрессе "Социальный мозг" (Александрия, Египет, 2002), конференции "Социальный мозг" (Гетеборг, Швеция, 2003).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 44 научные работы, в том числе в центральных отечественных и зарубежных журналах, в которых отражены основные положения диссертации.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 303 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, 3 глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций. Фактические данные иллюстрированы 35 графиками, 31 микрофотографией, 9 схемами и 1 таблицей. Список литературы включает 474 источника (63 отечественных и 411 иностранных авторов).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Экспериментальная модель

Эксперименты выполнены на 120 половозрелых белых крысах массой 170-210 г с соблюдением всех правил работы с лабораторными животными (приказ МЗ РФ №755 от 12.08.77). Под эфирным наркозом осуществляли интубацию крыс с помощью полихлорвиниловой трубки диаметром 2-2,5 мм. Тотальную ишемию организма вызывали путем 10-минутного пережатия

сердечно-сосудистого пучка без вскрытия грудной клетки с помощью Г-образного крючка (Корпачев В.Г. с соавт., 1982).

Реанимацию производили с помощью наружного массажа сердца и искусственной вентиляции легких воздухом через полихлорвиниловую трубку до появления роговичного рефлекса и ритмичного самостоятельного дыхания. Медикаментозная терапия в процессе восстановления системного кровотока не применялась. Сердечная деятельность восстанавливалась в течение первой минуты после начала массажа сердца. Первое дыхательное движение появлялось через 7-10 мин, а роговичный рефлекс — через 3-6 мин постишемического периода. Успешная реанимация составила 65%.

По данным литературы, в восстановительном периоде после ишемии, вызванной пережатием сосудистого пучка сердца, возобновление электрической активности мозга крыс регистрируется через 23-28 мин после начала реанимации (Kawai K. et al., 1992).

2. Методы исследования

Мозг животных фиксировали перфузией смеси раствора 4% параформальдегида и 1% глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4) с 5% раствором сахарозы в течение 15-20 мин под давлением 90 мм рт. ст. через аорту. Мозг для световой микроскопии забирали в конце операционного контроля (через 10 мин после пережатия сердечно-сосудистого пучка), через 3 и 7 сут, 1, 3, 5, 7 и 9 мес восстановительного периода (по 3 животных на каждый срок) и у контрольных (интактных) животных (n=5). Вырезали фронтальный блок мозга на уровне сенсомоторной коры, таламуса и продолговатого мозга с использованием стереотаксического атласа (Светухина В.М., 1962; Леонтович Т.А., 1978; Albe-Fessard D., 1966).

Световая микроскопия

Метод Гольджи. Кусочки мозга размером 3x5x5 мм и толщиной 150 мкм, включающие сенсомоторную кору и таламус, а также отдельный кусочек продолговатого мозга крыс, помещали на 2 сут. в 3,5% раствор K_2CrO_7 (раствор Мюллера), затем промывали и перекладывали в 1% раствор OsO_4 при температуре 37°C на 2 сут. Промывали и перекладывали в 0,75% раствор $AgNO_3$ на 3 суток. Импрегнацию проводили в темноте при комнатной температуре. Затем блоки мозга дегидратировали, заключали в целлоидин. На препаратах, импрегнированных по методу Гольджи, изучали пирамидные нейроны слоев II-III и слоев V-VI сенсомоторной коры мозга крыс, а также ретикулярные нейроны вентролатерального ядра таламуса и гигантоклеточные нейроны продолговатого мозга. Эти нейроны зарисовывали с помощью «Camera lucida» на микроскопе «Ortholux» (Leitz, Germany) при увеличении x800. На точных зарисовках нейронов проводили количественный анализ геометрии дендритов нейронов (по 15 клеток в каждой группе) по методу Т.А. Леонтович (1978). С помощью графической программы через дигитайзер вводили в компьютер и анализировали две группы измеряемых и производных количественных параметров.

Кроме того, для более полной характеристики дендритов подсчитывали численную плотность дендритных шипиков на протяжении 100 мкм длины дендрита пирамидных нейронов в слоях II-III и V-VI сенсомоторной коры

мозга крыс. В зависимости от типа пирамидного нейрона подсчет шипиков проводили на апикальных, косых апикальных дендритах, стволе апикального дендрита и на базальных дендритах (Беличенко П.В., 1988) при увеличении $\times 600$ под микроскопом «Ortholux» (Leitz, Germany).

Метод Лиселя. Фронтальные кусочки головного мозга фиксировали в 10% формалине в течение 6 сут, промывали в проточной воде в течение 24 часов, затем дегидратировали в этаноле и заливали в парафин. Полученные парафиновые блоки резали фронтально толщиной 20 мкм и окрашивали крезил-виолетом.

На препаратах оценивалась общая цитоархитектоника и проводился морфометрический анализ: выявление общей численной плотности нейронов, определение содержания реактивно, дистрофически и некробиотически измененных нейронов в различных слоях сенсомоторной коры, вентролатеральном ядре таламуса и ретикулярной формации продолговатого мозга. Для этого в каждом случае (срок, $n=5$) численную плотность нейронов в единице плоскости среза (N_s) определяли на фронтальных срезах при увеличении $\times 40$ с помощью микрометра (окуляр $\times 15$). На общей площади среза 126660 мкм^2 (10 полей зрения) подсчитывали количество нормохромных, гиперхромных несморщенных, гиперхромных сморщенных, гипохромных нейронов и клеток-теней. С помощью микрометра определяли продольный (D1) и поперечный (D2) диаметры тела нейронов. Средний диаметр тел нейрона (Dcp) рассчитывали, как: $(D1+D2)/2$. Dcp использовался в формуле Abercrombie (1946) для определения численной плотности нейронов в единице объема (N_v). N_v в 1 мм^3 рассчитывалась как: $N_v = N_s T / (D_{cp} + T)$ (Блинков С.М., Глезер И.И., 1964).

Люминесцентная микроскопия

Использовали флюоресцентную липофильную метку Dil (1,1'-diocetadecyl-3,3,3', 3'-tetramethyl-indocarbocyanineperchlorate). Это вещество способно к орто- и антидромному распространению вдоль клеточных мембран фиксированной ткани мозга без прохождения через синаптические контакты. Ортодромное распространение Dil окрашивает аксоны вплоть до их терминалей, антидромное - тела нейронов, дендриты и их шипики (Hempel С.М.Е. et al., 1993; Kurotani T. et al., 1993). Это позволяет проследить ход окрашенных горизонтальных межмодульных, межсегментных аксонов коры до симметричных участков по другую сторону повреждения и обратно. На полученных с помощью люминесцентного микроскопа фотографиях определяли форму и размеры различных дендритов, а также численную плотность шипиков.

Электронная микроскопия

Для электронномикроскопического исследования после перфузионной фиксации головной мозг извлекали, выделяли сенсомоторную область коры большого мозга (поля Fpa и Fpp), вентролатеральное ядро таламуса и участки ретикулярной формации продолговатого мозга (Paxinos G., Watson Ch., 1982). Выделенные фрагменты дофиксировали в аналогичном фиксаторе при $+4^\circ\text{C}$. Затем материал измельчали, промывали в фосфатном буфере. Одну часть материала (по 5 кусочков на случай) контрастировали в 1% растворе

четыреокси осмия, другую - в 5% спиртовом растворе фосфорновольфрамовой кислоты (ФВК), что значительно улучшает контраст активной зоны межнейронных контактов (Vrensen G. e.a, 1980). Блоки заключали в смесь эпона и аралдита. Для последующего просмотра материала использовали ультратонкие (70-100 нм) срезы, которые готовили на ультрамикротоме УМТП-4 и "Ultracut-E" (фирма Reichert-Jung). Все срезы помещали на сетки без подложки, а срезы с осмированного материала дополнительно контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Просмотр и фотографирование ультратонких срезов производили на электронном микроскопе "Hitachi-600H".

На осмированных препаратах проводилась общая оценка состояния нейропила и клеток мозга. Для морфометрического анализа межнейронных синапсов использовали ФВК-материал. В каждой группе животных фотографировали до 50 полей нейропила ($\times 12000$). Определение численной плотности синаптических контактов проводили с помощью фотоувеличителя на электроннограммах при конечном увеличении $\times 30000$. Для количественной оценки общей численной плотности синаптических контактов использовались только поперечные профили контактов, где четко верифицируются пре- и постсинаптические зоны. Численная плотность синаптических контактов относительно единицы площади среза (N_s) пересчитывалась на 100 мкм^2 нейропила.

Иммуногистохимические методы (конфокальная лазерная сканирующая микроскопия)

Для иммуногистохимического исследования использовали участки различных отделов коры большого мозга (лобная, теменная, височная, затылочная) больных ($n=6$), умерших через 7 сут, 3 и 12 мес после клинической смерти, вызванной остановкой системного кровотока в результате инфаркта миокарда. Контролем служил мозг погибших в результате несчастных случаев ($n=8$).

Аутопсийный материал забирали в первые сутки после смерти. Исследовались следующие поля неокортекса: 4 (моторное), 2 (височное), 10 (лобное) и 17 (зрительное). Кусочек каждой области коры размером $20 \times 10 \times 10$ мм погружался в 4% раствор параформальдегида с 0,1 М фосфатным буфером (ФБ) при pH 7,4 и хранился в этом растворе в холодильнике при температуре 4°C до последующей проводки. Срезы толщиной 10 мкм делались во фронтальной плоскости через все слои коры на замораживающем криостате (Cryostat, Leica, Germany). Часть срезов хранили в ФБ при 4°C и использовали для иммунофлуоресцентной инкубации. Другую часть срезов окрашивали крезил-виолетом для обзорной микроскопии.

Для иммуногистохимического исследования готовили по 5 срезов с каждого исследуемого поля коры большого мозга промывали от параформа в 0,1 М фосфатном буфере при pH 7,4. Далее помещали срезы в 5% обезжиренное молоко с соевым ФБ (СФБ) при комнатной температуре в течение 1 ч. 3-л-ем осторожно отсасывали пипеткой СФБ. Использовали следующие первичные антитела: 1) синаптофизин (synaptophysin, p-38; предоставлен P. Greengard, New Yoik, USA; разведение] :5000); 2) ассоциированный протеин роста (Growth associated protein, GAP-43; предоставлен G. Wilkin, London,

УК; разведение 1:3000); 3) микротрубочко-ассоциированный протеин (Microtubule-associated protein, MAP-2; Sigma Chemicals, St. Louis, USA; разведение 1:400); 4) ядерный нейрональный протеин (Neuronal nuclei protein, NeuN; CHEMICON International Inc., Temecula, CA, USA; разведение 1:500); 5) калбиндин (Calbindin D_{28k}; SWant, Swiss antibodies, Switzerland; разведение 1:400); 6) нейропептид Y (Neuropeptide Y, NPY; Sigma Chemicals, St. Louis, USA; разведение **1:8000**); 7) глиальный кислый фибриллярный протеин (Glial fibrillary acidic protein, GFAP; DAKO, Glostrup, Denmark; разведение 1:800).

Каждое первичное антитело оставляли на 12-14 ч при комнатной температуре на качающейся поверхности. Затем три раза в течение 15 мин промывали в ФБ. Далее срезы инкубировали со вторичными антителами (Biotinylated anti-mouse; Sigma Chemicals, St. Louis, USA; разведение 1:200) в 0,1 М СФБ при pH 7,4 с раствором 0,3% Triton X100 в течение 2 ч. Затем три раза в течение 15 мин промывали в ФБ. Далее срезы помещали с FITC-связанным стрептавидином (FITC-conjugated streptavidin; Amersham, Buckinghamshire, UK; разведение 1:200) в 0,1 М СФБ при pH 7,4 в темной комнате в течение 1 ч. После этого три раза в течение 15 мин промывали в ФБ. Все срезы были заключены под покровное стекло в 90% глицерин, приготовленный на ФБ.

Иммуногистохимические препараты просматривались на BioRad MRC 600 - конфокальном лазерном сканирующем микроскопе, присоединенном к флюоресцентному микроскопу Nikon FXA. Для обработки и количественного анализа изображений нами использовалась программа «Pixel Anatomy» (Belichenko P.V. et al, 1996).

Статистический анализ. Полученные результаты обработаны общепринятыми в медико-биологических исследованиях методами статистического анализа с применением программ SYSTAT, EXCEL, STATISTICA и "StarView". В зависимости от характера распределения для определения достоверности отличий результатов в различных экспериментальных группах применяли непараметрический критерий Колмагорова-Смирнова и t-критерий Стьюдента для независимых выборок. В каждой сравниваемой группе количество измерений определялось требованиями выявления достоверности при $K=0,05$, что является достаточным для биологических объектов (Автандилов ГГ., 1980).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Закономерности изменения дендроархитектоники сенсомоторной коры, вентролатерального таламуса и продолговатого мозга белых крыс в постишемическом периоде

Сенсомоторная кора. Общая картина дендроархитектоники сенсомоторной коры (СМК) слоев III и V, вентролатерального ядра (ВЛЯ) таламуса и продолговатого мозга в контроле и в постишемическом периоде определялась нами с помощью импрегнации нервной ткани по методу Гольджи. В результате применения этого метода окрашивается цитоскелет дендритно-

го дерева (ДД) и тела нейронов, что позволяет количественно оценить параметры, характеризующие число дендритных ветвей различного уровня, степень их ветвления, объем дендритной территории, протяженность различных дендритов и численную плотность дендритных шипиков (ДШ) в динамике постишемического периода.

Дендритное дерево пирамидных нейронов (ПН) Ш и V слоев СМК большого мозга контрольных животных - сложное пространственное образование, представленное системой дендритов разного диаметра, протяженности и топографии. Для ПН неокортекса характерно наличие толстых и коротких базальных, толстых и длинных апикальных проксимальных дендритов первого порядка, средних коротких и тонких длинных дистальных дендритов второго и третьего порядка. Последние составляют около 90% от общей длины дендритов ПН. На всем протяжении дендритов выявляются специализированные образования дендритов - дендритные шипики, которые отличаются формой и плотностью расположения на дендритах. Основная масса афферентных волокон оканчивается на мелких и средних шипиках дистальных дендритов 2-го и 3-го порядка, которые характеризуются наименьшим диаметром и наивысшим сопротивлением для электротонического распространения импульса (Чиженкова Р.А., 1986; Holmes W.R., 1989).

Максимальная редукция ДД пирамидных нейронов слоя Ш СМК отмечалась через 7 сут постишемического периода по сравнению с контролем. Так, через 7 сут после ишемии общая длина дендритов (Ld) пирамидных нейронов слоя Ш уменьшилась на 29,8% ($p < 0,05$), длина базальных дендритов (Ld bas) - на 35,5% ($p < 0,05$), при этом площадь апикальных дендритов (Sd apic) уменьшилась на 41,2% ($p < 0,05$), а площадь базальных дендритов (Sd bas) - на 33,4% ($p < 0,05$), объем дендритной территории (Vdt) уменьшился уже через 3 сут постишемического периода на 34,2% ($p < 0,05$) и через 7 сут - на 59,1% ($p < 0,05$).

Через 30 сут после ишемии все измеряемые и производные показатели, характеризующие дендроархитектонику ПН слоя Ш СМК мозга крыс, соответствовали контрольному уровню. В более отдаленном периоде (3-9 мес) только через 5 мес появлялись признаки повторной деструкции дистальных дендритов. До уровня 7-х сут снижались такие показатели, как общая длина дендритов, длина базальных дендритов, общая площадь дендритного поля, площадь базальных дендритов ПН, максимальный радиус верхушечных апикальных дендритов, объем дендритного поля.

Через 7 мес после ишемии все параметры ДД пирамидных нейронов слоя Ш СМК вновь соответствовали контрольному уровню и больше не изменялись в течение последующих двух месяцев.

Достоверное снижение численной плотности ДШ апикальных дендритов ПН слоя Ш СМК мозга на уровне слоев I-II отмечалось через 7 сут (на 42,9%, $p < 0,01$), а в остальных отделах - уже через 3 сут. В первые 3-е сут. острогостишемического периода отмечалось практически полное сохранение ДШ на дистальных апикальных дендритах и равномерное уменьшение численной плотности шипиков всех остальных отделов ДД пирамидных нейронов слоя Ш СМК мозга. В подостром периоде (7 сут) процесс деструкции шипиков углублялся и охватывал все отделы ДД. Однако сте-

пень редукции численной плотности шипиков на дистальных дендритах в этот период значительно превалировала над таковой на проксимальных дендритах (ствол) - соответственно 42,9-50,0% ($p < 0,05$) и 18,8% ($p < 0,05$). Полное восстановление численной плотности шипиков отмечалось через 3 мес после ишемии. Однако через 5 мес постшемического периода выявлялась новая волна деструкции шипиков, в результате чего их численная плотность снижалась до уровня острого и подострого периодов. Исход вторичного повреждения ДШ в отдаленном периоде отличался от такового в остром периоде тем, что полного восстановления численной плотности шипиков всех отделов ДД до контрольного уровня не происходило даже через 9 мес постшемического периода. В зоне дистальных апикальных дендритов сохранялся дефицит 53,6% ($p < 0,01$) шипиков. Все это свидетельствует о значительной реорганизации дендроархитектоники ПН слоя Ш СМК мозга в отдаленном постшемическом периоде.

Совершенно иная динамика изменения дендроархитектоники характерна для ПН слоя V СМК мозга. Достоверное снижение основных параметров, характеризующих ДД, отмечалось уже через 3 сут постшемического периода. Так, по сравнению с контролем через 3 сут после ишемии общая длина дендритов (Ld) пирамидных нейронов слоя V СМК уменьшилась на 52,5% ($p < 0,01$), общая площадь дендритного поля (Sda) - на 39,8% ($p < 0,05$), при этом площадь апикальных дендритов (Sd apic) уменьшилась на 41,1% ($p < 0,05$), а площадь базальных дендритов (Sd bas) - на 67,5% ($p < 0,01$) (рис. 1).

Через 7 сут после ишемии происходило дальнейшее углубление процесса деструкции ДД. Через 30 сут после ишемии основная масса измеряемых и производных показателей, характеризующих дендроархитектонику ПН слоя V СМК мозга крыс, в отличие от ПН слоя III СМК, оставалась на низком уровне. Однако на этом фоне до контрольного уровня восстанавливались показатели, характеризующие степень разветвленности дендритов, длины дендритов по всей дендритной территории и максимального радиуса базального дендритного поля. Все это свидетельствовало об активации компенсаторно-восстановительных механизмов. Несмотря на это, даже через 3 мес после ишемии сохранялись выраженные признаки редукции дистальной части всех отделов дендритного дерева ПН слоя V СМК. Только через 5 мес после ишемии все параметры дендритного дерева ПН слоя V СМК соответствовали контрольному уровню и больше не изменялись в течение последующих четырех месяцев.

Таким образом, для больших ПН слоя V СМК характерна более ранняя (уже через 3 сут), чем для мелких ПН слоя III СМК, редукция значительной части ДД, выявляемая с помощью метода импрегнации по Гольджи. Редукция осуществлялась в основном за счет выпадения терминальных веточек дендритов 2-го и 3-го порядка. Для поврежденных нейронов было характерно наличие большого количества варикозных расширений на всем протяжении ДД и очаговые повреждения дендрита, которые чаще встречались на апикальном дендритном поле. Особенностью популяции крупных ПН является длительное сохранение в постшемическом периоде клеток с выраженными признаками повреждения дистальных дендритов (до 3 мес). Тем не менее, на основании данных об увеличении значений таких показателей, как число свободных концов у всех дендритов, общая разветвленность клет-

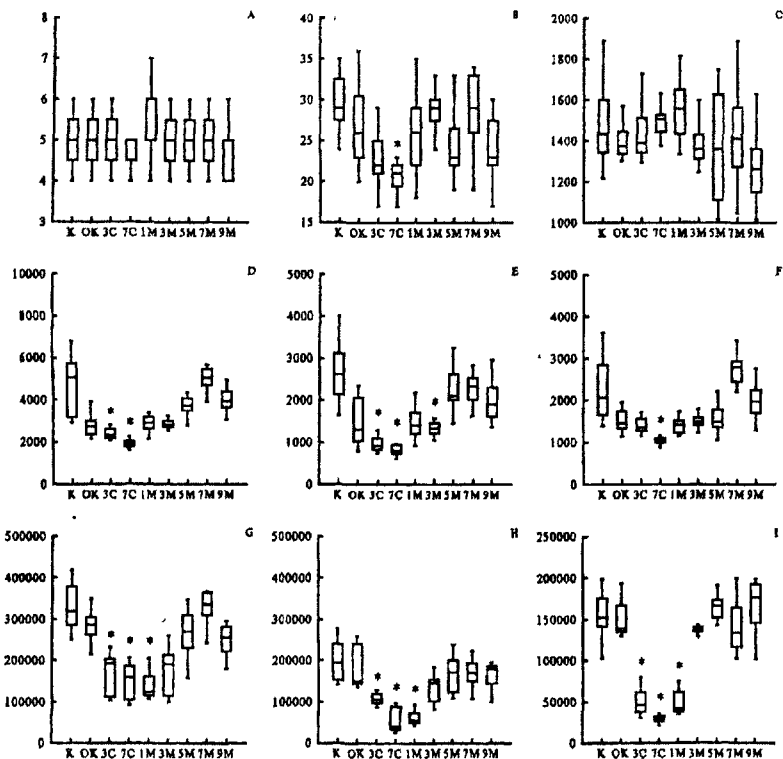


Рис.1. Количественная характеристика (измеряемые параметры) депдрoarхитек-тоники ПН слоя V CMK мозга белых крыс в контроле (К), операционном контроле (ОК), через 3, 7 сут, 1, 3, 5, 7 и 9 мес постишемического периода. А - число всех первичных депдритов (d), В - число свободных концов у всех дендритов (Bd), С - площадь тела (Scl), D - общая длина дендритов (Ld), Е - длина апикальных дендритов (Ld apic), F - длина базальных дендритов(Ld bas), G - общая площадь дендритного поля (Sda), H - площадь апикальных дендритов (Sd apic), I - площадь базальных дендритов (Sd bas) пирамидных нейронов.

ки, разветвленность дендритов, общая длина дендритов во всей дендритной территории и максимальный радиус базального поля, можно судить об активации процессов образования новых вторичных и третичных дендритов, росте дендритов в длину и их разветвлении в этот период. Нормализация зсех показателей, характеризующих дендрoarхитектонику ПН слоя V CMK, происходит только через 5 мес - в тот период, когда в ПН слоя Ш CMK отмечается вторичная волна деструктивных изменений. Для ПН слоя V CMK вообще не характерна повторная, после восстановления в течение

3-5 мес всех параметров ДД, деструкция дендритов, даже проксимальных ветвей.

Вышеописанные существенные различия динамики изменения пространственной организации дендритного дерева ПН слоев Ш и V СМК не касаются их шипиков. Максимальное уменьшение количества ДШ пирамидных нейронов слоя V происходило через 3 и 7 сут постишемического периода на базальных дендритах. В более отдаленном периоде выявлялось персистентное волнообразное течение реорганизации популяции ДШ, когда деструкция шипиков периодически стимулировала процесс их репаративной регенерации. При этом сохранившиеся шипики утолщались и изменяли форму, в результате чего края дендритов становились неровными. Результатом репаративной регенерации было увеличение общей ишемической плотности шипиков до контрольного уровня через 30 сут после ишемии. Необходимо отметить, что этот процесс не совпадал по времени с процессом регенерации дистальных дендритных ветвей и в течение 3 мес осуществлялся на фоне выраженной редукции ДД только за счет проксимальных ветвей. Последующее восстановление проксимальных дендритных ветвей (через 5 мес), наоборот, совпадало с повторной редукцией значительной части шипиков на всех, кроме косых, дендритах. Подобное несоответствие было характерно только для крупных ПН слоя V СМК, и поэтому может быть рассмотрено как специфическое проявление заместительной реакции ДД этих нейронов в ответ на повреждение дистальных дендритов. Это свидетельствует в пользу того, что крупный ПН способен длительно (месяцы) поддерживать жизнедеятельность и функционировать за счет проксимальных неповрежденных дендритов 1-2-го порядка и на их основе восстанавливать поврежденные дистальные дендриты и межнейронные связи. В более отдаленном периоде происходит восстановление периферии ДД за счет роста мелких дистальных дендритов.

Таким образом, в СМК после острой 10-минутной ишемии в течение первых 7 сут происходит выраженная редукция дистальных отделов ДД нейронов и диффузно-очаговая деструкция ДШ на всех дендритах. Репаративная регенерация дендритных ветвей и шипиков в более отдаленном периоде происходит неравномерно и несинхронно. В отдаленном постишемическом периоде повторные деструктивные процессы в большей степени характерны для апикальных дендритов мелких ПН слоя Ш СМК, а пластическая реорганизация - для крупных ПН слоя V СМК мозга.

При окраске DiI-методом и импрегнации по Гольджи нейронов контрольных животных выявлялась принципиально сходная картина пространственной организации ДД и распределения шипиков. Однако при DiI-методе темный фон и более детальная проработка мембраны мелких дендритов и дендритных выростов позволяла значительно лучше оценить морфологию самых мелких дистальных дендритов ПН. Это становится возможным за счет того, что липидная фосфорилирующая метка DiI распространяется антеро- и ретроградно только вдоль фосфолипидного бислоя мембраны, верифицируя самые мелкие инвагинации дендролеммы и точно отражая геометрию цитолеммы. Метод Гольджи, в основе которого лежит взаимодействие ионов серебра с компонентами цитоскелета нейрона, дал информацию о структуре посредством выявления цитоскелетных филаментов,

являющихся структурной основой формообразования дендритов и их шипиков. Сочетанное использование выбранных нами методов верификации ДШ более объективно отражает реальную организацию шипиков, а результаты, полученные при их применении, не противоречат друг другу

При окраске по Гольджи поврежденные дендриты (даже при сохранении цитолеммы) прокрашиваются фрагментарно и дают несколько заниженные показатели численной плотности шипиков в зонах повреждения дендрита. Однако деструкция цитоскелета дендритов части нейронов в постишемическом периоде не является фатально необратимым процессом. При нормализации микроциркуляции цитоскелет восстанавливается, а как следствие, восстанавливается и прокраска шипиков и отростков методом Гольджи. То есть, увеличение при этом численной плотности шипиков можно ошибочно трактовать только как образование новых шипиков и не учитывать проявление старых, ранее не прокрашиваемых выростов дендрита. Особенно наглядно это проявляется во время интенсивного увеличения численной плотности шипиков на 30-е сут после ишемии в ПН слое Ш и V СМК, когда методом Гольджи выявлялось значительное увеличение численной плотности шипиков. В то же время при исследовании динамики изменения численной плотности синапсов электронномикроскопическим методом значительного роста плотности зрелых контактов в ПН слоя Ш СМК в этот период не найдено. Поэтому мы полагаем, что в постишемическом периоде при относительной нормализации микроциркуляции коры большого мозга увеличение количества шипиков в ПН слое Ш и V СМК происходит не только за счет образования новых шипиков, но и за счет «проявления» (при методе Гольджи) уже существующих шипиков в результате восстановления структурных и тинкториальных свойств филаментов поврежденного цитоскелета ДД нейронов за счет усиления внутриклеточной репаративной регенерации.

В течение 30 сут постишемического периода восприятие специфической соматосенсорной информации происходит в условиях значительного уменьшения площади контактов таламо-кортикальных проекций (слои III-IV). Это неизбежно приводит к изменениям пространственной суммации импульсов и нарушениям таламо-кортикальных взаимоотношений по типу ослабления и выпадения возбуждающего влияния специфических ядер таламуса.

В результате более интенсивного разрастания проекций неспецифических систем изменяется соотношение площади рецепторной поверхности нейронов, воспринимающей специфическую (III-IV слои) и неспецифическую информацию (слой I). Это изменяет корково-подкорковые взаимоотношения и усиливает неспецифическую активацию нейронов неокортекса.

Вентролатеральное ядро таламуса. На препаратах, обработанных с помощью метода Гольджи, ретикулярные клетки ВЛЯ таламуса контрольных животных располагались равномерно и были немногочисленны. Основные измеряемые и производные показатели, характеризующие пространственную организацию ДД, значительно изменялись уже через 3 сут после ишемии. Деструкция части дендритов ретикулярных нейронов таламуса сопровождалась появлением типичных признаков ишемического повреждения в сохранившихся дендритах - варикозных расширений и фрагментации цитоскелета.

Особенностью постишемической динамики изменения дендроархитектоники ВЛЯ таламуса являлось то, что максимальная редукция характеризующих ее показателей происходила уже через 3 сут, а через 7 сут отмечалась выраженная тенденция к их восстановлению. Достоверно увеличивались такие показатели, как общая длина дендритов, общая площадь дендритного поля, максимальный радиус дендритного поля, объем дендритного поля, объем дендритной территории, общая длина дендритов ретикулярных нейронов во всей дендритной территории. Однако полное восстановление всех изучаемых показателей до контрольного уровня происходило только через 3 мес после ишемии.

Еще одной особенностью постишемической реорганизации дендроархитектоники ВЛЯ таламуса было то, что в отдаленном периоде (7, 9 мес) появлялись нейроны, значительно (на 20-30%) превосходящие по размерам типичные нейроны таламуса контрольных животных. Это приводило к тому, что такие показатели, как площадь дендритного поля, максимальный радиус дендритного поля и объем дендритного поля у животных, перенесших ишемию, превосходил уровень данных показателей в контроле.

Таким образом, реорганизация дендроархитектоники ВЛЯ таламуса в течение длительного постишемического периода имела ярко выраженные особенности и отличалась от таковой СМК. Выявленная нами максимальная редукция ДД уже через 3 сут после ишемии, вероятно, связана с тем, что ретикулярные нейроны ВЛЯ таламуса в норме обладают очень длинными и тонкими дендритами с незначительным объемом цитоскелета. Подобные тонкие и длинные дендриты менее устойчивы к ишемии и в сенсомоторной коре. Именно за счет этих дендритов происходит редукция дистальной части ДД и в коре, и в таламусе. Особенностью ретикулярных нейронов ВЛЯ таламуса является то, что быстрая редукция дистальных дендритов сопровождается и столь же быстрым их восстановлением, и гипертрофией ДД. Это приводит к тому, что подобные нейроны ВЛЯ таламуса приобретают большую способность к пространственной суммации восходящих импульсов. Накопление таких нейронов в постишемическом периоде неизбежно приведет к изменениям таламо-кортикальных взаимоотношений и изменениям интегративно-пусковой деятельности головного мозга в целом.

Продолговатый мозг. Гигантоклеточные нейроны продолговатого мозга контрольных животных располагались по всей ретикулярной формации, имели крупное тело и 5-6 стволовых редковетвящихся дендритов, от которых отходили более тонкие и длинные дендриты 2-3-го порядка.

Через 3 сут постишемического периода, как и в таламусе, все параметры, характеризующие дендроархитектонику ретикулярной формации, достоверно уменьшались. Через 7 сут постишемического периода отмечалась тенденция к восстановлению почти всех параметров ДД. Дефицит общей длины дендритов составлял уже 47,2% ($p < 0,05$), общей площади дендритного поля - 55,7% ($p < 0,01$), а объема дендритного поля - 56,8% ($p < 0,01$). Через 30 сут после ишемии было отмечено восстановление всех параметров ДД до контрольного уровня. Особенностью реорганизации дендроархитектоники ретикулярной формации продолговатого мозга было то, что через 3 мес после ишемии происходило вторичное снижение уровня параметров, характеризующих степень разветвленности ДД. Число свободных

концов у всех дендритов снижалось на 26,7% ($p < 0,05$), общая разветвленность - на 30,2% ($p < 0,05$), разветвленность дендритов - на 24,1% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. На этом уровне показатели разветвленности оставались и через 5 мес после ишемии. Через 7 и 9 мес достоверных различий с контролем не было выявлено ни по одному параметру, характеризующему ДД нейронов ретикулярной формации продолговатого мозга.

Таким образом, как и в таламусе, максимальное повреждение ДД нейронов ретикулярной формации продолговатого мозга выявлено через 3 сут после ишемии. Однако через 30 сут все показатели соответствовали контрольному уровню. В более отдаленном периоде изменялись только показатели, характеризующие разветвленность дендритов. Сначала (3, 5 мес) эти показатели снижались, а затем возрастали до контрольного уровня (7,9 мес). Такой интегральный показатель, как относительная длина дендритов (E_{gs}) - отношение максимального радиуса дендритного поля к радиусу тела клетки, свидетельствует о том, что среди всех изученных отделов головного мозга в большей степени страдают эфферентные нейроны СМК. В ПН слоя Ш СМК после ишемии данный показатель вообще не меняется, в ВЛЯ таламуса уменьшается через 3 и 7 сут соответственно на 48,8% и 25,0%, в ретикулярной формации продолговатого мозга - на 29,8% (3 сут), а в ПН слоя V СМК - на 50,0% (3 сут), 52,9% (7 сут), 50,6% (30 сут) и на 36,8% через 3 мес. Все это свидетельствует о том, что ретикулярная формация продолговатого мозга в постишемическом периоде, в отличие от СМК и ВЛЯ таламуса, является очень стабильным образованием головного мозга.

Для непиримидных нейронов ВЛЯ таламуса и ретикулярной формации продолговатого мозга максимальное повреждение ДД выявлено через 3 сут после ишемии, а последующая реорганизация дендроархитектоники в течение длительного постишемического периода имеет ярко выраженные особенности и отличается от таковой СМК. В этих отделах мозга быстрая редукция дистальных дендритов сопровождается столь же быстрым их восстановлением и гипертрофией ДД.

2. Закономерности изменения цитоархитектоники сенсомоторной коры, вентролатерального таламуса и продолговатого мозга белых крыс в постишемическом периоде

В течение 30 сут постишемического периода общая численная плотность нейронов (в $0,001 \text{ мм}^3$) в СМК мозга и ВЛЯ таламуса достоверно уменьшалась по сравнению с контролем. В ПН слоях П-Ш СМК через 30 сут дефицит нейронов составил 35,9% ($p < 0,05$), в ПН слое V СМК - 32,5% ($p < 0,05$), а в ВЛЯ таламуса - 28,2% ($p < 0,05$). В более отдаленном периоде (3, 5, 7 и 9 мес) общая численная плотность нейронов этих отделов мозга достоверно не изменялась. Численная плотность нейронов ретикулярной формации продолговатого мозга достоверно не изменялась в течение всего постишемического периода (табл. 1).

Следовательно, тотальная 10-минутная ишемия приводит к существенным патологическим изменениям цитоархитектоники изученных отделов мозга в постишемическом периоде. При этом основная масса нейронов погибает и элиминируется в первые 30 сут после ишемии. В более отдаленном периоде сохраняется значительное содержание реактивно и дистрофи-

Таблица 1.

Численная плотность нейронов (на 0,001 мм³)
в различных отделах головного мозга белых крыс в норме
и постиншемическом периоде (M±m)

Отдел мозга	Контроль	Опера- ционный контроль	Постиншемический период						
			3 сут	7 сут	1 мес	3 мес	5 мес	7 мес	9 мес
СМК мозга									
- слои П-Ш	169 ± 3,2	165 ± 5,3	158 ± 2,6	159 ± 4,7	108 ± 3,3*	119 ± 3,6*	121 ± 4,1*	126 ± 2,2*	106 ± 3,5*
- слои V-VI	117 ± 2,1	117 ± 4,2	109 ± 2,7	107 ± 3,3	79 ± 3,0*	85 ± 4,4*	93 ± 2,9*	93 ± 2,5*	88 ± 2,7*
Ретикуляр- ные нейро- ны ВЛЯ таламуса	78 ± 0,4	72 ± 1,2	81 ± 0,8	79 ± 1,2	56 ± 1,0*	54 ± 1,1*	55 ± 0,7*	57 ± 1,2*	51 ± 1,3*
Гигантокле- точные нейроны ПМ	28 ± 0,7	29 ± 1,0	27 ± 1,1	29 ± 0,8	28 ± 0,5	26 ± 0,7	29 ± 0,7	26 ± 0,4	28 ± 0,9

Примечание. Достоверность различий рассчитана в сравнении с контролем (* - P<0,05).

чески измененных нейронов, но общая численная плотность нейронов оста-
ется стабильной.

Вполне вероятно, что нейроны после ишемии подвергаются некрозу и апоптозу. По литературным данным, в постиншемическом периоде реализуются оба типа клеточной смерти, а соотношение типов гибели нейронов по объему повреждения клеток зависит от характера и продолжительности ишемии (Nitatori T., 1995). Необратимым некробиотическим изменениям подвержены только некоторые наиболее чувствительные нейроны в СМК и ВЛЯ таламуса головного мозга. Остальные нейроны нормально функционируют или подвергаются апоптозу в более отдаленном периоде. Из трех представленных отделов мозга максимально страдает популяция нейронов СМК, меньше повреждаются ретикулярные нейроны ВЛЯ таламуса, а для гигантоклеточных нейронов продолговатого мозга характерно наличие только обратимых реактивных и дистрофических изменений.

Мы полагаем, что именно наличие персистирующей зоны деструктивно измененных дистальных дендритов (непрокрашиваемых при импрегнации серебром) с грубыми нарушениями ионного гомеостаза, патологической деполяризацией мембран и нарушениями дендротока вследствие повреждения цитоскелета может быть причиной снижения порога возбуждения этих поврежденных нейронов. Увеличение количества подобных нейронов во всех отделах мозга после ишемии до некоего критического уровня приводит, вероятно, к появлению генераторов патологически усиленного возбуждения (Крыжановский Г.Н., 1997) В свою очередь, последние становятся дополнительным патогенетическим фактором, препятствующим нормализации трофики и реализации компенсаторно-восстановительных процес-

сов нейронов, способствуя длительному сохранению в отдаленном постишемическом периоде реактивно измененных нейронов. Эти нейроны могут быть структурной базой формирования патологических систем мозга в постишемическом периоде.

3. Закономерности изменения синаптоархитектуры сенсомоторной коры, вентролатерального таламуса и продолговатого мозга белых крыс в постишемическом периоде

Периодическая активация механизмов деструкции синапсов неизбежно сопровождается параллельной активацией механизмов новообразования и реорганизации сохранившихся синапсов, а интенсивность этих механизмов в ишемически измененном мозге значительно выше, чем в неповрежденном.

В отдаленном постишемическом периоде происходит существенная реорганизация межнейронных взаимоотношений всех изученных отделов мозга. По совокупности признаков (динамика изменения численной плотности и относительного содержания различных типов синаптических контактов в разных отделах мозга) максимально выраженные изменения синаптоархитектуры СМК мозга характерны для 3, 7 сут, 1 и 5 мес, а подкорковых образований - 3, 7 сут и 5 мес постишемического периода (рис 2).

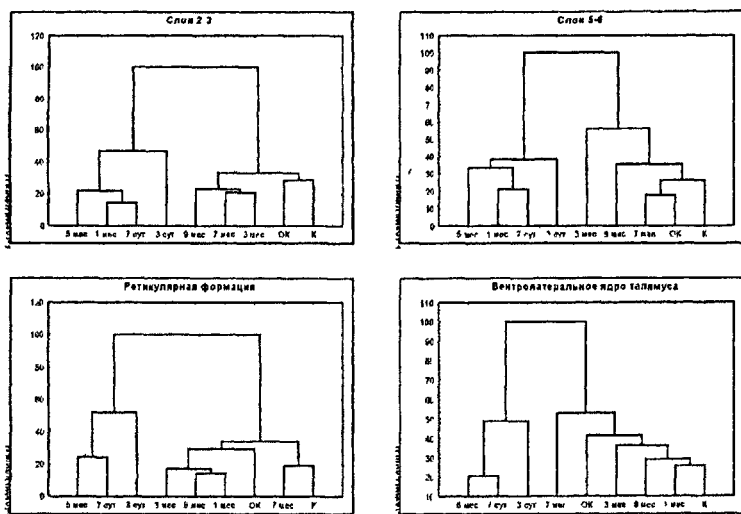


Рис 2 Кластерный анализ распределения экспериментальных групп по общей численной плотности межнейронных синапсов мозга белых крыс в контроле (К), операционном контроле (ОК), через 3 и 7 сут, 1, 3, 5, 7 и 9 мес постишемического периода.

В постишемическом периоде во всех слоях СМК мозга выявлялась явная тенденция к увеличению относительного содержания крупных и очень крупных контактов и уменьшению содержания мелких и средних контактов, то есть в синаптической популяции происходило смещение равновесия в сторону крупных контактов.

Особое внимание к крупным синаптическим контактам связано с тем, что в зоне этих контактов осуществляется более эффективное воздействие пресинаптического нейрона на постсинаптический (Кендел Э., 1980; Poirazi P., Mel B.W., 2001). Увеличение содержания крупных активных контактов является прямым следствием активации компенсаторно-восстановительных и репаративных механизмов головного мозга. Кроме того, в популяцию крупных контактов входят практически все перфорированные контакты, которым уделяется особое место при реализации различных типов синаптической пластичности (Geinisman Y., 1993; Geinisman Y. et al., 1996). Показано, что перфорированные синапсы могут быть промежуточным звеном образования автономных неперфорированных синапсов путем расщепления активных функционирующих гипертрофированных контактов (Kaech, S. et al., 2001; Segal M., 2001).

Исходя из положения о существовании равновесия между различными формами синаптических контактов (Семченко В.В. и др., 1995), можно констатировать, что наши данные свидетельствовали о выраженной пластической реорганизации межнейронных взаимоотношений по пути: гипертрофия → расщепление → образование простых, множественных перфорированных и более сложных синапсов с участием неосинаптогенеза и последующим увеличением плотности ДШ. После частичного или полного разделения пре-/постсинаптической части синапса инвагинированной мембраной дальнейшая гипертрофия синапса приводит к окончательному разделению и расхождению фрагментов контакта с образованием автономных шипиков, терминалей или даже мелких дендритных ветвей. Синапсы с большим количеством автономных активных зон являются наиболее эффективными (Edwards F.A., 1995).

4. Дендриты как интегрирующая система нейронов головного мозга

При сопоставлении данных, полученных в процессе изучения дендроархитектоники нескольких отделов головного мозга белых крыс в постишемическом периоде с помощью метода Гольджи, обращает на себя внимание значительная (от 50% до 80%) редукция показателей, характеризующих ДД (рис.3). Столь существенное сокращение объема дендритной территории пирамидных нейронов СМК, ВЛЯ таламуса и ретикулярной формации продолговатого мозга, выявленное нами при импрегнации по Гольджи, обусловлено, вероятно, сочетанием следующих факторов, так или иначе нарушающих процесс импрегнации серебром.

Во первых, необходимо учитывать изменения конформационного состояния и тинкториальных свойств субстрата импрегнации (филаменты цитоскелета) в процессе его ишемических обратимых и необратимых изменений, которые могут привести к снижению степени импрегнации части мелких дистальных дендритов при сохранении их дендролеммы и

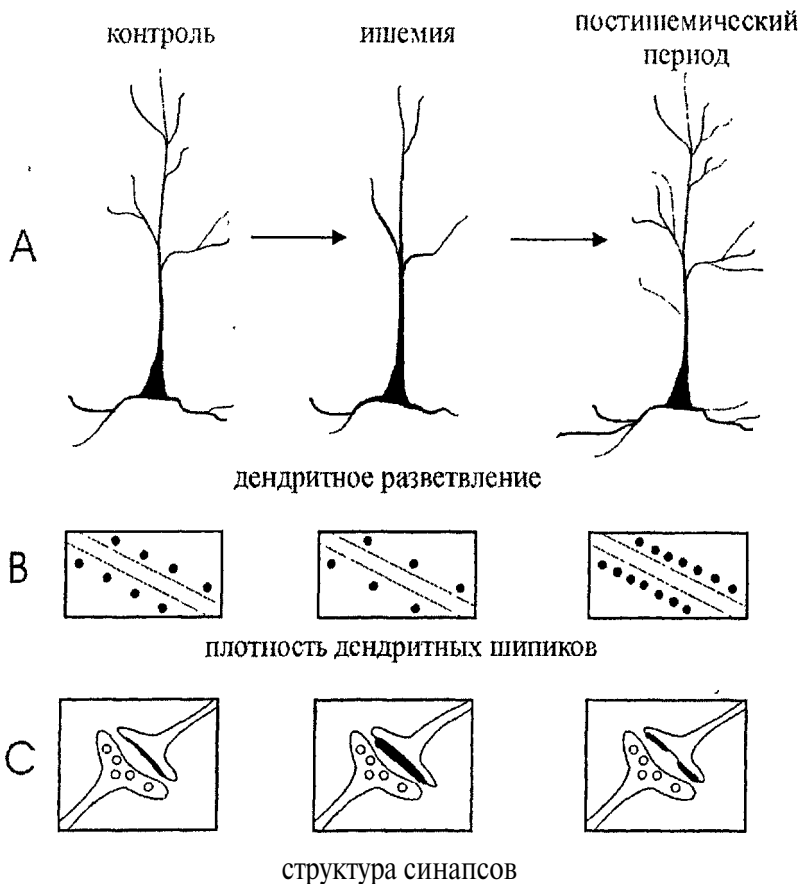


Рис.3. Схема: А - редукция и восстановление апикальных и базальных дендритов пирамидных нейронов СМК мозга в постиншемическом периоде. В - уменьшение и восстановление числа дендритных шипиков пирамидных нейронов СМК мозга в постиншемическом периоде. С - гипертрофия и расщепление межнейронных синапсов СМК мозга в постиншемическом периоде.

прокраске проксимальных более толстых дендритов, что связано с избирательным сродством к солям серебра. Выявленная нами фрагментация прокраски дендритов в постиншемическом периоде также свидетельствует о локальной дезорганизации цитоскелета. Следовательно, вполне возможно, что за счет Ca^{2+} -зависимых конформационных изменений цитоскелета дендритов в постиншемическом периоде появляются нейроны с непрокрашенной при импрегнации серебром зоной дистальной ча-

сти ДД.

Во вторых, появление варикозных утолщений дендритов свидетельствует о связанных с этим изменениях ретрактивных свойств дендритов и, вероятно, о сокращении дендритов, лишенных синаптических контактов (Сотников О.С. и др., 1994).

В третьих, в постишемическом периоде, наряду с обратимой, имеет место также полная необратимая деструкция дистальных дендритов (включая дендролемму и цитоскелет) и связанных с ними многочисленных аксо-дендритических синапсов (Семченко В.В. и др., 1995; Jones T.A., Schallert, 1992). Следовательно, нейроны в постишемическом периоде могут терять часть ДД, трансформировать его форму и размеры, длительно сохраняться и функционировать при частичной деструкции цитоскелета дистальных дендритов.

О возможности подобных механизмов «исчезновения» и «проявления» структуры цитоскелета в зоне патологических изменений дендрита свидетельствуют данные М. Matsumoto et al. (1987). Он выявил, что через 5 мин острой тотальной ишемии в возбуждающих синапсах и субсинаптической цитоплазме дендрита параллельно гидропическим изменениям появляются признаки деполимеризации микротрубочек. Вышеназванные структурные изменения являются обратимыми и исчезают после возобновления микроциркуляции. Механизмы Ca^{2+} -зависимых конформационных изменений актина, в результате которых его филаментозная форма переходит в глобулярную и обратно, лежат в основе биомеханических изменений дендритов и шипиков (Matus A., 2000). В результате реализации этих механизмов в ответ на раздражение или повреждение мозга возможны очень быстрые реактивные и приспособительные изменения формы и размеров дендритных ветвей 2-3-го порядка и шипиков (Edwards F.A., 1995). При этом известно, что пластические процессы в нейроне начинают реализовываться при внутриклеточной концентрации Ca^{2+} более 180 нмоль, а при их концентрации более 600 нмоль включаются механизмы деструкции нейронов - некроз и апоптоз (Cormier R.J. et al., 2001). Следовательно, путем регуляции содержания несвязанного внутриклеточного Ca^{2+} можно контролировать структурно-функциональное состояние дендритов.

Мы показали, что восстановление структурно-функциональной основы дендритов в постишемическом периоде возможно за счет: 1) восстановления структуры поврежденного цитоскелета у дендритов с сохраненной дендролеммой, 2) новообразования и роста дендритов на месте необратимо поврежденных отростков (деструкция цитоскелета и дендролеммы) с последующим восстановлением межнейронных связей, 3) новообразования и атипичного роста дендритов с последующим формированием совершенно иного ДД и образованием несвойственных для неповрежденного мозга межнейронных связей.

Возможность реализации в постишемическом периоде первых двух путей подтверждается нашими данными о полном восстановлении до контрольного уровня через 30 сут после ишемии всех параметров, характе-

ризирующих дендритное дерево ПН слоя III СМК и ретикулярных нейронов ВЛЯ таламуса и продолговатого мозга. При этом такие показатели, как общая разветвленность клетки, разветвленность дендритов, удельная плотность длин дендритов в срезе, в постишемическом периоде, по сравнению с контролем, достоверно не изменяются. Это свидетельствует о том, что основная масса «доишемических дендритов» полностью повторяет контур «постишемических дендритов». Тем не менее, появление ПН с атипичным дендритным деревом, характерное в большей степени для слоя III СМК, свидетельствует и о возможности реализации третьего пути восстановления дендроархитектоники - полной реорганизации ДД некоторых нейронов. Нейроны такого типа появляются при нарушениях процесса созревания головного мозга, различных дисплазиях, микродисгенезии (Harding D.N. et al., 1991) и рассматриваются как морфологический субстрат функциональных нарушений при генетически обусловленной патологии мозга (Belichenko P.V. et al., 1994). Следовательно, накопление подобных нейронов в постишемическом периоде также может быть причиной дисфункции мозга и одним из механизмов постишемической энцефалопатии.

Повторная деструкция дендритов в постишемическом периоде и последующее восстановление дистальных дендритов отражает изменение концентрации свободных Ca^{2+} в дендритах, происходит постоянно. В различные временные периоды и в различных отделах мозга эти процессы имеют свою специфику. Вполне вероятно, что в частично поврежденных нейронах, где имеется чувствительная и одновременно высокопластичная зона ДД (дистальные ветви), грубые нарушения ионного гомеостаза, патологическая постишемическая деполяризация мембраны и нарушения дендротока вследствие повреждения цитоскелета, с одной стороны, становятся причиной снижения порога возбуждения, а с другой стороны - активации механизмов репаративной реорганизации ДД. Увеличение количества подобных нейронов неизбежно приводит к изменениям процессов временной и пространственной суммации афферентных импульсов. Поэтому эти нейроны могут быть структурной базой формирования патологических систем мозга в постишемическом периоде.

Наши данные свидетельствуют о том, что после тотальной 10-минутной ишемии головного мозга необратимым некробиотическим изменениям подвержены только некоторые наиболее чувствительные нейроны в СМК и ВЛЯ таламусе головного мозга. Остальные нейроны нормально функционируют или подвергаются апоптозу в более отдаленном периоде. Из трех представленных отделов мозга максимально страдает популяция нейронов СМК, меньше повреждаются ретикулярные нейроны ВЛЯ таламуса, а для гигантоклеточных нейронов продолговатого мозга характерно наличие только обратимых реактивных и дистрофических изменений. Таким образом, реорганизация дендроархитектоники ретикулярной формации продолговатого мозга происходит без уменьшения общей численной плотности нейронов в этом отделе мозга. Вероятно, последнее сказывается на конечном результате реорганизации нейронной

сети продолговатого мозга. В отличие от СМК и ВЛЯ таламуса, где в силу необходимости компенсации функции необратимо поврежденных нейронов неизбежна реорганизации нейронных сетей, в продолговатом мозге нейронная сеть в целом остается стабильной, меняется только дистальная зона ДД образующих ее ретикулярных нейронов, возможно также усиление или ослабление эффективности отдельных афферентных входов за счет периодической реорганизации межнейронных синапсов.

Вышеизложенные изменения приводят к нарушениям пространственной и временной суммации импульсов, латерального и возвратного торможения в структурно-функциональных модулях и коре мозга в целом. Меняется характер распределения возбужденных и заторможенных зон рецепторных полей СМК, а, следовательно, и характер восприятия таламо-кортикальной импульсации и формирования эфферентной импульсации проекционными нейронами коры. В результате выявленных нарушений межнейронных синаптических отношений в неокортексе страдает формирование моносенсорного (высшая функция конкретного анализатора) и полисенсорного образа (результат совокупной деятельности анализаторов).

Таким образом, в постшемическом периоде на всех этапах таламо-кортикальной реверберации импульсов происходит изменение характера передачи информации за счёт: 1) снижения числа каналов таламо-кортикальных проекций и усиления их эффективности, 2) уменьшения числа афферентных нейронов вторичного проекционно-ассоциативного комплекса для таламо-кортикальных проекций в большей степени, чем проекционных нейронов выхода СМК (первичный проекционный комплекс), 3) усиления временной суммации импульсов на сохранившихся нейронах за счет появления большого количества высокоэффективных синапсов, 4) снижения степени конвергенции элементов входа на выход СМК и одновременного с вышеназванным усилением пространственной суммации на отдельно взятых ПН (гипертрофированные нейроны с более крупным дендритным деревом) и временной суммации в эффективных синапсах всех нейронов.

Вероятно, деафферентация части ПН в остром постшемическом периоде приводит к компенсаторному усилению временной и пространственной суммации за счет более интенсивного использования сохранившихся нейронов и их дендритов. При этом афферентная нагрузка значительно смещается с дистальных ветвей на проксимальные, обладающие меньшим входным сопротивлением. Особенно наглядно последнее выражено в период максимальной деструкции мелких дендритных ветвей и шипиков (1-7 сут). Очевидно, что смещение афферентного входа нейронов в проксимальном направлении приводит к снижению порога восприятия афферентных импульсов, облегчению электротонического распространения возбуждающих постсинаптических потенциалов, формированию серийных потенциалов действия, гиперактивности и даже эпилептизации нейронов. Появление подобных патологически активных нейронов, по данным ПН. Крыжановского (1997), является структурной

основой формирования генераторов патологически усиленного возбуждения вообще и в системе «кора большого мозга ↔ таламус» в частности, а из них – патологических неконтролируемых систем мозга.

Следующим уровнем контроля активности кортикальных нейронов является ретикулярная формация головного мозга. Известно, что в физиологических и патологических условиях интегративная анализирующая система любого анализатора тесно связана с неспецифической активирующей системой (ретикулярная формация, молекулярный слой коры). Обе системы взаимно тонизируют друг друга (Кратин Ю.Г., Сотниченко Т.С., 1987). Любой специфический для данной анализирующей системы раздражитель вызывает в них появление циклически распространяющегося возбуждения. Кроме того, в норме с возбуждения всегда начинается процесс торможения, который является его результатом и существует только наряду с ним. Их сложное взаимодействие лежит в основе анализа сигналов мозгом.

В постишемическом периоде это взаимодействие смещается в сторону снижения тормозной модулирующей функции в модуле. Это происходит в результате более значительного, чем крупных ПН, повреждения мелко-клеточного пула тормозных интернейронов, входящих в состав вторичного проекционно-ассоциативного нейронного комплекса.

Материальная основа формирования и распространения специфической таламо-кортикальной и неспецифической подкорково-корковой импульсации в постишемическом периоде различна. Анализирующая специфическая система страдает в большей степени, чем активирующая неспецифическая система мозга (мезенцефальная, таламическая ретикулярная формация, молекулярный слой коры). Возникает дисбаланс возможности активирующих и анализирующих систем мозга, что приводит к большему истощению информационной емкости и пластических потенций специфических таламо-кортикальных систем.

Мы полагаем, что все это является структурной базой формирования постишемических дисфункций мозга, а степень выраженности структурных изменений определяет характер конкретной патологии (неврастенические проявления, эпилептизация мозга, нарушения интеллектуально-мнестических функций).

5. Иммуногистохимическая характеристика нейронов и дендритов в норме и в постишемическом периоде

Использованный в эксперименте подход к получению информации необходимо дополнить изучением закономерностей морфологических изменений головного мозга человека в постишемическом периоде. Поэтому нами изучен аутопсийный материал (различные зоны неокортекса), полученный на вскрытии больных, умерших через 7, 90 сут и 1 год после клинической смерти. При анализе этого материала акцент был сделан на изучение состояния опорно-двигательной (цитоскелет), рецепторно-барьерно-транспортной систем (мембрана, синаптические контакты), белков, обеспечивающих регуляцию внутриклеточного ионного гомеос-

таза, а также систем хранения, воспроизведения, реализации генетической информации (ядро) и синтеза биополимеров нейрона.

Активация сохранившихся нейронов сопровождалась усилением экспрессии белка NeuN, который, по литературным данным, можно рассматривать как маркер активации биосинтетических процессов в нейроне (Komitova M. et al., 2002; Takasawa K. et al., 2002). В зависимости от отдела неокортекса численная плотность активированных нейронов увеличивалась от 17,1% до 72,9% ($p < 0,05$). При этом существенно то, что в остром периоде (7 сут) активировались нейроны мелкоклеточных проекционно-ассоциативных комплексов (слои II-III), а через 90 сут подобных нейронов было больше в крупноклеточных проекционных нейронных комплексах. Через 1 год после ишемии только в слоях Н-Ш височной коры содержание активированных нейронов снижалось до контрольного уровня. Все это свидетельствует о том, что постишемическая реорганизация нейронных сетей коры большого мозга человека происходит на фоне прогрессирующего снижения общей численной плотности нейронов и значительной активации сохранившихся нейронов.

Прогрессирующее уменьшение общей численной плотности нейронов в различных отделах неокортекса было подтверждено также данными иммуногистохимического изучения белка MAP-2. Дефицит нейронов в разных отделах коры, по данным этого метода, составил от 30,4% до 66,3% ($p < 0,05$). Кроме того, распределение MAP-2 по нейрону свидетельствовало о том, что в значительной части сохранившихся нейронов цитоскелет дистальных дендритов подвергался деструктивным изменениям. Особенно страдали вторичные и третичные дендриты пирамидных нейронов слоев II-III. Это подтверждает данные нашего экспериментального исследования о более высокой чувствительности дистальной зоны дендритного дерева мелких и крупных пирамидных нейронов неокортекса. То есть информация, полученная с помощью метода Гольджи, соответствует данным иммуногистохимического исследования ассоциированного с микротрубочками цитоскелетного белка MAP-2. Как и в эксперименте, деструкция элементов опорно-двигательного аппарата дендритов нейронов мозга человека приводит к изменению их формы. Дендриты укорачиваются, утолщаются, теряют шипики, приобретают форму «ожерелья» за счет образования варикозных утолщений. По внешним очертаниям все это напоминает поврежденные дендриты, верифицированные с помощью метода Гольджи. Вполне вероятно, что именно конформационное состояние MAP-2 определяет характер прокраски дендритного дерева при импрегнационном методе Гольджи. При ишемии и в постишемическом периоде конформация MAP-2 и прочность его связи с тубулином микротрубочек очень быстро изменяются, что позволяет использовать его в качестве чувствительного маркера структурно-функционального состояния дендритного цитоскелета (Ikeda T. et al., 1999; Popa-Wagner A. et al., 1999).

Факты, подтверждающие значительную реорганизацию межнейронных взаимоотношений в неокортексе человека, получены нами при им-

муногистохимическом изучении распределения белка синаптофизина (Р-38), который принимает участие в Ca^{2+} -зависимом связывании синаптических пузырьков с мембраной активной зоны синапса и образовании трансмембранной поры при экзоцитозе (Masliah E., Terry R., 1993). То есть, синаптофизин можно рассматривать как маркер активных (с экзоцитозом) синапсов.

В остром периоде (7 сут) содержание синаптофизин-позитивных синапсов уменьшалось во всех отделах на 20-35% ($p < 0,05$), что свидетельствовало об уменьшении каналов передачи информации. Через 90 сут дефицит синаптофизин-позитивных синапсов отмечался только в моторной коре, а в других отделах неокортекса, несмотря на повреждение дендритов и нейронов, происходило восстановление общей численной плотности синапсов до контрольного уровня. Это свидетельствовало о том, что восстановление синаптического пула происходило за счет активно функционирующих нейронов. Через 1 год после перенесенной клинической смерти резервные возможности нейронов неокортекса при их прогрессирующем выпадении, вероятно, снижаются, и это приводит к повторному дефициту общей численной плотности межнейронных контактов на 20-38% ($p < 0,05$).

Существенно то, что в постишемическом периоде менялся характер распределения и форма синаптофизин-позитивных структур - появлялись крупные конгломераты иммунореактивных структур. Мы полагаем, что это документирует образование высокоэффективных каналов передачи информации за счет гипертрофии и реорганизации сохранившихся активно функционирующих синапсов. Возможность реализации подобных механизмов в постишемическом периоде с образованием усложненных синаптических структур доказана в эксперименте на животных (Семченко В.В. и др., 2000).

Вышеназванные изменения синапсов, свидетельствующие об их реорганизации, максимально реализовались через 90 сут после ишемии и происходили на фоне выраженного дефицита общей численной плотности нейронов, но при контрольном уровне численной плотности GAP-43-позитивных нейронов. Это свидетельствовало о более интенсивной экспрессии образования GAP-43 в популяции сохранившихся нейронов и о поддержании активности механизмов нейропластичности на уровне, достаточном для восстановления межнейронных взаимоотношений при общем дефиците нейронов в постишемическом периоде. Наиболее интенсивно GAP-43 экспрессировался в нейронах лобной коры. Фактор роста-43 (GAP-43) - нейромодулин - считается маркером роста аксонов и дендритов, выявляется на мембранах растущих отростков нейрона и синапсов (Benowitz L.I., Perrone-Bizzozero N.I., 1991).

Компенсаторная активация механизмов экспрессии белков в постишемическом периоде приводит к тому, что увеличивается содержание нейропептид Y-позитивных нейронов (в различных отделах на 38,6-73,1% ($p < 0,05$), значительную часть из которых можно было идентифицировать как интернейроны. При этом отмечается активация экспрессии этого

пептида в нейронах, которые в норме его не синтезируют, увеличиваются размеры и плотность нейропептид Y-иммунореактивных волокон. Вероятно, это свидетельствует о компенсаторной смене нейромедиаторного профиля части нейронов в постиншемическом периоде.

Подобные изменения существенно влияют на соотношение процессов возбуждения и торможения в неокортексе, так как нейропептид Y-иммунореактивные нейроны являются преимущественно ГАВА-эргическими тормозными интернейронами (Freund T. et al., 1988).

Таким образом, нами подтверждена возможность компенсаторной активации нейронов тормозной системы коры большого мозга. С одной стороны, это можно рассматривать как саногенетический механизм, препятствующий образованию возбуждающих патологических систем головного мозга. Однако, с другой стороны, чрезмерная активация тормозной нейронной сети может способствовать формированию тормозных патологических систем головного мозга и развитию депрессивных состояний (Крыжановский Г.Н., 1997).

Еще одним саногенетическим механизмом, существование которого удалось показать с помощью иммуногистохимических методов в постиншемическом периоде, является механизм регуляции концентрации внутриклеточного Ca^{2+} путем экспрессии кальций-связывающего белка кальбиндина. Этот белок является буфером Ca^{2+} и обладает нейропротективным действием при ишемии (Choi D.W., 1995; Yenari M.A. et al., 2001).

Данные нашего исследования свидетельствуют о преимущественной редукции численной плотности кальбиндин-содержащих нейронов в первые 7 сут после ишемии, а кальбиндин-несодержащих нейронов - в более отдаленном периоде. Это говорит о том, что кальбиндин-содержащие нейроны значительно лучше сохраняются на фоне хронических нарушений микроциркуляции отдаленного периода. Вполне вероятно, что длительная острая ишемия приводит к более значительному увеличению внутриклеточного содержания свободных ионов Ca^{2+} именно в кальбиндин-содержащих нейронах за счет высвобождения связанного Ca^{2+} из буфера, что способствует усилению некротических процессов и гибели этих клеток в остром периоде. Поэтому мы полагаем, что нейропротекторное действие кальбиндина более полно реализуется в позднем постиншемическом периоде, когда некробиотические процессы сменяются дистрофическими и преобладают Ca^{2+} -зависимые механизмы апоптоза.

Таким образом, данные исследования коры большого мозга человека в постиншемическом периоде свидетельствуют о выраженной реорганизации межнейронных отношений, которая происходит на фоне изменения состояния всех систем жизнеобеспечения. Большинство нейронов переходит на более интенсивный уровень функционирования. При этом активируются механизмы репаративной нейропластичности. В совокупности все это приводит к изменениям опорно-двигательной, рецепторно-барьерно-транспортной систем, системы синтеза биополимеров, хранения, воспроизведения и реализации генетической информации и белков, обеспечивающих регуляцию внутриклеточного ионного гомеостаза.

Структурными эквивалентами вышеназванных изменений является изменение формы и размеров межнейронных синапсов, дистальных дендритных ветвей. Активация и гипертрофия возбуждающих синапсов на дистальных дендритах сопровождается компенсаторной активацией тор- мозных интернейронов.

ВЫВОДЫ

1. После кратковременной (10 мин) остановки системного кровотока в течение длительного времени (9 мес) происходит значительная реорганизация дендроархитектоники пирамидных нейронов СМК мозга, ретикулярных нейронов ВЛЯ таламуса и гигантоклеточных нейронов продолговатого мозга. Процесс реорганизации осуществляется на фоне прогрессирующей гибели нейронов, имеет фазный характер - периоды преобладания механизмов деструкции дендритов сменяются периодами преобладания механизмов репаративной нейропластичности.

2. В процессе реорганизации дендроархитектоники изменяется пространственная организация дендритов, состояние его опорно-двигательной (цитоскелет), рецепторно-барьерно-транспортной систем (мембрана, синаптические контакты), белков обеспечивающих регуляцию внутриклеточного ионного гомеостаза, а также систем хранения, воспроизведения, реализации генетической информации (ядро) и синтеза биополимеров нейрона.

3. В эксперименте на белых крысах показано, что критическими периодами для всех изученных отделов головного мозга являются первые 7 сут, 1, 3 и 5 мес после ишемии. В эти периоды дефицит общей численной плотности синапсов составляет от 23,5 до 47,1%. При этом объем Территории поврежденных дендритов части нейронов достигает 80%. Плотность ДШ в различных отделах ДД пирамидных нейронов снижается на 30-47%. Деструкции подвергаются преимущественно терминальные веточки дендритов 2-го и 3-го порядка. Степень редукции численной плотности ДШ на дистальных дендритах составляет 42,9%, а на проксимальных - 18,8%. Максимальная деструкция дендритов и синапсов характерна для СМК мозга.

4. Различные отделы ДД пирамидных нейронов (апикальные прямые, косые, базальные) СМК отличаются разной чувствительностью к ишемическому воздействию и степенью постишемической репаративной реорганизации дендритов и их синапсов. Наиболее чувствительными являются апикальные косые дендриты ПН на уровне слоев Ш-IV. На этом уровне уже в раннем периоде после ишемии восстановление численной плотности ДШ происходит за счет реорганизации шипиков неповрежденных проксимальных отделов ДД. В отдаленном периоде восстановление косых апикальных дендритов сопровождается увеличением количества ДШ, а для других типов дендритов подобной зависимости не выявлено. Через 5 мес после ишемии на фоне роста мелких прямых апикальных и базальных дендритов отмечается даже повторная волна редукции значительной части ДШ.

5. Характерной особенностью терминальных ветвей ДД пирамидных нейронов СМК мозга является то, что после повторного повреждения (5 мес) последующего полного восстановления численной плотности ДД на них не происходит даже через 9 мес после ишемии. Компенсация потери осуществляется за счет более крупных проксимальных дендритов. Все это свидетельствует о смещении афферентного входа ПН в проксимальном направлении и неизбежном изменении пространственной суммации импульсов на этих нейронах.

6. Структурно-функциональное восстановление ДД пирамидных и непиримидных нейронов происходит в постишемическом периоде за счет: восстановления структуры обратимо поврежденных дендритов-особенно это характерно для дендритов с частично поврежденным цитоскелетом, но сохранной цитолеммой; новообразования и роста дендритов на месте необратимо поврежденных отростков; новообразования и атипичного роста дендритов с последующим формированием нетипичного ДД и образованием несвойственных для неповрежденного мозга псевдобиполярных, "динозавро-подобных" нейронов и нейронов с загнутым апикальным дендритом. Появление подобных нейронов с нетипичным ДД существенно изменяет пространственную организацию нейронных сетей изученных отделов головного мозга и наряду с частично поврежденными нейронами может быть структурной основой нарушения интегративно-пусковой деятельности головного мозга в постишемическом периоде.

7. В процессе реорганизации дендроархитектоники ПН слоя Ш СМК мозга после восстановления в первые 3 мес параметров ДД основной массы сохранившихся нейронов характерна повторная деструкция дендритов через 5 мес после ишемии с последующей активацией вышеназванных репаративных механизмов. Для крупных ПН слоя V такая особенность не характерна. Следовательно, в отдаленном постишемическом периоде повторные деструктивные процессы в большей степени характерны для апикальных дендритов мелких ПН слоя III СМК, а пластическая реорганизация - для крупных ПН слоя V.

8. О возможности восстановления в постишемическом периоде пространственной организации ДД всех типов изученных нейронов за счет активации процессов образования новых вторичных и третичных дендритов, роста дендритов в длину и их ветвления свидетельствуют данные о статистически значимом увеличении показателей таких параметров, как число свободных концов у всех дендритов, общая разветвленность клетки, разветвленность дендритов, общая длина дендритов во всей дендритной территории и максимальный радиус апикальных и базальных полей. В совокупности это приводит к тому, что через 1-3 мес объем дендритной территории основной массы обратимо поврежденных нейронов восстанавливается до контрольного значения, а в некоторых нейронах даже превосходит его.

9. Репаративная реорганизация дендритов в постишемическом периоде сопровождается активацией механизмов синаптической пластичности, что структурно проявляется функциональной активацией синап-

са, гиперплазией субсинаптических структурных компонентов, гипертрофией сохранившихся неповрежденных и созреванием вновь образованных межнейронных синапсов. Компенсаторная длительная активация функционально зрелых синапсов сопровождается увеличением диаметра их контакта, образованием различных перфорированных синапсов и более сложных синаптических устройств. Это способствует существенному изменению эффективности активных синаптических входов и характера временной суммации импульсов. Следовательно, параллельно изменениям пространственной суммации, зависимой от особенностей объемной организации ДД, в постишемическом периоде имеют место изменения временной суммации импульсов на уровне синапсов. В совокупности это оказывает влияние на интегративно-пусковую деятельность головного мозга и может быть структурной базой как восстановления функциональных систем мозга, так и образования патологических систем. Вышеназванные механизмы синаптической пластичности реализуются во всех изученных отделах головного мозга, но степень их выраженности статистически значимо выше в СМК мозга.

10. Неравномерное изменение цито-, дендро- и синаптоархитектоники различных ПН слоев СМК и подкорковых отделов в течение 9 мес после ишемии приводит к тому, что восприятие специфической соматосенсорной информации происходит в условиях значительного дефицита таламо-кортикальных проекций (слои III-IV). В результате более интенсивного разрастания проекций неспецифических систем изменяется соотношение площади рецепторной поверхности нейронов, воспринимающей специфическую (слои III-IV) и неспецифическую информацию (слой I, V-VI). Это изменяет корково-подкорковые взаимоотношения и усиливает неспецифическую активацию нейронов неокортекса.

11. По данным иммуногистохимического исследования коры большого мозга человека, в постишемическом периоде (7 сут, 3 и 12 мес) происходит прогрессивное уменьшение общей численной плотности MAP-2 иммунопозитивных нейронов (30,4-66,3%). Это подтверждает данные экспериментального исследования о деструкции значительной части нейронов коры и более высокой чувствительности дистальной зоны ДД мелких и крупных ПН мозга.

12. Изменения на уровне синапсов у человека в постишемическом периоде проявляются изменением численной плотности (на 20-38%) и увеличением размеров конгломератов иммунореактивных структур синаптофизина, что свидетельствует об увеличении размеров синаптических терминалей. Максимальные изменения по этому показателю характерны для слоев II-III лобной и височной коры большого мозга. Восстановление неврологического статуса у пациентов после реанимационных мероприятий коррелирует с восстановлением численной плотности и распределения P-38 иммунопозитивных структур. В пользу активации механизмов синаптической пластичности в отдаленном постишемическом периоде свидетельствуют данные об усилении образования GAP-43 в сохранившихся нейронах до уровня, достаточного для активации меха-

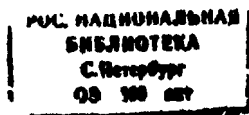
низмов нейропластичности и восстановления межнейронных взаимоотношений.

13. В постишемическом периоде в различных отделах коры большого мозга на 61,6-71,3% увеличивается содержание нейропептид Y-положительных нейронов, что свидетельствует об изменении соотношения активности тормозных и возбуждающих систем коры в сторону компенсаторной активации тормозных интернейронов. Подобные изменения, являясь естественными сапогенетическими механизмами, способствуют блокированию электротонического распространения возбуждающих постсинаптических потенциалов с дендрита на тело нейрона, препятствуют распространению возбуждения по коре большого мозга.

14. Репаративные изменения опорно-двигательной и рецепторно-барьерно-транспортной систем дендритов сопровождаются адекватными изменениями активности систем, обеспечивающих регуляцию внутриклеточного ионного гомеостаза, хранения, воспроизведения, реализации генетической информации и синтеза биополимеров нейрона. Так, нейротрофическое действие кальбиндина более полно реализуется в позднем постишемическом периоде, когда некробиотические процессы сменяются дистрофическими. О компенсаторной активации биосинтетических процессов в постишемическом периоде свидетельствует увеличение численной плотности NeuN-положительных нейронов различных отделов коры мозга человека на 14,4-72,9%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При вскрытии трупов лиц перенесших клиническую смерть следует подвергать исследованию различные отделы головного мозга (кору большого мозга, таламус и продолговатый мозг).
2. При исследовании вышеназванных отделов мозга необходимо обращать внимание на формирование нетипичного дендритного дерева и образование несвойственных для неповрежденного мозга псевдодипольных, "динозавро-подобных" нейронов и нейронов с загнутым апикальным дендритом.
3. Минимальным объемом при изучении мозга лиц, переживших клиническую смерть, следует считать: использование метода Ниссля, импрегнации по Гольджи, электронной микроскопии и методов иммуногистохимии (MAP-2, синаптофизин, GAP-43, NPY, NeuN, кальбиндин и GFAP).



СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ НАУЧНЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Компенсаторно-приспособительные изменения нейронов неокортекса человека при ишемии головного мозга по данным стереологического анализа / В.А. Акулинин, В.В. Семченко, А.Ю. Савченко, Н.Г. Аржаева, Л. С. Беляева // Структурные основы и регуляция компенсаторно-приспособительных реакций: сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1986. - С. 21-25
2. Семченко В.В. Ультраструктура цитоскелета дендритов нейронов коры большого мозга крыс в постишемическом периоде / В.В. Семченко, С.С. Степанов, В.А. Акулинин // Гипотермия и реанимация при острой кровопотери и операциях на сердце : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1988. - С. 56-58.
3. Акулинин В.А. Ультраструктура микротрубочек дендритов корковых нейронов в постишемическом периоде / В.А. Акулинин // Повреждение мембран и постреанимационная патология : материалы междууниверситетского науч. конф., Омск, 5 апр. 1988 г. - Омск, 1988. - С. 5 - 7. - Библиогр. : 3 назв. - Деп. в ВИНТИ 5.04.88. № 4534.
4. Структурные механизмы нарушения интегративно-пусковой деятельности мозга в постишемическом периоде / С.С. Степанов, В.В. Семченко, В.А. Акулинин, А.Э. Никель // Патологическая физиология терминальных состояний : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1989. - С. 99-115.
5. Акулинин В.А. Пластичность дендритных шипиков пирамидных нейронов слоя V сенсомоторной коры мозга крыс в постишемическом периоде / В.А. Акулинин, В.В. Семченко, П.В. Беличенко // Пластичность нервной системы : сб. науч. тр. НИИ Мозга АМН ВНЦПЗ СССР. - М., 1989. - С. 133-134.
6. Акулинин В.А. Морфологические особенности реакции пирамидных нейронов слоя V сенсомоторной коры мозга крыс в восстановительном периоде после кратковременной тотальной ишемии / В.А. Акулинин, П.В. Беличенко // Структурное обеспечение и стимуляция компенсаторно-восстановительных реакций : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1989. - С. 8-9.
7. Акулинин В.А. Структурные изменения гигантоклеточных нейронов ствола мозга крыс в постишемическом периоде / В.А. Акулинин, П.В. Беличенко, Г.И. Корзухина // Структурное обеспечение и стимуляция компенсаторно-восстановительных реакций : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1989. - С. 12-13.
8. Акулинин В.А. Структурная характеристика дендритного дерева пирамидных нейронов слоя V сенсомоторной коры в постишемическом периоде / В.А. Акулинин // Клеточно-тканевые механизмы адаптации к действию повреждающих факторов : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1989. - С. 6-8.

9. Михель Г.В. Морфометрическое исследование синапсов молекулярного слоя коры большого мозга в постишемическом периоде / Г.В. Михель, В.А. Акулинин, Л.М. Серегина // Клеточно—тканевые механизмы адаптации к действию повреждающих факторов : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1990. - С. 8-10.
10. Семченко В.В. Структурная организация локальных и системных межнейронных отношений в головном мозге в постреанимационном периоде / В.В. Семченко, С.С. Степанов, В.А. Акулинин // Макро и микроуровни организации мозга: сб. науч. тр. НИИ Мозга АМН СССР. - М., 1990. - С. 148-150.
11. Акулинин В.А. Пластичность дендритов головного мозга крыс в постишемическом периоде / В.А. Акулинин, А.Э. Никель // Многоуровневая организация церебральных функций: тез. докл. Всесоюз. конф. молод, ученых НИИ Мозга АМН СССР. - М., 1991. - 4с.
12. Акулинин В.А. Структурный анализ реактивности дендритного дерева нервных клеток двигательных центров головного мозга в восстановительном периоде после кратковременной тотальной ишемии организма / В.А. Акулинин // Нарушение механизмов регуляции при экстремальных и терминальных состояниях : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1991. - С. 37-43.
13. Структурные механизмы нарушения и восстановления интегративной деятельности мозга в постреанимационном периоде / Семченко В.В., Степанов С.С, Акулинин В.А., Никель А.Э. // ЦНС и постреанимационная патология организма : материалы междунар. симпоз. АМН СССР Москва. 14-16 марта 1989. - М, 1991. -С. 47-57.
14. Акулинин В.А. Ранние структурные изменения реактивности нейронов сенсомоторной коры мозга крыс в постишемическом периоде / В.А. Акулинин, П.В. Беличенко, Г.И. Корзухина // Медицинские аспекты изучения организма в норме и патологии : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1992. - С. 6-7.
15. Патогенез и профилактика судорожных пароксизмов в постреанимационном периоде / Семченко В.В., Еренев СИ., Маковецкий К.К., Степанов С.С, Никель А.Э., Акулинин В.А. // Реабилитация коматозных и посткоматозных больных : материалы науч. практич. конф. НИИ общей реаниматологии РАМН, Москва, 15-17 декабря 1992. - М., 1992.-С61-63.
16. Структурные механизмы повышения судорожной готовности головного мозга белых крыс в постишемическом периоде / В.В. Семченко, С.С Степанов, В.А. Акулинин, А.Э. Никель, СИ. Еренев, П.В. Беличенко // Морфология. - 1992. -Т. 103, N 7-8. - С. 66-75.
17. Профилактика внутриутробной гипоксии: структурные изменения нейронов развивающегося мозга плодов и новорожденных / В.А. Акулинин, А.М. Кочетов, В.Н. Стольный, Г.И. Корзухина // Вопросы диагностики, профилактики и реабилитации в работе врача-клинициста : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1993. - С. 8-9.

18. Акулинин В.А. Структурные особенности трех функционально различных классов нейронов мозга крысы в постшемическом периоде / В.А. Акулинин, Г.И. Корзухина // Структурно-функциональные механизмы патологических и компенсаторно-восстановительных реакций : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1993. - С. 3-5.
19. Акулинин В.А. Пластичность дендритов пирамидных нейронов слоя V сенсомоторной коры крыс в постшемическом периоде / В.А. Акулинин, В. В. Семченко, П.В. Беличенко // Бюлл. эксперим. биолог. и медицины. - 1993. - №7. - С. 94-96.
20. Структурные изменения дендритов развивающегося мозга человека при гипоксических состояниях / В.А. Акулинин, В.В. Семченко, А.М. Кочетов, В.Н. Стольный // Морфология. - 1993, - Т. 104, №7-8. -17с.
21. Структурные механизмы эпилептизации мозга в постреанимационном периоде / Семченко В.В, Степанов С.С., Акулинин В.А., Никель А.Э., Ерениев СИ., Маковецкий К.К., Сергеева Е.Д. // Актуальные проблемы и перспективы развития современной реаниматологии : материалы междунар. симпоз. НИИ общей реаниматологии РАМН, 16-18 марта 1994. - М., 1994. - С.61-63.
22. Акулинин В.А. Трехмерная геометрия нейронов в неокортексе мозга человека в норме и при ишемии / В.А. Акулинин // Актуальные проблемы неотложных состояний : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1995.-С. 15-17.
23. Акулинин В.А. Влияние изоптина на динамику восстановления неврологического статуса у крыс в постреанимационном периоде / В.А. Акулинин, А.Э. Никель // Актуальные проблемы неотложных состояний : сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1995. - С. 17-18.
24. Akulinin V.A. Three-dimensional geometry of the pyramidal neurons of human neocortex during the ischemia / V.A. Akulinin, V.V. Semchenko, S.S. Stepanov // New Research in Neurology. The 4-th Russian-Sweden Symposium. - (20-22 May, 1996, Moscow, Russia) Brain Res Inst, 1996.-10p.
25. Пластичность межнейронных отношений в ЦНС при экстремальных воздействиях/В.В. Семченко, С.С. Степанов, СИ. Ерениев, Е.Д. Сергеева, И.И. Таскаев, В.А. Акулинин, А.К. Десятниченко, С.Н. Волосатов // III Конгресс международной ассоциации морфологов : тез. докл. -М. - Т. 109, №2. -1996. -89с.
26. Semchenko V.V. Structural basis of information capacity changes of sensory-motor cerebral cortex of rat brain during post-iesuscitation period / V.V. Semchenko, S.S. Stepanov, V.A. Akulinin // Resuscitation. - 1996. - Vol. 31. -P. 151-158.
27. Структурные основы реорганизации межнейрональных взаимоотношений в мозге млекопитающих / Семченко В.В, Степанов С.С., Десятниченко А.К., Акулинин В.А. // Колосовские чтения : тез. докл. 3 междунар. конфер. стран СНГ по функциональной нейроморфологии НИИ физиологии им. И.П.Павлова РАН, 7-8 апреля, 1997. - С-Пб., 1997.-С. 81-82.

28. Dendritic changes of the pyramidal neurons in layer V of sensory-motor cortex of the rat brain during the postresuscitation period / V.A. Akulinin, S.S. Stepanov, V.V. Semchenko, P.V. Belichenko // Resuscitation. - 1997. - Vol. 35. - P. 157-164.
29. Akulinin V.A. The cellular distribution of GAP-43 immunoreactivity in human neocortical areas using immunofluorescence and confocal microscopy: post-ischemic influence / V.A. Akulinin, P.V. Belichenko, A. Dahlstrom // Brain Res. - 1998. - Vol. 784. - P. 341-346.
30. Akulinin V.A. Dendritic changes of the pyramidal neurons of sensory-motor cortex of the rat brain during the postresuscitation period / V.A. Akulinin, V.V. Semchenko, P.V. Belichenko // Resuscitation. - 1998. - Vol. 37, № 2. - S. 11.
31. Akulinin V.A. Quantitative analysis of synaptophysin immunoreactivity in human neocortex after cardiac arrest: confocal laser scanning microscopy study / V.A. Akulinin, P.V. Belichenko, A. Dahlstrom // Resuscitation. - 1998. - Vol. 39. - P. 207-213.
32. An ultrastructural study into the effect of global transient cerebral ischaemia on the synaptic population of the cerebellar cortex in rats / S.S. Stepanov, E.D. Sergeyeva, V.V. Semchenko, V.A. Akulinin // Resuscitation. - 1998. - Vol. 39. - P. 99-106.
33. Акулинин В.А. Дендритные изменения пирамидных нейронов сенсомоторной коры мозга крыс в отдаленном постреанимационном периоде / В.А. Акулинин, В.В. Семченко, П.В. Беличенко // Морфологические науки практике здравоохранения и ветеринарии: сб. науч. тр. / Омский мед. ин-т. - Омск, 1999. - С. 8-9.
34. Постишемическая реорганизация дендроархитектоники сектора СА3 гиппокампа белых крыс с высокой судорожной готовностью мозга / В.В. Семченко, С.С. Степанов, А.Э. Никель, В.А. Акулинин // Морфология. - 2000. - Т. 118, №6. - С. 25-30.
35. Общие закономерности пластичности синапсов мозга млекопитающих / В.В. Семченко, С.С. Степанов, С.И. Еренев, В.А. Акулинин, С.Н. Волосатое, А.К. Десятниченко, А.С. Хижняк // Новое в изучении пластичности мозга : тез. докл. НИИ Мозга МЗ РФ. - М., 2000. - 81с.
36. Влияние трансплантации эмбриональной нервной ткани на реорганизацию межнейрональных взаимоотношений после механического повреждения сенсомоторной коры большого мозга / С.И. Еренев, В.А. Акулинин, С.С. Степанов, В.В. Семченко, П.В. Беличенко // Бюлл. эксперим. биолог. и медицины, - 2001. - Т. 131, №3. - С. 263-267.
37. Акулинин В.А. Дендритная геометрия пирамидных нейронов слоев П-III и V-VI сенсомоторной коры крыс в отдаленном постишемическом периоде / В.А. Акулинин, В.В. Семченко // Организация и пластичность коры больших полушарий головного мозга: тез. докл. НИИ Мозга МЗ РФ. - М., 2001. - 4с.

38. Post-ischemic leioigamzation of the dendroaichitectonics of field CA3 of the hippocampus of white rats with high levels of convulsive readiness of the brain / V.V. Semchenko, S.S. Stepanov, A.E. Nikel, V.A. Akulmin // *Neurosci. Behav. Physiol.* - 2001. - V.31, №6. - P. 617-622.
39. Структурные изменения дендритных шипиков пирамидных нейронов слоя III сенсомоторной коры большого мозга крыс в отдаленном постишемическом периоде / В.А. Акулинин, В.В. Семченко, С.С. Степанов, П.В. Беличенко // *Морфология.* - 2002. - Т. 122, №5. - С. 39-44.
40. Akulinin V.A. Changes of the pyramidal and non-pyramidal neurons of neocortex of the human brain during a remote postischemic period /V.A. Akulinin, A. Dahlstrom // *The Social Brain. Abstracts. Inaugural Conference 24-27 April 2002, Bibliotheca Alexandrina, Egypt, 2002.* - 21p.
41. Akulinin V.A. Quantitative analysis of MAP-2 immunoreactivity in human neocortex of three patients surviving after brain ischemic /V.A. Akulinin, A. Dahlstrom. // *Neurochem. Res.* - 2003. - V.28, №2. - P. 373-378.
42. Akulinin V.A. Plastic changes of the neurons of neocortex of the human brain during postischemic period / V.A. Akulinin, A. DahlstromA. // *The Social Brain. Abstracts. Conference 25-27 March 2003, Goteborg University, Sweden, 2003.* - 26p.
43. Акулинин В.А. Пластичность нейронов неокортекса человека в отдаленном постишемическом периоде (иммуногистохимическое исследование) / В.А. Акулинин, А. Дальстрем // *Омский научный вестник.* - 2004. - Т.26, №1. - С. 39-42.
44. Structural changes in the dendritic spines of pyramidal neurons in layer III of the sensorimotor cortex of the rat cerebral cortex in the late post-ischemic period / V.A. Akulinin, V.V. Semchenko, S.S. Stepanov, P.V. Belichenko // *Neurosci. Behav. Physiol.* - 2004. - Vol.34, №3. - P.221 -227.

На правах рукописи

Акулинин Виктор Александрович

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ
МЕХАНИЗМЫ РЕОРГАНИЗАЦИИ ДЕНДРИТОВ
НЕРВНЫХ КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА
В ПОСТИШЕМИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ**

14 00 15 - патологическая анатомия

03 00 25 - гистология, цитология и клеточная биология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Омск-2004

Лицензия ЛРН№ 020845

Подписано в печать 22 11 04

Формат 60x84/16

Бумага офсетная

П.л.-2,0

Способ печати - оперативный

Тираж 100

Издательско-полиграфический центр ОмГМА
6440991 ()мск, ул. Ленина, 12 тел. 23-05-98

26260