

Стереометрический и гистохимический анализ микроструктуры обонятельных луковиц при травме головы огнестрельным оружием ограниченного поражения

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Резюме. Стереометрически и гистохимически исследованы обонятельные луковицы баранов с черепно-мозговой травмой, нанесённой боеприпасами огнестрельного оружия ограниченного поражения с различными баллистическими характеристиками. Черепно-мозговую травму моделировали однократным выстрелом в теменно-затылочную область из пистолета «Макарыч». Показано, что в острой фазе черепно-мозговой травмы в обонятельных луковицах развиваются дезадаптивные структурные и физико-механические сдвиги, направленность которых определяется энергией применённого боеприпаса. При нанесении травмы тренировочными патронами «РА» с дульной энергией 60 Дж развивается гиподинамический интерстициальный отёк. Основной риск при применении этого вида боеприпаса обусловлен застоем межклеточной жидкости. Под воздействием патронов травматического действия «45 Rubber» в ультратонких каналах нейронов тканевое давление понижается, а в интерстиции, наоборот, повышается. В результате гидродинамические течения в интерстиции ускоряются, и развивается отёк гиперкинетического типа. За счёт градиента давления, межклеточная жидкость устремляется в ультратонкие каналы проводников и расслаивает их. В связи этим возникают риски, обусловленные нарушением эфатических (несинаптических) контактов. Боеприпасы «MP-80-13T» с дульной энергией 90 Дж вызывают наиболее выраженные изменения в структурной организации нейроцитарной и интерстициальной фракций. Паренхима луковиц и, прежде всего, нейроны митрального слоя сжимаются, обнаруживаются гистохимические признаки экранирования и/или распада альдегидных групп. Рассматривается гипотеза, согласно которой сжатие паренхиматозных структур луковиц обусловлено ретракцией и набуханием мембранных и тканевых полисахаридов в связи с ударными конформационными переходами (по типу статистических клубков) и, возможно, частичной полимеризацией. Сжатие нейронов возбуждает риски апоптотической деструкции.

Ключевые слова: конформация полисахаридов, набухание нейронов, обонятельные луковицы, огнестрельное оружие ограниченного поражения, отёк мозга, сжатие нейронов, черепно-мозговая травма, апоптотическая деструкция.

Введение. Обонятельные дисфункции (ОД) при черепно-мозговой травме (ЧМТ) распространены довольно часто: по разным данным от 40 до 70% случаев. При этом степень ОД коррелируют с тяжестью ЧМТ и длительностью комы [20, 33]. Но иногда и небольшие травмы головы осложняются anosmией [31]. Значительная (в пределах 40%) часть пациентов с ЧМТ вообще не осознают anosmических проблем, даже при выявлении их инструментальными методами [23, 28]. Патогенез anosmий, вызванных действием сильных травмирующих факторов (дорожно-транспортное происшествие, падение с высоты, высокоскоростные ударные нагрузки) связывают со сжатием глубинных (лимбических, стволовых) структур головного мозга, включая и обонятельные луковицы [7, 25, 26, 30].

Патофизиологические последствия подобных деформаций головного мозга во много не ясны. Поэтому всё сводят к анатомически более очевидному, а именно: в острой фазе ЧМТ к трещинам перегородок этмоидального лабиринта и разрывам аксонов. При хронизации – к фиброзу решетчатых костей и склеротической дезинтеграции обонятельных нервов [19, 27]. Что же касается механизмов развития обонятельных дисфункций вследствие действия травмирующих факторов

малой интенсивности, то они остаются практически не изученными. Хотя интерес к патологии обоняния возрастает. И обусловлен он не столько утратой рецепции собственно запахов (аносмия поддаётся коррекции), сколько бихевиористскими рисками, неизбежно возникающими при деструкции обонятельного мозга. Феноменология рисков широка: от проблем с запаховой координацией нормативного поведения в малых группах до приглушения эмоционально существенных событий (счастье, горе) и ослабления автобиографически важных воспоминаний. Интерес к проблеме усиливают и общественные мотивы: патопсихологические срывы и поведенческая неопределённость, ассоциированные с обонянием, затрагивающая различные воинские контингенты, подразделения специальных и экстремальных служб [6, 9, 18, 22]. Например, у военнослужащих развёрнутых в зоне боевых действий, на фоне обонятельных дисфункций обнаруживаются признаки эмоциональной регрессии и когнитивные дефициты [35]. У ветеранов войн обонятельные ауры предвещают вспышки немотивированной агрессии и импульсивности, что может оказаться надёжным прогностическим маркером надвигающегося поведенческого эксцесса [21].

К травматическим факторам малой интенсивности традиционно относят огнестрельное оружие ограниченного поражения (ОООП), о котором настоящему времени появились многоплановые сведения о локальных и системных эффектах повреждающего воздействия [2, 3, 11, 14]. Системность в данном случае означает вовлечение в отклик тех структур, которые непосредственно не контактировали с ранящим снарядом и расположенных в анатомическом отдалении от точек индентирования. Очевидно, что в такой ситуации действующим фактором являются ударные волны, возбуждаемые индентором. Резонно предположить, что при прохождении через сильно неоднородные среды костей черепа и вещества мозга волны диссипируют: в связи с потерей энергии распадаются на длинноволновые фрагменты, способные достичь глубинных структур и сосредоточиться вблизи естественных концентраторов напряжения. Ситовидные пластинки (обонятельные желоба) решетчатых костей, к которым посредством аксонов ольфакт-нейронов прочно «подшиты» луковички таковыми и являются, так как кривозные структуры характеризуются резким изменением форм ячеек, площадей поперечного сечения и радиусов кривизны поверхностей. Именно это делает комплекс «жёлоб-луковица» мишенью чувствительной к действию ударных волн.

Цель исследования. Определить содержание структурных и физико-химических предпосылок, увеличивающих риски обонятельных дисфункций при ЧМТ, нанесённой травмирующими факторами малой интенсивности.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 20 половозрелых баранах породы «Меринос» массой тела 35–40 кг. Протоколы согласованы локальным этическим комитетом Военной медицинской академии им. С.М. Кирова. Все манипуляции, включая эвтаназию животных, осуществлены путем погружения в наркоз с помощью золетила, что соответствует правилам лабораторной практики в Российской Федерации утверждённых приказом Министерства здравоохранения (РФ) № 267 [15].

ЧМТ моделировали однократным выстрелом в теменно-затылочную область из пистолета «Макарыч» (MP-79-9TM) резиновой пулей 9 мм калибра серии «РА» с дистанции 1,5 м. Исследование организовано по следующей схеме: 1-я группа – здоровые животные (контроль); 2-я группа – животные с нанесением ЧМТ патронами с дульной энергией 60 Дж; 3-я группа – животные с нанесением ЧМТ патронами «45 Rubber» с дульной энергией 90 Дж; 4-я группа – животные с нанесением ЧМТ патронами с дульной энергией 90 Дж. Патроны соответствуют требованиям Федерального закона от 13.12.1996 г № 150-ФЗ «Об оружии» с изменениями, установленными 28.12.2010 г № 398-ФЗ [16]. В каждой группе было по 5 особей. Забой животных во 2-й, 3-й и 4-й группах осуществлён через 60 мин после нанесения травмы. Образцы обонятельных луковичек фиксировали в 9% формалине на фосфатном буфере при pH 7,0. Гистологические срезы толщиной до 3 мкм окрашивали

гематоксилином Майера и эозином (для стереометрических исследований). Альдегидные группы выявляли с помощью реактива Шиффа [10]. В гистохимических оценках использовали стандартизированные определения цветов по колориметрической системе Cyan, Magenta, Yellow, Key color [5]. Ориентацию срезов и выемку морфометрической информации осуществили с учётом слоистой организации обонятельных луковичек [32]. Морфологические изменения оценивали методом точечного счёта, линейных обмеров, включая интегрирование хорд случайных секущих. Применяли также подсчёт количества профилей структур на постоянной площади [1]. Гисто-стереометрические параметры преобразовывали в относительные показатели [24]. Выборки значений имели нормальное распределение, что позволило применить критерий Стьюдента при сравнении межгрупповых различий. Значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что у баранов 2-й группы диаметры обонятельных клубочков и митральных нейронов сохраняются в пределах контрольных значений (табл.). Это свидетельствует об отсутствии сжимающего эффекта. Радиус кривизны (R_1) увеличен, а показатель избыточности площади поверхности проводниковой фазы ($\hat{s}_{д1}$) понижен.

В качестве допущения принято, что показатель $\hat{s}_{д1}$ отражает поведение физического коэффициента поверхностного натяжения (обоснование фазового подхода сделано на основе данных стереометрии [4, 11]). Это позволяет использовать базовые уравнения и соотношения коллоидной химии и физики поверхностных явлений [17]. Одно из них – уравнение Лапласа: $P = \delta/R$, связывающее радиус кривизны сечения капилляра (R), давление над изгибной поверхностью (P) и поверхностное натяжение (δ). Согласно данному уравнению, чем больше радиус кривизны поверхности, тем меньше давление в капиллярах, особенно если это сопровождается снижением поверхностного натяжения. Вышеуказанные соотношения стереометрических показателей свидетельствуют о снижении тканевого давления в проводниковой фазе и в частности в её ультратонких капиллярах. Уменьшение поверхностного натяжения в проводниковой фазе повышает гидрофильность стенок её ультратонких каналов. При этом усложнение их структуры (оценённое по увеличению Sv_1) увеличивает падение давления и в ещё большей мере замедляет движение жидкости. В результате проводники разрыхляются, жидкость начинает застаиваться, волокна истончаются и подвергаются мелкоглыбчатому распаду, а интерстиций наполняется частицами тонкодисперсного детрита (L_2 и T). В межклеточном веществе R_2 повышен, а $\hat{s}_{д1}$ сохраняется в пределах контроля. При увеличении R_2 удержание коэффициента поверхностного натяжения возможно, если падает давление в капиллярах. Это значит, что в интерстициальных каналах давление также снижается. При этом энергии явно недостаточно для поддержания диаметров пористых структур на исходном уровне

Таблица

Стереометрические параметры обонятельных лукович баранов с ЧМТ, нанесённой различными боеприпасами ООП ($M \pm m$)

Показатель	Группа			
	1-я	2-я	3-я	4-я
D_1 , мкм	114,6±5,7	121,6±4,9	97,3±3,6	95,6±2,2*
D_2 , мкм	9,5±0,5	9,1±0,5	9,5±0,3	7,1±0,2*
R_1 , мкм ⁻¹	0,41±0,04	0,91±0,05*	0,69±0,01*	0,59±0,01*
R_2 , мкм ⁻¹	0,9±0,05	1,3±0,05*	0,6±0,05*	0,4±0,05*
L_1 , мкм	79,3±5,5	46,9±2,8*	37,1±1,3**	39,8±3,1**
L_2 , мкм	4,9±0,1	2,2±0,1*	2,9±0,1*	3,4±0,1*
L_3 , мкм	2,2±0,1	1,5±0,1	3,3±0,1*	4,6±0,2*
T , мкм ⁻¹	0,31±0,1	1,52±0,6**	0,065±0,5	0,022±0,01**
Z , безразм. ед.	24,8±1,1	11,6±0,8**	4,7±0,1**	3,2±0,1**
Vv , %.	8,9±0,4	12,6±0,6*	18,9±0,8**	26,1±1,2**
Sv_1 , мм ² /мм ³	815,6±15,1	1796,5±45,1**	1363,5±25,1*	1176,2±24,3*
Sv_2 , мм ² /мм ³	1801,3±65,2	2694,8±75,1*	1221,3±19,1*	925,1±16,3**
$\hat{S}_{д1}$, безразм. ед.	3,2±0,2	2,5±0,2	1,90±0,2*	1,8±0,1*
$\hat{S}_{д2}$, безразм. ед.	1,4±0,1	1,6±0,1	2,12±0,2*	2,3±0,2*

Примечание: D_1 – диаметр клубочков; D_2 – диаметр сомы митральных клеток по поперечной оси; R_1 – радиус кривизны пучков нейропроводников; R_2 – радиус кривизны интерстициальных каналов; L_1 – толщина слоя митральных клеток; L_2 – толщина пучков нейропроводников; L_3 – диаметр интерстициальных каналов; T – степень дисперсности поверхности интерстициальных каналов; Z – уровень организации нейроцитарной фазы; Vv – относительный объем интерстициальных щелей³; Sv_1 – площадь поверхности проводниковой фазы; Sv_2 – площадь поверхности интерстициальных каналов; $\hat{S}_{д1}$ – избыточность площади поверхности нейроцитарной фазы; $\hat{S}_{д2}$ – избыточность площади поверхности интерстициальных каналов; различия относительно 1-й группы: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

(уменьшается L_3). Снижению тканевого давления (тургора) и, соответственно, замедлению скоростей гидродинамических потоков способствует и существенное увеличение удельной площади поверхности интерстициальных каналов (Sv_2), которые становятся более разветвлёнными. Не менее важно увеличение относительного объема свободного интерстициального пространства, происходящего на фоне уменьшения диаметров интерстициальных каналов. Такое соотношение стереометрических параметров (соотношение Vv и L_3) свидетельствует о том, что в межклеточном веществе увеличивается количество пор. Это отражает стремление системы сохранить интенсивность обмена тканевой воды на исходном уровне. Очевидно, что в пористых структурах межклеточного вещества усиливается колебательное состояние: часть пор закрываются, другие – открываются по механизму de novo. Но в острейшем периоде ЧМТ вновь открывшиеся поры не успевают сформироваться в крупные, а главное – в открытые. На это указывает увеличение количества так называемых «слепых», не сообщающихся пор. Происхождение новообразованных пористых структур с хорошо развитой поверхностью объяснимо, если учесть массовую фрагментацию нейропроводников в наиболее ветвящейся части – в наружном сетевидном слое. Именно поэтому дезорганизация проводниковой фазы (Z) сопровождается значительным увеличением площади её поверхности (Sv_1). Таким образом, в обо-

нятельных луковичах баранов 2-й группы наблюдаются стереометрические признаки синхронного падения давления в ультратонких каналах нейропроводников и в пористых структурах межклеточного вещества.

У баранов 3-й группы отчётливо регистрируется тенденция к уменьшению диаметра обонятельных клубочков при сохранении на уровне контроля диаметров митральных клеток (D_1 и D_2). Радиус кривизны R_1 существенно выше, а показатель $\hat{S}_{д1}$ проводниковой фазы существенно ниже контрольных значений (см. табл.). В принятом формате физико-механических интерпретаций это означает падение давления в ультратонких каналах проводниковой фазы. В интерстиции соотношение R_2 и $\hat{S}_{д2}$, наоборот, свидетельствует об избыточном давлении. В результате возникают предпосылки для градиента тканевого давления, энергия которого расходуется на сжатие проводников и перекачку жидкости по направлению «интерстиций – проводники». Для проводников «закачка» жидкости осложнится отёком с вышеописанными патоморфологическими последствиями. В межклеточном веществе энергия избыточного давления может расходоваться также и на раскрытие (расширение) интерстициальных каналов. А поскольку все происходит быстро, то, вероятнее всего, раскрываются каналы предсуществующие (и с явным избытком), что сопровождается двукратным ростом объема свободного интерстициального пространства (увеличиваются значения L_3 и Vv). С увеличением поверхностного

натяжения стенки интерстициальных каналов гидрофобизируются, становятся менее смачиваемыми [13]. В результате скорость и мощность гидродинамических потоков возрастёт, чему способствует расплавление и упрощение структуры поверхности интерстициальных каналов (падает Sv_2). Чрезмерное увеличение давления и агрессивный захват тканевых пространств межклеточной жидкостью, могут сдерживать растущие силы поверхностного натяжения, точнее физико-механические последствия этого роста. Речь идёт о повышенной склонности к образованию капель и снижению текучести межклеточной жидкости. Капли фрагментируют и турбулируют гидродинамические потоки, «тромбируют» мембранные нанопоры и создают заторы в микроканалах. Снижение текучести усугубляет ситуацию. В итоге возникают препятствия при продвижении жидкостей не только в ультратонких каналах клеточных мембран, но и в относительно широких пористых структурах интерстиция. В норме соотношения сил поверхностного натяжения и мощности гидродинамических потоков, по-видимому, уравновешены. Но при дисбалансе актуализируются экстремальные вызовы и появляются соответствующие риски. При этом ключевое значение имеет снижение текучести с предсказуемым последствием в виде повышения агглютинации. Применительно к проводникам осложнения очевидны: фибриллы начинают склеиваться и под напором тканевого давления разрываются со значительным дефектом ткани. Волокна истончаются, а интерстиций подвергается грубодисперсной трансформации (L_2, Sv_1, T). Дезинтеграция подвергается и слой митральных клеток, который истончается (L_1) и распадается на беспорядочно рассеянные кластеры нейронов. Таким образом, с увеличением энергетичности травмирующего фактора в обонятельных луковицах формируются предпосылки для увеличения мощности гидродинамических потоков и развития отёка по гиперкинетическому механизму.

В паренхиматозных структурах луковиц баранов 4-й группы наблюдается отчётливо выраженный сжимающий эффект в виде достоверного уменьшения диаметров обонятельных клубочков, сомы митральных клетки толщины слоя их залегания (D_1, D_2, L_1). Механизм сжатия остаётся не ясным. Отметим, что явления сжатия наблюдаются при патологоанатомическом вскрытии мозга: поверхность разреза тусклая и суховата, луковицы крошатся, края не доходят до границ обонятельных желобов. Макроскопические признаки сжатия согласуются с данными магнитно-резонансной томографии (МРТ): объём уменьшен, структуры размыты. Важно, что редукция МРТ-объёма и структуры луковиц держатся довольно долго – до нескольких месяцев, что, по-видимому, обусловлено нестабильностью колебательного состояния мозга в ликворе [29, 36]. Это свидетельствует о глубинных, но инертных преобразованиях вещества мозга. Часть из них, по-видимому, необратимы и требуют длительного времени для восстановления, вероятнее всего, путём замещения разрушенных структур.

В силу того, что R_2 уменьшается, а \hat{S}_{q1} повышается, растёт тканевое давление, структура каналов упроща-

ется (падает Sv_2) и гидродинамические потоки ускоряются. При этом мощность потоков гидродинамических течений за счёт двукратного увеличения диаметров каналов и объёма интерстициальных пространств значительно возрастает. Очевидно, этому препятствует рост поверхностного натяжения с вышеописанными физико-механическими последствиями. В то же время увеличение поверхностного натяжения на фоне многократного падения степени дисперсности (соотношение \hat{S}_{q1} и T) указывает на то, что интерстициальная жидкость трансформируется в лиофобную, крупнодисперсную среду. Происхождение накапливающихся в интерстиции крупных частиц не ясно. Прежде всего, это, конечно, крупные фрагменты тканевого детрита. При этом, не менее важен и другой источник, а именно: секвестр в интерстициальную жидкость адгезивных частиц склонных к слиянию в более крупные агломераты. В образовании подобных частиц могут принимать участие жидкие липиды, высвобождаемые из мембранных структур нейронов. Возможно, что под воздействием ударных волн липопротеиды испытывают фазовые переходы, в результате которых в мембранах увеличивается количество твёрдых фракций. Мембраны подвергаются раздроблению, а жидкие фракции липидов, будучи подвижными, как бы «стряхиваются» и вымываются в межклеточную жидкость. Развиваются процессы схожие с ударной сепарацией жиров. Насыщенная жирами тканевая жидкость в большей мере способна гасить турбулирующие поверхностные волны, неизбежно возникающие при ускорении гидродинамических течений в сверхсложных сетях интерстициальных каналов.

Следовательно, по мере увеличения энергетичности воздействия клеточные мембраны и интерстициальная жидкость проявляют разнонаправленные тенденции. Мембраны расходуют поверхностную энергию на взаимодействие с интерстициальной жидкостью и частично в ней растворяются. С точки зрения общей патологии это фанероз – распад цитоплазматических мембран по линиям связей липопротеидных комплексов. Межклеточное вещество, наоборот, аккумулирует энергию, которая организует и приводит его структуры в высоко детерминированное состояние с потенциалом направленным на компенсацию дезадаптивных сдвигов.

Известно, что в норме ткань луковиц неравномерно воспринимает гистохимический маркёр альдегидных групп, но где бы они ни были, хромофор окрашивает их в ясный красный цвет. Цвет специфической окраски варьирует от розового через малиновый до оттенков пурпурного. Сдвиги цветового спектра в «синюю» сторону свидетельствует о полимеризации углеводов. В этом смысле визуальная колориметрия, если она проводится на основе стандартизированных оценок, даёт вполне надёжную информацию об интенсивности полимеризации полисахаридов. В обонятельных луковицах наиболее контрастно окрашиваются компактно упакованные волокна проводниковых структур обонятельных клубочков. Здесь хромофор прокрашивает волокна в красный цвет с отчётливым малиновым оттенком (рис. 1).

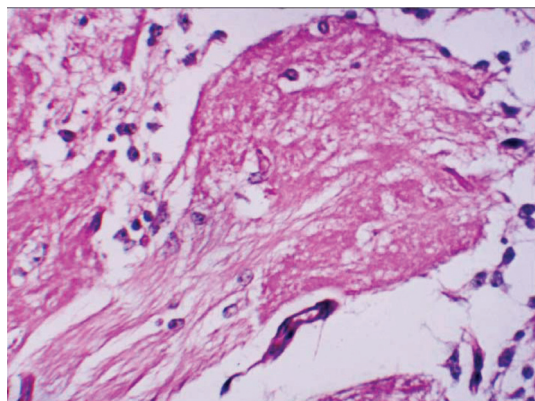


Рис. 1. Обонятельная луковица здорового барана. Виден обонятельный клубочек с входящими аксонами. ШИК-реакция. Ув. ×250

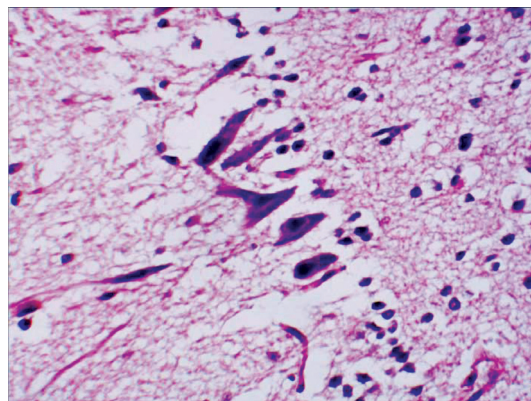


Рис. 2. Обонятельная луковица здорового барана. Равномерное распределение PAS-позитивного материала в цитоплазме митральных клеток. ШИК-реакция. Ув. ×125

Вторым по контрастности следует зернистый слой, волокна которого окрашиваются также в красный цвет, но более насыщенных оттенков. Наружный сетевидный слой слабее воспринимают хромофор, который прокрашивает проводники светло-розовым цветом. Гистохимические вариации цвета свидетельствуют о структурно-метаболической неоднородности проводников. Так, в проводниках клубочков доминируют безмиелиновые аксоны обонятельных нервов. Мембранные структуры здесь тонкие, гликокаликс и макромолекулы цитозоля обнажены. Отсюда и доступность альдегидных групп. Красный цвет свидетельствует о том, что полисахариды находятся в менее полимеризованном состоянии. В наружном сетевидном слое расположены в основном дендриты с небольшой примесью аксонов хохлатых клеток. Слабое восприятие хромофора объясняется рыхлостью слоя, объёмная плотность клеток и проводников в котором меньше, чем в других слоях. В зернистом слое волокнистая фаза образована плотно упакованными, преимущественно аксонами митральных клеток, имеющих миелиновую оболочку, которая прикрывает гликокаликс и, соответственно, ограничивает доступ хромофора к альдегидам. Малиновый оттенок указывает на то, что полисахариды, входящие в состав миелиновых оболочек и клеточных мембран (это, прежде всего, гликопротеиды), более полимеризованы. Цитоплазму нейронов с вытянутым телом (хохлатые и митральные клетки) сернистый фуксин прокрашивает диффузно в насыщенные оттенки малинового цвета (рис. 2).

В зернистых (безаксонных) нейронах краситель такого же оттенка откладывается в виде рыхлой россыпи мелких гранул. Очевидно, что в вытянутых нейронах углеводный обмен более интенсивный, что насыщает клетки свободными альдегидными группами.

При окраске реактивом Шиффа обонятельных луковиц баранов, травмированных патроном с дульной энергией 90 Дж, наблюдаются системные отклонения топологии PAS-позитивного материала и его тинкториальных свойств. Так, в обонятельных клубочках PAS-позитивный материал откладывается преимущественно в периферических участках. Это свиде-

тельствует об усилении структурно-метаболической неоднородности проводниковой фазы и подчёркивает морфологическую картину дезинтеграции (рис. 3).

В нейронах наиболее заметны цветовые вариации ШИК-реакции, например, в митральных клетках цитоплазма принимает определённо фиолетовый цвет. По размерному и функционально-морфологическому критериям митральные клетки разделены, по меньшей мере, на два пула. Первый – это клетки, сохранившие типичную форму, но стереометрически они сжаты. Причём сжатие произошло по коротким осям, что термодинамически более оправданно. В морфологическом отношении это клетки с выраженными проявлениями пикнотической деформации: уменьшены в размерах, цитоплазма уплотнена с множественными выростами, по форме напоминающих «медвежьих ушки». Однако ядра сохраняют типичный интерфазный вид: форма овальная, хроматин диффузно расплывён, ядрышки чётко дифференцированы (рис. 4).

Возможно, что это морфологические проявления стартового апоптоза. Второй пул – это клетки с редуцированной формой «митры», но увеличенные в

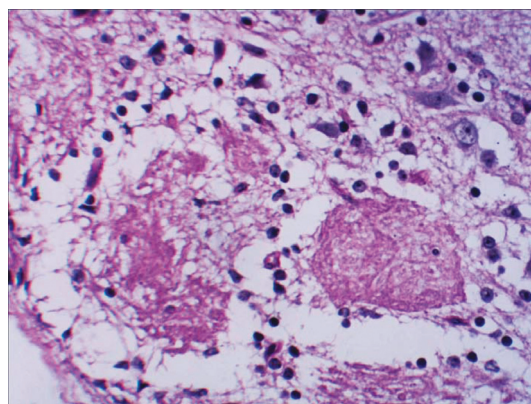


Рис. 3. Обонятельная луковица барана с ЧМТ, нанесённой боеприпасом «РА» с дульной энергией 90 Дж. Наблюдаются сжатие и дезинтеграция обонятельных клубочков. ШИК-реакция. Ув. ×125

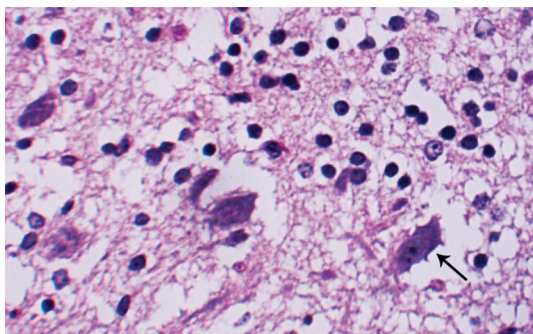


Рис. 4. Обонятельная луковица барана с ЧМТ, нанесённой боеприпасом «РА» с дульной энергией 90 Дж. Стрелкой указана цитоплазма нейрона с «медвежьими ушками». ШИК-реакция. Ув. ×250

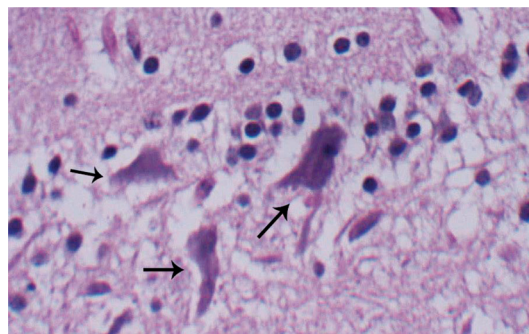


Рис. 6. Обонятельная луковица барана с ЧМТ, нанесённой боеприпасом «РА» с дульной энергией 90 Дж. Видна клетка в митральном слое с морфологическими признаками гибели, возможно, по механизму пироптоза. ШИК-реакция. Ув. ×250

объёме. Размер соматической части клеток достигает 55–70 мкм, количество колеблется в пределах 5–7%. Цитоплазма мутновата, отличается выраженной базофилией, края фестончаты, местами выявляются отложения малиново-красных частиц PAS-позитивного материала. Набухшие митральные клетки лишены ядер, или же они присутствуют в виде останков поздних стадий кариорексиса (рис. 5).

На границе митрального и наружного сетевидного слоёв располагается видоизменённая макроглия (астроциты) – крупные клетки с цитоплазмой малинового цвета и интенсивно базофильными ядрами. Клетки находятся в состоянии своеобразной деструкции: множественные наружные выбросы цитоплазмы свидетельствуют о давлении «изнутри» (рис. 6). Это признак достаточно быстрого разрушения, возможно, путём пироптоза, при котором клеточный материал как бы «выплёскивается» наружу [34].

В луковицах травмированных животных наблюдается интенсивное образование детрита. Частицы детрита встречаются на границе наружного сетевидного и митрального слоя, а также в слое зернистых клеток. Основная часть такого типа частиц выявляется на месте разрушенных проводников, а также на месте коагулированных тел нейронов (рис. 7).

Физико-химические события, влекущие за собой смещение цветовой реакции в коротковолновую часть спектра, являются ключевыми в механизмах ударного метаморфизма вещества головного мозга вообще и обонятельных луковиц, в частности. Феномен угасания яркости и цвета канонически интерпретируется как гистохимический признак полимеризации полисахаридов. При этом по мере увеличения длины линейных участков полисахаридов (степени полимеризации) цветовой спектр PAS-позитивного материала закономерно смещается в сторону пурпурных оттенков вплоть до фиолетовой окраски. В ходе полимеризации и неограниченного набухания часть макромолекул полисахаридов растворяется. Этим, по-видимому, и объясняется уменьшение локальной концентрации альдегидов и, соответственно регрессия характеристичной окраски. Однако в остром периоде ударного воздействия с учётом его малой мощности более вероятны не столько полимеризация, сколько ограничение доступа хромофора к альдегидным группам в связи с менее энерготратными преобразованиями макромолекул полисахаридов. Прежде всего, это могут быть конформационные переходы, обусловленные усилением вращательных и колебательных движений вокруг одинарных связей, но без их разрыва. Линейные полисахариды склонны

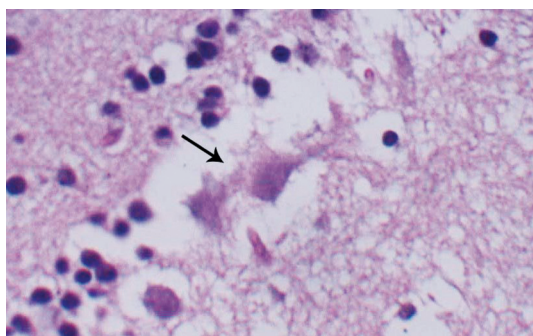


Рис. 5. Обонятельная луковица барана с ЧМТ, нанесённой боеприпасом «РА» с дульной энергией 90 Дж. Стрелками указаны набухшие митральные клетки. ШИК-реакция. Ув. ×250

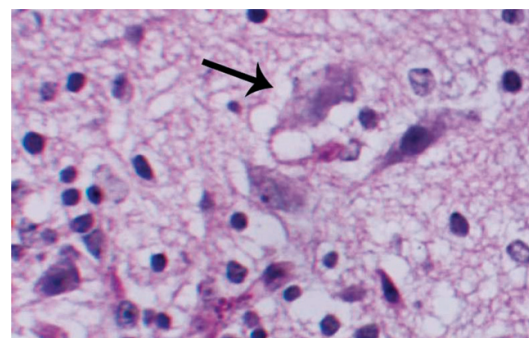


Рис. 7. Обонятельная луковица барана с ЧМТ, нанесённой боеприпасом «РА» с дульной энергией 90 Дж. Стрелкой указана частица на месте коагулированного нейрона в сетевидном слое. ШИК-реакция. Ув. ×250

к образованию закрытых конформаций типа статистических клубков, а гликопротеины – образуют спирали с участием водородных связей. Клубки – это достаточно рыхлые формы, объем которых зависит от интенсивности взаимодействия с растворителем и длины цепей. В хорошем растворителе клубки набухают. Межклеточное вещество, будучи раствором полисахаридов, является гелем с переменным изменением объема. При удлинении цепей полисахариды активно сорбируют воду, набухают, и гель уплотняется [8]. При этом возникает давление набухания, энергия которого расходуется на ретракцию. Поскольку по условиям эксперимента на момент забоя животных основная часть митральных клеток находится в состоянии сжатия, можно предположить, что это одна из первых стадий набухания, когда, несмотря на увеличение массы полимеров, их суммарный объем (полимер+внутриклеточная жидкость) за счёт явления контракции все же уменьшается. В такой ситуации нейроны с признаками тотального набухания демонстрирует общую тенденцию данного процесса, его более поздние стадии. Для масштабного и синхронного набухания полисахаридов встроенных в клеточные и тканевые структуры энергии использованных в эксперименте боеприпасов явно не достаточно. Тем не менее, просматривается избирательная дозо-зависимость: в луковичах баранов 2-й и 3-й групп нейронов с чётко манифестированными признаками набухания/контракции не обнаружено. Да и тинкториальные свойства если и изменены, то в пределах слабых тенденций. В целом кинетика набухания клеточных и тканевых полисахаридов в условиях *in vivo* мало изучена. Но очевидно, что процессы полимеризации/деполимеризации, набухания/уменьшения в объеме полисахаридов имеют ведущее значение в патогенезе травматической нейродеструкции.

Заключение. В обонятельных луковичах при ЧМТ, нанесённой огнестрельным оружием ограниченного поражения развивается комплекс дезадаптивных структурных сдвигов, патофизиологическая направленность которых определяются энергией применённого боеприпаса. При нанесении травмы тренировочными патронами «РА» с дульной энергией 60 Дж развивается гиподинамический интерстициальный отёк с достаточно низкой скоростью распространения гидродинамических потоков. Физической причиной этого является синхронное падение давления в ультратонких каналах проводников и пористых структурах межклеточного вещества. Основной риск обусловлен застыванием тканевой жидкости. При применении патронов травматического действия «45 Rubber» нейрочитарная фракция остаётся практически интактной. При этом давление в ультратонких каналах проводников понижается, а в интерстиции, наоборот, повышается. В результате движение гидродинамических потоков ускоряется и развивается интерстициальный отёк гиперкинетического типа. За счёт градиента давления, отёчная жидкость устремляется в ультратонкие каналы проводников и расслаивает их. В связи этим возникают риски

нейропсихологических расстройств, обусловленные нарушением эфатических (несинаптических) контактов и аберрантным восстановлением проекционных сетей. Боеприпасы «MP-80-13T» с дульной энергией 90 Дж вызывают наиболее выраженные изменения в структурной организации клеточной и интерстициальной фракций. Паренхима луковиц, и, прежде всего, нейроны сжимаются. Патогенетической основой ретракции являются ударные конформационные переходы и, возможно, частичная полимеризация полисахаридов, сопровождаемые физико-механическими преобразованиями по механизмам набухания/уменьшения в объеме. В межклеточном веществе расширяются интерстициальные каналы и увеличивается мощность гидродинамических потоков, что усугубляет сдавливающие эффекты. В итоге формируются предпосылки для апонекротической деструкции нейронов. В этой ситуации возникает риск дисбаланса в соотношении интенсивностей деструкции и регенерации нейронов.

Литература

1. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. – М.: Изд-во Медицина, 1990. – 384 с.
2. Гайдаш, А.А. Механизмы повреждения лабиринтных капсул внутреннего уха при ранении головы нелетальным кинетическим оружием / А.А. Гайдаш [и др.] // Воен.-мед. журн. – 2012. – Т. 333, № 6. – С. 22–27.
3. Гайдаш, А.А. Структура мембран и физико-механические свойства эритроцитов в раннем периоде черепно-мозговой травмы, вызванной огнестрельным оружием ограниченного поражения / А.А. Гайдаш [и др.] // Воен.-мед. журн. – 2014. – Т. 335, – № 4. – С. 14–21.
4. Гайдаш, А.А. Структура и микромеханические свойства гиппокампа в динамике раннего периода черепно-мозговой травмы, нанесённой огнестрельным оружием ограниченного поражения / А.А. Гайдаш [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2014. – № 3 (47) – С. 128–135.
5. Домасев, М.В. Цвет, управление цветом, цветовые расчёты и измерения / М.В. Домасев [и др.]. – СПб.: Питер, 2009. – 224 с.
6. Ивченко, Е.В. Патогенез боевой и спортивной черепно-мозговой травмы. Современное состояние проблемы. Обзор зарубежных научно-медицинских публикаций за 2011–2012 гг. / Е.В. Ивченко [и др.] // Высотехнологичные методы лечения и реабилитации. Теория и практика: ежегодник 2013. – СПб.: Реноме, 2013. – С. 195–219.
7. Ищенко, А.Н. Структурные механизмы и математическое моделирование разрушения костной ткани при высокоскоростном ударе / А.Н. Ищенко [и др.] // Воен.-мед. журн. – 2011. – Т. 332, № 3. – С. 15–23.
8. Киреев, В.В. Высокомолекулярные соединения: учебник для вузов по спец. «Химическая технология высокомолекулярных соединений». – М.: Высш. школа, 1992. – 512 с.
9. Колов, С.А. Многофакторная модель деструктивного агрессивного поведения у ветеранов боевых действий / С.А. Колов // Вестн. СПбГУ, –2009. – Сер. 11. – Вып. 3. – С. 72–77.
10. Луппа, Х. Основы гистохимии; пер. с нем. / ред. Н.Т. Райхлин. – М.: Мир, 1980. – 343 с.
11. Пантелеев, В.Г. Компьютерная микроскопия / В.Г. Пантелеев [и др.]. – М.: Техносфера, 2005. – 303 с.
12. Ранения нелетальным кинетическим оружием: руководство для врачей / под ред. В.Е. Парфенова, И.М. Самохвалова. – СПб.: ЭЛБИ, 2013. – 224 с.
13. Сумм, Б.Д. Физико-химические основы смачивания и растекания / Б.Д. Сумм [и др.]. – М.: Химия, – 1976. – 125 с.

14. Тюрин, М.В. Экспериментальное моделирование и биохимическая оценка степени тяжести закрытой черепно-мозговой травмы при ранениях из нелетального кинетического оружия / М.В. Тюрин [и др.] // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2011. – № 1. – С. 84–87.
15. Федеральный закон № 86-ФЗ «О лекарственных средствах» (с изменениями и дополнениями) // Собрание законодательства Российской Федерации. – 03.02.2003, № 2, ст. 167. – С. 50.
16. Федеральный закон от 28.12.2010 № 398-ФЗ «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации по вопросу усиления контроля в сфере оборота гражданского оружия» // Собрание законодательства Российской Федерации. – 03.01.2011, № 1, ст. 10. – С. 30.
17. Фролов, Ю.Г. Курс коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы / Ю.Г. Фролов. – Л.: Химия, 1976. – 560 с.
18. Begic, D. Aggressive behavior in combat veterans with post-traumatic stress disorder / D. Begic [et al.] // Mil. med. – 2001. – Vol. 66. – № 8. – P. 671–688.
19. Bruce, W. Post-traumatic anosmia. Ultrastructural correlates / W. Bruce [et al.] // Arch. neurol. – 1989. – Vol. 46. – № 3. – P. 300–304.
20. Callahan, C.D. Assessment of anosmia after traumatic brain injury: performance characteristics of the University of Pennsylvania smell identification test. / C.D. Callahan [et al.] // J. head trauma Rehabil. – 2002. – Vol. 17, № 3. – P. 251–256.
21. Dileo, J.F. Olfactory identification dysfunction, aggression and impulsivity in war veterans with post-traumatic stress disorder / J.F. Dileo // Psychological medicine. – 2008. – Vol. 38, № 4. – P. 523–531.
22. Elbogen, E.B. Protective factors and risk modification of violence in Iraq and Afghanistan war veterans / E.B. Elbogen [et al.] // J. clin. psychiatry. – 2012 – Vol. 73. – № 6. – P. 767–773.
23. Fortin, A. Traumatic brain injury and olfactory deficits: the tale of two smell tests / A. Fortin [et al.] // Brain Inj. – 2010. – Vol. 24. – № 1. – P. 27–33.
24. Glaser, J. Stereology for biological research with a focus on neuroscience / J. Glaser [et al.] // Williston: MBF Press – 2007. – 104 p.
25. Golub, Y.S. Reduced hippocampus volume in the mouse model of posttraumatic stress disorder / Y.S. Golub [et al.] // J. of psychiatric res. – 2011. – Vol. 45. – P. 650–659.
26. Haehner, A. Correlation of olfactory function with changes in the volume of the human olfactory bulb / A. Haehner [et al.] // Arch. otolaryngol. head neck surg. – 2008. – Vol. 134. – № 6. – P. 621–624.
27. Kern, R.C. Pathology of the olfactory mucosa: implications for the treatment of olfactory dysfunction / R.C. Kern [et al.] // Laryngoscope. – 2004. – Vol. 14. – № 2. – P. 279–285.
28. Parma, V. Implicit olfactory abilities in traumatic brain injured patients / V. Parma [et al.] // J. clin. exp. neuropsychol. – 2012. – Vol. 34. – № 9. – P. 977–988.
29. Rombaux, P. Retronasal and orthonasal olfactory function in relation to olfactory bulb volume in patients with posttraumatic loss of smell / P. Rombaux [et al.] // Laryngoscope. – 2006. – Vol. 116. – P. 901–905.
30. Rushby, J.A. Amygdala volume predicts arousal and empathy deficits after severe traumatic brain injury / J.A. Rushby [et al.] // International journal of psychophysiology. – 2012. Vol. 85. – № 3. – P. 319–320.
31. Schechter, P. I. Abnormalities of taste and smell after head trauma. / P. Schechter [et al.] // J. neurol. neurosurg. psychiatry. – 1974. – Vol. 37. – P. 802–810.
32. Shipley, M.T. Functional Organization of the Olfactory System / M.T. Shipley [et al.] // Journal of neurobiology. – 1996. – Vol. 30. – № 1. – P. 123–176.
33. Schofield, P.W. Traumatic brain injury and olfaction: a systematic review / P.W. Schofield [et al.] // Front neurol. – 2014. – Vol. 22. – № 5. – P. 5–25.
34. Susan, L.F. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: Mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells / L.F. Susan [et al.] // Infect. and Immunity. – 2005. – Vol. 73. – № 4. – P. 1907–1916.
35. Vasterling, J.J. Olfactory functioning in Gulf War-era veterans: relationships to war-zone duty, self-reported hazards exposures, and psychological distress / J.J. Vasterling // J. int. neuropsychol. soc. – 2003. – Vol. 9. – № 3. – P. 407–418.
36. Yousem, D.M. Posttraumatic olfactory dysfunction: MR and Clinical Evaluation / D.M. Yousem [et al.] // Am. j. neuroradiol. – 1996. – № 17. – P. 1171–1179.

A.A. Gaidash, E.V. Ivchenko, V.Ya. Apchel

Stereometric and histochemical analysis of the microstructure of the olfactory bulb after head injury by less-lethal firearm injury

Abstract. The olfactory bulbs of sheep with traumatic brain injury caused by less-lethal firearms ammunition of various ballistic characteristics were studied using stereometric and histochemical methods. The traumatic brain injury was simulated on sheep by a «Makarych» pistol single shot at the parieto-occipital area. It was shown that in the acute phase of traumatic brain injury the maladaptive structural and physicomachanical changes were developed. The characteristics of the latter were determined by the employed ammunition energy. After the trauma caused by training ammunition «PA» with kinetic energy 60 J the hypodynamic interstitial edema was developed. The basic damage after that kind of ammunition employment is caused by interstitial fluid stagnation. After the impact of traumatic ammunition «45 Rubber» the tissue pressure in the ultra thin neuron canals was depressed and in the interstitium, contrariwise, was increased. As a result, the hydrodynamic flows in the interstitium were accelerated and the hyperkinetic type of edema was developed. Because of the pressure gradient the intercellular fluid moved into the conductors ultra thin canals and laminated them. In that connection there appeared the risks of breaking the ephaptic (non-synaptic) contacts. «MP-80-13T» ammunition with muzzle energy of 90 J caused more prominent changes in the neurocyte and interstitial fractions structural organization. The bulb parenchyma and, first of all, mitral layer neurons were being shrunk, histochemical signs of screening and/or collapse of the aldehyde groups were being detected. We have proposed hypothesis that the bulb parenchyma structures shrinkage is determined by membrane and tissue polysaccharides retraction and swelling because of percussion conformational transition (random coil type) and, probably, partial polymerization. Neuronal shrinkage increases the apoptotic destruction risk.

Key words: conformation, edema, less-lethal firearms neurons, olfactory bulbs, polysaccharides swelling, shrinkage, traumatic brain injury, cerebral edema, compression neuronal apoptotic destruction.

Контактный телефон: 8-911-172-39-01; e-mail: jack200@ngs.ru