

DOI: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-9-17

УДК 616.831-091.8-076.5

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© В.А. Акулинин, С.С. Степанов Д.Б. Авдеев, 2019

Реакция астроцитов неокортекса человека на клиническую смерть и реперфузию

В. А. Акулинин*, С. С. Степанов, Д. Б. Авдеев

ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия

Цель. Исследование посвящено изучению влияния клинической смерти и реперфузии на астроциты коры головного мозга (КГМ) человека.

Материал и методы. С помощью конфокального микроскопа, флуоресцентной иммуногистохимии (GFAP), классической морфометрии и фрактального анализа были изучены структурные типы, количество, форма, размеры и распределение астроцитов слоев I–VI (поля 4, 10, 17 и 21) КГМ через 7 сут после 3-минутной клинической смерти (n=3, мужчины). В контрольную группу (n=4, мужчины) вошли погибшие от тяжелой черепно-мозговой травмы.

Результаты. В КГМ человека выявлена сложная интегрированная система GFAP-позитивных клеток, состоящая из трансламинарных и интраламнарных астроцитов фиброзного, протоплазматического и смешанного типов. Тела трансламинарных астроцитов локализовались в слоях I (имели гладкие длинные тонкие отростки) и V–VI (отростки с варикозными утолщениями). Отростки трансламинарных астроцитов проникали навстречу друг другу и переплетались на уровне слоя I и II. Через 7 сут после клинической смерти в КГМ выявлены качественные и количественные изменения всех типов интраламнарных и трансламинарных астроцитов. Во всех слоях изученных отделов КГМ увеличивалась относительная площадь GFAP-позитивного материала. Повышение экспрессии GFAP в астроцитах КГМ сопровождалось изменениями фрактального распределения и лакуарности распределения их отростков, что свидетельствовало о пространственной реорганизации астроглиальной сети в ответ на острую ишемию и реперфузию мозга. В большей степени это касалось отростков фиброзных периваскулярных астроцитов. Вероятно все эти проявления реактивного астроглиоза были связаны с активацией адаптационно-репаративных процессов в астроцитах. Статистически значимых различий между полями КГМ выявлено не было.

Заключение. Полученные результаты свидетельствовали о том, что после клинической смерти и реперфузии происходила структурно-функциональная реорганизация нейроглиальной сети КГМ, сопровождающаяся усилением экспрессии GFAP и усложнением пространственного распределения отростков всех типов астроцитов.

Ключевые слова: человек, клиническая смерть, неокортекс, астроциты, флуоресцентная иммуногистохимия, GFAP, морфометрия, фрактальный анализ.

Reaction of Human Neocortex Astrocytes to Clinical Death and Reperfusion

© V.A. Akulinin*, S.S. Stepanov, D.B. Avdeev, 2019

Omsk State Medical University, Omsk, Russia

The aim of research was to study the effect of clinical death and reperfusion on astrocytes of the human cerebral cortex.

Material and methods. Structural types, quantity, shape, size and distribution of cortical layers I–VI astrocytes (fields 4, 10, 17 and 21) were studied in 7 days after 3-minute clinical death (n=3, males) using a confocal microscope, fluorescence immunohistochemistry (GFAP), classical morphometry and fractal analysis. The control group (n=4, males) included patients died from severe traumatic brain injury.

Results. A complex integrated system of GFAP-positive cells consisting of translaminar and intralaminar astrocytes of the fibrous, protoplasmic and mixed types, was revealed in the human cerebral cortex. The bodies of translaminar astrocytes were localized in layers I (had smooth long thin processes) and layers V–VI (had processes with varicose thickening). The processes of translaminar astrocytes penetrated towards each other and intertwined at the level of layer I and II. Qualitative and quantitative changes of all types of intralaminar and translaminar astrocytes were revealed in the human cerebral cortex in 7 days after clinical death. The percentage of the GFAP-positive area increased in all layers of the studied cerebral cortex departments. An increase in GFAP expression in cortical astrocytes was accompanied by changes in the fractal distribution and lacunarity of their processes distribution, the fact supporting a spatial reorganization of the astroglial network in response to acute ischemia and reperfusion of the brain. To a greater extent this related to the processes of fibrous perivascular astrocytes. All these manifestations of reactive astrogliosis might be associated with the activation of adaptive-reparative processes in astrocytes. No statistically significant differences between the cerebral cortex fields were revealed.

Conclusion. The results obtained showed that clinical death and reperfusion resulted in a structural-functional reorganization of the neuroglial network of the cerebral cortex accompanied by an increase in the GFAP expression and complication of the spatial distribution of the processes in all types of astrocytes.

Key words: humans, clinical death, neocortex, astrocytes, fluorescent immunohistochemistry, GFAP, morphometry, fractal analysis.

***Автор для переписки:**

Акулинин Виктор Александрович
Омский государственный медицинский университет, ул.
Ленина, 12, г. Омск, 644099, Россия
E-mail: akulinin@omsk-osma.ru

***Corresponding author:**

Viktor Akulinin
Omsk State Medical University, ul. Lenina, 12, Omsk, 644099,
Russia
E-mail: akulinin@omsk-osma.ru

Введение

Интенсивное изучение морфологии астроцитов связано с тем, что эти клетки выполняют многообразные функции в центральной нервной системе в норме и при различных патологических состояниях [4, 13, 17, 19, 21, 23]. Астроциты играют фундаментальную роль в патогенезе постишемической гибели нейронов. Без адекватной адаптивной реакции астроцитов на ишемию нейроны подвергаются необратимой деструкции путем некроза и апоптоза [21, 22, 24].

В коре головного мозга человека выявлены особые формы астроцитов, доказаны видовые и региональные особенности их структурной организации [3, 5, 10, 11, 14, 15]. Изучение феномена структурно-функциональной гетерогенности астроцитов головного мозга человека является важным направлением развития нейробиологии, нейроморфологии и нейрофармакологии [10, 14]. Главным иммуноцитохимическим маркером астроцитов является глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), который применяется при исследовании функций нервной системы в норме и при патологии [7, 9, 16, 25].

Установлено, что ответ астроцитов на действие патологических факторов является неспецифичным, а интенсивность экспрессии GFAP зависит от степени повреждения и длительности воздействия патологических факторов, а не от их природы [17, 21]. Увеличение экспрессии GFAP обнаруживается практически при всех патологических состояниях в ЦНС, включая ишемию, травматическое повреждение мозга, воспаление, эпилепсию, ряд нейродегенеративных заболеваний, рост опухоли. При этом наблюдается пролиферация и гипертрофия астроцитов. Такое состояние получило название «реактивный астроглиоз» [19].

Целью настоящего исследования было изучение влияния клинической смерти и реперфузии на астроциты коры головного мозга человека.

Материал и методы исследования

Исследовали головной мозг мужчин (n=7, средний возраст – 64±6 лет) без предшествующих неврологических заболеваний. В основную группу вошли три пациента, перенесшие остановку сердца (инфаркт, клини-

ческая смерть 2–3 минут), реанимацию и умершие через 7 сут после нее в результате повторного инфаркта. Во всех случаях реанимация включала искусственную вентиляцию легких и лекарственные препараты, усилившие функцию сердечной деятельности. В контрольную группу (n=4) вошли погибшие от тяжелой черепно-мозговой травмы после автомобильной аварии. Согласие на забор тканей получено у родственников, исследовательский протокол одобрен этическим комитетом Омского государственного медицинского университета.

Материал для исследования взят в течение 24 ч с момента констатации биологической смерти из полей 4, 10, 17 и 21 коры головного мозга (КТМ). Ткань фиксировали путем иммерсии в 4% растворе параформальдегида на 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.4) при температуре 4°C. На замораживающем криостате (Cryostat, Leica, Germany) делали срезы толщиной 10 мкм через все слои КТМ.

После преинкубации в фосфатном буфере срезы обрабатывали для непрямой иммунофлуоресценции с использованием первичных моноклональных антител (GFAP). Затем в течение 2–3 ч срезы инкубировали при комнатной температуре со вторичными антителами (Sigma) в разведении 1:200 в 0.1 М фосфатном буфере, содержащем 0.3% Тритон X100. После промывки срезы инкубировали в течение 1–2 ч (в темноте при комнатной температуре) с FITC конъюгированным стрептавидином (Amersham, Buckinghamshire, UK) в разведении 1:200 и промывали в фосфатном буфере. Все срезы монтировали на предметные стекла с глицерином. Готовые препараты изучали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе (BioRad MRC 600) и флуоресцентном микроскопе (Nikon FXA). Для оценки иммунофлуоресценции использовали следующие условия просмотра: увеличение линзы – ×20 (объектив Nikon; Fluor 1.30), шаг просмотра срезов – 2 μm, увеличение поля – 3, средняя плотность – 1, режим быстрого просмотра, 10 просмотров каждого среза с помощью фильтров Kalman с коэффициентом 3 и размером блока 1/4, область сканирования – 140×125 мкм; разрешение матрицы – 0.48×0.48 мкм. Использовали фильтры 488 DF 10 и 568 DF 10. Получали изображения 5–10 Z-серийных участков КТМ.

Общую оценку нервной ткани и определение нейроглиального индекса проводили на срезах, окрашенных классическим методом по Нисслю.

Морфометрический анализ проводили на инвертированных цифровых изображениях с использованием программы ImageJ 1.52. Астроциты идентифицировали на основании морфологических критериев данного типа клеток [8, 14, 15]. Для достижения максимальной контрастности и четкости мелких

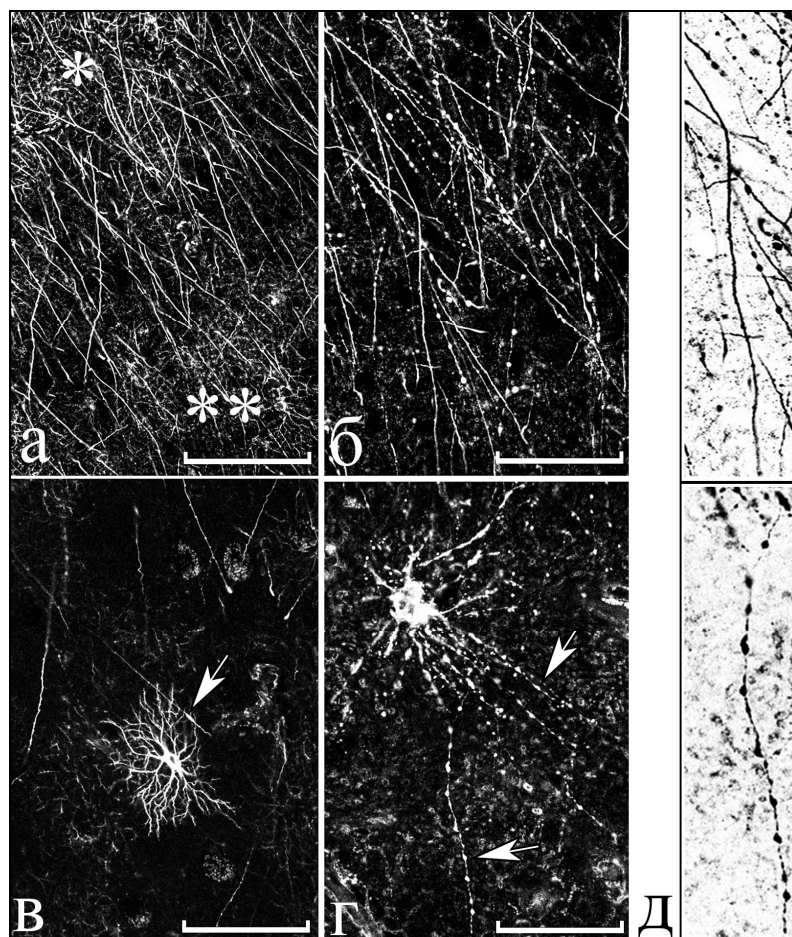


Рис. 1. Особые типы астроцитов коры головного мозга человека, контрольная группа: а – тонкие длинные неразветвленные отростки интерламинарных астроцитов слоя I (*) проникают на территорию слоя II (**), поле 17; б – сочетание отростков интерламинарных астроцитов из слоя I и отростков астроцитов с варикозными расширениями из слоя V (слой II), поле 17; в – варикозные отростки астроцитов пронизывают домены интраламинарных астроцитов (поле 21); г – астроцит с варикозными расширениями отростков (слой V), поле 4; д – увеличенные (инвертированные) фрагменты отростков трансламинарных астроцитов. Окраска: иммунофлуоресцентная маркировка GFAP. Об. 20 (а, б) и об. 40 (в, г); шкала – 50 мкм (а, б), 60 мкм (в) и 25 мкм (г).

отростков астроцитов в Photoshop CC проводили коррекцию изображения с помощью фильтра Camera Raw (контрастность, баланс белого, четкость). Дальнейшее морфометрическое исследование астроцитов проводили на масках 8-битовых черно-белых изображений (600 пикселей/дюйм).

Определяли относительную площадь (%), по 50 измерений на каждый слой КГМ) GFAP-позитивного материала отростков астроцитов в поле зрения микроскопа. Дополнительно, для количественной оценки пространственной организации астроцитов, использовали фрактальный анализ. Рассчитывали фрактальную размерность (ФР) – показатель заполнения пространства фрактальной структурой и лакуарность (Л) – меру неоднородности заполнения пространства фрактальной структурой (у.е., по 50 измерений на каждый слой КГМ). Для фрактального анализа использовали метод DF BC (box-counting method, программа ImageJ 1.52; плагин FracLac 2.5), широко применяемый при оценки степени сложности клеток нервной системы [2, 12, 20].

Статистический анализ проводили с помощью программы StatSoft Statistica 8.0 [1]. Использовали непараметрические критерии (Манна-Уитни, ANOVA Фридмана). Материал представлен как медиана (Me), нижний (QL) и верхний (QU) квартили. Нулевую гипотезу отвергали при $p \leq 0.05$.

Результаты и их обсуждение

По данным флуоресцентной иммуногистохимии, астроциты различных слоев коры головного мозга (КГМ) человека представлены сложным набором гетероморфных клеток, отличающихся типом, расположением и плотностью GFAP-позитивного материала (глиофибриллы) (рис. 1–4; табл. 1).

Важнейшим элементом слоя I являлась интенсивно флуоресцирующая поверхностная глиальная пограничная мембрана, образованная отростками специализированных астроцитов. Для этого слоя также характерно присутствие интерламинарных (или трансламинарных) астроцитов, прямые тонкие длинные отростки которых вертикально проникали на территорию нижележащих слоев (преимущественно II–III слою) КГМ (рис. 1 а, б, в). В слое I отростки астроцитов образуют плотную непрерывную войлокообразную сеть, занимая 25.8–31.5% поля зрения (табл. 1).

Протоплазматические (ПА) и фиброзные (ФА) астроциты (рис. 2) располагались на территории нейронных слоев II–VI. Их отростки не выходили за пределы этих слоев (интраламинарные астроциты). ПА преобладали вокруг тел нейронов и в нейропиле клеточных слоев III–V. Это кустообразные клетки с крупным ядром, нечетким контуром, рыхлым заполнением тела и отростков GFAP в пределах домена – зоны одного астроцита, не пересе-

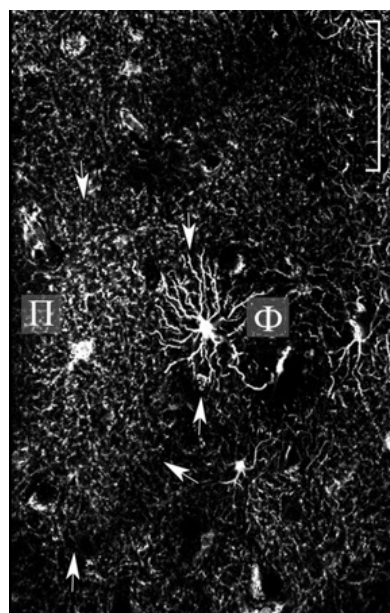


Рис. 2. Интраламнарные протоплазматические (П) и фиброзные (Ф) астроциты слоя III коры головного мозга человека (поле 10), контрольная группа. Стрелки – границы астроцитарных доменов. Окраска: иммунофлуоресцентная маркировка GFAP. Об. 40; шкала – 100 мкм.

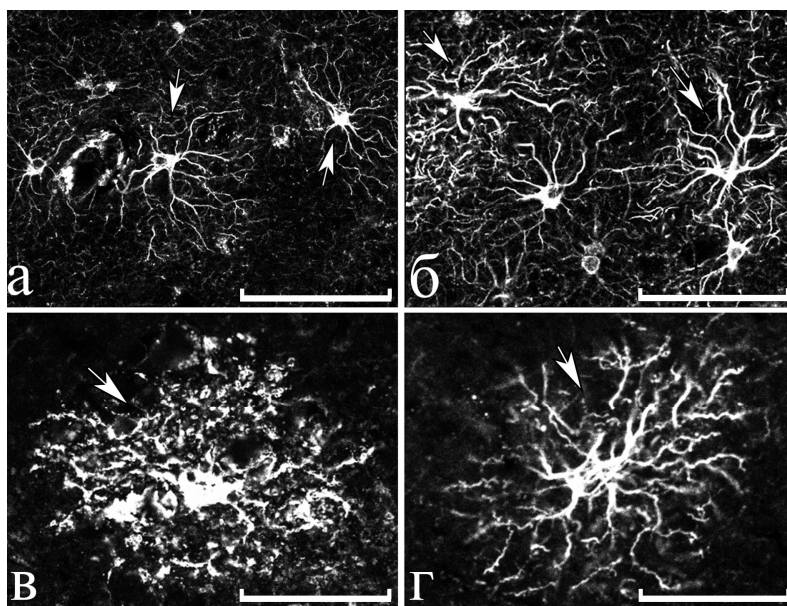


Рис. 3. Фиброзные (а, б, поле 10), протоплазматический (в, поле 21) и плазмифиброзный (г; смешанный, поле 10) астроциты слоя III коры головного мозга человека, контрольная группа. Окраска: иммунофлуоресцентная маркировка GFAP. Об. 40; шкала – 100 мкм (а, б) и 40 мкм (в, г).

Таблица 1

Относительная площадь (%), фрактальная размерность и лакуарность срезов отростков разных типов астроцитов в единице поля зрения различных слоев коры головного мозга человека контрольной группы, Me (Ql–Qu)

Локализация GFAP-позитивного материала	Показатели	
	Площадь, % Фрактальная размерность, у.е.	Лакуарность, у.е.
Слой I, субпиальная зона	27.5 (25.8–31.5) 1.78 (1.64–1.83)	0.32 (0.30–0.38)
Слой I, глубокая зона (прямые отростки трансламинарных астроцитов)	16.9 (13.8–18.4) 1.57 (1.52–1.68)	0.48 (0.39–0.65)
Слой II (варикозные и прямые отростки трансламинарных астроцитов из слоя I и IV)	12.6 (8.1–13.8) 1.62 (1.48–1.77)	0.57 (0.42–0.77)
Слой III (фиброзные астроциты с густыми тонкими отростками)	21.4 (18.5–24.3) 1.68 (1.65–1.71)	0.48 (0.44–0.50)
Слой III (фиброзные астроциты с редкими тонкими отростками)	13.1 (11.6–14.7) 1.36 (1.32–1.40)	0.67 (0.61–0.68)
Слой III (фиброзные астроциты с редкими толстыми отростками)	25.7 (18.1–27.5) 1.60 (1.53–1.64)	0.53 (0.49–0.63)
Слой III (протоплазматические астроциты)	33.4 (31.5–35.6) 1.61 (1.55–1.72)	0.58 (0.40–0.63)
Слой III (смешанные астроциты)	26.7 (25.2–27.8) 1.45 (1.36–1.67)	0.70 (0.68–0.76)
Слой IV–V (отростки с варикозными утолщениями)	7.8 (5.6–8.9) 1.45 (1.41–1.51)	0.78 (0.76–0.83)
Субкортикальная зона	15.8 (12.7–16.5) 1.66 (1.64–1.67)	0.43 (0.41–0.48)
Периваскулярная зона	20.2 (17.8–25.0) 1.54 (1.30–1.6)	0.72 (0.51–0.78)
ANOVA Фридмана	df=10; $\chi^2=114.5$; $p<0.001^*$ df=10; $\chi^2=124.4$; $p<0.001^*$	df=10; $\chi^2=105.3$; $p<0.001^*$

Примечание: * – различия между зонами КГМ статистически значимы при $p<0,001$ (критерий χ^2 , ANOVA Фридмана). В таблице представлены суммарные данные по полям 4, 10, 17 и 21.

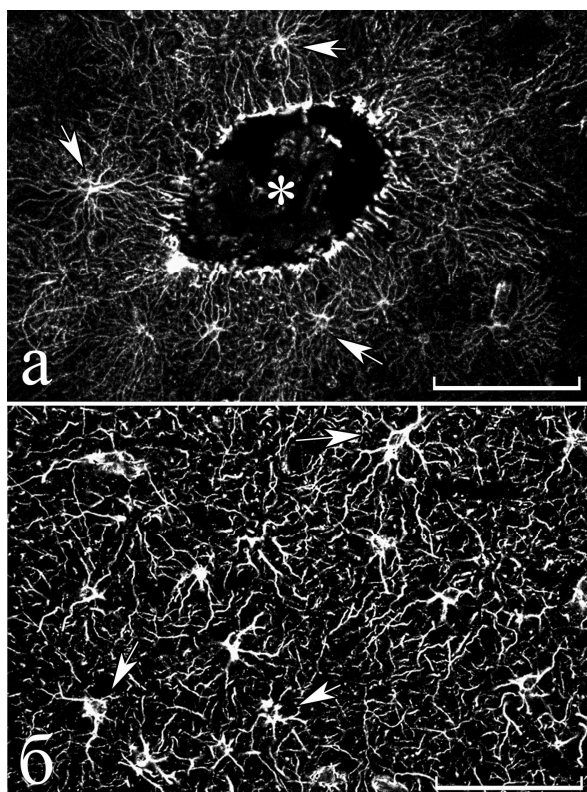


Рис. 4. Фиброзные астроциты коры головного мозга человека, контрольная группа: а – периваскулярные астроциты (стрелки) и их отростки, образующие периваскулярную глиальную пограничную мембрану вокруг сосуда (*), поле 10; б – астроциты субкортикального белого вещества, поле 4. Окраска: иммунофлуоресцентная маркировка GFAP. Об. 10 (а), об. 20 (б); шкала – 200 мкм (а) и 100 мкм (б).

кающейся с отростками соседней клетки (рис. 2, 3 в). Диаметры доменов ПА варьировали от 80 до 380 мкм. Медиана составляла 140.5 (132.4–154) мкм, что свидетельствовало о преобладании в контроле небольших клеток этого типа. По данным морфометрического и фрактального анализа, отростки ПА занимали 32.0–36.0% (интерквартильный размах) площади домена, имели плотное ($ФР=1.55–1.72$) и равномерное ($Л=0.40–0.63$) распределение в пространстве (табл. 1).

Фиброзные астроциты (ФА) – это клетки с очень высоким содержанием GFAP-позитивного материала (глиофибрилл) в их теле и отростках (рис. 3 а, б). ФА отличались толщиной отростков, но в контроле преобладали клетки с тонкими слабоветвленными отростками (рис. 3 а). ФА с мощными толстыми гипертрофированными отростками (рис. 3 б) занимали пространство диаметром 178.6 (110.5–195.4) мкм. Максимальное количество ФА было выявлено в субкортикальном белом веществе КГМ и вокруг сосудов (табл. 1). Концевые расширения отростков последних формировали периваскулярную глиальную пограничную мембрану вокруг сосуда (рис. 4 а, б). ФА не имели четкой доменной организа-

ции: тонкие периферические отростки соседних клеток частично переплетались.

ФА отличались количеством, толщиной и длиной проксимальных ветвей отростков, а также относительной площадью срезов всех отростков в зоне расположения одной клетки (рис. 1 в; 3 а, б; 4 а, б, табл. 1). По данным фрактального анализа, ФА с густыми тонкими отростками (рис. 1 в) имели высокие значения фрактальной размерности (ФР) и низкие значения лакуарности (Л) (табл. 1). То есть, для них была характерна высокая плотность равномерно ветвящихся отростков. ФА с редкими тонкими отростками (рис. 3 а) имели небольшую относительную площадь GFAP-позитивного материала, низкую ФР и высокую Л (табл. 1). ФА с редкими толстыми отростками (рис. 3 б) имели наибольшую относительную площадь GFAP-позитивного материала, высокую ФР и Л (табл. 1).

В слоях V–VI содержались крупные трансламинарные астроциты с длинными тонкими варикозно измененными отростками (рис. 1 г). Эти отростки проникали на территорию вышележащих слоев (вплоть до слоя I и II), где переплетались с отростками трансламинарных астроцитов слоя I (рисунок 1 б, д). При этом отростки трансламинарных астроцитов пронизывали дистальные отделы доменов интраламнарных протоплазматических и фиброзных астроцитов (рис. 1 в). Для отростков этих клеток характерна небольшая относительная площадь в поле зрения, низкий показатель ФР и высокий показатель лакуарности (табл. 1).

В КГМ встречались GFAP-позитивные клетки, для которых было характерно наличие плотных гладких отростков в проксимальной зоне и рыхлых извитых отростков в дистальной зоне клеточного домена. Вполне вероятно, что это так называемые смешанные астроциты (СА) (рис. 3 г). По размеру СА были ближе к ПА (рис. 3 в). Относительная площадь GFAP-позитивного материала отростков СА была меньше, чем у ПА, но не отличалась от таковой ФА с густыми тонкими и редкими толстыми отростками. В отличие от ПА, СА имели низкие значения ФР и высокие значения Л, что свидетельствовало о неравномерном распределении GFAP в их доменах (табл. 1).

Представленные выше разновидности интра- и трансламинарных астроцитов выявлялись во всех изученных полях (4, 10, 17 и 21) КГМ. В сером веществе преобладали ПА, а в субкортикальной зоне – ФА. Тела трансламинарных астроцитов локализовались в слоях I (имели гладкие длинные тонкие отростки) и V–VI (с варикозными утолщениями). Отростки трансламинарных астроцитов проникали навстречу друг другу, пересекая домены ПА и ФА, переплетались на уровне нижней части слоя I, всего слоя II и III. Это, вероятно, обес-

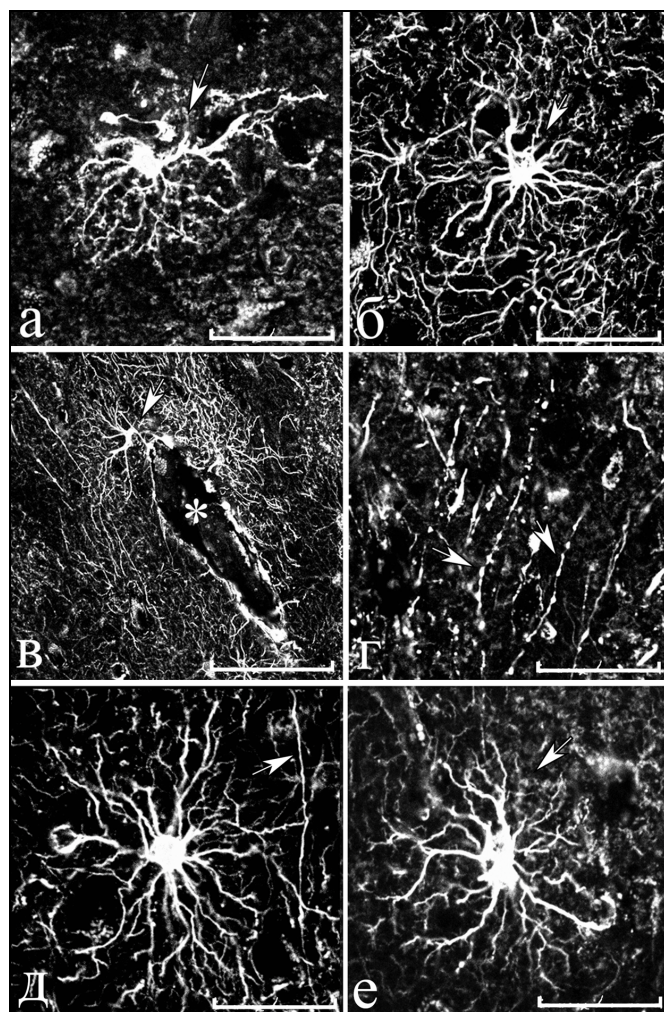


Рис. 5. Астроциты коры головного мозга пациента, перенесшего клиническую смерть: а – гипертрофированный протоплазматический астроцит (стрелка) в слое III, поле 4; б – гипертрофированный фиброзный астроцит субкортикального белого вещества в слое III, поле 4; в – гипертрофия периваскулярных фиброзных астроцитов в слое V, поле 21; г – трансламинарные отростки астроцитов с неравномерно распределенными варикозными расширениями (стрелки) в слое II, поле 4; д – трансламинарный астроцит и длинные неразветвленные отростки (стрелки) в слое I, поле 17; е – смешанный астроцит (стрелки) в слое III, поле 10; Окраска: иммунофлуоресцентная маркировка GFAP. Об. 10 (в), об. 40 (а, б, г, д, е). Шкалы – 60 мкм (а, б, д, е), 120 мкм (в) и 50 мкм (г).

печивало структурно-функциональную интеграцию всех слоев в единое пространство нейроглияльной сети КГМ.

В контроле относительная площадь всех GFAP-позитивных структур КГМ (тела и отростки астроцитов, сосудистые ножки, субпиальная зона, субкортикальная зона) в поле зрения (об. 20) составляла 15.2 (12.5–18.4)%, а после клинической смерти – 22.5 (16.5–27.8)% (критерий Манна–Уитни; $p=0.001$). Более высокая относительная площадь GFAP-позитивных структур КГМ сопровождалась статистически значимым (метод Ниссля; критерий Манна–Уитни, $p=0.001$) увеличением нейроглияльного индекса: в контроле – 2.53 (2.41–2.78), после клинической смерти – 3.45 (3.15–3.74). При этом в 1.45 раза увеличивалось ($p=0.001$) количество нейронов с сателлитной глией. Вероятно, это свидетельствовало об активации процессов пролиферации астроцитов в ответ на реперфузию. Различий между полями 4, 10, 17 и 21 КГМ выявлено не было (ANOVA Фридмана, $p<0.05$). Вполне вероятно, что это было связано с небольшими выборками: в контроле 4 случая, после клинической смерти 3 случая.

После клинической смерти признаки высокой экспрессии GFAP, гипертрофии отростков (рис. 5 а–е; 6 а–д) и усложнения их пространственной организации (рис. 6 а–д) имели все разновидности астроцитов во всех изученных полях. При этом были выявлены особенности реакции на ишемию отростков разных типов астроцитов. Для ПА и ФА было характерно утолщение отростков в проксимальной зоне доменов (рис. 5 а, б; 6 б, в). Вокруг кровеносных сосудов происходило уплотнение астроцитарной сети (рисунок 5в; рисунок 6д). Утолщались длинные отростки трансламинарных астроцитов глубоких слоев, в них появлялись крупные неравномерно распределенные (чаще чем в контроле) варикозные расширения (рис. 5 г; 6 а). В слое I выявлялось большое количество крупных трансламинарных астроцитов с множеством отростков (рис. 5 д). Статистически значимые различия выявлены для всех типов астроцитов коры головного мозга при сравнении контрольной группы и пациентов, перенесших клиническую смерть (рис. 6). Между полями КГМ внутри контрольной и основной группы различия не выявлены.

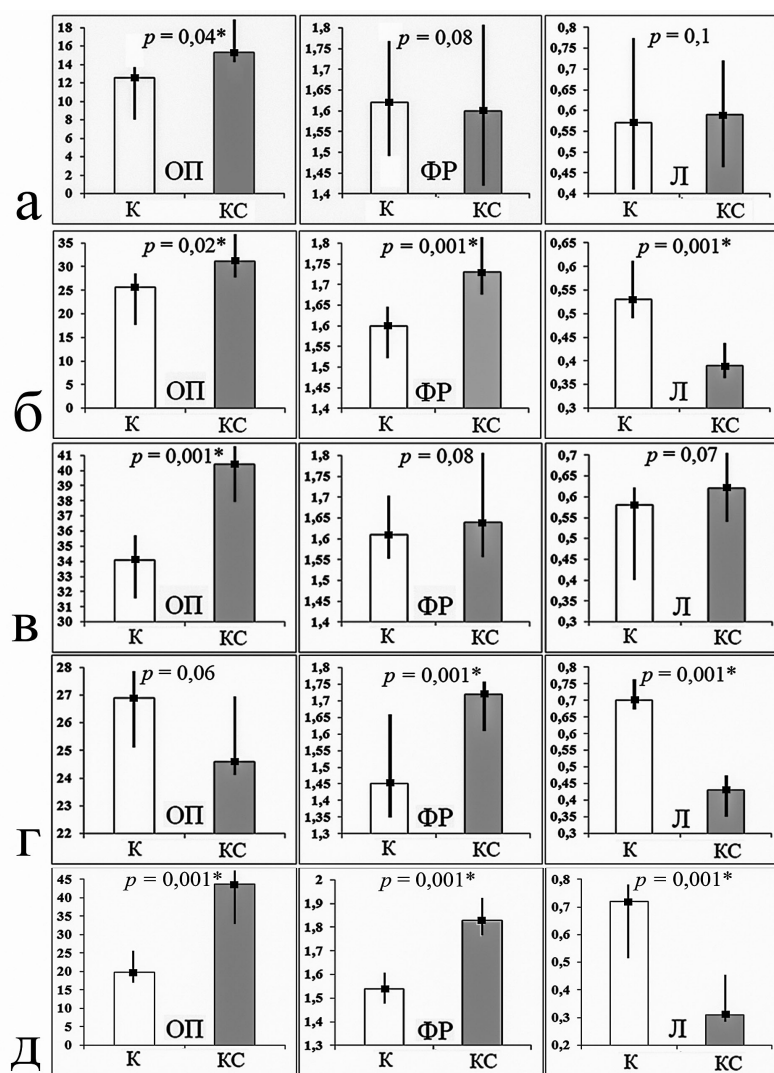


Рис. 6. Сравнительная характеристика отростков различных типов астроцитов коры головного мозга контрольной группы (К) и пациентов, перенесших клиническую смерть (КС): а – трансламинарные астроциты (слои I–II), б – фиброзные астроциты (слои III–VI), в – протоплазматические астроциты (слои III–V), г – смешанные астроциты (слои III–V), д – периваскулярные астроциты (слои I–V). ОП – относительная площадь GFAP-позитивного материала, ФР – фрактальная размерность, Л – лакуарность, * – различия статистически значимы при $p < 0,05$ (U-критерий Манна-Уитни). На графиках даны суммарные значения по полям 4, 10, 17 и 21. Материал представлен как медиана и интерквартильный размах.

Вполне вероятно, что общая относительная площадь всего GFAP-позитивного материала увеличивалась в результате пролиферации и реактивных изменений отростков астроцитов на всех уровнях КГМ (рис. 6 а–в, д).

Повышение экспрессии GFAP в астроцитах КГМ сопровождалось изменениями показателей фрактального распределения (ФР) и лакуарности (Л) их отростков, что свидетельствовало о пространственной реорганизации астроглиальной сети в ответ на клиническую смерть и реперфузию. В большей степени это касалось отростков фиброзных (рис. 6 б), смешанных (рис. 6 г) и периваскулярных (рис. 6 д) астроцитов. В сравнении с контролем, по совокупности показателей (ОП, ФР и Л), наибольшие изменения претерпевали ФА (рис. 3 а, б; 5 б; 6 б), особенно – периваскулярные (рис. 4 б; 5 в; 6 д).

Заключение

По литературным данным, в КГМ человека описано, как минимум, пять типов астроцитов: интраламнарные протоплазматические, фиброзные и смешанные; трансламинарные астроциты слоев I и V–VI с длинными

прямыми и варикозными отростками. Астроциты с варикозными расширениями длинных отростков выявлены только у человека [10, 15].

В нервной ткани головного мозга после острой ишемии развиваются деструктивные, адаптивные, репаративные и пролиферативные изменения астроглии, имеющие определенную динамику [6, 18]. При этом в последнее время большое внимание уделяется изучению роли реактивного астроглиоза в качестве механизма защиты и восстановления нейронов после ишемического воздействия [8, 18]. В этом аспекте астроциты КГМ человека после клинической смерти изучены недостаточно полно. Поэтому в настоящем исследовании основное внимание уделено изучению реакции разных типов астроцитов КГМ пациентов, умерших через 7 сут после клинической смерти от вторичной остановки сердца.

Результаты проведенного исследования показали, что во всех слоях КГМ человека после реперфузии преобладали реактивные адаптивные, репаративные и пролиферативные изменения астроцитов всех типов, направленные, вероятно, на поддержку частич-

но поврежденных нейронов. Развитие реактивного астроглиоза сопровождалось увеличением количества астроцитов, усилением экспрессии GFAP и пространственной реорганизацией их отростков. При этом наибольшие количественные изменения были характерны для фибриллярных периваскулярных астроцитов. Последнее можно объяснить ключевым значением астроцитов этого типа для формирования и функционирования гематоэнцефалического барьера. В принципиально разных корковых полях КГМ человека количественные изменения астроцитов статистически значимо не различались.

Полученные результаты имеют значение для понимания роли реактивного астроглиоза после реперфузии в КГМ человека, важным последствием которого является защита поврежденных нейронов. По данным литературы, регуляция подобных изменений астроцитов может представлять собой новую нейропротекторную терапевтическую стратегию [19, 21, 18].

Данная работа выполнена при поддержке Фонда содействия инновациям по программе «УМНИК» №14 от 15.12.2017г. и внутреннего гранта ФГБОУ ВО Омского государственного медицинского университета №574 от 24.11.2017 г.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

- Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. Изд-во Питер; 2003; 2: 688 [Borovikov V. Statistica. Iskusstvo analiza dannykh na komp'yutere. Izd-vo Piter; 2003; 2: 688] (in Russian).
- Исаева В.В., Пуцина Е.В., Каретин Ю.А. Изменения морфометрических показателей и фрактальной размерности нейронов спинного мозга в онтогенезе симы *Oncorhynchus masou*. Биология моря. 2006; 32(2): 125–33 [Isaeva VV, Puschina EV, Karetin YuA. Changes of the morphometric indices and fractal dimension of the spinal cord neurons during ontogenesis of the cherry salmon *Oncorhynchus masou*. Russian Journal of Marine Biology. 2006; 32(2): 106–14] (in Russian).
- Коржевский Д.Э., Отеллин В.А., Григорьев И.П. Глиальный фибриллярный кислый белок в астроцитах неокортекса человека. Морфология. 2004; 126(5): 7–10 [Korzhevskii DE, Otellin VA, Grigor'ev IP. Glial fibrillary acidic protein in astrocytes in the human neocortex. Neuroscience and Behavioral Physiology. 2005; 35(8): 789–92] (in Russian).
- Моргун А.В., Малиновская Н.А., Комлева Ю.К., Лопатина О.Л., Кувачева Н.В., Панина Ю.А., Таранушенко Т.Е., Солончук Ю.Р., Салмина А.Б. Структурная и функциональная гетерогенность астроцитов головного мозга: роль в нейродегенерации и нейровоспалении. Бюллетень сибирской медицины. 2014; 13(5): 138–48 [Morgun AV, Malinovskaya NA, Komleva YuK, Lopatina OL, Kuvacheva NV, Panina YuA, Taranushenko TE, Solonchuk YuR, Salmina AB. Structural and functional heterogeneity of astrocytes in the brain: role in neurodegeneration and neuroinflammation. Bulletin of Siberian Medicine. 2014; 13(5): 138–48] (in Russian).
- Сухорукова Е.Г., Алексеева О.С., Кирик О.Б., Грудина Н.А., Коржевский Д.Э. Сравнительные аспекты структурной организации астроцитов первого слоя коры головного мозга человека и крысы. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2012; 48(3): 280–286 [Sukhorukova EG, Kirik OV, Grudinina NA, Korzhevskii DE, Alekseyeva OS. Comparative aspects of structural organization of astrocytes of the layer I of the human and rat brain cortex. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2012; 48(3): 335–42] (in Russian).
- Тертышный С.И. Ультраструктурные изменения астроглии при посттравматической энцефалопатии в эксперименте. Морфология. 2015; 9(3): 89–94 [Tertishnyi SI. Ultrastructural changes of the astroglia in experimental postresuscitation encephalopathy. Morfologiya. 2015; 9(3): 89–94] (in Russian).
- Франк Г.А., Мальков П.Г. Иммуногистохимические методы: Руководство. М.; 2011. 224. Пер. с англ.: George L. Kumar, Lars Rudbeck.: DAKO [Frank GA, Mal'kov PG. Immunogistokhimicheskie metody: Rukovodstvo. M.; 2011. 224. Per. s angl.: George L. Kumar, Lars Rudbeck.: DAKO] (in Russian).
- Anderson MA, Ao Y, Sofroniew MV. Heterogeneity of reactive astrocytes. Neurosci Lett. 2014; 565: 23–9.
- Bernal GM, Peterson DA. Phenotypic and gene expression modification with normal brain aging in GFAP-positive astrocytes and neural stem cells. Aging Cell. 2011; 10(3): 466–82.
- Colombo JA, Reisin HD. Interlaminar astroglia of the cerebral cortex: a marker of the primate brain. Brain Res. 2004; 1006 (1): 126–31.
- Hewett JA. Determinants of regional and local diversity within the astroglial lineage of the normal central nervous system. J Neurochem. 2009; 110(6): 1717–36.
- Karperien A, Ahammer H, Jelinek HF. Quantitating the subtleties of microglial morphology with fractal analysis. Front. Cell. Neurosci. 2013; 7(3): 1–18.
- Li C, Zhao R, Gao K, et al. Astrocytes: implications for neuroinflammatory pathogenesis of Alzheimer's disease. Curr. Alzheimer Res. 2011; 8(1): 67–80.
- Oberheim NA, Wang X, Goldman S, Nedergaard M. Astrocytic complexity distinguishes the human brain. Trends Neurosci. 2006; 29(10): 547–53.
- Oberheim NA, Takano T, Han X, et al. Uniquely hominid features of adult human astrocytes. J Neurosci. 2009; 29(10): 3276–87.
- Paulus W. GFAP, Ki67 and IDH1: perhaps the golden triad of glioma immunohistochemistry. Acta Neuropathol. 2009; 118(5): 603–4.
- Plata A, Lebedeva A, Denisov P, Nosova O, Postnikova TY, Pimashkin A, Brazhe A, Zaitsev AV, Rusakov DA, Semyanov A. Astrocytic atrophy following status epilepticus parallels reduced Ca²⁺ activity and impaired synaptic plasticity in

- the rat hippocampus. *Front Mol Neurosci.* 2018; 11: 215. doi: 10.3389/fnmol.2018.0021
18. Pekny M, Pekna M. Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits. *Physiol Rev.* 2014; 94(4): 1077–98.
 19. Pekny M, Nilsson M. Astrocyte activation and reactive gliosis. *Glia.* 2005; 50(4): 427–34.
 20. Pirici D, Mogoantă L, Mărgăritescu O, Pirici I, Tudorică V, Coconu M. Fractal analysis of astrocytes in stroke and dementia. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 2009; 50(3): 381–90.
 21. Takano T, Oberheim N, Cotrina ML, Nedergaard M. Astrocytes and ischemic injury. *Stroke.* 2009; 40(30): 8–12.
 22. Tian R, Wu X, Hagemann TL, Sosunov AA, Messing A, McKhann GM, Goldman JE. Alexander disease mutant glial fibrillary acidic protein compromises glutamate transport in astrocytes. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2010; 69(4): 335–45.
 23. Yu I, Inaji M, Maeda J. et al. Glial cell-mediated deterioration and repair of the nervous system after traumatic brain injury in a rat model as assessed by positron emission tomography. *J. Neurotrauma.* 2010; 27(8): 1463–75.
 24. Zhou B, Zuo YX, Jiang RT. Astrocyte morphology: Diversity, plasticity, and role in neurological diseases. *CNS Neurosci Ther.* 2019; doi: 10.1111/cns.13123.
 25. Zhu H, Dahlstrom A. Glial fibrillary acidic protein-expressing cells in the neurogenic regions in normal and injured adult brains. *J. Neurosci. Res.* 2007; 85(12): 2783–92.

Поступила в редакцию 10.06.2019

Received 10.06.2019

Принята в печать 3.09.2019

Accepted 3.09.2019

Для цитирования: Акулинин В.А., Степанов С.С., Авдеев Д.Б. Реакция астроцитов неокортекса человека на клиническую смерть и реперфузию. Журнал анатомии и гистопатологии. 2019; 8(3): 9–17. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-9-17

For citation: Akulinin V.A., Stepanov S.S., Avdeev D.B. Reaction of human neocortex astrocytes to clinical death and reperfusion. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2019; 8(3): 9–17. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-9-17