

А.А. Гайдаш¹, Е.В. Ивченко¹,
В.В. Левичев², А.В. Денисов¹

Структура и микромеханические свойства гиппокампа в динамике раннего периода черепно-мозговой травмы, нанесённой огнестрельным оружием ограниченного поражения

¹Военно-медицинская академия им С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург

Резюме. Используя гистостереометрию и атомно-силовую микроскопию, исследованы гиппокампы в раннем периоде черепно-мозговой травмы, нанесённой огнестрельным оружием ограниченного поражения. Черепно-мозговую травму моделировали на баранах однократным выстрелом в теменно-затылочную область из пистолета «Макарыч». Период наблюдения 2 недели. Показано, что в структурно-механическом отношении вещество гиппокампа представляет собой композит, состоящий из несущей и дискретной фаз. Уровень организации несущей компоненты регулируется дискретной фазой посредством изменения объёма. При действии ударных волн проводниковые структуры уплотняются, поверхностное натяжение увеличивается, граница раздела плотной и дискретной фаз гидрофобизируется. В аксональных микротрубочках формируются предпосылки для образования малоподвижных нанокапель, прочно адгезированных к поверхности мембран и затрудняющих внутритубулярный транспорт. Одновременно нейроны теряют синапсы. По ходу развития черепно-мозговой травмы проводниковые структуры подвергаются отёчной дезинтеграции (разволокнутию) и фрагментации (лизису). Темпы развития отёка и скорость гидродинамических потоков тканевой жидкости определяются удельной площадью поверхности пористых структур интерстиция. В срединных слоях, где удельная площадь поверхности минимальна, вывод жидкости происходит скачкообразно по направлениям к альвеолу и зубчатой извилине. Жидкость в дистальных слоях не задерживается, а в проксимальных накапливается в виде лагун. В результате зубчатая извилина распадается и в ней активируется репаративный нейрогенез. С момента регрессии тканевого отёка начинаются процессы восстановления структуры и численности синаптических гранул.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, огнестрельное оружие ограниченного поражения, гиппокамп, гистостереометрия, атомно-силовая микроскопия, микромеханические свойства, нейроны, аксоны, синапсы, интерстициальный отёк, поверхностное натяжение.

Введение. Гиппокамп – ключевой компонент лимбической системы, повреждению которого при черепно-мозговой травме (ЧМТ) придаётся ведущее значение с учётом его ответственности за эмоциональный статус, координацию памяти, а с открытием «клеток места», за когнитивное картирование пространства и навигационные дефициты [11, 14, 24, 28]. Усиливают интерес и реабилитационные мотивы, а именно участие гиппокампа в процессах постнатального нейрогенеза [12, 13, 26]. Ранее нами [2] показано, что при ЧМТ, нанесённой нелетальным кинетическим оружием (огнестрельным оружием ограниченного поражения – ООП) в соответствии с поправкой к статье 1 Федерального закона № 409 [8], в образованиях черепа, расположенных вне мест индентирования (костные пластинки лабиринтов внутреннего уха), развиваются структурные сдвиги в микро- и наноразмерном диапазоне. Стало очевидным, что энергии ударной волны, вызванной ООП, оказалось вполне достаточно для проникновения в глубокие структуры черепа, провоцируя в качестве системных эффектов, и резонансное усиление фликкерных колебаний клеточных мембран [3]. При про-

хождении сквозь плотные структуры черепа ударная волна расщепляется на отражённую в кость волну разгрузки и уходящие в мозг волны сжатия. Мозг испытывает действие сжимающих напряжений [4]. Известно, что энергия напряжений, возникающих на границе раздела, тем больше, чем меньше радиусы кривизны поверхности [10]. В этой связи следует ожидать, что при прохождении ударной волны через анатомические области с резким изменением формы и площади поперечного сечения, а также в местах структурных переходов, энергия напряжений концентрируется. Гиппокамп является одним из таких концентраторов, геометрические профили которого характеризуются сильной изгибностью, а микроструктура – неоднородностью, обусловленной слоистой организацией анатомических модулей. Не менее важным фактором локальной концентрации напряжения является топологический. Гиппокамп (собственно аммонов рог) – это валикообразный выступ в полость бокового желудочка. Исследование механического поведения гиппокампа в связи с особенностями его микроструктуры требует разработки подхода, интегрирующего высокое пространственное разрешение

(атомно-силовая микроскопия – АСМ) и трёхмерный морфологический анализ (гистостереометрия).

Цель исследования. Используя гистостереометрию и атомно-силовую микроскопию исследовать структуру и микромеханические свойства гиппокампов в динамике раннего периода черепно-мозговой травмы, нанесённой ООП.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на половозрелых баранах (*Ovis aries*) породы «меринос» весом тела 35–40 кг. Протоколы согласованы локальным этическим комитетом Военной медицинской академии им. С.М. Кирова и соответствуют Правилам лабораторной практики в Российской Федерации утверждённых Приказом Министерства здравоохранения (РФ) №267 [9]. Черепно-мозговую травму наносили однократным выстрелом в теменно-затылочную область из пистолета «Макарыч» (MP-79-9 ТМ) с энергией соударения 50 Дж резиновой пулей 9 мм калибра с дистанции 1,5 метра. Все манипуляции, включая эвтаназию, осуществлены над животными, погруженными в наркоз с помощью золетила в дозе 1–2 мг/кг веса. Исследование организовано по следующей схеме: 1-я группа (контроль) – забой здоровых животных; 2-я группа – забой через 30 минут; 3-я группа – забой через 3 суток; 4-я группа – забой через 7 дней; 5-я группа – забой через 14 дней после нанесения травмы. В каждой группе по 3 особи. Образцы аммоновых рогов фиксировали в 9% формалине, приготовленном на фосфатном буфере при pH 7,0. Гистологические срезы толщиной до 5 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином. Морфологические изменения оценивали методами микропланиметрии, точечного счета и накопленных частот [1]. При отборе образцов, ориентации срезов, а также выемке первичной морфометрической информации, исходили из модульной организации гиппокампов, анатомические обозначения которых соответствуют Парижской номенклатурной системе [5]. Первичные стереологические параметры и размерности приведе-

ны в соответствии с предписаниями Международного стереологического общества [17]. Для АСМ вырезали поперечные пластинки аммоновых рогов толщиной до 1 мм, предварительно фиксированных в формалине. АСМ и адгезиометрию проводили на воздухе в контактном режиме на платформе «NTEGRA Prima» фирмы «Нанотехнология МДТ» (Россия) с применением кремниевых кантилеверов CSG10. АСМ-изображения анализировали в редакторе Imaging, с учётом рекомендаций [7]. 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. Гистостереометрические и микромеханические свойства гиппокампов в условиях нормы. В структурно-механическом отношении вещество гиппокампа представляет собой бинарный композит, состоящий из плотной и дискретной фаз. Плотная фаза образована нервными волокнами, телами перикарионов и кровеносными сосудами. Дискретная фаза – это тканевая жидкость, циркулирующая в пористых структурах интерстиция. В трёхмерном масштабе в соответствии с базовыми стереологическими допущениями объёмы фаз просчитывают методами гистостереометрии. В качестве первичных параметров используют: V_v (интерстиция) – относительный объём свободного интерстициального пространства, I (пор) – диаметр интерстициальных (пор) щелей, H – средняя хорда секущей спроецированной на компоненты плотной фазы. Параметры V_v (интерстиция) и I (пор) характеризуют дискретную, а показатель H – несущую компоненты. С помощью уравнения: $Z = H \cdot V_v(\text{интерстиция})^{-1} \cdot I(\text{пор})^{-1}$ определяют показатель интегрального уровня организации [6]. Из уравнения следует, что чем больше объём дискретной компоненты, тем ниже уровень организации. В условиях физиологической нормы объёмы дискретных компонент во всех структурных модулях гиппокампов примерно равны, а показатели уровней организации достоверно отличаются (табл. 1).

Таблица 1
Гистостереометрические показатели альвеусов гиппокампов при ЧМТ, нанесённой ООП, $M \pm m$

Параметр	Группа				
	1	2	3	4	5
Толщина альвеуса, мкм	198,7±6,4	133,9±2,81	149,4±2,21	250,4±6,41	212,1±3,0
Толщина эпендимальной выстилки, мкм	6,9±0,3	5,8±0,21	4,9±0,31	7,6±0,5	9,3±0,51
V_v (интерстиция), %	14,5±0,7	9,9±0,51	30,1±1,42	7,9±0,41	20,4±0,91
S_v (интерстиция), $\text{мм}^2/\text{мм}^3$	338,5±16,6	855,9±36,72	1029,9±32,62	1266,2±45,42	523,7±23,31
Z – безразмерн. ед.	14,1±0,6	12,2±0,5	1,8±0,12	20,8±0,91	8,5±0,52
Плотность профилей глиальных клеток, ³ $\text{мкм}^0/\text{мкм}^2$	5,4±0,1	2,8±0,11	6,8±0,21	9,6±0,21	8,8±0,21
Средняя арифметическая шероховатость нейронов, R_a , (нм) ⁴	58,3±6,2	–	84,9±5,91	–	–
S_v (синапсов), $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	8,1	–	7,9	–	–
Адгезионные силы на поверхности нейронов, нН	138,6±19,9	–	55,1±7,02	–	–

Примечание: ¹ – $p < 0,05$; ² – $P < 0,01$ относительно контрольной группы; ³ – здесь и далее площадь среза размерами 35×35 мкм; ⁴ – R_a – здесь и далее средняя арифметическая шероховатость по ГОСТ 2789-73.

Наибольшие значения Z выявлены в срединных зонах, которые анатомически соответствует пирамидному (*stratum pyramidale*), молекулярному (*stratum lacunosum-moleculare*) и радиальному (*stratum radiatum*) слоям (табл. 2). В проксимальном направлении, приближаясь к зубчатой извилине (*gyrus dentatus*), показатель Z остаётся повышенным. В дистальном направлении в сторону *stratum oriens* и альвеуса показатель Z снижается. Падение уровня организации в альвеусе численно обусловлено уменьшением длины средней хорды плотной фазы, т.е. несущая компонента более диспергирована. Отсюда и завышение поверхностной площади.

Морфологически аксональные волокна в альвеусе собраны в узкие проводниковые структуры. Поверхность пучков, в сравнении с таковой в срединных участках, более адгезивна. Шероховатость альвеолярной поверхности, наоборот, ниже, чем в срединных слоях. Уменьшение шероховатости означает увеличение площади контакта, что увеличивает работу адгезии и смачиваемость контактирующих поверхностей. Это значит, что аксональные волокна стремятся к агрегации, а проводниковые структуры – к более прочному сцеплению. Между пучками располагается хорошо развитая сеть щелевидных интерстициальных каналов, повторяющих ход волокон. Из общих физических соображений понятно, что жидкость в таких каналах циркулирует с меньшей скоростью и при меньшем давлении. Компактизированные проводниковые структуры, безусловно, усилят прочностные и барьерные качества альвеуса. А хорошо развитая сеть интерстициальных каналов придает ему демпферные свойства. В срединных анатомических зонах усиливаются сопряжение континуальных корреляций между проекционными путями и микромеханическими свойствами.

Морфологически внутренние ассоциативные связи также собраны в более широкие пучки, которые

явно не склонны к разволокнутию. На это указывают сравнительно низкие значения Sv (интерстиция) в срединных зонах. Уменьшение площади поверхности интерстициальных щелей означает, что тканевая жидкость в срединных участках гиппокампа циркулирует с большей, относительно альвеолярной зоны, скоростью. А если учесть, что интерстициальные каналы повторяют ход нервных волокон, то следует ожидать, что эти потоки и более упорядочены. Указанные структурные особенности свидетельствуют о неравномерном распределении объёмов несущей и дискретной фаз в различных модулях гиппокампа. Дискретная фаза выступает в качестве регулятора прочностных свойств. Осуществляется это посредством моделирования поверхностной площади пористых структур межклеточного пространства, что и определяет скорость гидродинамических потоков. При увеличении Sv (интерстиция) скорость падает, и наоборот.

Гистостереометрические и микромеханические свойства гиппокампов в условиях ЧМТ. При прохождении ударной волны, вызванной ООП, механическое поведение гиппокампа определяется микроструктурой его модулей и временем травматического последствия. Так, в острой стадии ЧМТ во всех модулях гиппокампов показатели уровней организации плотной фазы снижаются, но значительно увеличиваются показатели поверхностной площади интерстициальных пространств. Показатели относительных объёмов дискретных фаз (объёмы интерстициальной жидкости) остаются практически на контрольном уровне (табл. 3). Поскольку объёмы дискретных фаз не изменены, постольку и механические свойства гиппокампов остаются в пределах исходных значений. Объем тканевой жидкости хотя и остаётся на исходном уровне, но с увеличением площадей поверхности скорости гидродинамических потоков снижаются.

Это значит, что в структурах гиппокампов формируются предпосылки для застойных отёков. После

Таблица 2

Гистостереометрические показатели срединных анатомических зонах гиппокампов при ЧМТ, нанесённой ООП, M±m

Параметр	Группа				
	1	2	3	4	5
Средний диаметр нейронов, мкм	47,9±2,2	33,7±3,31	28,3±1,51	33,1±2,41	31,5±1,61
Объём ядра нейронов, мкм ³	3674,7±38,2	2002,1±21,41	1288,5±64,12	2604,4±99,11	1270,9±72,42
Объём ядрышка нейронов, мкм ³	44,6±2,6	26,5±1,42	22,4±1,22	22,4±1,22	17,1±0,72
Ядрышко-ядерный индекс, безразмерн.ед	1,2±0,05	1,3±0,05	1,7±0,051	0,9±0,05	1,3±0,05
Диаметр перичеллюлярного пространства, мкм	6,2±0,4	7,4±0,41	7,3±0,41	5,7±0,11	7,2±0,51
Vv (интерстиция) , %	14,5±0,6	17,2±0,61	27,7±1,22	16,6±0,5	18,1±0,71
Sv (интерстиция), мм ² /мм ³	217,3±11,5	571,9±23,42	607,8±25,42	708,6±30,42	564,1±26,72
Z – безразмерн. ед.	34,1±1,4	7,4±0,52	3,4±0,12	8,4±0,52	7,9±0,52
Средняя арифметическая шероховатость нейронов, Ra, (нм)	84,3±5,4	54,4±4,51	–	–	–
Sv (синапсов), мкм ² /мкм ³	11,9±0,6	5,2±0,32	–	–	–
Адгезионные силы на поверхности нейронов, нН	35,5±2,6	90,6±5,72	–	–	–

Примечание: ¹ – p<0,05; ² – p<0,01 относительно контрольной группы.

Таблица 3

Гистостереометрические показатели зубчатой извилины гиппокампов при ЧМТ, нанесённой ООП, M±m

Параметр	Группа				
	1	2	3	4	5
Толщина зубчатой фасции, мкм	85,5±2,0	70,2±2,91	78,6±2,4	101,9±3,41	66,8±1,61
Плотность профилей глиальных клеток, мкм ³ /мкм ²	4,1±0,1	1,2±0,12	16,1±0,82	18,1±0,82	15,2±0,82
Vv (интерстиция), %	12,6±0,7	15,9±0,7	32,2±1,12	17,8±0,71	31,4±1,12
Sv (интерстиция), мм ² /мм ³	291,7±12,2	557,1±32,32	469,3±22,32	466,6±25,42	528,7±28,32
Z – безразмерн. ед.	21,4±0,9	11,6±0,62	2,9±0,12	6,3±0,32	3,3±0,12

Примечание: ¹ – p<0,05; ² – p<0,01 относительно контрольной группы.

довольно короткой паузы уже на 3 сутки развития ЧМТ эта тенденция реализуется в распространённые тканевые отеки, образующиеся по лавинообразному механизму. Об этом свидетельствует скачкообразное увеличение Vv (интерстиция) во всех модулях гиппокампов. В альвеолярном и примыкающем слоях плотная фаза подвергается дисконфлексации. Морфологически это проявляется в виде разволокнения или, наоборот, компактизации, истончения или огрубления проводящих структур. В межклеточном пространстве накапливаются нитчатые дериваты распавшихся нервных волокон, которые, судя по базофилии, подвержены кислотному лизису. В подлежащих пирамидном, молекулярном и радиальном слоях дезорганизация плотной фазы сопровождается расширением межклеточного пространства, которое структурируется истонченными волокнами аксонов и терминальных ветвей апикальных дендритов. Развивается так называемый сетчатый отёк, распространяющийся и на интерстициальное пространство вокруг кровеносных сосудов. Здесь сетчатая структура принимает вид ажурной вуали, в петлях которой оседают частицы детрита и дистрофически изменённые эритроциты. Отёк распространяется и на интраадвентициальные пространства Вирхова – Робена (spatia perivascularia), где он более всего выражен в крупных, преимущественно венозных стволах. Сопряжённо с ростом Vv (интерстиция) падают и показатели интегральной организации. В различных структурных модулях происходит это неравномерно. В альвеусе, в частности, Z снижается с меньшей скоростью (см. табл. 1). В дальнейшем Vv (интерстиция) проявляет явную тенденцию к регрессии. Принципиально важно, что скорость и динамика падения Vv (интерстиция) в структурных модулях гиппокампов существенно различаются. Так, в срединных полях Vv (интерстиция) восстанавливается, но темпы снижения имеют вид обвального падения (см. табл. 2). В альвеусе и в зубчатой извилине это происходит по колебательному механизму с существенным отставанием от контрольных значений (см. табл. 1, 3).

Вышеприведённые соотношения свидетельствуют о том, что из срединных слоёв гиппокампов, где исходно скорость гидродинамических потоков выше относительно альвеолярной части, тканевая жидкость выдавливается под давлением. В результате альвеус

и зубчатая извилина испытывают гидродинамический удар, на который они реагируют по-разному. Альвеус, будучи демпфером – сглаживает, а зубчатая извилина, как более плотное тело, реагирует упруго.

Дискретная компонента – это подвижная фаза, образованная транспортными потоками тканевой жидкости. Скорость и динамика гидродинамических течений определяются структурой гиппокампальных модулей. В альвеусе с сильно развитой поверхностью раздела плотная/дискретная фаза тканевая жидкость мигрирует медленно путём просачивания. Энергия гидростатического давления, являющегося движущей силой гидродинамических потоков, в значительной мере расходуется на реализацию поверхностных эффектов и прежде всего таких, как трение и межмолекулярные взаимодействия в физически и химических активных центрах. Часть молекул воды структурируется и задерживается в пограничных (мембранных) образованиях. Это, а именно накопление структурированной воды, в нашем понимании и есть ведущий механизм травматического набухания нейронов. Важно, что миграция тканевой жидкости в альвеусе не приводит к значимому увеличению объёма интерстициального пространства. Более того, альвеус вместе с эпендимальной выстилкой значительно истончаются (см. табл. 1). Иными словами, жидкость не накапливается в межклеточных структурах альвеуса, значимого увеличения объёма дискретной фазы не происходит и, соответственно, механические свойства удерживаются в пределах нормы.

В условиях прогрессирующего интерстициального отёка альвеус проявляет свойства шлюза, который открывается при экстренной необходимости отвести избыток воды в близлежащие боковые желудочки. В срединных слоях гиппокампов, пористая структура которых тесно связана с сосудистой системой, тканевая жидкость более подвижна. Ритмы перемещений интерстициальных течений в срединных участках в большей мере определяются пульсационными ритмами кровеносных сосудов. Это значительный источник энергии и именно этим объясняется стремительный вывод тканевой жидкости из интерстиция срединных участков, наблюдаемый на 3 сутки посттравматической реабилитации (см. табл. 2). Гидродинамические потоки направляются вначале в сторону зубчатой

извилины (скачок Vv (интерстиция) на 7 сутки), а позже к альвеусу (скачок Vv (интерстиция) к 14 дню). Прохождение жидкости в зубчатой извилине сопровождается увеличением её толщины и резко выраженными колебаниями объёма дискретной фазы. Размах колебаний Vv(интерстиция) достигает двукратных подъёмов относительно предшествующего падения (см. табл. 3). Зубчатая фасция практически расщепляется, распадается на полиморфные фрагменты, расщелины между которыми быстро заполняются отёчной жидкостью. О стремительном проникновении тканевой жидкости к зубчатой фасции указывает появление сжатых нейронов, которые как бы выбиты из столбчатых структур. Зубчатая извилина в связи с указанными особенностями тканевой гидродинамики оказывается более уязвимой.

Сжатие и дислокации означают, что нейроны испытывают внешнее воздействие по типу гидродинамического тарана, который вызывает пластическую деформацию. Морфометрически это проявляется в виде уменьшения диаметров перикарионов, объёмов ядер и ядрышек (см. табл. 2). В патоморфологическом понимании это пикнотический тренд, хорошо согласующийся с клиническими и экспериментальными данными о посттравматической редукции гиппокампа [18]. В ходе этой тенденции нейроны ритмично сжимаются по коротким осям. Ритмы сжимающих деформаций, по-видимому, определяются колебательными ритмами перичеселлюлярных пространств, задаваемых сосудистыми пульсациями. Сморщивание нейронов сочетается с интенсивной базофилией и тигролизом цитоплазмы. Это значит, что пикноз является ацидотическим и обусловлен накоплением кислотных остатков. Учитывая, что такого рода изменениям подвергается лишь часть нейронов (преимущественно пирамидальные), можно с уверенностью исключить системный источник кислых валентностей (например, уменьшение pH крови). Тогда наиболее вероятны локальные, внутриклеточные источники и, прежде всего такие, как высвобождение ионов водорода в связи с апоптотическим разрывами дезоксирибонуклеиновой кислоты, найденных при ЧМТ, в том числе и в зернистых нейронах *gyrus dentate* [19, 23]. Морфологическое поведение ядерных структур нейронов характеризуется синхронностью. Ядра и практически в равной мере ядрышки сжимаются примерно на 50%, сохранив эту тенденцию на протяжении всего периода наблюдения. Столь существенное сжатие ядер сопровождается примембранной конденсацией гетерохроматина. Ядрышки, как более плотные структуры, после однократного пикнотического провала в дальнейшем проявляют относительную устойчивость к размерной депривации. Околоядрышковый хроматин (ядрышковый организатор), хотя и компактизирован, но чётко дифференцирован. При светооптической микроскопии выявляются морфологические признаки сепарации ядрышкового материала в виде контурирования фибриллярно-гранулярных структур. Синхронная динамика сжатия ядерных структур удерживает

ядрышковый индекс в пределах контрольных значений (см. табл. 2) и означает, что в целом функциональная активность, и в частности белок-синтетическая, сохраняется в пределах нормы. Указанные изменения свидетельствуют о том, что в острой стадии ЧМТ в глутаматергических нейронах стартуют апоптотические процессы, ослабляющие одну из главных функций – генерацию афферентных импульсов.

Физико-механические показатели в динамике раннего периода ЧМТ в различных модулях гиппокампов проявляют неоднозначные тенденции. Так, по данным АСМ-сканирования в острой фазе ЧМТ (30 мин после ранения), в срединных зонах достоверно снижаются показатели шероховатости, но значительно увеличиваются силы адгезии. Такое сопряжение показателей свидетельствует об увеличении поверхностного натяжения, обусловленного ростом сил межмолекулярного взаимодействия. Нейроны, включая миелиновые оболочки, получают импульсы к стягиванию, а аксональные пучки – к расслоению. Именно этим объясняются наблюдаемые при АСМ признаки аксональной деструкции в виде очаговой дезинтеграции, вспучивания, вылушивания и распада отдельных периодов миелиновых оболочек, а также расширение перехватов Ранвье с накоплением характерных частиц детрита в перичеселлюлярных пространствах. Рост поверхностного натяжения сопровождается уменьшением гидрофильности, то есть поверхность на границе раздела плотной и жидкой фаз становится более гидрофобной. Безусловным последствием роста поверхностного натяжения является склонность воды собираться в наноклапты. Это может происходить как на поверхности проводниковых структур, так и на поверхностях аксональных микротрубочек. Последнее означает, что гидродинамические потоки внутри аксональных микротрубочек разрываются. А наноклапты в связи повышенной адгезивностью станут более прочно прилипать к внутренней и наружной поверхностям тубулярных мембран. В результате в аксональном транспорте появятся механические затруднения и функционально аксоны отсекутся от тел нейронов. Эти процессы могут развиваться и не быстро, возможно, в период так называемого временного окна, по окончании которого необратимо запускаются каскадные механизмы апоптоза [22].

В норме поверхность нейронов покрыта синаптическими пузырьками, на АСМ-сканах, имеющих вид гранул (в сечении шипиков), расположенных в несколько слоёв (рис. 1).

В острой фазе ЧМТ поверхностная плотность синаптических гранул уменьшается более чем в два раза (см. табл. 3). На поверхности нейронов появляются отдельные поля синаптического опустошения (рис. 2).

Х. Gao et al. [16] указывают, что явления десинаптации развиваются в более позднем периоде ЧМТ. Однако эти события, по-видимому, могут происходить и в более раннем периоде ЧМТ, в доотёчной стадии, когда нет масштабного отёка интерстиция. На 3-й день после ранения ситуация существенно меняется. Здесь

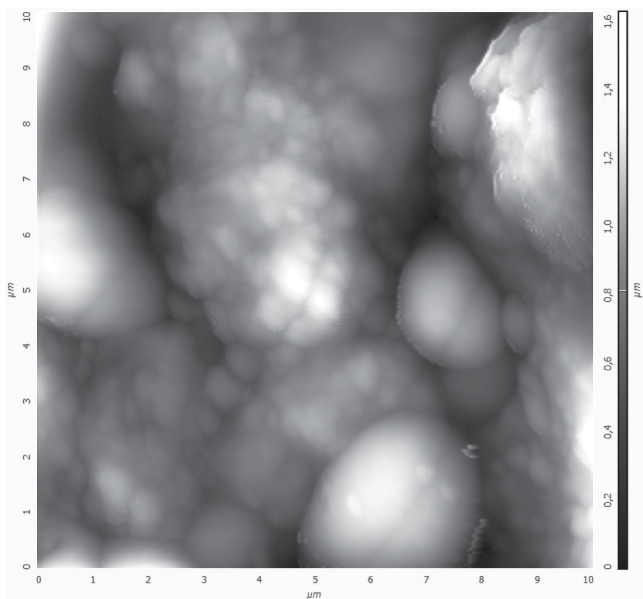


Рис. 1. АСМ-изображение поверхности нейрона гиппокампа здорового барана, «обсыпанной» синаптическими гранулами. Размер масштабной линии 10 мкм

потоки становятся более ламинизированными. Так создаются предпосылки для восстановления аксонального транспорта. На этом фоне поверхностная плотность синаптических гранул удерживается в пределах контрольных значений (см. табл. 3). Восстановление Sv (синапсов) подтверждают и данные АСМ-сканирования (рис. 3).

Гиппокамп, и в частности субгранулярная зона зубчатой извилины, – это один из пролиферативных центров, усиливающий свою нейрон-заместительную активность при ишемическом и травматическом повреждении головного мозга [15, 21, 27]. Источником новообразованных нейронов являются нейрональные стволовые клетки. В процессах посттравматического восстановления принимают активное участие и глиальные клетки [25]. Гистологически глиальные клетки – это мелкие, диаметром до 5 мкм округлой формы лимфоцитоподобные клетки (рис. 4).

Численная плотность глиальных клеток снижается в острой фазе ЧМТ и скачкообразно увеличивается в дальнейшем (см. табл. 3). Такая динамика характеризует постстрессорное возбуждение нейрональных стволовых клеток и отражает активацию процессов репаративного нейро- и глиогенеза [20].

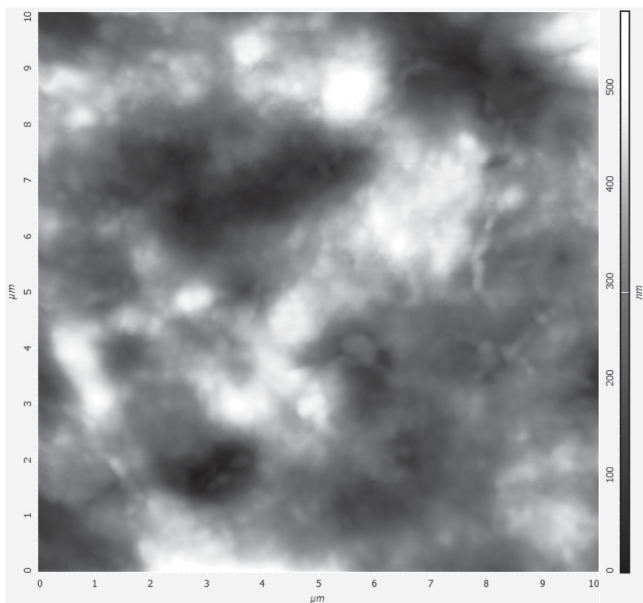


Рис. 2. Изображение АСМ-скана поверхности нейрона гиппокампа барана в острой фазе ЧМТ с уменьшенной плотностью синаптических гранул. Размер масштабной линии 10 мкм

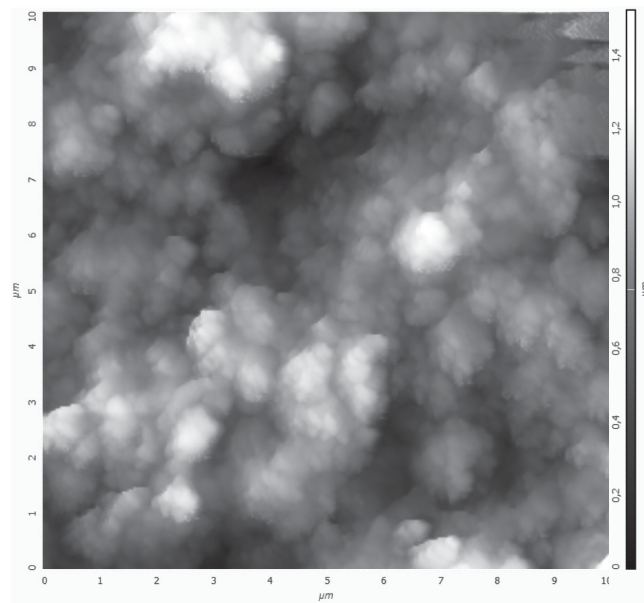


Рис. 3. Изображение АСМ-скана поверхности нейрона гиппокампа барана на 3 сутки ЧМТ, с восстановленной плотностью синаптических гранул. Размер масштабной линии 10 мкм

на высоте скачка интерстициального отека резко возрастают показатели шероховатости нейронов. Это значит, что физико-механические события развиваются в обратном направлении. Силы поверхностного натяжения уменьшаются. Поверхности становятся более гидрофильными, каплеобразование уменьшается и жидкость начинает растекаться. Гидродинамические

Заключение. Механические качества гиппокампа определяются состоянием несущей компоненты и тонко регулируются дискретной фазой. В поверхностных слоях несущая компонента образована плотно склеенными высокоадгезивными аксональными пучками, а дискретная – малоподвижной тканевой жидкостью в щелевидных порах интерстициального пространства.

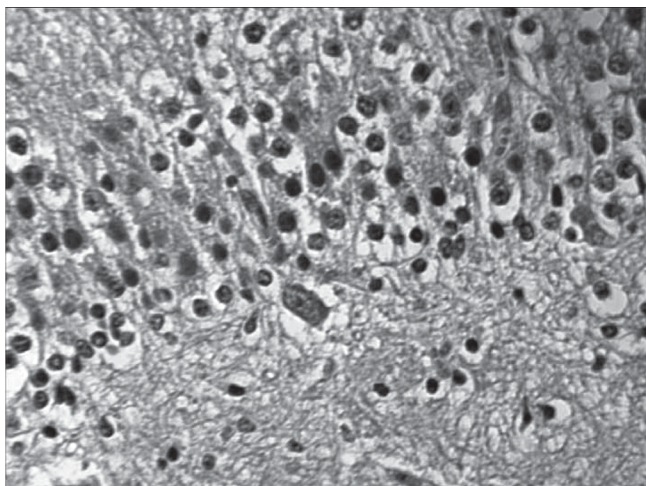


Рис. 4. Изображение гистологического препарата зубчатой извилины гиппокампа барана на 7 сутки ЧМТ с гиперплазией глиальных клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×250

В срединных слоях проводниковые структуры менее адгезивны, а дискретная фаза более подвижна. В зубчатой извилине плотная фаза образована зернистыми нейронами, дискретная фаза дополнена свободно мигрирующими глиальными клетками. Указанные особенности определяют механические свойства гиппокампа при ударно-волновом воздействии.

Очевидно, что ключевым патогенетическим фактором ударной волны, по крайней мере в острой фазе ЧМТ, является сжатие головного мозга в целом и гиппокампа в частности. В результате вещество гиппокампа уплотняется, поверхностное натяжение увеличивается, граница раздела плотной и дискретной фаз гидрофобизируется. В аксональных микротрубочках формируются предпосылки для образования малоподвижных нанок капель, прочно адгезированных к поверхности мембран и затрудняющих внутри тубулярный транспорт. Важным осложнением дезорганизации плотной фазы является потеря синапсов. Указанные явления развиваются достаточно быстро (в течение 30 мин), и они запускают процессы диффузной деструкции аксонов до развития масштабных интерстициальных отеков. События по данному сценарию развиваются в срединных слоях гиппокампа, что повышает риски, обусловленные дискоординацией внутригиппокампальных ассоциативных связей.

По мере прогрессирования интерстициального отека усиливается влияние факторов скорости и направленности гидродинамических течений. При направлении гидродинамических потоков в поверхностные слои проводниковые структуры альвеуса разволокняются и открывают трансальвеолярные интерстициальные каналы. Дезинтеграции подвергаются исходно плотно склеенные альвеолярные пучки, поэтому разволокнение происходит с дефектом проводниковой ткани. В связи с этим повышаются риски, обусловленные дефицитом афферентной

импульсации. При направлении высокоскоростных гидродинамических потоков в проксимальные слои зубчатая извилина, как более плотная структура, разрушается по механизму крупнодисперсной фрагментации (растрескивание). Соответственно, появляются риски, обусловленные ослаблением эфферентных импульсов, исходящих от зернистых нейронов. Таким образом, при действии ударной волны в аммоновых рогах развиваются сдвиги, основой которых являются сжатие нейронов, потеря синапсов, дезинтеграция и фрагментация проводниковых структур.

В целом, при действии ударной волны, вызванной ООП, в гиппокампе формируются предпосылки для регрессии трёхмерной организации внутренних ассоциативных связей. В периоде посттравматического восстановления это повысит риски, связанные с расстройствами в эмоциональной сфере, координации памяти, и спровоцирует когнитивные затруднения в пространственной ориентации.

Литература

1. Автандилов, Г.Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса / Г.Г. Автандилов, Н.И. Яблучанский, В.Г. Губенко. – М.: Медицина, 1981. – 192 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. 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.
5. Международная анатомическая терминология (пересмотр 1999 г.) На латинском, русском и английском языках / под ред. Л. Л. Колесникова. – М.: Медицина, 2003. – 424 с.
6. Пантелеев, В.Г. Компьютерная микроскопия / В.Г. Пантелеев, О.В. Егорова, Е.И. Клыкова. – М.: Техносфера, 2005. – 303 с.
7. Скоркина, М.Ю. Методика оценки морфометрических параметров нативных клеток крови с использованием атомно-силовой микроскопии / М.Ю. Скоркина [и др.] // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 2010. – № 8 (150). – С. 238–240.
8. Федеральный закон № 398-ФЗ «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации по вопросу усиления контроля в сфере оборота гражданского оружия» от 28.12.2010. – Собрание законодательства Российской Федерации, 03.01.2011, № 1, ст. 10. – С. 30.
9. Федеральный закон № 86-ФЗ «О лекарственных средствах» (с изменениями и дополнениями) от 22.06.1998. – Собрание законодательства Российской Федерации, 03.02.2003, № 2, ст. 167. – С. 50.
10. Хеллан, К. Введение в механику разрушения / К. Хеллан. – М.: Мир, 1988. – 364 с.
11. Andersen, P. The Hippocampus Book / P. Andersen [et al.] – Oxford University Press; New York. – 2007. – P. 872.
12. Cameron, H.A. Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus / H.A. Cameron [et al.] // J. comp. neurol. – 2001. – Vol. 435. – P. 406–417.
13. Eriksson, P.S. Neurogenesis in the adult human hippocampus / P.S. Eriksson [et al.] // Nat. med. – 2006. – Vol. 4. – P. 1313–1317.

14. Ekstrom, A. Cellular networks underlying human spatial navigation / A. Ekstrom [et al.] // Nature. – 2003. – Vol. 425. – P. 184–188.
15. Gao, X. Moderate traumatic brain injury promotes proliferation of quiescent neural progenitors in the adult hippocampus / X. Gao [et al.] // Exp. Neurol. – 2009. – Vol. 219. – P. 516–523.
16. Gao, X. Moderate traumatic brain injury causes acute dendritic and synaptic degeneration in the hippocampal dentate gyrus / X. Gao [et al.] // PLoS One. – 2011. – Vol. 6. – P. 24566.
17. Glaser, J. Stereology for biological research with a focus on neuroscience / J. Glaser [et al.] // Williston: MBF Press. – 2007. – P. 104.
18. 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.
19. Colicos, M. Apoptotic morphology of dentate gyrus granule cells following experimental cortical impact injury in rats: possible role in spatial memory deficits / M. Colicos [et al.] // Brain res – 1996. – Vol. 739. – P. 120–131.
20. Kernie, S.G. Brain remodeling due to neuronal and astrocytic proliferation after controlled cortical injury in mice / S.G. Kernie [et al.] // J. neurosci. res. – 2001. – Vol. 66. – P. 317–326.
21. Liu, J. Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils / J. Liu, K. Solway [et al.] // J. neurosci. – 1998. – Vol. 18. – P. 7768–7778.
22. Lockshin, R. Programmed cell death. Activation of lysis by a mechanism involving the synthesis of protein / R. Lockshin // J. insect. physiol. – 1969. – Vol. 15. – P. 1505–1516.
23. Ng, I. Apoptosis occurs after cerebral contusions in humans / I. Ng [et al.] // Neurosurgery – 2000. – Vol. 46. – P. 949–956.
24. O'Keefe, J. The Hippocampus as a Cognitive Map / J. O'Keefe [et al.] – Oxford University Press; New York – 1978. – P. 350.
25. Richardson, R.M. Neurogenesis after traumatic brain injury / R.M. Richardson [et al.] // Neurosurg. Clin. N. Am. – 2007. – Vol. 18. – P. 169–181.
26. Sahay, A. Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation / A. Sahay [et al.] // Nature. – 2011. – Vol. 472. – P. 466–470.
27. Yu, T.S. Traumatic brain injury-induced hippocampal neurogenesis requires activation of early nestin-expressing progenitors / T.S. Yu [et al.] // J. neurosci. – 2008. – Vol. 28. – P. 12901–12912.
28. Winocur, G., Inhibition of neurogenesis interferes with hippocampus-dependent memory function / G. Winocur [et al.] // Hippocampus – 2006. – Vol. 16. – P. 296–304.

A.A. Gaidash, E.V. Ivchenko, V.V. Levichev, A.V. Denisov

The hippocampus structure and micromechanical proprieties in the dynamics of the early period of craniocerebral trauma inflicted by the less-letathal firerarms

Abstract. *The hippocampus has been studied in the dynamics of the early period of craniocerebral trauma inflicted by the less-lethal firearms using the methods of histostereometry and atomic force microscopy. The craniocerebral trauma has been simulated on sheep by the «Makarych» pistol single shot at the parieto-occipital area. The observation period is two weeks. It has been shown that the hippocampus could be approximated by a binary natural composite. The structure and physical and chemical properties of the hippocampus bearing and discrete components can be analyzed steteometrically and by probe microscopy. The bearing component (the dense phase) is composed of highly organized axonal and dendritic bundles with interstitial microclefs of various degree of development (discrete phase). In the normal conditions and under the shock waves impact the bearing component organization level is finely regulated by the discrete phase by means of volume change. The volume variations in various modes determine the hippocampus physical and mechanical properties. Under the shock waves impact before the large scale interstitial edema stage the conductor structures become more dense, the surface tension increases, the partition border between the dense and discrete phases becomes hydrophobic. Inside the axonal microtubules some prerequisites for stiff nanodroplets formation are created. The droplets firmly adhere to the surface of membrane and impede the tubular transport. At the same time the neurons drop the synapses. The mentioned phenomena elucidate some structural and mechanical aspects of the diffuse axonal injury problem. In the process of craniocerebral trauma development the conductor structures undergo edematous desintegration (separation of fibers) and fragmentation (lysis). The rate of edema development and the speed of tissue liquid hydrodynamical flows are determined by the interstitium porous structures specific square. In the medial layers where the surface specific square is minimal the fluid diversion takes place in a stepwise manner and under the pressure toward the direction of the alveus and dentate gyrus. In this process the mentioned liquid is not held back in the alveus but is accumulated in the dentate gyrus in the form of lacunes. As a result the dentate gyrus is desintegrated with activation the reparation neurogenesis inside the gyrus. Since the moment of tissue edema regression the synaptic granules structure and number density restoration processes have taken place.*

Key words: *atomic force microscopy, axons, cranicerebral trauma, hippocampus, histostereometry, interstitial edema, less-lethal firearms, micromechanical properties, neurons, surface tension, synapses.*

Контактный телефон: 8-911-706-65-12; e-mail: jack200@ngs.ru